

令和元年6月11日現在

機関番号：14301
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2015～2018
課題番号：15K00337
研究課題名(和文) 生物学的ペースメーカー細胞創成を目指した心筋細胞数理モデルの分岐解析・非線形解析

研究課題名(英文) Nonlinear and bifurcation analysis of mathematical models of cardiac myocytes for the creation of biological pacemaker

研究代表者
土居 伸二(Doi, Shinji)

京都大学・工学研究科・教授

研究者番号：50217600
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：人工の電子機器による心臓ペースメーカーに替わる治療法として、通常はペースメーカーとして働かない(ペースメーカー細胞以外の)心筋細胞に遺伝子操作を施すことでペースメーカー細胞を作成する方法が注目を集めている。近年の生物学的ペースメーカー工学研究によると、心室筋細胞の細胞膜を横切って流れるイオン電流を修正することで生物学的ペースメーカー細胞作成の可能性があることが示されている。本研究では、いくつかのヒト心筋細胞数理モデルを用いて様々なイオン電流に関する分岐解析を行うことで、生物学的ペースメーカー細胞を作成する効果的な方法を詳細に検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

心臓ペースメーカー細胞(洞房結節細胞)に異常が生じた場合の治療法として、現在用いられている人工的なペースメーカー(電子機器)を埋め込む方法は、大がかりな手術が必要なこと、手術に伴う感染症、人工ペースメーカーの耐久性・外部電磁波による干渉など、種々の問題が伴うが、生物学的ペースメーカーを容易に作成できるようになれば、これらの問題が解決される可能性がある。本研究では、数理モデルを用いて、このような生物学的ペースメーカー作成方法を探ったものであり、実験的に作成することに繋がれば、社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：A biological pacemaker, which is a pacemaker cell created from normally quiescent non-pacemaking cells by their genetic modifications, is expected to be an alternative to electronic pacemakers. Recent studies on biological pacemaker engineering have revealed that a modification of ionic currents across the cell membrane elicits the pacemaking ability of a ventricular myocyte. We have performed bifurcation analyses using several mathematical cell models to investigate an efficient way to create biological pacemakers from human ventricular myocytes.

研究分野：非線形システム論，生体システム工学，確率システム論。

キーワード：心臓ペースメーカー Hodgkin-Huxley型心筋細胞モデル 非線形振動 分岐解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

心臓の洞房結節にあるペースメーカー細胞(群)に生じる活動電位が心臓全体の心筋細胞に伝播することによって、心臓の周期的拍動が制御されている。周期的な活動電位を自律的(自発的)に発生するのは、洞房結節のペースメーカー細胞(これも心筋細胞の一種)だけであり、心室筋細胞など、他の心筋細胞は、伝播してきた活動電位(刺激入力)を受けて初めて電氣的に興奮し、収縮する。先天的・後天的要因により、ペースメーカー細胞に異常が生じると、心臓の機能が損なわれ、重篤な状態となる。このような場合は、人工的なペースメーカー(電子機器)を埋め込むことになるが、これには、(i)大がかりな手術が必要なこと、(ii)手術に伴う感染症、(iii)人工ペースメーカーの耐久性・外部電磁波による干渉など、種々の問題が伴う。

近年、人工ペースメーカーに替わる、あるいは、それを補完する方法として、自分の心臓から取り出した心筋細胞に遺伝子操作を施すことにより、なまのペースメーカー細胞を作成し、それを移植することで治療を行う、生物学的ペースメーカー工学(biological pacemaker engineering)が注目を集めている。これに伴う手術は、電子機器を埋め込む手術に比べて、容易に行うことができる。現在、ペースメーカー細胞を作成する主要な方法は、Tbx18などのペースメーカー細胞(洞房結節細胞)への分化を誘導する遺伝子を用いるものであるが、現時点では、試行錯誤の域を出ず、手法の確実性・定量性などの面で、多くの課題が残されている。

2. 研究の目的

上述のような研究背景を踏まえ、本研究では、数理モデルを用いたシステム論的アプローチによる研究を行うことで、「どのような遺伝子操作を行えば(具体的には、どのようにイオンチャンネル電流を変化させれば)、どのような周期をもつペースメーカー細胞を作成できるか」を明らかにし、生物学的ペースメーカー工学の研究に資することを目的とする。

