

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：22604  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2021～2023  
課題番号：21K12668  
研究課題名（和文）危険な2周期心拍の抑止のための動物および数理モデルを用いたイオン電流因子の分析

研究課題名（英文）A high risk 2-beat cardiac rhythm: a study for elucidating an accurate cardiac-ventricular action potential with animal- and mathematical-models

研究代表者  
矢澤 徹（Yazawa, Toru）  
東京都立大学・理学研究科・客員研究員

研究者番号：30106603  
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：心臓は収縮で毎回大きく動く。そのため細胞内活動電位記録では動きに起因するアーチファクトが入る恐れがある。一般的な数理モデルはアーチファクトがある波形、ナトリウム活動電位の後に続くノッチのある波形、を正常波形としてモデリングしているように見える。これでは「危険な2周期心拍の抑止」など、モデルが人類に貢献できない。事実この20年ほど、心臓モデルが考案されたが依然突然死は減らない。Woodbury法による正確で注意深い実験により、本研究の結果から、標準的心筋活動電位波形からノッチを除くことを提案する結論に至った。将来の改変したモデルが突然死発生機構を解明できる展望が開けた。

#### 研究成果の学術的意義や社会的意義

心筋は常に動くため、研究データに動きのアーチファクトが入りやすい。ややもすると信頼性のある「一般心臓活動電位波形」に基づかないモデルが作られてしまう。現在の数理モデルが参考にしている基本波形（正常時の心臓活動電位波形）を正しいものに変更してモデルをつくり直すことは、致死性不整脈発生の研究につながれるという意義がある。例えば、これまで出来なかった（モデルで試みても発生させられなかった）ブルガダ型心拍がどのような状況下で発生するのかイオン環境から研究できることになる。本研究でアーチファクトの混入を避けた記録がどのような波形か結論が出た。将来のモデル作成そして危険脈防止研究への挑戦の糸口となった。

研究成果の概要（英文）：Cardiac muscle cells contract every contraction. Thus, this movement would induce artifacts due to mechanical not biological electric signals in action potential data-recording. General mathematical models look like using this artifact-containing action potential as the model of cardiac action potential, which has a notch after the sodium spike potential. Existence of this notch might disturb possible accuracy of the model. This kind model would be an obstacle for the prevention of cardiac infarction therapy-medicine. Using Woodbury's intracellular recording method (Woodbury Flexively Mounted Electrode), we propose that the notch should be removed from the configuration of standard cardiac action potential, when making a model. The future modeling study will make use of an action potential configuration without notch in the domain after sodium action potential.

研究分野：電気生理学

キーワード：心臓活動電位

### 1. 研究開始当初の背景

生理学では生理的範囲を極端に超えて変数(イオン濃度などのパラメータ)を変える実験ができない。できるのは数理モデルである。ホジキンハックスレー(HH)がモデルに成功して以来今ではPCの性能もあがったが、心臓モデルは心不全対策になりきれない。危険な2周期心拍の抑止の問題など、先は全く見通せない現状である。心臓数理モデルのレベルがHHレベルに達していないのである。事実、心臓モデルの出力波形は心臓活動電位波形と似ていない。これは動物生理学実験者著者の正直な気持ちである。残念ながら何故か、現状はアーチファクトが混入して記録された波形をモデル化の基準波形に使用していると著者は考えている。正確な生体電位波形に基づくモデル制作がまだまだ必要である。

### 2. 研究の目的

HHがシンプルで扱いやすい実験系「イカ神経」を材料に選んだことは大成功の1要因とされる。材料に関しては著者も同じ考えで、心臓について、脊椎動物ではなく無脊椎動物エビカニを使う。なぜなら4足動物心臓も甲殻類心臓もペースメーカーと心室というポンプ構造の動きのしくみは共通だからである。数理モデル理論家に比べ、たぶん著者の方が、心臓のどこのどの心筋細胞部位から活動電位と筋収縮機械活動を記録すべきかなど、熟知している。この特徴を有効に活用する。細胞内記録にはWoodbury法(Floating Microelectrode法、文献)を使う。筋肉の動きの影響を最小限にする優れたガラス微小管電極法である。Woodbury法の利点は、動きに起因するアーチファクトの混入を防止できることであり、正確な活動電位波形の確認に適切な手法と言える。アーチファクトが混入している波形と正常波形とを明確に区別し、正常な心臓活動電位波形とは何かを決めることを最大の目的とし、最終的には、現実波形に近い波形を出力できる改変数理モデルの作成、即ち病態早期発見(突然死予知)を目指す。

