

心筋細胞モデルの大域的分岐構造と パラメータ感受性について

大阪大学大学院工学研究科 電気電子情報工学専攻
山口 麗, 潘 振興, 妹尾 真人, 土居 伸二

Division of Electrical, Electronic and Information Engineering,
Graduate School of Engineering, Osaka University

*yamaguchi@is.eei.eng.osaka-u.ac.jp

1 まえがき

心臓や肺臓, 脳・神経系を始めとする生体システムの制御には, 細胞の電気活動及び細胞間の電気伝導が深く関与している. 細胞膜内外では, イオン濃度が異なっているために電位差 (膜電位) が生じている. 細胞に外部から刺激が加わると, イオンがイオンチャネル (細胞膜上に存在するタンパク質の孔) を通過する. その結果, 膜電位が変化して活動電位が発生する. 活動電位波形は臓器やその部位によって様々である. 図 1 に心室筋細胞での典型的な活動電位波形を示す.

イオンチャネルの開閉機構は, 活動電位発生だけでなく細胞膜内外の各種イオン濃度の維持などにも関わっており, 生命活動において重要な役割を担っている. そのため, イオンチャネルの遺伝的・環境的な要因による異常は, 不整脈, 糖尿病やてんかんなどの様々な疾患を引き起こす. このような疾患はイオンチャネル病と呼ばれ, その治療にはイオンチャネルに作用する薬物が用いられる. 従って, 種々のイオンチャネルの働きや薬物作用の動態の理解は必要不可欠であるが, 生体実験だけで調べることは難しく, 細胞モデルを用いた解析が有効である.

神経細胞での膜電位変化を記述する方程式として, Hodgkin-Huxley (HH) 方程式が有名である [1]. 一般に, 心筋細胞モデルは HH 方程式を

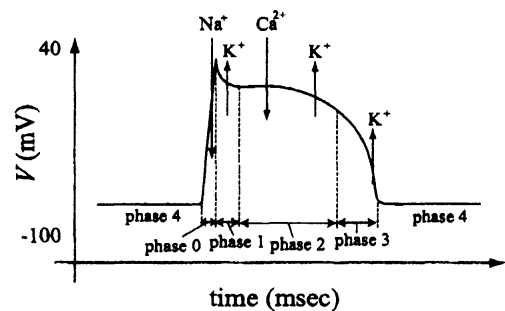


図 1: 心室筋細胞での典型的な活動電位波形

拡張した HH 型方程式で記述されている. 活動電位波形は動物の種類や心臓の部位によって異なっているため, 動物の種別, 部位ごとに様々な心筋細胞モデルが提案されている. 代表的な心室筋細胞モデルとして, 6 次元の Luo-Rudy I (LRI) モデル [2], 詳細な実験データを考慮した 21 次元の Luo-Rudy dynamic (LRd) モデル [3], 人間の心室筋細胞モデルである Ten Tusscher-Noble-Noble-Panfilov (TNNP) モデル [4]~[6] などがある. また, ペースメーカー細胞と呼ばれる洞房結節細胞のモデルとしては, Yanagihara-Irisawa-Noma (YNI) モデル [7] が有名である.

これまでに, LRI モデルの大域的分岐構造に基づき様々な解析が行われた [8]~[12]. しかし, モデルが高次元であること, 時間スケールが大きく異なる変数を含むことなどの問題により,

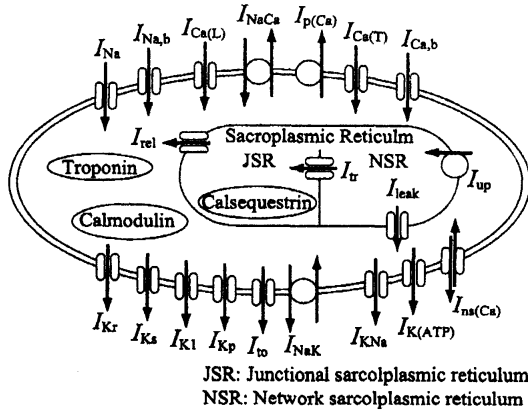


図 2: Luo-Rudy dynamic モデルの概念図

LRd モデルについては分岐解析が行われていなかった。そこで我々は、活動電位生成にあまり寄与していない変数をパラメータとして扱うことで、分岐解析を可能にした。本研究では、入力電流（直流電流）、イオンチャネルの最大コンダクタンス及びそれに相当するパラメータを分岐パラメータとして変化させ、モデルの大域的な分岐構造を解析する。その結果から、イオンチャネルの薬物感受性について考察する。

