

卒業論文

心筋細胞内微細構造の実形状を用いた
電気生理現象の解明

平成 31 年 2 月 1 日提出

指導教員 波田野 明日可 講師

170234 橋本瑞樹

心筋細胞内微細構造の実形状を用いた電気生理現象の解明

橋本瑞樹 指導教員:波田野明日可 講師

Key words: biomedical simulation, realistic geometry, reaction-diffusion analysis, FEM, calcium

1. 緒言

日本人の死亡原因のうち、15%を心筋梗塞、狭心症、心不全などの心疾患が占めている[1]。これらの症状は虚血が1つの原因となって起きている。虚血時には、ミトコンドリアの凝集や微細化[2]など、形態的な変化が報告されているものの細胞機能との因果関係は明らかにされていない。その構造自体に病気を根本的に治す手掛かりがある可能性は十分にある。

本研究では、先行研究[3]においては用いられていなかった心筋細胞内小器官の実形状を模したモデルを用いることで、より現実に近い解析を試みる。そして、波田野が使用した研究室プログラムをベースに使用しシミュレーションを用いて、心筋細胞内での物質の拡散現象を再現し考察する。

2. 筋小胞体のモデル化

本研究で用いた実形状モデルは、当研究室の田中が作成したもので、マウスの心筋細胞のCT画像から、位置、形状を取り出している。細胞膜、筋原線維、横行小管(T管)、ミトコンドリア、リアノジン受容体が隣接する空間(dyad)の形状が得られたが、筋小胞体(SR)はその細胞内小器官の中でも更に微細なものであり抽出は難しかった。SRは心筋細胞の中でも Ca^{2+} の貯蔵、放出に関わる重要な役割を持つため、この器官を再現する必要性があった。SRは筋原線維の表面に網目状に広がっていることが知られているため、筋原線維の表面全体を一様にSRと定義づけることによって再現することにした。

3. 3次元空間における平面拡散解析

SRは平面として捉えることになった。よって物質が平面上で拡散することになるため3次元空間上における平面での拡散方程式を解く計算式を作成した。

$$\partial C_b / \partial t = -[M]^{-1} \int dN_a / dx_i D_{ij} dN_b / x_j dV C_b \quad (1)$$

(C:濃度 D:拡散係数 M:質量マトリクス N:形状関数)

この計算式を用いたコードの有効性を確認した。このコードを用いて平面で1点から円形に拡散していく様子を解いた。それが無限円筒における一次元定常熱拡散方程式によって表される状態と近似できるとし、理論式として比較した。方程式を解き、中心点における濃度の値が常に1、最外縁が常に0である境界条件を与えると次のようになる。

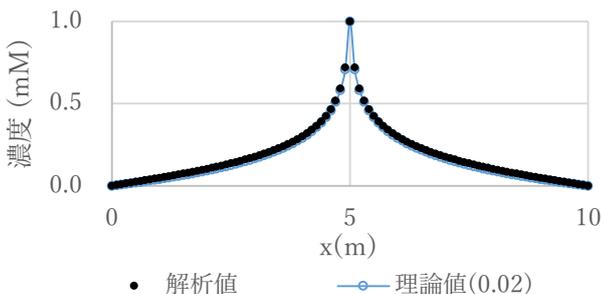


Fig 1: 解析値と理論値による拡散の様子

ただし r_1 : 円筒内側表面までの距離 r_2 : 円筒外側表面までの距離、である。今回与えた境界条件において値を固定した節点の影響範囲として $r_1 = 0.02$ を代入すると Fig.1 に示すように、解析値と理論値がほぼ一致する結果が得られた。以上より、作成したコードの有効性を確認することが出来た。

4. 実形状モデル解析

実形状モデルを用いて、 Ca^{2+} の反応拡散解析を行った。反応拡散方程式を弱形式化した以下の式を用いた。

$$\partial C_b / \partial t = -[M]^{-1} \int dN_a / dx_i D_{ij} dN_b / x_j dV C_b + f(C_b) \quad (2)$$

右辺第2項は反応項を示しており、各細胞内小器官からの物質の放出、吸収を表す。 Ca^{2+} の拡散係数は軸方向に0.300、それと垂直方向に0.188とした[3]。初期値はJSRにおいて0.060 μM 、それ以外において、0.055 μM とした解析結果を Fig.2 に示す。

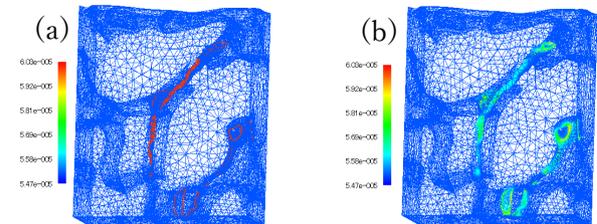


Fig 2: 初期状態(a), 0.92 μs 後(b)

JSR から初期濃度勾配に従って拡散していることが確認できた。しかしながら今回解析に必要なタイムステップが $1.E-10$ と非常に細かくなってしまった。これは幾何メッシュで用いていたタイムステップより6桁も小さいものである。メッシュが細かくなりクーラン条件による制約が厳しくなったことが一因と考えられるが、最小メッシュサイズの違いはせいぜい3桁であり、タイムステップの制約の問題については更なる検討が必要である。上記理由により実時間200ms分の解析を必要とするSRからの Ca^{2+} 放出現象の再現解析は実現できなかった。