### 3. 研究の方法

動く心臓で、単一心筋細胞の細胞内電位および収縮力を同時記録する(図1)。

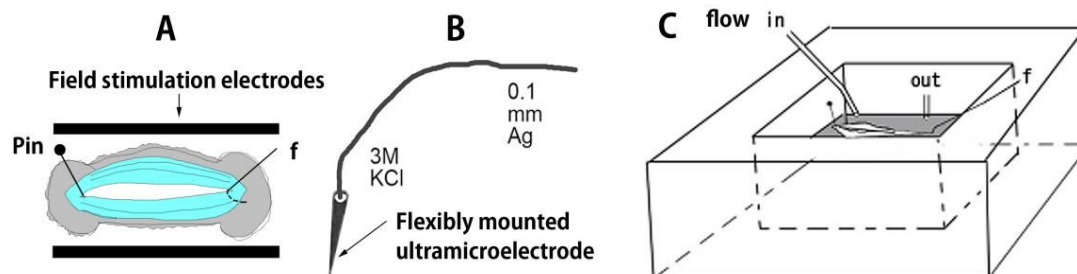


図1 方法の模式図

自発的あるいは電気刺激(金属電極2極によるField stimulation、図1A)で、心筋は収縮する。摘出した心筋(図1A)を実験チャンバー(図1C)にPinで固定し、心筋細胞の細胞内電位と、収縮力 $f$ とをストレインゲージで同時記録する。生理的食塩水の流れは図1Cのin/outである。Woodbury(文献)の微小管電極法に従って、電極先端部をワックスで微小銀線(長さ数cm)に固着し、線の弓なり構造を小負荷の微力バネとして使用する(図1B)。マイクロマニプレーターで心筋に接するまで電極先端を下降し、電極の先端が心筋細胞内に入ったことをオシロスコープで確認する。心筋活動電位波形について生理学的に正しい波形を確定し、最終的に、その波形を数理モデル(Luo Rudyモデル、文献)で再現できるようにする。

### 4. 研究成果

(1)心筋を刺激する信号の心筋到着から心筋収縮開始までの時間について(図2)

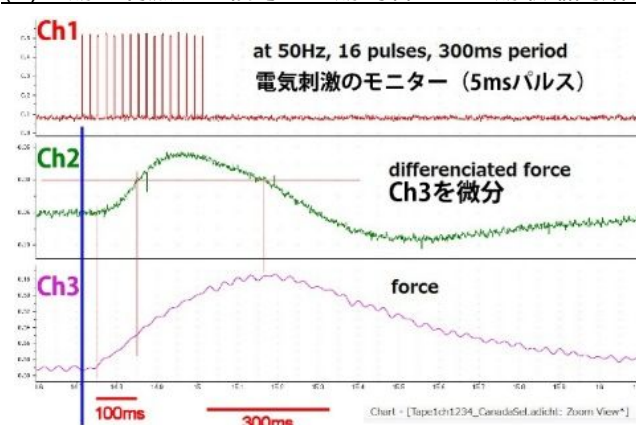


図2 Ch1 電気刺激、Ch3 収縮力、および Ch2 それを微分した波形、以上の3チャンネル同時記録

(実験材料はHomarus americanus口ブスターの心臓。Ostium筋を摘出して使用した。未発表データ。以下の図3図4図5でも同様)

刺激の信号(自発活動ではペースメーカー電流、電気刺激では刺激電流を意味する)の到達から数十msまでは張力は発生しないことが分かった。即ちNaスパイクが頂点に達するまでは動きは起きないだろうから、活動電位の立ち上がりから数十msまでの波形にはアーチファクトが混入しないだろう。つまり活動電位波形の初期

りから数十msまでの波形にはアーチファクトが混入しないだろう。つまり活動電位波形の初期

の区間には動きが原因のアーチファクト混入し得ないことが分かった。

(2) 動く心筋において細胞内に微小電極先端を安定保持できるか？動きによるアーチファクト混入とは一体全体どのようなものか？という問題について(図3)