2 Luo-Rudy dynamic (LRd) model

LRd モデルは、膜電位、ゲート変数、細胞内外イオン濃度、結合筋小胞体の全 Ca^{2+} イオン濃度、筋形質の全 Ca^{2+} イオン濃度の変化を表す計 21 次元の HH 型非線形常微分方程式で記述される。LRd モデルの概念図を図 2 に、この図における記号の説明を表 1 に示す。以下に、LRd モデルの具体的な式を示す。

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= -\frac{1}{C}(I_{total} - I_{ext}) \\ \frac{d(t)}{dt} &= \frac{1}{\tau_x(V)}(\infty(V) - (t)) \\ (&= m, h, j, d, f, b, g, x_r, x_{s1}, x_{s2}, z, y) \end{aligned}$$

ここで、 V (mV) は細胞膜電位、 C ($\mu F/cm^2$) は細胞膜容量、 (t) (無次元量) はイオンチャネルの開閉機構を表すゲート変数を表す。 $\infty(V)$,

表 1: 図 2 における記号の説明

記号	説明
I_{Na}	Na^+ 電流
$I_{Na,b}$	背景 Na^+ 電流
$I_{Ca(L)}$	L 型 Ca^{2+} 電流
I_{NaCa}	$Na^+ - Ca^{2+}$ 交換体電流
$I_{p(Ca)}$	Ca^{2+} ポンプ電流
$I_{Ca(T)}$	T 型 Ca^+ 電流
$I_{Ca,b}$	背景 Ca^{2+} 電流
I_{K_r}	速い遅延整流性 K^+ 電流
I_{K_s}	緩徐活性型遅延整流性 K^+ 電流
I_{K_1}	時間非依存性 K^+ 電流
I_{K_p}	プラトー K^+ 電流
I_{to}	一過性外向き K^+ 電流
I_{NaK}	$Na^+ - K^+$ 交換体電流
$I_{K(Na)}$	ナトリウム活性化 K^+ 電流
$I_{K(ATP)}$	ATP 活性化 K^+ 電流
$I_{ns(Ca)}$	非特異性カルシウム活性化電流
I_{up}	細胞内から NSR へ取り込まれる Ca^{2+} 電流
I_{tr}	NSR から JSR に伝達される Ca^{2+} 電流
I_{leak}	NSR から筋形質へ放出される Ca^{2+} 電流
I_{rel}	JSR から筋形質へ放出される Ca^{2+} 電流

$\tau_x(V)$ はそれぞれ の定常状態での値、時定数である。 I_{total} ($\mu A/cm^2$) はイオン電流の総和 (表 1 で示した電流の総和)、 I_{ext} ($\mu A/cm^2$) は入力電流 (外部刺激) を表す。一般に、チャネル A を流れるイオン電流は、次のような式で記述される。

$$I_A = \bar{G}_A^{activ} \cdot \bar{G}_A^{inactiv} (V - E_\psi)$$

\bar{G}_A (mS/cm^2) はイオンチャネル A の最大コンダクタンス、 activ と inactiv はそれぞれ活性化、不活性化過程を表すゲート変数である。イオン電流の平衡電位 E_ψ (mV) は、イオン ψ の細胞内外の濃度 $[\psi]_i$ 及び $[\psi]_o$ (mM)、気体定数 R 、絶対温度 T 、ファラデー定数 F 、イオン ψ の価

数 Z_ψ を用いて

$$E_\psi = \frac{R \cdot T}{Z_\psi \cdot F} \ln \frac{[\psi]_o}{[\psi]_i}, \quad (\psi = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Ca}^{2+})$$

と表される。また、細胞内外の各種イオン濃度 (細胞内 Ca^{2+} イオン濃度以外) は、次の式に従って変化する。

$$\begin{aligned} \frac{d[\psi]_i}{dt} &= -\frac{I_\psi^{\text{total}} \cdot (\text{Cap})}{(\text{Volume})_i \cdot F}, \quad (\psi = \text{Na}^+, \text{K}^+) \\ \frac{d[\psi]_o}{dt} &= -\frac{I_\psi^{\text{total}} \cdot (\text{Cap})}{(\text{Volume})_o \cdot Z_\psi \cdot F} - \frac{[\psi]_{\text{bulk}} - [\psi]_o}{\tau_{\text{diffusion}}} \\ & \quad (\psi = \text{Na}^+, \text{K}^+, \text{Ca}^{2+}) \end{aligned}$$

