

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：34315

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22390039

研究課題名（和文） 心筋細胞と膵 細胞の数学モデル構築による機能動作メカニズム解析

研究課題名（英文） Mechanisms underlying cell function of cardiac myocytes and pancreatic cells by developing mathematical cell models

研究代表者

野間 昭典（NOMA AKINORI）

立命館大学・生命科学部・教授

研究者番号：00132738

研究成果の概要（和文）：

細胞機能の成り立ちを明らかにするため、これまで蓄積されている研究成果を数式表現し、それらを総合して細胞機能の数学モデルを開発した。作成されたモデルは数十行の微分方程式で構成され、これを数値積分して心筋細胞の電気的活動と収縮について、また、膵臓β細胞のインシュリン応答について実際の細胞に近い機能を忠実に再現できた。この心筋細胞と膵臓β細胞モデルに数学解析を適用して、その機能原理を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

The mechanisms underlying the cell function were clarified by developing mathematical cell models based on scientific findings so far published in scientific literature. The time-dependent changes of cell functions, such as the electrical and mechanical functions of cardiac myocyte and the glucose-dependent release of insulin release, were reconstructed by numerical integration of several tens simultaneous differential equations, representing many types of molecular reactions. By applying various mathematical tools to the model, principle mechanisms of cell function was clarified.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2011年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2012年度	1,700,000	510,000	2,210,000
総計	8,600,000	2,580,000	11,180,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：システム生理・フィジオーム・心筋

### 1. 研究開始当初の背景

実験研究によって、細胞を構成する各分子機能が極めて広範囲に明らかにされてきた。ポストゲノムの時代にあって、これら分子機能を統合して、細胞機能の成り立ちを総合的に理解し、医学生物学・医療に役立てることが

緊急の課題である。この多種多様な情報をコンピュータ上に統合し、細胞の動作原理を明らかにすることは容易ではないが、基礎医学・生理学における異分野融合研究として挑戦的で興味あるもので、本研究課題の目的である。

従来、細胞の動作原理を明らかにする研究領域として、Mathematical Physiology や Computational Cell Biology があり、いろいろな細胞の機能を数式によって明快に説明することに成功している。ただ、これら数学的な解法は分子実態をとりあえず殆ど無視し、極めて簡略化したモデルに限って適用されていて、細胞を構成する各の分子の役割に視点を置く医学生物学的考え方との間に深い溝があり、医学生物学における主な研究手段になり得なかった。近年、分子あるいは分子複合体で構成される機能単位の数学モデル開発が急速に進み、これら機能単位モデル（微分方程式の集合）を統合して、細胞機能全体をシミュレーションし理解する研究の重要性が叫ばれてきた。私たち自身、平成15—19年度文科省リーディングプロジェクト・京都大学拠点で同様の研究を展開した。しかし、細胞モデルはそれを構成する数百の変数が連立微分方程式の中で相互に依存関係を有する複雑系で、細胞応答が再現できても、その動作原理を把握することが困難になりつつある。

## 2. 研究の目的

そこで、本研究課題では、Computational Cell Biology の数学的手法と伝統的な生理学的思考法を、心筋細胞と現在我々が進めている膵臓β細胞モデルに適用し、細胞機能動作原理と各機能分子の役割を明らかにし、医学・医療に役立てることを目的にした。

## 3. 研究の方法

数学モデルを作成するためには、それぞれの分子機能（分子反応）を微分方程式で表す。多くの分子反応は相互に作用し合いながら同時に進行するが、これは、多くの微分方程式を同時に計算していくことによって実現される。数値積分は、Euler method や Runge-Kutta method によって行った。全てのプログラムは画面表示が優れている点を考慮して、Visual Basic で作成した。

これまで Mathematical Physiology や Computational Cell Biology で開発され、細胞機能解析に適用されてきた方法として、bifurcation analysis, sensitivity analysis, stability analysis, phase plane analysis などがある。更に我々は、最近 Lead potential analysis を独自に開発した (Cha et al., 2009, Biophysical Journal in press)。生理学的手法としては、包括的細胞機能の中からそれぞれの機能側面を担うコアシステムを切りとり、そのシステムの入力出力関係を解析する、あるいは関連する最小