5. 結言

今後の課題として、メッシュの精度を向上させ解析が進みやすく改善することともに、陽解法とは別に陰解法を用いて解析し、陽解法で得られた結果と比べる必要がある。

参考文献

- [1] 厚生労働省, 平成29年人口動態統計 第6表 死亡数・死亡率(人口10万人対), 死因簡単分類別, (2017)
- [2] Maloyan et al., "Mitochondrial dysfunction and apoptosis underlie the pathogenic process in α -B-crystallin desmin-related cardiomyopathy", Circulation, (2005), Vol 112, pp. 3451-3461
- [3] 波田野明日可, "心筋細胞の微細構造を考慮した電気生理・代謝・力学統合マルチフィジックスシミュレーション"東京大学博士論文(2012)

目次

第1章 序論.....	6
1.1 研究背景.....	6
1.2 既存の研究.....	7
1.2.1 心筋細胞における電気生理・力学連成解析に関する先行研究.....	7
1.2.2 心筋細胞の実形状モデル用いた先行研究.....	7
1.3 研究目的.....	9
1.4 本論文の構成.....	9
第2章 心筋細胞.....	10
2.1 概要.....	10
2.2 細胞膜.....	10
2.3 横行小管.....	11
2.4 筋小胞体.....	11
2.5 筋原線維.....	11
2.6 ミトコンドリア.....	12
第3章 筋小胞体の簡易モデル化.....	13
3.1 SRのモデル化.....	13
3.2 モデル化による影響の考察.....	15
第4章 空間における平面拡散解析の妥当性評価.....	16
4.1 緒言.....	16
4.2 定常状態評価.....	16
4.2.1 緒言.....	16
4.2.2 使用モデル.....	16
4.2.3 解析条件.....	17
4.2.4 用いた計算式.....	17
4.2.5 結果.....	20
4.2.6 考察.....	22
4.3 過渡応答評価.....	23
4.3.1 緒言.....	23
4.3.2 使用モデル.....	24
4.3.3 解析条件.....	24
4.3.4 用いた計算式.....	24
4.3.5 結果.....	26
4.3.6 考察.....	28
4.4 結言.....	28

第5章 実形状モデル解析	29
5.1 実形状モデル	29
5.2 反応拡散計算	32
5.3 結果.....	33
5.4 考察.....	34
5.4.1 緒言	34
5.4.2 メッシュと解析方法	35
5.4.3 課題.....	35
第6章 結言	37
第7章 謝辞.....	38
第8章 参考文献.....	39

図目次

図 1: 心筋細胞のイメージ.....	10
図 2: 筋原線維全体の形状.....	14
図 3: 筋原線維の表面.....	14
図 4: 計算式の確認に使用した平面モデル.....	16
図 5: 拡散途中における様子.....	20
図 6: 定常状態における拡散の様子.....	21
図 7: 定常状態における拡散分布.....	21
図 8: メッシュと濃度の模式図.....	22
図 9: 濃度と体積の概念図.....	22
図 10: 四角錐と円柱の関係のイメージ図.....	23
図 11: 過渡応答解析モデル.....	24
図 12: 過渡応答解析におけるモデルの初期状態.....	26
図 13: 拡散途中における様子.....	27
図 14: 過渡状態における拡散分布.....	27
図 15: マウスの心筋細胞の実形状モデル.....	29
図 16: 解析に使用したモデル(全体外観).....	30
図 17: 筋原線維の形状.....	30
図 18: ミトコンドリアの形状.....	31
図 19: 膜と T 管の形状, 膜と dyad が付属した T 管の形状.....	31
図 20: 実形状モデルにおける反応拡散の様子(初期状態).....	33
図 21: 実形状モデルにおける反応拡散の様子(0.02 μs 間隔).....	33
図 22: 実形状モデルにおける反応拡散の様子(0.92 μs 後).....	34

表目次

表 1: 死因簡単分類別にみた死亡数(対 10 万対)と割合.....	6
表 2: 拡散係数.....	32

第1章 序論

1.1 研究背景

日本では年間約130万人もの人が亡くなっており、その死因の最も多くを占めるものはガンであるが、心疾患はその次に多く、約15%を占めている [1]。心疾患のうち心筋梗塞や狭心症などの血流が局所的に少なくなる'虚血'を原因とする疾患は、平成29年厚生労働省の調査によるとその約34%に及んでいる(表1)。さらに、虚血状態になることによって心筋の収縮力低下が引き起こされ、心臓の機能低下が起これば心不全となる場合(虚血性心不全)もあるため、その割合はさらに大きいといえる。

死因	死亡数(人)	割合(対心疾患)
心疾患(高血圧性を除く)	204,837	
急性心筋梗塞	34,950	17.1 %
その他の虚血性心疾患	34,907	17.0 %
心筋症	4,024	2.0 %
不整脈及び伝導障害	30,148	14.7 %
心不全	80,817	39.4 %
その他の心疾患	19,991	9.8 %