ここで、Cap は細胞膜面積、 $(\text{Volume})_i$ は筋形質の体積、 $(\text{Volume})_o$ は細胞間隙の体積である。また、 $[\psi]_{\text{bulk}}$ はイオン ψ のバルク媒体濃度、 $\tau_{\text{diffusion}}$ はイオンの拡散に関する時定数である。各イオン電流、細胞内 Ca^{2+} イオン濃度及び式中の $\infty(V)$ 、 $\tau_x(V)$ の具体的な関数形については文献 [3] を参照されたい。

3 大域的分岐構造に基づくイオンチャネル薬物感受性解析

LRd モデルは高次元の非線形常微分方程式で記述されているため、パラメータ変化に伴って様々な分岐現象が起こり、解 (膜電位) の性質が変化する。例えば、解の安定性や個数に変化する。そこで本論文では、イオンチャネルコンダクタンスを変化させて分岐解析を行い、その結果から、イオンチャネルの薬物感受性について考察する。分岐解析には、分岐解析ソフトウェア AUTO [13] を用いる。本節では一例として、速い活性型遅延整流性 K^+ 電流 I_{Kr} 及び時間非依存性 K^+ 電流 I_{K1} に注目したときの分岐解析結果を示す。

なお、実際の心臓においては、洞房結節で発生した周期的な電気信号が伝導して細胞への入力電流となるが、本研究では入力電流 I_{ext} として直流電流を加える。また、モデル内で定義されているイオン濃度は変化が遅く、なかなか定

常状態に達しない。このことは分岐解析を行う上での障害となる (もしくは、モデルの不完全な点であると考え)。そこで我々は、本来変数として定義されている細胞内 K^+ イオン濃度 $[\text{K}^+]_i$ を定数として扱うことで、分岐解析を可能にした。以下の解析では、 $[\text{K}^+]_i$ を 141.2 (mM) に固定する。

3.1 速い活性型遅延整流性 K^+ 電流 I_{Kr} 及び時間非依存性 K^+ 電流 I_{K1}

2つの K^+ 電流 I_{Kr} 及び I_{K1} の最大コンダクタンス (\bar{G}_{Kr} 、 \bar{G}_{K1}) は共に細胞外 K^+ イオン濃度 $[\text{K}^+]_o$ に依存して変化する関数である。しかし、 $[\text{K}^+]_o$ も動的に変化する変数なので、新たなパラメータとして最大コンダクタンスの係数 c_K を導入する。なお、 c_K の生理的標準値は 1.0 (無次元) である。このパラメータ c_K を用いて、 I_{Kr} 及び時間非依存性 K^+ 電流 I_{K1} の式を書き換えると、以下ようになる。

$$\begin{aligned} I_{\text{Kr}} &= c_K \bar{G}_{\text{Kr}} x_r r(V)(V - E_K) \\ I_{\text{K1}} &= c_K \bar{G}_{\text{K1}} K_{1\infty}(V)(V - E_K) \end{aligned}$$

ここで、 x_r は活性化変数であり、 $r(V)$ と $K_{1\infty}(V)$ は V に依存する関数である。以下では、入力電流 I_{ext} とパラメータ c_K を分岐パラメータとして変化させる。

3.2 1パラメータ分岐構造の解析

本論文で示す1パラメータ分岐図では、入力電流 I_{ext} を分岐パラメータとして変化させ、それぞれの値に対して、定常状態における膜電位 V をプロットする。一例として、入力電流 I_{ext} 以外のパラメータは全て生理的標準値に設定したときの1パラメータ分岐図を図3に示す。横軸は I_{ext} ($\mu\text{A}/\text{cm}^2$)、縦軸は V (mV) である。図中の右側に示した3つの図は、それぞれの点における膜電位波形である。実線と点線はそれぞれ安定、不安定な平衡点、と \circ は各々安定、不安定な周期解の最大値を表す。また、サドルノード分岐点、ホップ分岐点、ホモクリニック分岐点、ダブルサイクル分岐点 (周期解のサドル