限の分子機能モデルで簡略細胞モデルを作成し、動作原理を解明する方法がある。これらの方法を以下に述べる細胞機能に適用して、システム機能の特性を解明する。

## 4. 研究成果

### (1) 膵臓β細胞モデルの開発

膵臓β細胞は血糖レベルに応じてインシュリン分泌を行うが、この働きを理解するため、これまで発表されている研究成果に基づいて、その細胞機能を数学モデルにまとめた。このプロジェクト以前に Friedryand et al は比較的簡略化された細胞モデルを発表していた。我々は、それまで心臓のモデルを開発していたが、その経験を生かして、細胞膜興奮に関与するイオンチャネルを大幅に改善した。また、細胞内イオン濃度、特にCa濃度変化を精緻化し、glucose濃度の生理学的範囲での活動パターンを再現することに成功した。

作成したβ細胞モデルは、グルコースの取り込みが続いて、NADHの産生、酸化的リン酸化反応によるATP産生、細胞膜におけるATP感受性Kチャネル活動の変化による細胞膜興奮性の変化という一連の経過をへて、細胞内Ca濃度変化を引き起こすことができた。反応がこれまでの研究結果とほぼ一致することを確認した上で、この細胞モデルにbifurcation analysisと我々の開発したLead potential analysis (Cha et al., 2009, Biophysical Journal 2009) それに、伝統的なI-V曲線解析を、新たに作成した膵臓β細胞数学モデルに適用した。Lead potential analysisでは、イオンチャネルの寄与を時間軸に沿って定量化することでき、膜興奮性変化のメカニズムを解明することができた。また平衡点解析によって、一見連続的に見える細胞膜の興奮性変化の背景には、機能様態の変化が存在することを示すことができ、研究成果を権威ある国際誌に発表した。更に、この細胞の腸管ホルモンによる制御を明らかにするために、その受容体とシグナル伝達をモデル化した。

### (2) ヒト心室筋細胞モデルの開発

既に、数種類のヒト心室筋細胞モデルが発表されていたが、これらは主として心臓臓器における活動電位の伝播を再現することを目的として開発されていた。我々は、Systems Biologyあるいは真に生理学的研究の目指す細胞機能の分子レベルでの成り立ちを解明する目的で開発した。特に細胞レベルで注目されている不整脈の原因である早期脱分極と遅延後期脱分極のメカニズムを解明する目的で、モデルを精緻化した。

このモデルは、細胞内におけるCa濃度分布を筋小胞体接合部、その周辺とその他の部

分で表し、実験で得られている機能的濃度分布をほぼ再現した。また、刺激頻度に対する活動電位及び収縮力変化を再現でき、収縮モデルを取り込んだヒト細胞モデルとしては新規のものである。このモデルでは早期後脱分極 (EAD) のメカニズムについて数学的解析を実施することができている。特に、Naチャンネルの遅延不活性成分 (INaL) をモデル化して組み込み、心不全時に認められている更なる不活性化の遅延効果を検証した。遅延を過度に引き起こすシミュレーションでは、実際に活動電位の延長に伴い EAD を観察することができた。INaL の振幅と膜興奮性について分岐解析を適用したところ、EAD は低膜電位自発興奮として理解することができた。Lead potential analysis はイオンチャンネルメカニズムに加えて、筋小胞体からの自発Ca放出がこのリズム形成に関与することを示した。現在、論文投稿に対するコメントに答えるべく、モデルの精緻化と論文校正に努力している。

### (3) 数学解析の適用

膵臓β細胞モデルとヒト心室筋細胞モデルの活動に、分岐解析法を適用して、これらの活動の変化の背景には動作様態の変化が有ることを示すことができた。

また、Lead potential analysis を適用して、膜電位変化へのイオンチャンネルの寄与を定量的に解析することに成功した。

これらの数学的解析によって、これまで有る細胞膜電位変化にどのイオンチャンネルが主な役割をするか、あるいは、膜興奮性の変化をどのように表現するかという点について、定性的な議論が行われていたが、これを定量的な議論に置き換えることができた。これは、数学モデルを開発することによってのみ可能である。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計9件)