表 1:死因簡単分類別にみた死亡数(対10万対)と割合 [1] 厚生労働省資料より作成

虚血時、心筋細胞においてはミトコンドリアの凝集や微細化 [2]、横行小管の消失 [3] などの細胞の形態的な変化が報告されている。しかし、その形態の変化と心筋細胞の機能低下の因果関係は未だ明らかにされていない。虚血時の心筋細胞を実際に観察することは患者への負担も考えれば容易なことではなく、それもこの分野における未解明な部分が多いことの要因といえるだろう。また、力学現象と生理学現象が複雑に絡みあって生じる心筋細胞の収縮・弛緩は実験から有効なデータを得るのは難しいだろう。もしこの因果関係が明らかになれば虚血性心疾患に関しての新たな理解が深まり、新しい治療法の考案につながるかもしれない。心臓医療の発展においてこの因果関係は重要な意味をもつ。本研究では数値解析によって心筋細胞内での現象を再現することによってこの因果関係に迫っていく。

1.2 既存の研究

1.2.1 心筋細胞における電気生理・力学連成解析に関する先行研究

心筋細胞内の細胞小器官の明示的モデル化と、力学的収縮現象と電気生理学モデルとの双方向連成の実現が東京大学の波田野によって行われた [4]。この研究において筋原線維は直方体の図形に近似され、力学現象と電気生理学現象の連成解析が行われ、 Ca^{2+} やその他の物質についての細胞内における濃度変化や空間分布、膜電流において実験値との一致が見られた。連成解析によって筋繊維の収縮現象から細胞内物質の拡散まで、心筋細胞の挙動について細かく分析がなされている。それまでの研究では心筋細胞は微細なものとしてその内部での物質の空間分布は無視され細胞内を1点として捉えたものが多かったため、電気生理現象をより具体的に計算したモデルになったといえる。

しかし、計算量を抑えるためにモデルに周期性や対称性の仮定が設定されたモデルを使用しており、実際に存在する心筋細胞の形状を十分に模擬しているとは言い難い。安易な形状の簡易化は現象のキーとなる要素を見落としてしまう可能性がある。

1.2.2 心筋細胞の実形状の影響に関する先行研究

P. Kohl らのグループは心筋細胞の電子顕微鏡トモグラフィの3次元再構築より、細胞内微細構造の形態の特徴や、収縮による影響について多くの報告を行っている。ROG-ZIELINSKA らは、収縮状態、弛緩状態、引張状態の3状態のウサギの心臓を固定し、その電子顕微鏡画像よりミトコンドリアの力学状態の変化による形状変化について論じている [5]。電子顕微鏡での撮像のため、撮影時に細胞は固定、つまり死んでおり、同一の細胞を異なる収縮状態で観察することはできない。そのため統計的な比較が行われており、ミトコンドリア形状は筋原線維方向に長軸を持つ楕円体と近似した際の長軸・短軸長さとして評価されている。収縮状態ではミトコンドリア短軸長さが増大し、筋原線維間の距離が著しく増大する一方、引張状態ではミトコンドリアの長軸長さが大きく増大する結果となっており、ミトコンドリアの変形挙動は細胞全体の変形状態と相関する結果が得られている。波田野らの理想化形状シミュレーションからも同様の結果が得られており、ミトコンドリア領域の非圧縮の仮定、また心筋細胞内部が連続的に変位する、つまりミトコンドリアと筋原線維の間に大きな滑り変形が生じないという仮定の妥当性を示していると考えられる。P. Kohl らのグループではT管に関しても同様の手法・また蛍光顕微鏡を改良した手法等を用いて力学的変形の微細構造変形への影響を評価している。これまでは微細構造の力学的応答に関しては細胞全体の次元的な応答のみを実験と合わせることで妥当性を評価してきたが、個々の微細構造の力学的応答解析に関しても、妥当性確認が可能になってきている。

Hayashi らはマウス心筋細胞の電子顕微鏡3次元トモグラフィより、ミトコンドリアとSRの膜構造の物理的な接触について報告している [6]。この接触はSRからのCaシグナルをより直接的にミトコンドリア内に伝える役割を果たすと考えられている [7] [8]。ミトコンドリア内Caはクエン酸回路を促進することでミトコンドリアのATP生産をup-

regulation することが知られており，SR の Ca 放出の増大を素早くミトコンドリアに伝えることは，ATP 需要増大への応答を FeedForward に行うシステムととらえられている。ミトコンドリアと JSR 間の距離がミトコンドリア内 Ca，ひいては細胞の ATP 供給に及ぼす影響は簡易形状の解析で波田野らにより検証されているが，実形状は遥かに複雑であり，形状に関する理想化がどの程度現象に影響を及ぼしているかは定かではない。複雑な微細構造内での物質の反応や拡散に関して細胞内小器官の配置の意義を捉えつつ考えることは重要である。実形状を用いることによって実際の空間配置を考慮し，入り組んだ構造のもつ生理学的意義を考慮した解析が必要である。