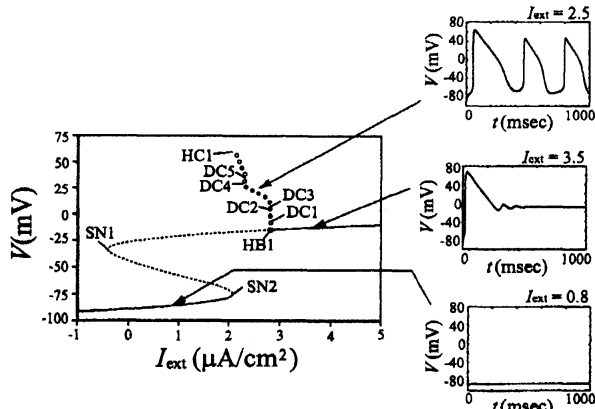


図 3: 1 パラメータ分岐図

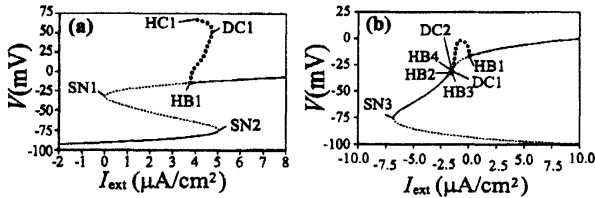


図 4: (a) $c_K = 2.0$ と (b) $c_K = -2.0$ の場合の 1 パラメータ分岐図

ノード分岐点)をそれぞれ SN, HB, HC, DC で表す. この 1 パラメータ分岐図では, 2 つのサドルノード分岐点 (SN1, SN2), 1 つのホップ分岐点 (HB1), 5 つのダブルサイクル分岐点 (DC1~DC5), 1 つのホモクリニック分岐点 (HC1) が存在している. SN2 では安定な平衡点と不安定な平衡点が生成または消滅しており, HB1 からは不安定な周期解が枝分かれしている (サブクリティカルなホップ分岐). また, DC1~DC5 では周期解の安定性が変化している (この図のスケールでは分かりにくい箇所もある). さらに HC1 では, 不安定な周期解が周期無限大となって消滅している.

次に, 3.1 節で定義した c_K の値を変化させる. 例として, $c_K = 2.0, -2.0$ (c_K 以外のパラメータは生理的標準値) の場合の 1 パラメータ分岐図をそれぞれ図 4 (a), (b) に示す. 横軸は入力電流 I_{ext} , 縦軸は膜電位 V である. 図 4 (a)

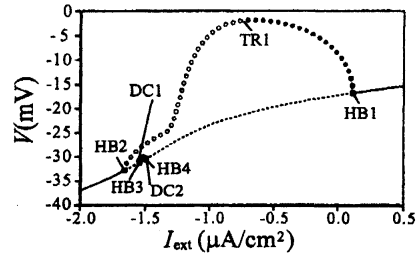


図 5: 図 4 (b) の拡大図

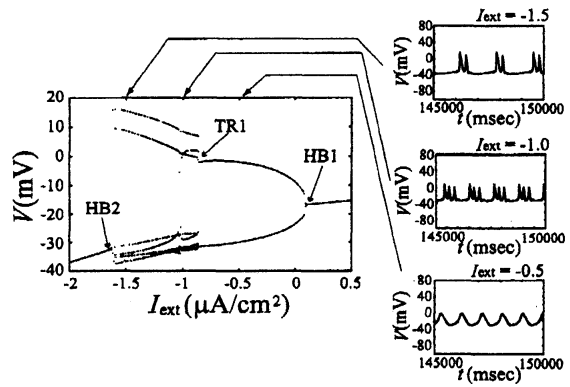


図 6: シミュレーションによる分岐図と膜電位波形例

では, 図 3 の 1 パラメータ分岐図と比較すると, ホップ分岐点 HB1 とサドルノード分岐点 SN2 の位置関係が入れ替わっていることがわかる. このとき, HB1 と SN2 の間の領域においては, 安定な平衡点が 2 つ共存している. また, 図 4 (b) でもいくつかの分岐点が現れているが, その位置関係は大きく変化している.

