

# 血管内皮細胞のずり応力刺激による一酸化窒素産生モデルの構築

小栗 愛弥 指導教員：神山 齊己

## 1 はじめに

循環器系疾患と呼ばれる血管に関する病気は日本人の死因の約4分の1を占めている。発症の大きな要因は、アテローム性粥状動脈硬化（以下、動脈硬化）であることがわかっており、早期発見ができれば、生活習慣を改善することによって抑制または正常な血管状態に戻すことが可能となる。動脈硬化の初期段階では内皮機能が著しく低下することが知られているため、内皮細胞の詳細な解析には、これらのメカニズムを記述した精密な数理モデルが大いに役立つと考えられる。

先行研究では、ずり応力刺激の印加から細胞内物質動態を詳細に記述した内皮 NO 産生モデル [1] が提案されたが、このモデルは短期的な細胞内物質の濃度変化は精巧に再現できているものの、長期的な濃度変化が再現できていなかった。

そこで本研究では、Sriram らによって構築された血管内皮細胞の一酸化窒素産生に関する生化学的モデル [2] に着目した。このモデルでは、先行研究で用いられたモデルには含まれていなかった、G タンパク質受容体の活性化による IP<sub>3</sub> の生成、PKC による eNOS のリン酸化、cGMP による容量性 Ca<sup>2+</sup> 流入の抑制についての記述が含まれており、その記述によって NO 濃度の長期的な濃度変化も再現できていた。しかし、Sriram らのモデルには力学的特性、電気生理学的特性が含まれていなかったため、これらの特性を統合して導入した。力学的特性の導入にあたっては、Mazzag らによって提案されたケルビン体ネットワークモデルを、電気生理学的特性の導入にあたっては、Silva らの平行コンダクタンスモデルを導入した。本研究の統合モデルによって、入力である任意のずり応力に対して、細胞構成要素の変形量、膜電位やイオン電流といった電気生理現象、IP<sub>3</sub> 濃度、細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度の急激な上昇、NO 産生といった細胞内化学種についてのシミュレーションができるようになった。

## 2 血管内皮細胞の NO 産生モデル

構築した内皮細胞の NO 産生モデルは、入力をずり応力刺激、出力を膜電位や、NO といった細胞内物質濃度としている。ずり応力刺激を受けてから細胞の各構成要素の経時的な変化を計算し、それに伴う各化学種を計算していく。図1は、統合モデルで記述する反応ネットワークを示したものである。

### 2.1 力学的モデルの導入

Mazzag らは、内皮細胞に力が加えられた際の内皮細胞の変位に関する計算手法を提案した [3]。これは、内皮細胞の物理的構成要素を、粘弾性を表現するケルビン体 (Kelvin body) とし各構成要素を直列または並列に接続することで細胞にかかる力に対する各要素の変位を計算するモデルである。本研究では、図2に示すような、インテグリン、細胞膜、アクチンフィラメントが直列に接続されたモデルとした。

このモデルから計算されたインテグリンの変形量を G タンパク質受容体の活性化割合  $[R^*]$  を決定する記述に導入し、式(1)で表した。また、細胞膜変形量は、PI3K の活性化に関わる、

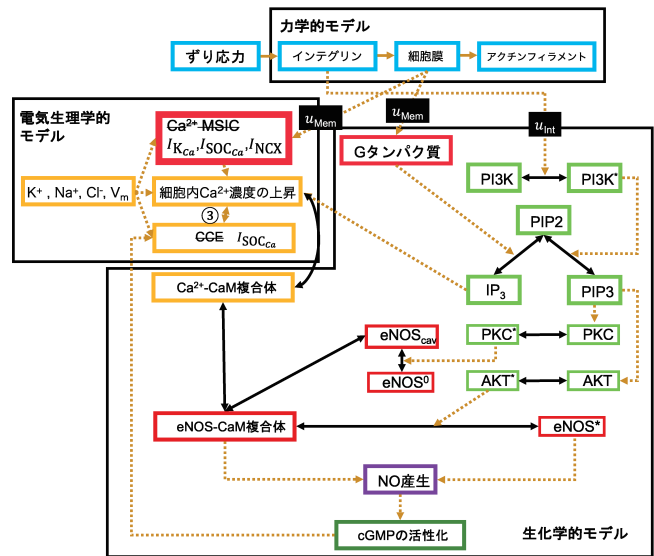


図1 統合モデルの反応ネットワーク

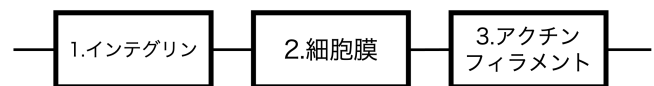


図2 インテグリン、細胞膜、アクチンフィラメントのケルビン体接続

PIP<sub>2</sub> の前進速度定数に導入し、式(2)で表した。

$$[R^*] = \tanh\left(\frac{\pi \times u_{Mem} \times 2 \times 10^3}{\Lambda}\right) \quad (1)$$