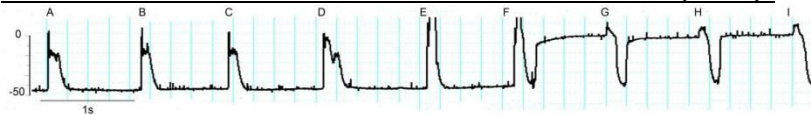


図3 細胞内記録の挑戦 (AからI)連続9拍の記録  
図3A,B,Cの活動電位波形では、弛緩期静止膜

電位は安定して記録できている。だが活動電位波形の形状には再現性が無い。図3Dでは不安定化が進み、抜けかかった。図3E,Fでは活動電位発生直後に抜けた。そして、抜けたあと、弛緩期に先端が細胞内に戻った。図3G,H,Iでは抜けている状態で、電極先端は心筋細胞表面にあり、心筋の動きに押された時だけ短時間刺さって、また抜けた、という事がわかる。このように電極先端の細胞内保持は容易ではない(よく抜ける)ことがわかる。収縮ごとに波形が異なり、活動電位波形には再現性が無い(つまり科学的に信頼のおけない)ことがわかる。1950s 以来の先行研究のなかで(たとえどんな新規性をうたう論文であっても)心筋細胞活動電位波形に関する限り、科学的に信頼できるかどうかを常に問う必要があることをこの実験から学んだ。

(3) 心筋細胞活動電位波形と収縮力波形の同時記録：EC カップリングについて(図4)

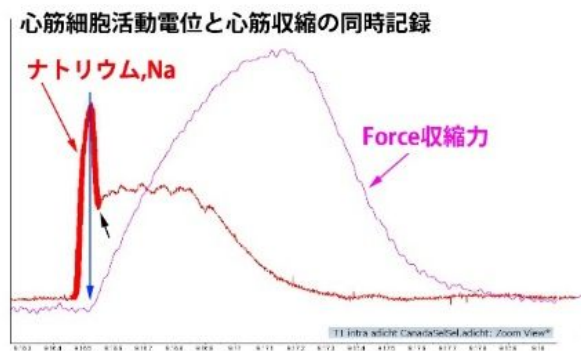


図4 収縮開始と活動電位波形の対応関係

ナトリウム(Na)スパイク(赤い太い線で強調)の頂点で収縮が開始されることがわかる(青い矢印参照)。Naスパイク電位波形には動きのアーチファクトは混入し得ないと結論した。一方Naスパイク以降の波形(黒い矢印以降の電位波形)には動きの影響(電極と細胞膜の擦れ)によるアーチファクト混入を疑うべきと結論した。図2の観察と一致して、Naスパイクの幅

は(50%位置)数十ms(断定的に言うとおおよそ20ms。温度や材料によるが最大100msにおよぶ範囲)である。最も重要な発見は、20msから100msまでの区間(筋収縮開始の初期、Naスパイクの後)では、状況によっては、物理学電位変動(アーチファクト)を生物学的電位変動と誤解する可能性がある」と結論した。

(4) Naスパイクとそれに続くアーチファクト(電極が抜けかかる状況)について(図5)

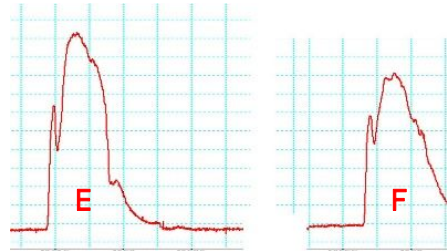


図5 上述図3のEとFを部分的に拡大した図

EもFもどちらもNaスパイクを除いて信頼できない波形である。両者のNaスパイクの頂点の高さが異なるのは、電気生理学的な説明として「電極による細胞膜損傷が原因で、Fではスパイク発生直前の静止電位がすこし脱分極しているから、その分EよりもNa電流のドライビングフォースが弱まりピーク高さが減少している」と説明できる。

