

令和 5 年 10 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17560

研究課題名（和文）ヒトiPS細胞由来分化心筋の数理モデル構築による創薬、疾患モデル解析への応用

研究課題名（英文）Development of Mathematical Model of hiPSC-CMs for Drug Discovery and Analysis of Genetic Diseases

研究代表者

梶谷 泰彦 (Kohjitani, Hirohiko)

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：90823013

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ヒトiPS細胞由来心筋細胞(hiPSC-CMs)の活動電位波形(AP)を再現するシミュレーションモデル開発を以下の手法で行った。イオンコンダクタンス(Gx)を調整し、実記録と重なるAPを出力する細胞特異的モデルを構築した。最適化手法としてパターンサーチ法を用い、平均二乗誤差(MSE)を減少させることで、Gxの集団が細胞特異的モデルの正解値近傍へ収束することを確認した。本研究は、電気生理学的生体シミュレーションモデルのパラメータ最適化による精密なシミュレーションモデル構築に成功し、細胞電気生理学と心臓電気現象の理解・応用についての画期的な進歩をもたらすと考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、hiPSC-CMsの活動電位波形を再現する精密なシミュレーションモデルの開発に成功し、またこれまで困難とされていた電気生理学的生体シミュレーションモデルのパラメータ最適化による精密なシミュレーションモデルの実現可能性を示した点と考える。本モデル・手法を用いて創薬研究や個別化された治療法の開発が促進されることで、より効果的で安全な治療法の実現が可能となり、心臓病の診断や治療における新たなアプローチの提供が可能になること、心臓病による死亡率の低下や医療費の削減につながる点が期待される点が社会的意義であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This research project achieved the development of a simulation model that reproduces action potential waveforms (APs) in human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (hiPSC-CMs). By adjusting the ionic conductance (Gx), cell-specific models were constructed to generate APs that overlap with actual recorded data. A pattern search optimization method was employed, and by decreasing the mean square error (MSE), it was confirmed that the population of Gx values converged to the vicinity of the correct values for the cell-specific models.

We successfully constructed precise simulation models by optimizing parameters in electrophysiological biological simulation models, thereby contributing to groundbreaking advancements in the understanding and application of cellular electrophysiology and cardiac electrical phenomena.

研究分野：循環器内科学

キーワード：コンピュータ・シミュレーション 数理モデル hiPSC-CMs イオンチャネル 数理最適化 機械学習

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

ヒト iPS 由来分化心筋 (human induced pluripotent stem cells derived cardiomyocytes: hiPSC-CMs) は、ヒト心筋細胞と同様の構造物をもつヒト心筋と類似の活動電位波形 (action potentials: APs) を呈する細胞である。この性質を利用して、創薬時の安全性薬理試験に hiPSC-CMs を使用するための手法が研究されている。

創薬分野においては安全性薬理試験の要件として、心血管系に及ぼす作用を評価するために、候補化合物に関してイオンチャネルを強制発現させた培養細胞系や動物を用いて催不整脈作用の評価を行うことが、ICH-S7B「ヒト用医薬品の心室再分極遅延 (QT 間隔延長) の潜在的可能性に関する非臨床的評価」によって規定されている。しかしながら実験動物の心筋細胞や培養細胞系とヒト心筋細胞の間には電気生理学的に大きな性質の差異が存在しており、その為本来副作用が許容範囲に収まるような化合物を候補薬から脱落させているケース (偽陽性) や、安全であると見込まれていた化合物が臨床試験において初めて毒性が判明するケース (偽陰性) などが存在し、医療的・経済的な損失を生じている事が問題視されている。hiPSC-CM は現行の培養細胞系を用いた hERG 試験法と比較して偽陽性率の低下が期待されており、非臨床試験と臨床試験の間にある種差のギャップを少なくする点においても有利だとされている。

しかしながら、hiPSC-CMs は薬理反応の実験を行う際に wet の実験のみでは解決困難な問題点を有していた。hiPSC-CMs はヒト心筋細胞とは異なる電気生理学的特徴を有する (自動能を有する・静止膜電位が浅い・プラトー相の時間が短いなど)、細胞株間・さらには細胞間においても電気生理学的性質にかなりの多様性が認められるという特徴を持ち、そのため薬剤に対する反応が細胞株間・細胞間で大きくばらつくという性質が指摘されている。また、hiPSC-CMs を用いてイオンチャネルの解析を行う場合、パッチクランプ法による実験で評価可能なのは基本的には 1 細胞につき 1 種類のイオンチャネルのみとなるため、複数のイオンチャネルに影響する薬剤や遺伝性疾患を解析するに当たっては多大なコストや時間を要し、現在の創薬や precision medicine のニーズに対応するための大きなハードルとなっている。

これらの問題点を解決するため、我々は、数理モデルを用いてヒト iPS 細胞由来分化心筋細胞において細胞毎のイオンチャネルの状態を詳細に再現・記述することで、実験結果の正確な評価を行い、同時に複数のイオンチャネルを解析する系の確率が必要であると考えられた。

