

血管内皮細胞と平滑筋細胞を統合したマルチスケールモデルに関する研究

塚本 白 指導教員：神山 齊己

1 はじめに

血管壁内膜を構成する血管内皮細胞の機能 (以下, 内皮機能) は, 循環系の恒常性を維持するために重要な役割を果たしている. アテローム性粥状動脈硬化症 (以下, 動脈硬化) は段階的に進展し, その初期段階で内皮機能が低下することが知られている. そのため, 内皮機能を早期に診断することは動脈硬化の早期発見に繋がる事が期待される.

内皮機能を評価する非侵襲的な手法として, 血流依存性血管拡張 (FMD, Flow-Mediated Dilation) 検査がある. この検査は, 前腕部の駆血操作による上腕部の血流速度増大 (反応性充血) に対する血管拡張反応 (FMD 反応) を計測し, その拡張度合いから内皮機能を評価する. FMD 反応は, 血流刺激であるずり応力が内皮細胞を機械的に刺激し, 血管拡張物質である一酸化窒素 (NO) が産生され, 中膜を構成する平滑筋細胞に作用することで引き起こされる. しかし, NO などの生体内物質を直接測定することは非常に難しく, 内皮機能については信号伝達経路の複雑さから未だ不明な点が多い. FMD 検査では血流速度や血管径を経時的に計測しており, その時間変化に内皮機能に関する情報が含まれていると考えられる.

そこで本研究では, 血管内皮細胞と平滑筋細胞の統合モデルを構築し, ずり応力から血管径まで FMD の一連の反応をシミュレーション可能な数理モデルを構築する. 内皮細胞モデルでは, 先行研究により, 内皮 NO 産生の生理学的メカニズムを詳細に記述した数理モデルが構築された [1]. このモデルは, 任意のずり応力に対する細胞膜の変形量, それに伴う細胞内信号伝達物質 (IP3) 濃度の変化からカルシウムイオンをはじめとする細胞内イオン濃度の変化という過程を記述した. 平滑筋細胞モデルでは, 内皮細胞で産生された NO に対する 4 つの cGMP 経路を考慮したモデルが提案された [2]. 血管壁応力モデルでは, ミオシンの活性化を表すアクティベーションを計算することで血管径変化を導出する. モデルは, ずり応力による細胞膜変形量や血管径変化のようなマクロスケールから細胞内イオン動態のようなミクロスケールまで様々スケールのものを利用する. 異なるスケールのモデルを統合しマルチスケールモデルを構築することで, 一連の FMD 反応が再現可能となる. また, モデルの妥当性を評価するために, FMD 検査時の血流速度データを入力としてシミュレーションを行い, 血管径データとの比較を行った.

2 FMD 検査時の血流・血管壁動態

FMD 検査は, 非侵襲的に内皮機能を評価する手法である. この検査では, 5 分間の前腕部の駆血操作によって生じる, 上腕部の血流速度の上昇 (反応性充血) に対する血管拡張反応 (FMD 反応) を観測する. 図 1 は, 検査時の様子と観測される平均血流速度と血管径の経時的なデータを示している. FMD 検査時の観測データに対する経時的な特徴として, (1) 駆血中の血管径が安静時径より低い値をとる (L-FMC: Low-flow-mediated constriction), (2) 駆血解放直後に生じる反応性充血の約 10 秒後に血管径が拡張し始める, (3) 駆血解放後約 60 秒後に最大血管径となることが挙げられる.

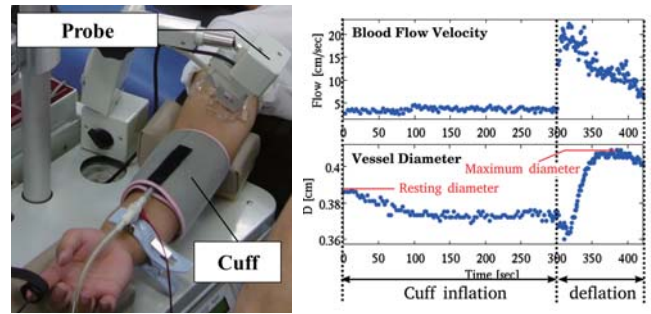


図 1 FMD 検査時の様子と観測データ (上:平均血流速度, 下:上腕動脈血管径).