どちらの記録でもNaスパイクは信頼できる一方Naスパイクの後に続く電位波形には全く再現性が無い。従って、活動電位プラトー相のイオン機構や数理モデル化などを、この波形から議論しても無駄なことがわかる。生物進化は、心筋細胞電位において、脱分極状態を長引かせてプラトー相を作り出し、収縮時間を延長させたのである。その理論に従うなら、脱分極の維持を妨害するような、過分極現象(ノッチ)は邪魔でしかない。邪魔者が進化で残るはずがなく、図5の結論は、Naスパイクより後方はノッチを含めアーチファクトである。

(5) 本研究の成果の国内外における位置づけ

5-1 心臓活動電位の先駆者ワイドマン(Draper & Widemann 1951、文献 )の、世界最初の心筋活動電位を図6に示す(原著論文でFig.3およびFig.4)

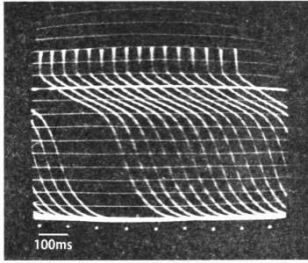


Fig. 3. Record showing reproducibility of successive action potentials. The frequency of the time base was made nearly equal to that of the heart beat. Time marks at intervals of 100 msec. Potential calibration lines are 10 mV. apart.

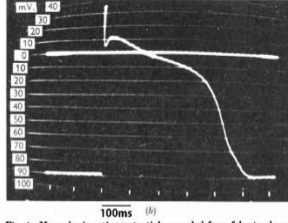


Fig. 4. Monophasic action potentials recorded from false tendons of the dog heart. Trace (1) was obtained with the electrode tip inside a muscle fibre, trace (2) with the opening of the electrode in direct contact with the bathing solution. Time marks at intervals of 100 msec.

M. H. DRAPER AND S. WEIDMANN. CARDIAC RESTING AND ACTION POTENTIALS RECORDED WITH AN INTRACELLULAR ELECTRODE. J. Physiol. (1951) 115, 74-84

図6 Widemann の論文より改変 (左 Fig.3 と右 Fig.4)

左は同じ形状の波形が見事に繰り返すことから再現性のある活動電位波形である。つまりこれは信頼できる心筋細胞内電位波形である。

一方右は、単発の事象で再現性の証拠はない。注釈には電極先端が心筋細胞内ではなく細胞外細胞表面に接する状態と

ある。では、右になぜノッチが出るのか？電気生理学からその疑問への答えはCR(膜容量C、電極抵抗R)回路で微分された波形になったと説明できる。右において、Naスパイクは生物現象である。だがNaスパイク以降の波形は信頼できないことになる。再現性の証拠が無いのため右は偶然得られた波形でしかない。Widemannは最初からこのノッチのある波形を細胞内記録と見なしていなかったのである。そこで、現在の学問状況に立ち返ると、今の数理モデルは、何故かこの右のような波形を標準指標波形として数理モデル化している(文献)。モデルを正しい姿にする必要があることを強く主張したい。

5-2 図6左(Fig.3)と同じ結果(ノッチが無い)が本研究からも得られた(図7)



図7 Homarus ロブスター心筋、収縮力(上のトレース)および細胞内活動電位(下のトレース)の同時記録

第一の特徴、Naスパイクの頂点で心筋細胞の収縮が開始する。すでに上で述べたことがここでも確認できる。第二に、3回の連続する拍動の記録トレース(掃引)を十畳したことで、3つのNaスパイク(立ち上がりから150msあたりまで)完全に重なった。再現性のある証拠である。第三に、プラトー相(主にCa電流)の時間が延長したとき、その分だけ、収縮期間も延長していることが明白になった。これは、電位波形と収縮波形(ECカップリング)の相互関係に関する心

臓生理学原理に合致する。細胞内の分子の運動までが透過で見えているようである。以上これまでの議論から、本研究の結論として、将来の数理モデルではこのような「ノッチの無い波形」を基準にしてシミュレーション研究に進むべきだと考えている。

5-3 この結論を支持するデータが先行研究にいくつもある(その一つが図8)