$$k_{PIP2}^+ = \frac{k_{IP}}{1 + \alpha_{PI3K}} \times \left[1 + \alpha_{PI3K} \exp(-\eta t) \tanh\left(\frac{\pi \cdot u_{Int} \times 10^3}{\sigma}\right)\right] \quad (2)$$

### 2.2 電気生理学的モデルの導入

Silva らは、内皮細胞膜における電気生理現象と、Ca<sup>2+</sup> 動態を統合した数理モデルを提案した [4]。図3に示す内皮細胞の細胞膜の電気的等価回路モデルで、電気生理学的特性を記述している。また、電気生理反応を経て変化する Ca<sup>2+</sup> 動態や、各種イオン、IP<sub>3</sub> のバランスを記述している。

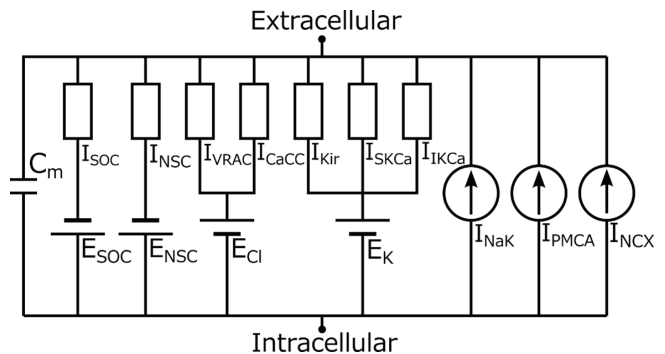


図3 内皮細胞膜の電気的等価回路

Sriram らの生化学的モデルのこの  $\text{Ca}^{2+}$  についての記述を、電気生理学的モデルの  $\text{Ca}^{2+}$  に関する記述に置き換え、そこに細胞膜変形量を導入することで統合モデルを構築する。

細胞膜の機械的刺激を受け、 $\text{Ca}^{2+}$  動態に重要な役割を果たすイオンチャネルに関する記述に、細胞膜変形量を組み込む。具体的には、 $I_{\text{KCa}}$  チャネルの最大コンダクタンス、SOC の透過率、NCX のコンダクタンスを以下の式で表すことで実現する。

$$G_{I_{\text{KCa}}}, SS = \frac{10 \times G_{I_{\text{KCa}}}}{1 + 2 \exp(-u_{\text{Mem}} \times 10^3)} \quad (3)$$

$$P_{\text{SOC,Ca}}, SS = \frac{2 \times P_{\text{SOC,Ca}}}{1 + 2 \exp(-u_{\text{Mem}} \times 10^3)} \quad (4)$$

$$g_{\text{NCX}}, SS = \frac{2 \times g_{\text{NCX}}}{1 + \exp(-u_{\text{Mem}} \times 2 \times 10^3 - 10)} \quad (5)$$

### 3 シミュレーション結果

統合モデルのシミュレーションを行った。ずり応力入力刺激は 6, 10, 20 [dyne/cm<sup>2</sup>] のステップ入力である。

シミュレーション結果を図4~8に示す。ずり応力入力(図4)に対して細胞膜が変形し(図5)、それに伴い膜電位の過分極(図6)、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の急激な上昇(図7)と NO が産生(図8)されている様子が再現できている。また、時間スケールを大きくすると、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度は 10<sup>3</sup>[sec] 頃までには定常状態に戻り、その定常値はずり応力入力前の初期値よりも高い状態になっている。また、NO 濃度は、ずり応力を与え続けている限りは濃度が上昇するということが生理実験より明らかになっており、図8より、その特性が再現されている。つまり、NO の短期的な濃度上昇のみならず、長期的な濃度上昇も再現できているということである。

### 4 おわりに

本研究では、長期的な細胞内物質動態のシミュレーションが可能な内皮細胞 NO 産生生化学モデルに、力学的特性と電気生理学的特性を導入し、統合モデルを構築した。入力である任意のずり応力に対して、細胞構成要素の変形量、膜電位やイオン電流といった電気生理現象、IP<sub>3</sub> 濃度、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の急激な上昇、NO 産生といった細胞内化学種についての長期的なシミュレーションができるようになった。