FMD 反応は, 内皮細胞がずり応力が感知することにより産生される NO 濃度に依存している. NO 産生はずり応力に対して IP3 濃度と Ca^{2+} 濃度が上昇し, eNOS (endothelial NO Synthase) と呼ばれる NO 合成酵素が活性化することで生じる. また, 内皮細胞で産生された NO は隣接する平滑筋細胞に急速に拡散し, cGMP 産生酵素である sGC を活性化する. 平滑筋細胞における NO/cGMP 経路は重要な信号伝達経路であり, cGMP は cGMP 依存性プロテインキナーゼ (PKG) を活性化し, (1) 細胞内 Ca^{2+} 濃度の低下, (2) アクチン-ミオシン収縮系の脱感作を誘発する. 2 つの効果は平滑筋細胞を弛緩させ, それに伴い血管径を拡張させる.

3 マルチスケールモデルの構成

図 2 は構築したマルチスケールモデルの概略図である. FMD 反応におけるずり応力から血管径拡張までの一連の信号伝達経路をスケールごとに分類してモデリングしている. 赤は細胞の変形や血管径変化は物理的な量として計算し, 緑は電気的等価回路によって表現される電気生理学的で細胞内イオン動態を記述する. 青は細胞内カルシウムイオン濃度等から合成される NO 濃度や cGMP 濃度を化学反応式を利用して計算する. クロスブリッジモデルは筋収縮における化学反応的側面と力学的側面を併せ持つため, 相互のスケール変換の役割を果たす.

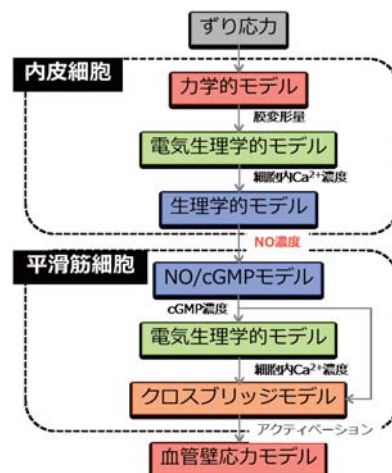


図 2 マルチスケールモデルの概略図

3.1 血管内皮細胞の NO 産生モデル

先行研究によって、内皮細胞のメカノセンシング機構をモデル化して、ずり応力に対する細胞内の生理物質動態についてシミュレーションが可能なモデルが構築された [1]。このモデルは力学的モデル、電気生理学的モデル、生理学的モデルの 3 つの要素モデルから構成される。力学的モデルは、ずり応力に対する内皮細胞の変形量を定式化し、物質の粘弾性を表現するケルビン体を用いて細胞にかかる力に対する各構成要素の変位を計算する。電気生理学的モデルは、力学的モデルによって計算された膜変形量を入力とし、シグモイド関数で近似することで IP3 濃度を計算する。その後、細胞内 IP3 濃度が変化した時の細胞内イオン動態を計算し、細胞内カルシウムイオン濃度を出力する。生理学的モデルでは、内皮 NO 産生メカニズムを 4 つの機能に分類し、その 1 つである Ca^{2+} 流入モデルに入力された細胞内カルシウムイオン濃度を与えることで NO 産生量を計算する。

3.2 中間平滑筋細胞モデル

血管平滑筋細胞における NO/cGMP 経路の数理モデルが、Yang ら [2][3] により提案された。平滑筋細胞にはミオシン繊維とアクチン繊維が存在し、2 つが相互に作用することで収縮・弛緩が行われる。それらは、MLCK(ミオシン軽鎖キナーゼ) 及び MLCP(ミオシン軽鎖ホスファターゼ) によってリン酸化されたミオシン軽鎖 (MLC) を活性化及び阻害することで制御される。NO/cGMP 経路は、主に二つの効果によって平滑筋細胞の弛緩に繋がると考えられている。

1. 細胞内 Ca^{2+} 濃度の減少
2. アクチン-ミオシン収縮系の Ca^{2+} 脱感作

(1) 細胞内 $[\text{Ca}^{2+}]$ の減少は、cGMP を介してイオン膜電流 (I_{KCa} , I_{CaL} , I_{CaP}) を制御することで、細胞外 Ca^{2+} の流入が減少するために生じる。(2) 収縮系の Ca^{2+} 脱感作は、MLC の脱リン酸化を制御する cGMP 依存の MLCP の活性化により行われる。