一方で、過去半世紀にわたりイオン輸送分子 (チャネルやイオン交換体) の生物物理学的特性が広範囲に解析され、再現性の高い数理モデルが多数構築されてきた。これら数理モデルを心筋細胞モデルに統合し、膜興奮・細胞収縮・細胞内イオン組成等に関する、様々な複合細胞モデルが開発されてきたが、そのほぼ全てが主観的・人為的にパラメータを決定されており、モデル出力の精度に関する広範な検証が行われていないという問題点を有していた。

解決手法としてシミュレーションモデルのパラメータを数理最適化によって決定する研究が物理学領域等では盛んに行われているが、生体データ特に電気生理学的細胞モデルに関しては、個々の活動電位のモデル化を行うためのパラメータ決定は不可能であると示唆されていた (Sarkar & Sobie (2010))。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生理学的な見地から適切な初期値の範囲を与え、また適切な最適化手法を適用することで電気生理学的シミュレーションモデルのパラメータ最適化が可能になるという仮説を立証し、ヒト iPS 細胞由来分化心筋の数理モデルの構築を行い、wet な実験結果を数理モデル上で再現・評価する事により、ヒト iPS 細胞由来分化心筋自体の電気生理学的性質の理解、創薬時の安全性・有効性の評価、遺伝性不整脈疾患の発症機序解明において wet・dry の両面から効率よく行うシステムを開発する事を目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、hiPSC-CMs の活動電位波形 (AP) を再現するシミュレーションモデル開発を以下の手法で行った。hiPSC-CM 由来の未熟な心筋細胞は多様な活動電位 (action potential : AP) を示すが、一方で基本的なイオンチャネル等の構造要素についてはヒト心室筋細胞に発現しているものとほぼ一致していると報告されている。したがって、この AP に関する多様性は膜イオン電流の発現パターンが異なるためであると推測される。今回のパラメータフィッティングはこのように多様な AP を生じる hiPSC-CMs を材料とし、各イオンチャネル発現量を変数として数理最適化を試みた。最適化手法としてパターンサーチ法を用い、平均二乗誤差 (MSE) を減少させることで、Gx の集団が細胞特

異的モデルの正解値近傍へ収束することを確認した。これによってイオンチャネル数理モデルを中心とした電気生理学的シミュレーションモデルによって、現実世界の多様な実験データを表現可能であり、解釈を行う系として確率可能であることを示した。

実記録の AP に重ね合わせたシミュレーション AP を細胞全体の種々のイオンコンダクタンス (GX) を調整することで生成 (これを細胞特異的モデルとする) し、ターゲット AP とした。最適化手法の一つであるパターンサーチ (PS) アルゴリズムによって多様な初期値からターゲット AP が決定可能かどうかについて実験を行った。目標値とモデル出力の間の平均二乗誤差 (MSE) を損失関数とし、勾配に基づく自動 GXs 回復の初期パラメータセットとして使用した。

その結果、最適化中の MSE-GX 関係の全データ点をプロットすると、MSE の減少に伴い、GXs のランダム化集団が細胞特異的モデルの元の値へ徐々に収束し、極めて精密に正解値近傍の値を返すこと 数値計算を行った探索空間においては最適化が可能となる条件を満たしていること 緩徐脱分極相の緩やかな傾きを決定する上で、GK1、Gha、GbNSC の間に補完的な関係が見出され、最適化を阻害する要因となっていたこと、が確認された。

また、選択的 IKr 遮断の実験記録波形に最適化手法を適用した追加実験でもシミュレーションと実験結果が一致することが確認され、今後実記録 AP からシミュレーションパラメータを計算する系への発展の可能性が示唆された。