心臓ペースメーカー細胞に生じる活動電位は、いわゆる Hodgkin-Huxley (以下 HH と省略) 型の非線形微分方程式によって記述することができる。HH 型微分方程式は、マクロな生命現象を定量的に再現・予測することのできる、医学・生物学における最も優れた数理モデルの一つである。申請者は、これまで、神経の HH 方程式を始めとして、種々の心筋細胞に関する HH 型モデルの解析を行ってきており、心臓電気生理や非線形微分方程式の分岐解析など、本研究を行うための多くの知見を得ている。心臓の最も重篤な疾患としては、心室・心房細動が挙げられるが、これらは、時空間的にダイナミックな疾患であり、その予測は困難であり、数理モデルを用いたシステム論的研究と実際の治療の間には大きな隔りがある。一方で、(原始的な方法ではあるが)AED などを用いた現在の治療方法が比較的有効である。このような現状を鑑みて、ペースメーカー細胞を作成する生物学的ペースメーカー工学では、システム論的・数理的なアプローチを実際の生理実験・治療に直結させることが可能ではないかと考え、本研究の着想に至った。

細胞膜には、様々なイオンを通す様々な電気特性を持ったイオンチャンネルが存在する。HH 型の微分方程式は、細胞膜を電気容量と見なし、そこに生じる電位差(膜電位)の変化を、(動的に変化する)イオンチャンネル電流を用いて表したモデルである。洞房結節と心室とでは、細胞膜に存在し、膜電位変化を担うイオンチャンネルの種類が異なり、これらが複雑に絡み合っ

- ・洞房結節以外の細胞について、そのイオンチャンネル・コンダクタンスや他のチャンネル特性(活性化電位など)が、どのように変化すれば、自発的振動が生じるかを分岐解析を用いて明らかにする(代表的分岐解析ソフトウェアである AUTO を用いる)。
- ・振動の生成・消滅に関わる分岐(ホップ分岐、ホモクリニック分岐)だけでなく、高次元パラメタ空間における振動周期の分布を明らかにする。
- ・周期の他にも、活動電位波形がペースメーカーとして適切であるか(十分に興奮伝播を引き起こすものであるか)、単一細胞状態だけでなく、細胞集団としても適切であるか(同期振動が振動に対して頑健か)を特異振動論の観点から解明する。
- ・心臓各部の細胞に通常存在するイオンチャンネルのコンダクタンス変化だけでなく、ペースメーカー細胞に特異的に存在するイオンチャンネルを非ペースメーカー細胞に導入した場合についても、上記の解析を行う。

3. 研究の方法

心房筋細胞、心室筋細胞、Purkinje 線維など、洞房結節以外の心筋細胞は、通常環境下ではペースメーカーとして働かない(刺激入力無しには、自発的に活動電位を生成しない)。本研究では、Hodgkin-Huxley (HH)型の数理モデルを用いて、心臓各部位の細胞に対して、「どのような遺伝子操作を施せば、ペースメーカー細胞として機能する細胞になるか」を分岐理論や特異振動系の漸近解析など、非線形ダイナミカルシステムの種々の解析法を駆使して、徹底的に解析する。このとき、単に振動現象を発生する分岐(ホップ分岐、ホモクリニック分岐)を調べるだけでなく、振動の周期や膜電位波形、さらには細胞集団を形成したときの同期振動の頑健性など、ペースメーカー細胞として機能するために必要な特性についても、詳細な解析を行う。

このとき、可能な限り多くの HH 型心筋細胞モデルについて詳細な解析を行い、非ペースメー

カ細胞において、どのようなイオンチャネルコンダクタンス変化がペースメーカ活動を引き起こすか（ペースメーカ細胞として機能する細胞になり得るか）を明らかにする．具体的には、