3.3 血管壁応力モデル

血管壁応力モデルは、クロスブリッジモデルで計算されるミオシンの活性化度合いに従った血管径変化を記述する、血管壁の物理的なモデルである [4]。

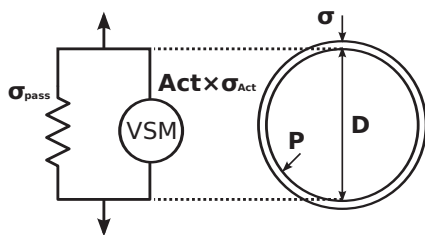


図 3 血管壁応力モデルの概念図

血管壁への全負荷は、非線形の受動的な負荷 (σ_{pass}) と最大活性時の負荷 (σ_{Act}) の和として計算される。アクティベーション Act はミオシンの活性度を表し、平滑筋細胞のクロスブリッジモデルから以下のように計算される。

$$Act = \frac{AMp + AM}{(AMp + AM)_{max}} \quad (1)$$

$(AMp + AM)_{max}$ は結合したミオシンの最大濃度である。

4 モデル評価

FMD 検査時に得られたずり応力を入力としてシミュレーションを行う。図 4(a)-(f) は、ずり応力、内皮細胞の膜変形量、内皮細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度、NO 濃度、平滑筋細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度、血管径を示す。ずり応力上昇に伴う NO 濃度上昇と血管径拡張に対する時間遅れは生理学的機序に従った応答であると言える。さらに、FMD 検査時の経時的な特徴も再現出来ることが確認出来る。

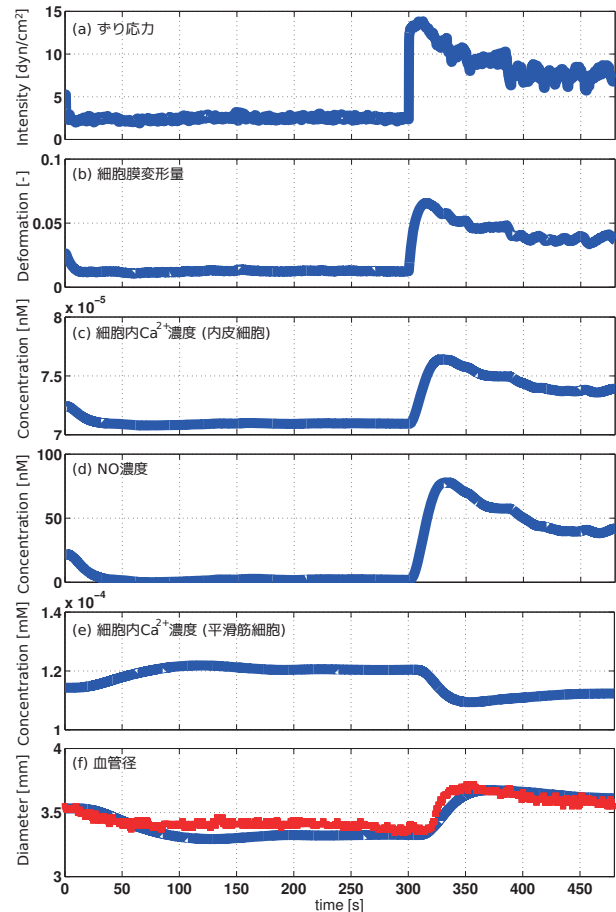


図 4 FMD 反応シミュレーション

5 おわりに

本研究では、内皮細胞と平滑筋細胞のモデルを統合することで、ずり応力から血管径変化までシミュレーション可能なマルチスケールモデルを構築した。モデルは、様々なスケールのモデルを統合することで FMD における一連の反応を再現可能とした。構築したモデルを用いることで、内皮細胞と平滑筋細胞が内皮機能に及ぼす影響を解析することに繋がると考えられる。

参考文献

- [1] Y. Ohashi et al., IEEJ Transactions on Electronics, Information and Systems, Vol.136, No.2, pp.116–122 (2015)
- [2] J. Yang et al., American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology, Vol.289, pp.H886–H897 (2005)
- [3] J. Yang, PhD Thesis, Rice University (2004)
- [4] Y. Yamazaki, Y. Kamiyama, Computers in Biology and Medicine, 45, 126–135 (2014)