電子顕微鏡トモグラフィより心筋細胞内小器官のうちミトコンドリア，筋小胞体，横行小管の器官の実形状を用いたモデルを作成し，細胞内での Ca^{2+} の反応，拡散現象を解析し， Ca^{2+} スパーク時における Ca^{2+} の空間分布や拡散時間についての報告が Hake らによってなされた [5]。実形状モデルを用いているため，物質の拡散現象について実際の現象を再現したものになっている。 Ca^{2+} スパークは膜の脱分極に伴う Ca 放出ではなく，偶発的・局所的に生じる Ca^{2+} 放出現象のことである。 Ca^{2+} と Ca^{2+} 可視化蛍光染料との間の反応解析を含めることで，それまでのモデルで表現できなかった JSR 内の局所的 Ca^{2+} 減少の再現に成功している。しかしながら，この解析における実形状が用いられた拡散現象の解析ではミトコンドリアはその形状が存在するのみで，ミトコンドリアによる Ca^{2+} 調節やその内部における反応拡散は考慮されていない。また，筋原線維や細胞膜といった部分はモデルの中に含まれておらず，心筋細胞の電気生理・力学現象の中での実微細形状の影響評価には至っていない。

実形状を模擬したシミュレーションとしてはその他に Rajagopal らの研究が挙げられる [10]。彼らは 1 細胞より半筋節分に関して，EM トモグラフィよりミトコンドリアと筋原線維を取り出したメッシュを作成している。筋小胞体や T 管等の微小な形状に関しては，統計的に得られたミトコンドリアや筋原線維との距離関係より仮想的に与えることで模擬し， Ca^{2+} 反応拡散の解析を行っている。T 管との位置関係が SR の Ca 放出に大きく影響を与えるとされているため，上記のような微小形状の近似は，正常細胞の再現は可能であっても病態細胞の再現には多くの仮定が必要となり，形状を抽出した意義が低下してしまうと考えられる。

T 管の形状に関しても関心は高い。Uchida らは実験的に T 管内部からの拡散速度の測定と，形状に関しては簡易的なシミュレーションを用いて，T 管の電気生理的特性の評価を行った [11]。マウス等げっ歯類の心筋細胞の T 管は多くの部分が約径 200 nm 程度であるが，細い部分（～径 20 nm）と，逆にドームのように広がった洞部分（～径約 600 nm）から構成されている。一般部だけで構築したネットワーク構造，洞を含む構造，狭窄部を含む構造，両方を含む構造を用いたシミュレーションの結果，洞・狭窄両方の存在により T 管の実験的に得られる拡散的・そして電気的特性を再現できると結論付けており，形状の評価の重要性が示されている。

1.3 研究目的

簡易的な形状による心筋細胞をモデル化・解析や、いくつかの器官を実形状を用いて細胞内での物質の拡散を解析がなされてきたのがこれまでの研究であった。だが、心筋細胞内の小器官はそれら自体が小さな細胞内で複雑な配置関係をとっている。生物がそのような配置をもつまでに進化してきたことを考えると、そこには重要な意味があると考えられる。この分野の研究においてそれを考えていくことは重要である。また、近似され対称形に小器官が並べられた形状では細胞内小器官の存在による物質拡散の阻害を考慮できない。実形状を用いた解析を行うことでこの構造を捉えることには十分な意味がある。

そこで本研究では、実際の細胞小器官の形状・配置に即したモデルを用いて解析を行う。当研究室の波田野らが作成した電気生理解析プログラムをベースに用いて、それを実形状モデルに対しても使用できるように書き換える。心筋細胞内の主な器官が再現された実形状モデルを用いて、細胞内での物質の反応や拡散を解析し、拡散の様子や分布についての特徴を考察することによって、心筋細胞内での物質の移動、挙動を分析する。

1.4 本論文の構成

以下に本論文の構成を述べる。

第2章では、心筋細胞の興奮収縮連関に関して各々の細胞内小器官がどのような役割を果たすかを示しながら、本研究において着目する反応拡散現象に関連して Ca^{2+} が主にどのように動いていくかを簡単に説明する。

第3章では、筋小胞体の再現とそれについての考察を行う。

第4章では、本研究用に作成した計算式の説明と考察を行う。

第5章では、心筋細胞の実形状モデルを用いた反応拡散について説明する。

第6章では、結言を述べる。

第2章 心筋細胞

2.1 概要

心筋は、二の腕の筋肉や腹筋などが例として挙げられる骨格筋と比べると、随意的に動かせるかどうか、単核か多核かという違いだけではなく、細胞1つの構造や収縮メカニズムにも若干の違いがあると考えられている。心筋細胞は長さ約 $100\ \mu\text{m}$ 、直径約 $10\ \mu\text{m}$ の柱状の構造をしている。細胞内部に直径約 $1\ \mu\text{m}$ の筋原線維が複数の束となって存在し、これらの筋原線維が収縮・弛緩することで心筋全体が収縮する。心筋細胞内の体積の約半分を筋原線維が占めており、その残りの体積の半分以上をミトコンドリアが占めている。筋原線維は繰り返し単位をもち、これはサルコメアと呼ばれており、約 $2\ \mu\text{m}$ の長さをもつ。心筋と骨格筋は横紋筋と呼ばれ、その名の通り、観察すると繰り返し単位に合わせて明暗の横紋がみられる。この暗い部分をZ帯と呼び、サルコメアの両端をなす部分となる。