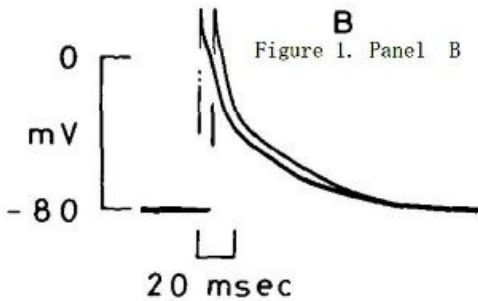


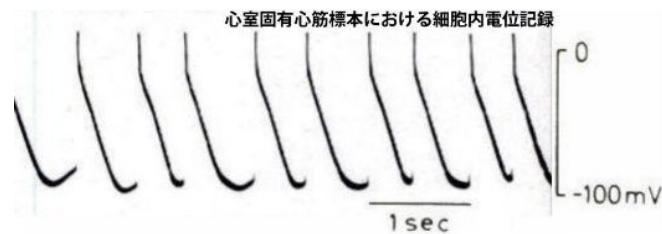
Figure 1. Panel B  
1983\_CirRes\_Watanabe\_カナダNovaScotia  
Cir Res 52: 280-290, 1983  
Figure 1. Panel B: action potentials recorded 30 minutes (left trace) and 8 hours (right trace) after impalement of a myocyte. The two traces are almost superimposable.

図8 心筋細胞内活動電位、同一心筋細胞からの8時間以上にわたる長時間記録、Watanabeらの論文(文献)より改変

細胞内に電極が入って30分後と8時間後とで波形が変わらないと

いう報告である。やはりノッチの無い波形こそが正しい心筋活動電位波形なのである。

5-4 著者の結論を支持する先行研究をもう一つ挙げる(図9)

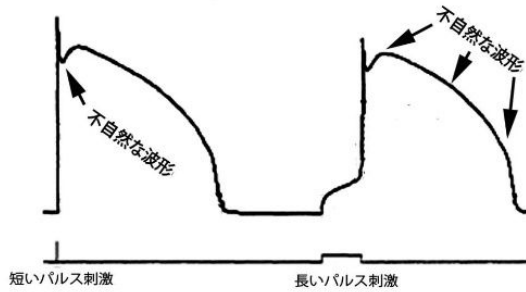


平岡昌和 総説 Triggered-activityと不整脈。心電図Vol.3 No.6 1983

図9 連続して安定した波形が記録された例 東京医科歯科大学平岡昌和の総説論文(文献)から改変

上で述べた図6の左および図7と同様に、この記録からも、動く心筋細胞から再現性のある(同じ形の)波形が記録できることがわかる。ここでも正しい波形には「ノッチが無い」。

5-5 そうなると、数理モデル波形は如何であろうかと読者は思うであろう。Luo Rudyモデル(文献)から改変した図を図10に示す。詳細を割愛するが、京都モデル(入沢・野間ら)の標準波形も、D.Nobleのモデルも、残念ながら、Luo Rudyと類似したノッチ波形であったと記憶している。国内外で数理モデルに関する限り、基準波形は「ノッチがある活動電位」と考えられているように思われる。

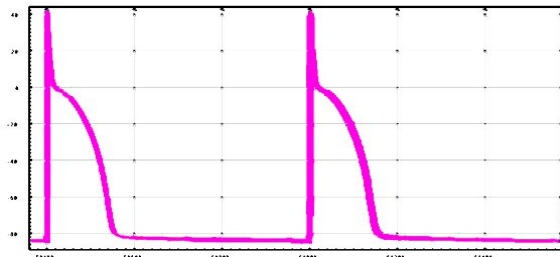


**図10 典型的な数理モデルの活動電位の波形**  
ルオ・ルーディ 1991 モデルより改変。

現在数理モデル研究に供されているモデルでは、生理学的に大変不自然な波形が基本波形となっている。このような基本形から研究をスタートしてしまうと、いろいろなパラメータ要素を変化させて病理的な原因を追究しても、生体現象を正しく理解できないことになりはしないかと危惧し指摘したい。

### 5-6 今後の展望

現在までに著者らが、ルオ・ルーディ 1991 モデルのパラメータを操作してノッチを減らそうとした結果が図 11 である（未発表）。



**図11 著者らによる L-R モデル操作による基本波形の改変結果**

図 10 と図 11 は同じ数理モデルの出力であるが、図 10 より図 11 の方がはるかに現実波形に近い。しかし筆者は、まだこの波形には満足していない。図 6 から図 9 の波形と比べるとまだ著しく異なる。生体波形では明らかに、Na スパイクからプラトーへのスムーズに移行