ここで, 図 4 (b) のホップ分岐点付近の拡大図を図 5 に示す. 図中の TR1 はトラス分岐点を表す. この図から, HB1 から枝分かれした周期解の安定性が TR1 で変化していることがわかる. TR1 と HB2 の間の領域では, AUTO で安定な解が検出されなかったため, シミュレーションによりこの付近の分岐図を作成した (図 6). なお, 分岐図の右側には各点における膜電位波形を示している. この分岐図において, 横軸は I_{ext} , 縦軸が V であり, I_{ext} の各値に対する平衡点及び周期解の極大値と極小値をプロッ

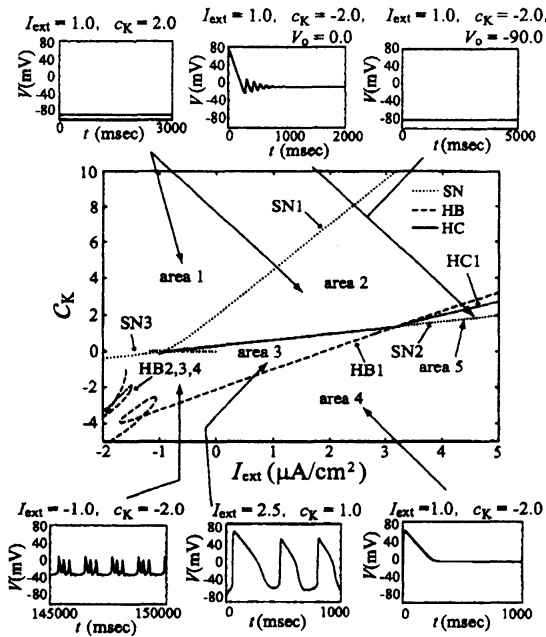


図 7: I_{ext} と c_K に関する 2 パラメータ分岐図

トしている。HB1 よりも右側、HB2 よりも左側の領域では、解は安定な平衡点に収束する。これは図 5 の結果と矛盾しない。TR1 と HB1 の間の領域では、安定な周期解が存在し、反復興奮状態の波形が観測される（1 番下の膜電位波形例）。HB2 と TR1 の間の領域では、明らかに生理的に異常な波形が見られる（上 2 つの膜電位波形例）。

3.3 2 パラメータ分岐構造の解析

本節では、2 つのパラメータを同時に変化させたときの分岐点の軌跡（分岐曲線）を描き、2 パラメータ分岐図として示す。図 7 は 3.1 節で定義した c_K と入力電流 I_{ext} を変化させたときの 2 パラメータ分岐図である。分岐曲線に区切られた各領域における典型的な膜電位波形例も共に示している。横軸は I_{ext} 、縦軸は c_K であり、点線はサドルノード分岐点、破線はホップ分岐点、実線はホモクリニック分岐点を表す。

c_K を標準値 1.0 から増加させると、ホップ分岐点 HB1、サドルノード分岐点 SN2、ホモクリニック分岐点 HC1 の位置関係が変化する。逆に

c_K を標準値 1.0 から減少させると、0.0 付近でホモクリニック分岐点 HC1 がサドルノード分岐点 SN1 にぶつかって消滅する。さらに c_K を負の値まで減少させると、新たなホップ分岐点 HB2、HB3、HB4 が現れる。このように c_K の値を少し変化させることで、モデルの分岐構造が大きく変わる。

図 7 における area 1 と area 2 は図 4 (a) の HB1 より左側の領域に対応する。これらの領域では安定な平衡点が 1 つ存在しているため、膜電位は静止電位側の平衡点に収束する。area 3 は、図 4 (b) における HB1 と HB4 の間の領域に対応する。この領域では、前節でも述べたように安定な周期解や生理的に異常な波形が見られる。area 4 は図 4 (b) における HB1 より右側の領域に対応し、この領域では活動電位生成後、膜電位が平衡点に収束する。area 5 は図 4 (a) の HB1 と SN2 の間の領域に対応する。この領域では双安定な状態であり、解がどちらの平衡点に収束するかは初期状態に依存する。以上の結果により、パラメータ c_K の微小な変化が解の挙動に大きく影響を与えることがわかる。