心筋の収縮に関して、脳からの電気刺激を受け動くシグナル伝達の役割を Ca^{2+} が担い、 Ca^{2+} が収縮現象を直接制御しているといえる。

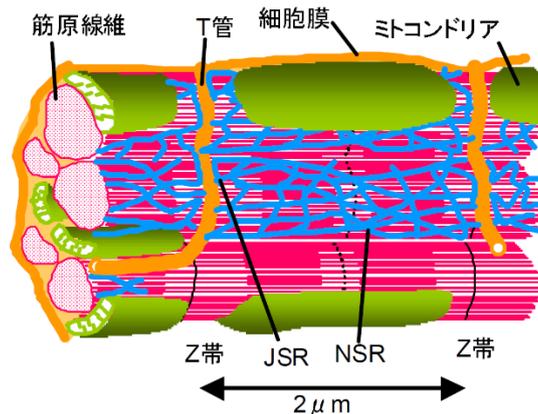


図 1: 心筋細胞のイメージ [4]

次項から、本研究において注目する細胞内での物質の拡散に関して、主に Ca^{2+} がどのように動き、諸器官にどう作用するかを説明する。

2.2 細胞膜

脂質二重層によって構成され、細胞内外を隔てる生体膜である。脳からの電気刺激によって膜電位が変化し、一細胞の収縮現象において最初に反応を起こす器官といえる。 Na^+ チャネルや Ca^{2+} チャネルを持っており、細胞内外の濃度勾配に逆らった能動輸送を行う。この膜の存在によって、細胞内外の Ca^{2+} の濃度に大きな差をつけることが可能になっている。

2.3 横行小管(T管)

筋細胞の細胞膜が内部へ陥入することによって出来る管状の膜構造のことである。細胞膜と一つ続きの構造となっているため細胞膜への電気刺激はこのT管にも同様に伝わり、電気刺激を細胞内部にまで伝える役割を果たしているといえる。表面には細胞膜と同様なイオンチャネルを持つ。この陥入した構造はZ帯付近にみられ、この構造によってT管上のイオンチャネルがほぼ同時に開くことが可能になるため、細胞膜に近い心筋細胞も細胞内部にある心筋細胞も同時に収縮することが出来る。

2.4 筋小胞体(SR, Sarcoplasmic Reticulum)

筋原線維を囲むように細胞内に配置されている小胞体で、その内部には基本的に Ca^{2+} が蓄えられている。細胞内の体積の半分以上を占める筋原線維の周りにまとわりつくように存在している [12]ため、細胞全体に広く分布しているといえる。そのうちT管に向き合っている部分を特に Junctional SR(JSR)と呼び、それ以外の部分を Network SR(NSR)と呼ぶ [13]。JSRとそれに向き合うT管の一部分には Ca^{2+} 放出口(CaRU, Calcium Release Unit)が形成されている。CaRUはT管側のL型カルシウムイオンチャネル(LCC)とJSR側のリアノジン受容体(RyR, Ryanodine Receptor)からなる。LCCは膜電位変化によって開く Ca^{2+} チャネルであり、RyRは Ca^{2+} 濃度変化によって開く Ca^{2+} チャネルであり2つの挙動は異なるものとなる。このCaRUが存在するT管とJSRの間の僅かな隙間を dyad と呼ぶ。

先ほど、 Ca^{2+} がシグナル伝達の役割を担うと説明したが、上のLCCとRyRのうち筋収縮により関与するのはRyRからの Ca^{2+} 放出の方である。電気刺激によりLCCが開き、T管の膜を通して細胞外から細胞内へ Ca^{2+} が流入するが、これには筋収縮を引き起こすための十分な量はない。このdyadへの Ca^{2+} の流入によって、CaRU付近における Ca^{2+} 濃度が局所的に上昇し、RyRに Ca^{2+} が結合しRyRが開く。この時、JSRからNSRまでSR全体に蓄えられた Ca^{2+} がRyRを通してdyadに大量に流出していく。この大量の Ca^{2+} が細胞質全体に拡散していき、細胞内全体の Ca^{2+} 濃度が高まり、筋原線維に Ca^{2+} が結びつくことによって収縮現象が発生する。

収縮が終わると筋原線維から Ca^{2+} が外れていき、その大量の Ca^{2+} 中には濃度勾配により細胞外に出ていくものもあるが、NSRの表面全体を通してSR内に取り込まれていくものもある。こうしてSRでは筋収縮が終わるたびに Ca^{2+} が蓄えられ、次の収縮に備えるようになっている。

2.5 筋原線維

心筋細胞の大部分を占める収縮現象の核となる部分で、繊維1本1本が2種類の異なるフィラメントを持っているが、その2つを区別することは細胞内の電気生理現象に影響しないため、本研究のモデルにおいては同一の一本の繊維として細胞内に配置されている。

先ほども言及したが、収縮時にはこの部分が Ca^{2+} と結びつき、弛緩時にはここから Ca^{2+} が放出される。

2.6 ミトコンドリア

細胞の活動エネルギーである ATP を生成する細胞内小器官で、二重膜構造をしており、内側の膜はマトリクスと呼ばれ、ひだ状に折りたたまれている。

Ca^{2+} 濃度によって ATP の生産の調節を受け、またミトコンドリア自体も Ca^{2+} を吸収したり排出したりするイオンチャンネルを持っている。

第3章 筋小胞体の簡易モデル化

3.1 SR のモデル化

今回の解析では、実形状モデルでは表現されていない SR を筒状の筋原線維の表面全体に定義し、その表面上で物質の拡散を解いた。

細胞内小器官の 1 つである SR の役割は既に説明した通りであるが、SR は筋原線維の表面全体に網のように枝分かれを繰り返しながら広がっていることが知られている。