- ① Cha CY, Noma A. Steady-state solutions of cell volume in a cardiac myocyte model elaborated for membrane excitation, ion homeostasis and Ca<sup>2+</sup> dynamics. *J Theor Biol.* 査読有、307 巻、2012 年、70-81  
DOI: 10.1016/j.jtbi.2012.04.025.
- ② Himeno Y, Cha CY, Noma A. Ionic basis of the pacemaker activity of SA node revealed by the lead potential analysis. *Heart Rate and Rhythm.* 査読

有、2011 年、33-58

DOI: 10.1007/978-3-642-17575-6\_2

- ③ Himeno Y, Toyoda F, Satoh H, Amano A, Cha CY, Matsuura H, Noma A. Minor Contribution of Cytosolic Ca<sup>2+</sup> Transients to the Pacemaker Rhythm in Guinea Pig Sinoatrial Node Cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 査読有、300(1)巻、2011 年、H251-61  
DOI: 10.1152/ajpheart.00764.2010.
- ④ Cha CY, Powell T, Noma A. Analyzing electrical activities of pancreatic β cells using mathematical models. *Prog Biophys Mol Biol.* 査読有、107(2)巻、2011 年、265-73  
DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2011.08.001
- ⑤ Cha CY, Santos E, Amano A, Shimayoshi T, Noma A. Time-dependent changes in membrane excitability during glucose-induced bursting activity in pancreatic β cells. *J Gen Physiol.* 査読有、138(1)巻、2011 年、39-47  
DOI: 10.1085/jgp.201110612
- ⑥ Cha CY, Nakamura Y, Himeno Y, Wang J, Fujimoto S, Inagaki N, Earm YE, Noma A. Ionic mechanisms and Ca<sup>2+</sup> dynamics underlying the glucose response of pancreatic β cells: a simulation study. *J Gen Physiol.* 査読有、138(1)巻、2011 年、21-37  
DOI: 10.1085/jgp.201110611.
- ⑦ Takeda Y, Amano A, Noma A, Nakamura Y, Fujimoto S, Inagaki N. Systems Analysis of GLP-1 Receptor Signaling in Pancreatic {beta}-cells. *Am J Physiol Cell Physiol.* 査読有、301(4)巻、2011 年、C792-803  
DOI: 10.1152/ajpcell.00057.2011.
- ⑧ Himeno Y, Toyoda F, Matsuura H, Noma A. Reply to "Letter to the Editor: 'Validating the requirement for

beat-to-beat coupling of the Ca<sup>2+</sup> clock and M clock in pacemaker cell normal automaticity' ” Am J Physiol Heart Circ Physiol. 査読有、300(6)巻、2011年、H2325-H2326

DOI: 10.1152/ajpheart.00317.2011

- ⑨ Oka C, Cha CY, Noma A. Characterization of the cardiac Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump by development of a comprehensive and mechanistic model. J Theor Biol. 査読有、265(1)巻、2010年、68-77  
DOI: 10.1016/j.jtbi.2010.04.028.

[学会発表] (計 14 件)

- ① 発表者名: 吉村海 野間昭典、発表標題: シミュレーションモデルによる心室筋頻度依存性の解析、学会名等: 第90回日本生理学会大会、発表年月日: 2013年3月29日、発表場所: タワーホール船堀(東京都)
- ② 発表者名: 姫野友紀子 嶋吉隆夫 野間昭典 天野晃、発表標題: 心室筋細胞モデルの自律神経調整機構を備えた全身循環モデルへの実装、学会名等: 第90回日本生理学会大会、発表年月日: 2013年3月29日、発表場所: タワーホール船堀(東京都)
- ③ 発表者名: 岩井俊介 野間昭典、発表標題: 簡略心室筋細胞モデル次元ケーブルにおける一方向伝導の再構成、学会名等: 第90回日本生理学会大会、発表年月日: 2013年3月29日、発表場所: タワーホール船堀(東京都)
- ④ 発表者名: 高橋千穂 重采映 野間昭典、発表標題: 心室筋細胞における細胞容積調節メカニズムのシミュレーション、学会名等: 第90回日本生理学会大会、発表年月日: 2013年3月29日、発表場所: タワーホール船堀(東京都)
- ⑤ 発表者名: 堀川悠介 重采映 野間昭典、発表標題: Na<sup>+</sup>チャネル遅延不活性化成分による不整電気活動の分岐解析、学会名等: 第90回日本生理学会大会、発表年月日: 2013年3月28日、発表場所: タワーホール船堀(東京都)
- ⑥ 発表者名: 野間昭典、発表標題: Mathematical analysis of ventricular cell activity using a cell model、学会名等: Recnet progress in Physiome Research Symposium、発表年月日: 2012年12月14日、発表場所: 釜山(韓国)
- ⑦ 発表者名: 野間昭典、発表標題: Innovative insights in islet ion channels、学会名等: ADA 72nd Scientific