4 結論

本研究では、21 次元の非線形常微分方程式で記述される LRd モデル（心室筋細胞モデル）の大域的な分岐構造を解析した。入力電流 I_{ext} として直流電流を加え、入力電流の大きさ、イオンチャネルのコンダクタンスを変化させ、1 パラメータ分岐図及び 2 パラメータ分岐図を得た。その結果から、各パラメータの変化が解の性質に及ぼす影響を調べた。

入力電流とコンダクタンスを分岐パラメータとして変化させると、イオンチャネル薬物感受性について考察することができる。本論文ではその一例として、速い活性型遅延整流性および時間非依存性 K^+ チャネルのコンダクタンス係数 c_K を分岐パラメータに選んだ。 c_K は、少し変化させただけで解の挙動に大きな影響を及ぼし、特に標準値から減少させるとその影響が大きい。このような感受性の強いチャネルは、その

異常が原因で不整脈を招く可能性がある。本研究では、他のチャンネルの感受性についても調べたが、紙面の都合上、結果については割愛した。

謝辞

本研究の一部は大阪大学グローバル COE プログラム「予測医学基盤」の支援を受けた。ここに記して謝意を表す。

参考文献

- [1] A.L. Hodgkin and A.F. Huxley, "A quantitative description of membranecurrent and its application to conduction and excitation in nerve," *J. Physiol. London*, vol. 117, pp. 500-544, 1952.
- [2] C.H. Luo and Y. Rudy, "A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction," *Circ. Res.*, vol. 68, pp. 1501-1526, 1991.
- [3] C.H. Luo and Y. Rudy, "A dynamic model of the ventricular cardiac ventricular action potential. I. Simulations of ionic currents and concentration changes," *Circ. Res.*, vol. 74, pp. 1071-1096, 1994.
- [4] K.H.W. ten Tusscher, D. Noble, P.J. Noble, and A.V. Panfilov, "A model for human ventricular tissue," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 286, pp. H1573-H1589, 2004.
- [5] K.H.W. ten Tusscher, A.V. Panfilov, "Alternans and spiral breakup in a human ventricular tissue model," *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 291, pp. H1088-H1100, 2006.
- [6] K.H.W. ten Tusscher, A.V. Panfilov, "Cell model for efficient simulation of wave propagation in human ventricular tissue under normal and pathological conditions," *Phys. Med. Biol.*, 51, pp. 6141-6156, 2006.
- [7] K. Yanighara, A. Noma, and H. Irisawa, "Reconstruction of sinoatrial node pacemaker potential based on the voltage clamp experiments," *Jpn J. Physiol.* 30, pp. 841-857, 1980.
- [8] S. Nagata, S. Doi, and S. Kumagai, "Analysis of drug sensitivity of ventricular myocardial ionic channels based on the global bifurcation structure," in *Proc. of 47th IEEE Int. Midwest Symp. on Circuits and Systems* pp. 1393-1396, Hiroshima, Japan, July. 2004.
- [9] S. Nagata, S. Doi, and S. Kumagai, "Bifurcation analysis of a nonlinear dynamical system model of myocardial cells and its relation to drug sensitivity," in *Proc. of SICE Annual Conf., Int. Conf. on Instrumentation, Control and Information Technology*, MA2-04-4, Okayama, Japan, August. 2005.
- [10] 永田清香, 土居伸二, 熊谷貞俊, イオンチャンネルコンダクタンスに関する大域的分岐構造に基づく心筋細胞の薬物感受性解析, 電子情報通信学会技術研究報告 NLP2004-40, pp. 1-6, 2004.
- [11] 永田清香, 土居伸二, 熊谷貞俊, 非線形心筋細胞モデルの大域的分岐構造と刺激応答特性について, 電子情報通信学会技術研究報告 NLP2005-23, pp. 41-46, 2005.
- [12] 永田清香, 高橋直之, 土居伸二, 熊谷貞俊, "非線形動的モデルを用いた心臓心室筋細胞の刺激応答特性と薬物感受性の解析," 電子情報通信学会論文誌 A, Vol.J89-A, No.12, pp. 1153-1167, 2006.
- [13] E. J. Doedel, A. R. Champneys, T. F. Fairgrieve, Yu. A. Kuznetsov, B. Sandstede, and X. Wang, "AUTO97: Continuation and bifurcation software for ordinary differential equations (with HomCont)," Technical Report, Concordia University, 1997.