今回の解析において用いた実形状モデルでは筋原線維の形状は再現することが出来ている。しかし、SR の形状については残念ながら再現にまで至っていない。今回使用したモデルは CT 画像から目視で確認しながら作成されているが、SR は小さな細胞の中でもさらに微細な器官であり見分けるには現状では限界があった。おおよその位置は把握されているものの、位置を特定したり他の器官と区別したりするのは困難であった。

細胞内での物質の拡散を解く上で SR はその役割上、不可欠である。そこで SR が網目状に分布していることに注目して模擬的に再現した。SR が筋原線維の付近に一様に存在する様子を再現するため、筋原線維の表面全てを SR であるとした。こうすることで筒状の筋原線維の表面全体を SR の膜が覆っている状態を再現することが出来た。 Ca^{2+} が SR 内で移動し拡散していく様子はこの筋原線維の表面上のみで拡散する様子で再現した。解析の際は、わずかな厚みをわざと与えて、3次元で用いる計算式を適応しやすくした。

JSR に関して、dyad の配置は画像から取り出すことが可能だったため、モデル中では dyad の位置が明示されている。よって SR のうち dyad との境界面にあたる SR を JSR と定義し、その他の SR は NSR と定義した。

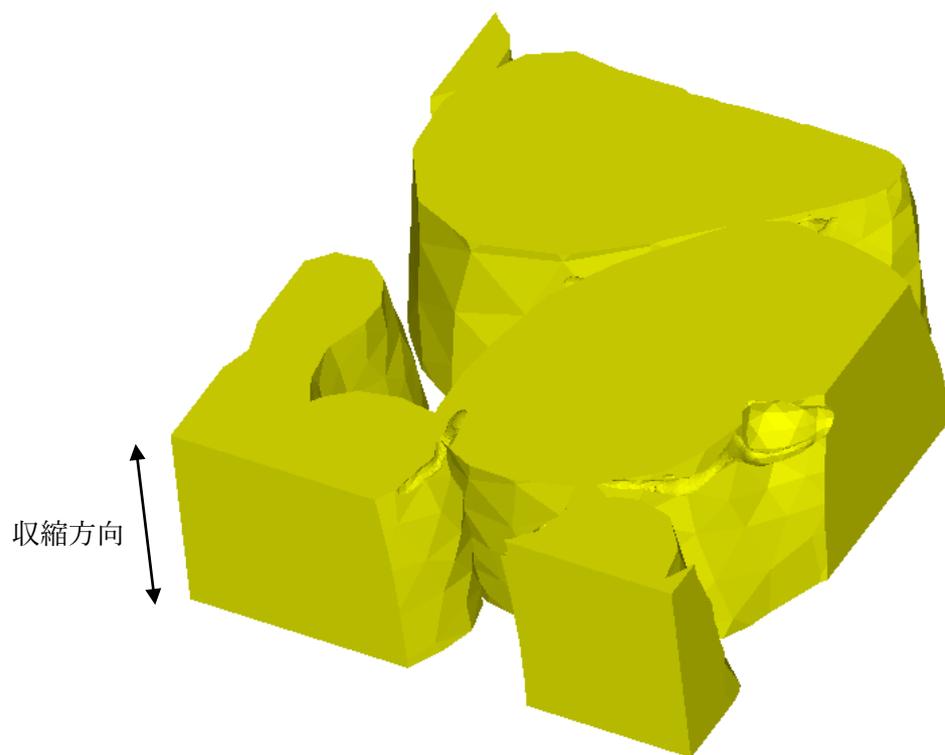


図 2: 筋原線維全体の形状

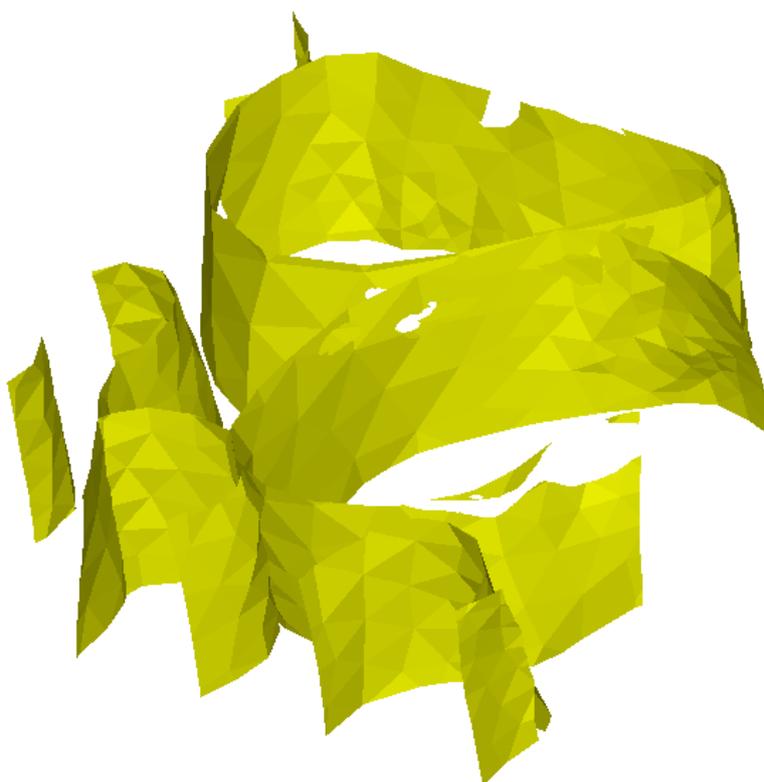


図 3: 筋原線維の表面(SR を定義した位置)