また、モデルの改良点としては、平滑筋細胞モデルと統合するということが挙げられる。また、本研究ではずり応力を一定の状態を入力としているが、例えばカフ圧を繰り返し変化させた時のシミュレーションができるよう入力を改良すると、シミュレーションを経て、新たな細胞内物質動態の特性などが見えてくるかもしれない。

### 参考文献

- [1] 大橋 悠司, 「血管内皮細胞の NO 産生マルチスケールモデルに関する研究」, 平成 27 年度修士論文 (2016)
- [2] K. Sriram et al., "Shear-induced nitric oxide production by endothelial cells", *Biophysical Journal* (2016)
- [3] Bori M. Mazzag et al, "A Model for Shear Stress Sensing and Transmission in Vascular Endothelial Cells", *Biophys J.* 2003 Jun
- [4] H. S. Silva et al, "A mathematical model of plasma membrane electrophysiology and calcium dynamics in vascular endothelial

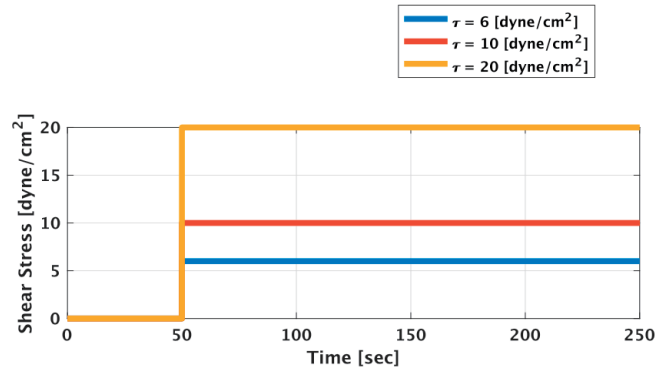


図4 入力ずり応力

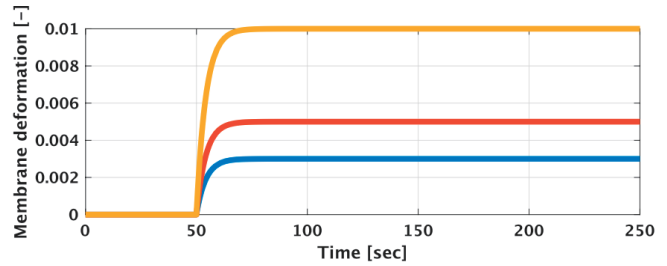


図5 細胞膜変形量

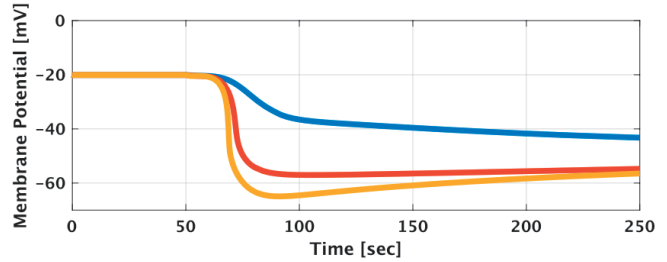


図6 膜電位応答

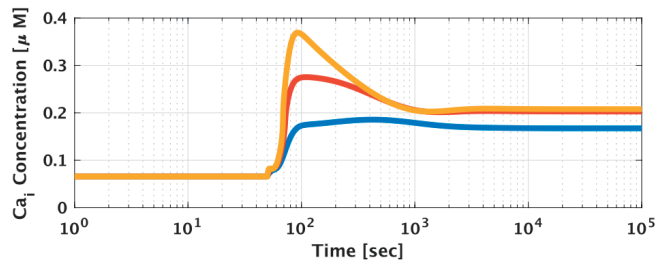


図7 細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度変化 (長期スケール)

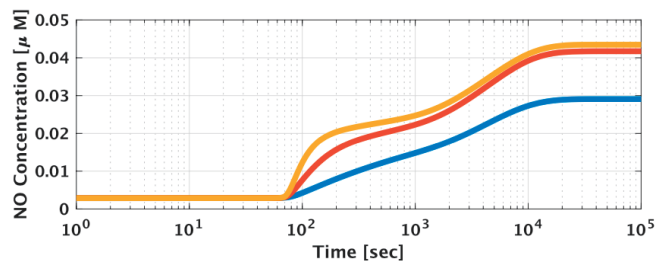


図8 NO 濃度変化 (長期スケール)

cells", *American Journal of Physiology* (2007)