する。図 11 でも Na スパイクの後の相がもっと滑らかに変化するべきである。

図 11 のもう一つの難点は、Na スパイクの頂点の高さが高すぎることである。一般的に広く認知されている哺乳類心室細胞活動電位波形（図 12 参照）に近づけないといけない。

本研究の期間の終了を迎え、この課題が見えた。ルオ・ルーディ・モデル方程式の 80 有余もあるパラメータを一つ一つ改変し、その出力結果を丹念に調べ上げる根気のいるパラメータ操作研究がまだまだ必要である。生理学的実験の経験は必ず役立つはずである。

### 5-7 結論

ノッチのある活動電位波形はアーチファクトである。実験波形とモデル波形とのバランスをマッチさせた研究は稀である（文献）。ヒト心室細胞標準波形（図 12 参照）がモデル出力として出せるようにしてはじめて有効なシミュレーション研究に進める。図 10 と図 11 との形状の違いは明白である。図 11 が優れている。しかし図 11 もまだ不合格である。モデルの目標はノッチの無い図 12 の波形である。

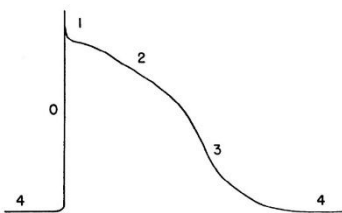


FIG. 1. Schematic cardiac action potential showing the various phases of activity.

**図12 心室細胞標準波形 0相から4相まで5区間**

ノッチの無い、少し Na スパイク成分が見える、この波形を基礎にしてシミュレーション研究すべきである。

（文献 ホフマン 1958 Physiological Review より）

### < 引用文献 >

JW Woodbury and AJ Brady, Intracellular Recording from Moving Tissues with a Flexibly Mounted Ultramicroelectrode. Science. 1956, 123;100-101.

CH Luo and Y Rudy, A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction. Circ.Res. 1991, 68;1501-1526.

MH DRAPER AND S WEIDMANN, CARDIAC RESTING AND ACTION POTENTIALS RECORDED WITH AN INTRACELLULAR ELECTRODE. J. Physiol. 1951, 115;74-94.

Toshifumi Watanabe, Leanne M. Delbridge, J. Omar Bustamante, and Terence F. McDonald, Heterogeneity of the Action Potential in Isolated Rat Ventricular Myocytes and Tissue. Circ. Res. 1983, 52;280-290.

平岡昌和、Triggered-activity と不整脈。心電図 Vol.3 No.6。 1983;689-697。

M Hausser, The Hodgkin-Husley theory of the action potential. Nature neuroscience supplement volume 3 • november 2000, 3;1165.

Cranefield, P. F., and Hoffman, B. H., Electrophysiology of Single Cardiac Cells. Physiol. Rev., 1958, 38;41-76.

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 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 K. Abe, H. Kitajima and T. Yazawa.	4. 巻 -
2. 論文標題 Modification of a mathematical cardiac model to produce more realistic membrane potentials.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of International Symposium on Nonlinear Theory and Its Applications. NOLTA2022	6. 最初と最後の頁 377-380
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 阿部 健登, 北島 博之, 矢澤徹	4. 巻 1
2. 論文標題 Modification of a mathematical cardiac model to produce more realistic membrane potentials	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 情報・システム講演論文集	6. 最初と最後の頁 53-53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 3件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 K. Abe, H. Kitajima and T. Yazawa.
2. 発表標題 Modification of a mathematical cardiac model to produce more realistic membrane potentials.
3. 学会等名 International Symposium on Nonlinear Theory and Its Applications. (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部 健登, 北島 博之, 矢澤徹
2. 発表標題 膜電位波形に着目した心臓数理モデルの修正
3. 学会等名 電子情報通信学会総合大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢澤徹
2. 発表標題 mDFA：改変トレンド除去ゆらぎ解析法
3. 学会等名 佐王建設 会場 名古屋市清州（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢澤徹
2. 発表標題 mDFA：改変トレンド除去ゆらぎ解析法
3. 学会等名 LINOVATH社 会場 名古屋市桜通り（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢澤徹
2. 発表標題 mDFAの応用
3. 学会等名 株式会社シンフォディア・フィル Zoom講演 2時間（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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
---------	---------