3.2 モデル化による影響の考察

SR をこのように簡易化することによって勿論, 実際の形状との差が生まれてしまう. NSR は網目状に存在しているが, 本解析では筋原線維の表面全てを SR と定義していることによって, その'網目'を正確に再現することは出来ない. NSR は Ca^{2+} をその表面より内部へ取り込む. 他の取り込まれない物質にとって NSR の空間配置が細胞質内を拡散する際の多少の障害になると考えられる. また, Ca^{2+} も NSR 付近とそれ以外の細胞質での拡散の挙動は全く同様であるとは考えにくい. つまり, 筋原線維の表面全体に一様に NSR を定義することによって, 筋原線維付近での NSR の有無による物質の挙動の差を無視することになる.

本研究では, SR は CT 画像中より目視で確認することが難しいほど微細な構造であり, 物質の拡散に対するその空間配置による影響は, ミトコンドリアなど他の細胞内の小器官に比べればとても小さいものだと考えた. また, 網目構造を再現するために, SR を筋原線維上に網目状に配置する方法も考えられる. だが, 方眼紙のように規則的に並べたり, 逆に無作為に穴があいているように配置したりしたとしても, 外見上は実形状のようにみえることもあるが, 実際は実形状に即した形状の小器官の中に人工的に作成した構造が存在するものとなる. 他の構造との関係性も考慮すると, 人工的なものである限り SR の構造上の意味を捉えきるのは難しいと考える. 現状, SR は人工的に作成するより他ないため, その SR が筋原線維の表面全体に広がっていることを満たしてさえすれば, 結果に多少の違いはみられても, その科学的意味に差はあまりないと考える.

したがって, この簡易化の影響はさほど大きくないと判断し, この方法を採用した.

第4章 空間における平面拡散解析の妥当性評価

4.1 緒言

モデル内の各要素の表面は三角形(CST)要素となっている。筋原線維の表面、つまりSR内を物質が拡散する様子を解くためには3次元空間上のCST要素における拡散方程式を解く必要があった。それを解くために計算式を作成した。そしてその計算式の有効性を簡易的な条件下で確認した。作成した計算式によって定常状態になるまで拡散を解いたもの、過渡過渡応答を解いたもののそれぞれを、理論式から導かれる値と比較した。

4.2 定常状態評価

4.2.1 緒言

ある1点の濃度を固定、つまり、無限に湧き出す1点を定義し、そこから円形に拡散していく様子を想定した解析を行った。

4.2.2 使用モデル

1辺の長さ10mの正方形に、斜辺ではない一辺の長さが0.10m直角二等辺三角形が規則的に並ぶようにメッシュを切った平面上で、無限に物質が湧き出す中心点から全体へ物質が拡散していく様子を解いた。

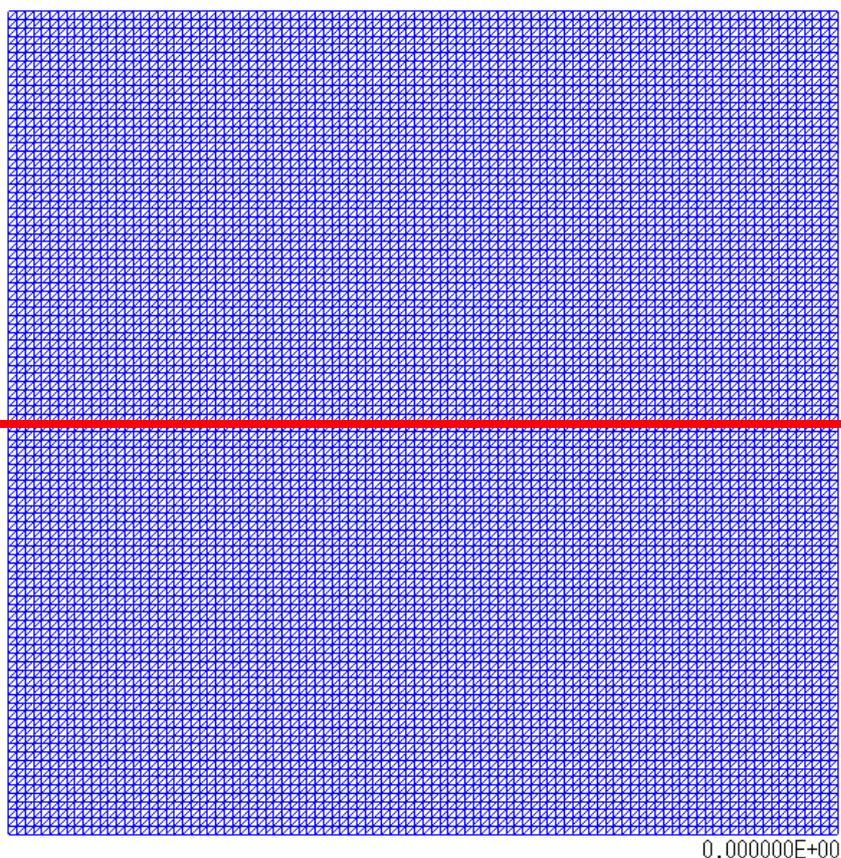


図 4: 計算式の確認に使用した平面モデル(赤線:解析結果として使用した位置)