- ・コンダクタンス変化をパラメータとする分岐解析を行い、ホップ分岐やホモクリニック分岐による、自発的（自律的）振動現象の発生を調べる．
- ・これらの分岐によって生じた振動現象の周期を調べ、ペースメーカ細胞として妥当な周期を持つようなパラメータの範囲を徹底的に解明する．
- ・活動電位波形についても、ペースメーカ細胞としての妥当性を検討する．

さらに、心室だけではなく、心房や Purkinje 線維など、心臓各部位の細胞についても解析を行う．また、同じ心室細胞のモデルでも、そのモデル化の詳細度合いは様々に異なる．比較的単純なモデルから詳細なモデルへと解析を進める．特に、前年度は考慮しなかった遅い現象（イオンポンプやイオン交換体による遅いイオンの流れと細胞内外のイオン濃度変化など）を考慮した HH 型モデルの解析を行う．前述したように、これらはマルチスケールの特異振動系であるので分岐解析が容易に行えない可能性がある．その場合、遅い変数を新たなパラメータと考え、「遅い変数をフリーズした」系の分岐解析を行った後、フリーズした変数をゆっくり変化する変数に戻し、もとの特異振動系の分岐図を完成させる等々の工夫を行う．

4．研究成果

(1) 研究初年度である平成 27 年度においては、ヒト心室筋細胞の数理モデルである縮約 ten Tusscher-Noble-Noble-Panfilov モデルを用いて、内向き整流カリウム電流 I_{K1} と過分極活性化電流 I_f を変化させることでペースメーカ活動が発生することを確認した．さらに、心室筋細胞から創り出されたペースメーカ活動と洞房結節細胞のペースメーカ活動を定量的に比較し、心臓ペースメーカとしての妥当性を検討した．

さらに、単一細胞だけではなく、2 個の洞房結節細胞（ウサギ心臓ペースメーカ細胞の Zhang モデル）の結合系を用い、また、中心細胞と周辺細胞という洞房結節細胞の異種性も考慮して解析を行い、洞房結節のペースメーカ活動に及ぼすギャップ結合や細胞の異種性の影響を調べた．このことにより、生物学的ペースメーカ細胞が、結合細胞集団として適切なペースメーカ活動を行うための条件に関する有益な知見を得た．

(2) 平成 28 年度においては、ウサギ心臓ペースメーカ細胞の Zhang モデルを用いて、ペースメーカ細胞の双安定性（振動解と心停止に対応する安定平衡点が共存）に焦点を当て、すべてのイオン電流コンダクタンスに対して 2 パラメータ分岐解析を徹底的に行うことで高次元パラメータ空間における双安定性領域を明らかにした．同時に、振動解のみが単安定となる領域（ペースメーカ細胞として適切な活動を行うことのできる領域）も明らかにした．これらの解析結果から、生物学的ペースメーカ細胞が適切なペースメーカ活動を行うための条件に関する有益な知見を得た．

(3) 平成 29 年度においては、21 変数の非線形常微分方程式で記述されるヒト心房筋細胞の Courtmanche-Ramirez-Nattel (CRN) モデルを用いて、ナトリウム、カリウム、カルシウムなどのイオン濃度変数に着目し、解析を行った．これらの変数は、他のゲート変数や膜電位に比べて変化が遅いので、モデルが定常状態に達する時間が長くなることが懸念されるが、濃度変数を記述する微分方程式に外部刺激電流の影響を適切に考慮することで、この問題が回避できることを明らかにした．

(4) 平成 30 年度においては、CRN モデルを用いて、引き続き濃度変数に関わる問題を詳細に検討した．特に、いくつかの濃度変数をパラメータとして固定することで分岐解析を可能にし、それにより濃度変数値が活動電位波形や振動現象（ペースメーカ活動）に及ぼす影響を詳細に明らかにした．

以上の結果により、自発的に活動電位を発生しない（振動を呈さない）非ペースメーカ細胞である、心房筋や心室筋のイオンチャネル電流・イオン交換体電流などをどのように修正すれば、効果的にペースメーカ細胞を作成できるかについて有益な知見を得た．

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

猪師陸太郎, 土居伸二: Hodgkin-Huxley 型ヒト心房筋細胞モデルの解析 ～ イオン濃度変数の扱いに注目して ～, 電子情報通信学会技術研究報告(信学技報)NLP2018-97, pp.5-10, 査読無 (2019).