Sessions、発表年月日: 2012年6月9日、発表場所: フィラデルフィア(アメリカ)

- ⑧ 発表者名: Cha CY, Noma A、発表標題: Modelling of pancreatic  $\beta$ -cell and its mathematical analysis、学会名等: Workshop of Department of Pharmacology、発表年月日: 2011年9月21日、発表場所: オックスフォード(イギリス)
- ⑨ 発表者名: Chae Young Cha, Enrique Santos, Yasuhiko Nakamura, Akinori Noma、発表標題: Modeling pancreatic  $\beta$ -cell and its mathematical analysis-2、学会名等: 第88回日本生理学会大会、発表年月日: 2011年3月30日、発表場所: パシフィコ横浜(神奈川県)
- ⑩ 発表者名: Yukiko Himeno, Futoshi Toyoda, Akinori Noma、発表標題: Minor Contribution of Cytosolic Ca<sup>2+</sup> Transients to the Pacemaker Rhythm as Examined by Recording Spontaneous Ca<sup>2+</sup> Release during Voltage Clamp in Sinoatrial Node Cells、学会名等: 第88回日本生理学会大会、発表年月日: 2011年3月30日、発表場所: パシフィコ横浜(神奈川県)
- ⑪ 発表者名: Takao Shimayoshi, Akira Amano, Akinori Noma、発表標題: Approaches using Computational Models to Quantitative Analysis of Cellular Mechanisms、学会名等: International Symposium; Computational Physiology of Cardiac Myocytes and Pancreatic  $\beta$ -cells; Interaction between Energy Metabolism and Membrane Excitability、発表年月日: 2011年1月30日、発表場所: 京都大学(京都府)
- ⑫ 発表者名: Y. Himeno, F. Toyoda, A. Noma、発表標題: Minor Contribution of Cytosolic Ca<sup>2+</sup> Transients to the Pacemaker Rhythm in Sinoatrial Node Cells、学会名等: International Symposium; Computational Physiology of Cardiac Myocytes and Pancreatic  $\beta$ -cells; Interaction between Energy Metabolism and Membrane Excitability、発表年月日: 2011年1月30日、発表場所: 京都大学(京都府)
- ⑬ 発表者名: 野間昭典、発表標題: Mechanisms underlying the cardiac and pancreatic beta-cell functions analyzed by simulation analysis、学会名等: US-Japan Brain Research Cooperative Program Workshop、発表年月日: 2010年10月6日、発表場所: OIST(沖縄県)
- ⑭ 発表者名: 野間昭典、発表標題: Major developments in the past 3 year at

‘ JP1 ’ : Revival or new horizon:  
mathematical physiology in  
biosimulation、学会名等 : Oxford Univ.  
Biotechnology and Biological Sciences  
Research Council、発表年月日 : 2010 年  
9 月 7 日、発表場所 : オックスフォード  
(イギリス)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

野間 昭典 (NOMA AKINORI)  
立命館大学・生命科学部・教授  
研究者番号 : 00132738

### (2) 連携研究者

車 采映 (CHA CHAE YOUNG)  
立命館大学・立命館グローバル・イノベー  
ション研究機構・ポストドクトラルフェロ  
ー  
研究者番号 : 20456867

天野 晃 (AMANO AKIRA)  
立命館大学・生命科学部・教授  
研究者番号 : 60252491