4 . 研究成果

本研究の学術的意義は、hiPSC-CMs の活動電位波形を再現する精密なシミュレーションモデルの開発に成功し、またこれまで困難とされていた電気生理学的生体シミュレーションモデルのパラメータ最適化による精密なシミュレーションモデルの実現可能性を示した点である。研究成果は令和 4 年 11 月 9 日発行 Scientific Reports 第 12 巻 第 1 号 第 19110-19125 項に掲載された。また本シミュレーション系によって遺伝的不整脈疾患に対する疾患特異的 hiPSC-CMs を解析した内容が、令和 5 年 1 月発行 Heart Rhythm 第 20 巻 第 1 号 第 89-99 項に掲載された。こちらは hiPSC-CMa の電気生理学的性質の理解、創薬時の安全性・有効性の評価、遺伝性不整脈疾患の発症機序解明において wet・dry の両面から行うシステムが開発され、成果を創出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hirohiko Kohjitani, Shigeya Koda, Yukiko Himeno, Takeru Makiyama, Yuta Yamamoto, Daisuke Yoshinaga, Yimin Wuriyanghai, Asami Kashiwa, Futoshi Toyoda, Yixin Zhang, Akira Amano, Akinori Noma, Takeshi Kimura.	4. 巻 12
2. 論文標題 Gradient-based parameter optimization method to determine membrane ionic current composition in human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19110-19110
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-23398-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Asami Kashiwa, Takeru Makiyama, Hirohiko Kohjitani, Minoru Horie, Naomasa Makita, Takeshi Kimura, et al.	4. 巻 20
2. 論文標題 Disrupted CaV1.2 selectivity causes overlapping long QT and Brugada syndrome phenotypes in the CACNA1C-E1115K iPS cell model	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Heart Rhythm	6. 最初と最後の頁 89-99
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.hrthm.2022.08.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Hirohiko Kohjitani, Takeshi Mitani, Takanori Aizawa, Takeru Makiyama, Asami Kashiwa, Tomohiko Imamura, Seiko Ohno, Minoru Horie, Satoshi Shizuta, Takeshi Kimura, Yasushi Okuno.
2. 発表標題 Development of a Genetic Prognostic Model for Hereditary Arrhythmia Disease Using Machine Learning.
3. 学会等名 第86回日本循環器学会学術集会.
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hirohiko Kohjitani, Asami Kashiwa, Takeru Makiyama, Taisuke Ishikawa, Futoshi Toyoda, Seiko Ohno, Hai Huang, Jingshan Gao, Tomohiko Imamura, Takanori Aizawa, Satoshi Shizuta, Minoru Horie, Naomasa Makita, Takeshi Kimura
2. 発表標題 sefulness of Collaboration Between Mathematical Models and Cell Engineering for Elucidating Complex Disease Mechanisms and Discover Effective Drugs.
3. 学会等名 第67回日本不整脈心電学会学術集会.
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hirohiko Kohjitani, Asami Kashiwa, Takeru Makiyama, Takeshi Kimura, et al.
2. 発表標題 Usefulness of Collaboration Between Mathematical models and Cell Engineering. for Elucidating Complex Disease Mechanisms and Discover Effective Drugs.
3. 学会等名 ESC Congress 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kohjitani H, Koda S, Makiyama T, Noma A, Kimura T, et al.
2. 発表標題 Artificial Intelligence Based Optimization System of hiPSC-CMs Simulation and Prediction of Drug Testing.
3. 学会等名 Heart Rhythm Scientific Sessions 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hirohiko Kohjitani, Takeru Makiyama, Takeshi Kimura, et al.
2. 発表標題 Artificial Intelligence Based Optimization System for Cell-specific hiPSC-CMs Simulation and Prediction of Drug Testing.
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 梶谷泰彦, 柏麻美, 牧山武, 木村 剛
2. 発表標題 Usefulness of Combination of Mathematical models and Cell Engineering Using Induced Pluripotent Stem Cell for Revealing Complex Disease Mechanisms.
3. 学会等名 第84回日本循環器学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Asami Kashiwa, Hirohiko Kohjitani, Takeshi Kimura, et al.
2. 発表標題 Modeling Overlap Syndrome Of Long QT And Brugada Syndrome Associated With CACNA1C-E1115K Which Alters Ion Selectivity With Induced Pluripotent Stem Cells.
3. 学会等名 Heart Rhythm Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirohiko Kohjitani, Yukiko Himeno, Takeru Makiyama, Akinori Noma, et al.
2. 発表標題 Autonomic Action Potential Analyzing System Enables Accurate Interpretation and Prediction of Result for Drug Testing Using hiPSC-CMs.
3. 学会等名 Heart Rhythm Scientific Sessions (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirohiko Kohjitani, Yukiko Himeno, Takeru Makiyama, Akinori Noma, et al.
2. 発表標題 Algorithmic Auto-Recreation System of hiPSC-CMs Simulation and Prediction of Drug Testing.
3. 学会等名 12th ASIA PACIFIC HEART RHYTHM SOCIETY SCIENTIFIC SESSION (APHRs 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirohiko Kohjitani, Yukiko Himeno, Takeru Makiyama, Akinori Noma, et al.
2. 発表標題 Algorithmic Auto-Recreation System of hiPSC-CMs Simulation and Prediction of Drug Testing.
3. 学会等名 第 66 回 日本不整脈心電学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Asami Kashiwa, Hirohiko Kohjitani, Takeshi Kimura, et al.
2. 発表標題 Modeling Overlapping Phenotypes of Long-QT and Brugada Syndrome with CACNA1C-E1115K which Alters Ion Selectivity of the Cardiac L-type Calcium Channel Using Induced Pluripotent Stem Cells.
3. 学会等名 第 66 回 日本不整脈心電学会学術大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 動電位測定誤差の補正方法、解析装置、及びコンピュータプログラム	発明者 野間昭典、糺谷泰彦、幸田茂也	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特開2019-170175(P2019-170175A)	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関