Rikutarō Inoshi, Shinji Doi: On the treatment of ionic concentration variables in a Hodgkin-Huxley-type model of human atrial myocytes, Proc. of 2018 International Symposium on Nonlinear Theory and Its Applications (Tarragona, Spain, September 2nd-6th, 2018), pp.300-303, 査読有 (2018).

伊藤亜以子, 土居伸二: 臍, および 細胞の傍分泌メカニズム解明のための臍島細胞の電気生理に関する研究, 信学技報 NLP2017-111, pp.51-56, 査読無 (2018).

Takumi Nagai, Shinji Doi: Oscillations, bistabilities and bifurcations in a cardiac pacemaker cell model, Proc. of 2016 International Symposium on Nonlinear Theory

and Its Applications (Yugawara, Japan, November 27th-30th, 2016), pp.318-321, 査読有 (2016).

永井拓未, 土居伸二: 心臓ペースメーカ細胞モデルの双安定性について(II), 信学技報 NLP2016-87, pp.15-20, 査読無 (2016) .

Yoshiki Ogawa, Shinji Doi: Bifurcation analysis of a human ventricular myocyte model for biological pacemaker engineering, Nonlinear Theory and Its Applications (NOLTA), IEICE, Vol.7, No.2, pp.176-189, 査読有 (2016) DOI: 10.1587/nolta.7.176.

Shinji Doi, Takahiro Kodama, Hiroki Oosaki: Importance of sufficient precision in stable dynamics for the numerical computation of canards in singularly perturbed systems, Nonlinear Theory and Its Applications (NOLTA), IEICE, Vol.6, No.4, pp.454-465, 査読有 (2015) DOI: 10.1587/nolta.6.454.

小川芳樹, 土居伸二: 生物学的ペースメーカ創成をめざしたヒト心房筋細胞モデルの分岐解析に関する一検討, 信学技報 NLP2015-122, pp.87-92, 査読無 (2015) .

Yoshiki Ogawa, Shinji Doi: Bifurcation analysis of human ventricular myocyte model and its quantitative evaluation towards the creation of biological pacemakers, Proc. of 2015 International Symposium on Nonlinear Theory and its Applications (Hong Kong, China, December 1-4, 2015), pp.373-376, 査読有 (2015).

永井拓未, 土居伸二: 心臓ペースメーカ細胞モデルの双安定性について, 信学技報 NLP2015-123, pp.93-98, 査読無 (2015) .

永井拓未, 土居伸二: 細胞の異種性を考慮した心臓ペースメーカ細胞結合系モデルの解析, 信学技報 NLP2015-44, pp.31-36, 査読無 (2015) .

小川芳樹, 土居伸二: 心室筋細胞モデルにおいてイオン電流の変化によって発生するペースメーカ活動の定量的評価, 信学技報 NLP2015-45, pp.37-42, 査読無 (2015) .

〔学会発表〕(計6件)

杉浦知基: 臍細胞におけるバースト振動の周期および振幅に及ぼすイオン電流の影響, 2018年電子情報通信学会 NOLTA ソサイエティ大会(2018) .

伊藤亜以子: 臍島細胞の傍分泌メカニズム解明を目指した臍および細胞モデルの解析, 第27回日本数理生物学会年会(2017) .

猪師陸太郎: イオン濃度を変数として含むヒト心房筋細胞モデルの分岐解析に関する検討, 第27回日本数理生物学会年会(2017) .

猪師陸太郎: イオン濃度を変数として含むヒト心房筋細胞モデルの解析, 2017年電子情報通信学会 NOLTA ソサイエティ大会(2017) .

伊藤亜以子: グルカゴン分泌を調整する臍細胞モデルの解析, 電子情報通信学会 2016 ソサイエティ大会 (2016) .

永井拓未: 心臓ペースメーカ細胞モデルの双安定性とモデル改良に関する検討, 電子情報通信学会 2016 ソサイエティ大会 (2016) .

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者: なし .

(2)研究協力者: なし .

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、研究者個人に帰属されます。