4.2.3 解析条件

境界条件を，中心点の濃度は常に 1，外周は常に 0 とした．拡散は円形に広がっていくことが想定されていたが，簡易化のため正方形の図形を用いた．拡散への影響を考慮して，正方形は十分な大きさとなっている．濃度の単位は mol/L と定めたが，ここでは理論解と単位がそろっていれば問題がないため，解析の有効性を確認するうえでは重要ではない．拡散係数は 0.1(単位は m²/s とする)とした．

$$C(\mathbf{a}, t) = 1 \quad (3.1)$$

$$C(\mathbf{b}, t) = 0 \quad (3.2)$$

(a:正方形の中心座標 b:正方形の外周の座標)

4.2.4 用いた計算式

使用したのは反応拡散方程式で，次のようになる．

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \nabla \cdot (D \nabla C) + f(C) \quad (3.3)$$

D : 拡散係数

今回は平面での拡散を考えるが立体に用いる計算式をもとに作成したため，平面に一様にわずかな厚みを与えて立体として扱っている．

弱形式に直し，発散定理を用いると，

$$\int_V \delta C \frac{\partial C}{\partial t} dV = \int_S \delta C D_{ij} n_i \frac{\partial C}{\partial x_j} dS - D_{ij} \int_V \frac{\partial \delta C}{\partial x_i} \frac{\partial C}{\partial x_j} dV + \int_V \delta C f(C) dV \quad (3.4)$$

となる．そして次の式によって補完されると仮定する．

$$\delta C = N_a \delta C_a, \quad a = 1, \dots, q \quad (3.5)$$

$$C = N_a C_a, \quad a = 1, \dots, q \quad (3.6)$$

N_a, N_b は形状関数である．

よって,

$$\begin{aligned} \delta C_a \int_V N_a N_b dV \frac{\partial C_b}{\partial t} &= \delta C_a \int_S N_a D_{ij} n_i \frac{\partial C}{\partial x_j} dS \\ &\quad - \delta C_a \int_V \frac{\partial N_a}{\partial x_i} D_{ij} \frac{\partial N_b}{\partial x_j} dV C_b + \delta C_a \int_V N_a f(C_b) dV \end{aligned} \quad (3.7)$$

と記述できる.

反応項は濃度に対して大変非線形な関数であり, この関数を積分するのは難しいため, 反応項については, 反応場 $f(C)$ を補間した. 各店の反応場はその点の濃度の関数とした.

$$\begin{aligned} \int_V N_a f(C) dV &= \int_V N_a N_b dV f(C)_b \\ &= \int_V N_a N_b dV f(C_b) \end{aligned} \quad (3.8)$$

以上より,

$$\begin{aligned} \delta C_a \int_V N_a N_b dV \frac{\partial C_b}{\partial t} &= \delta C_a \int_S N_a D_{ij} n_i \frac{\partial C}{\partial x_j} dS \\ &\quad - \delta C_a \int_V \frac{\partial N_a}{\partial x_i} D_{ij} \frac{\partial N_b}{\partial x_j} dV C_b + \delta C_a \int_V N_a N_b dV f(C_b) \end{aligned} \quad (3.9)$$

右辺第 1 項は境界面における勾配の積分である. この解析では境界面における勾配は 0 とした. 第 2 項が拡散項, 第 3 項が反応項を示す. また, $\int_V N_a N_b dV$ は質量マトリクスであり, 全ての節点に質量を均等に分配した集中質量マトリクス $[M]$ を用いた. よって次のようになる.

$$\frac{\partial C_b}{\partial t} = -[M]^{-1} \int \frac{dN_a}{dx_i} D_{ij} \frac{dN_b}{dx_j} dV C_b + f(C_b) \quad (3.10)$$

この式を有限要素離散化し, 陽解法によって細かなタイムステップで物質の反応拡散を解く. そして, 図 1 の赤線上の濃度分布を確認した. なお, ここでは拡散のみを考えるため, 右辺第二項は関与しない.

最終的につぎのようになる.

$$\frac{\partial C_b}{\partial t} = -[M]^{-1} \int \frac{dN_a}{dx_i} D_{ij} \frac{dN_b}{dx_j} dV C_b \quad (3.11)$$

次に比較する理論式を示す。無限円筒における一次元定常熱伝導問題 [6]を拡散問題と同様のものと捉え、方程式を拡散現象に対して用い、それを解いた。先の拡散方程式が表す定常状態は、無限円筒における拡散現象の定常状態と物理的な意味は同じであると考えられることができるとして、この式を用いた。

$$\frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(\lambda r \frac{\partial C}{\partial r} \right) = 0 \quad (3.12)$$

r:中心軸からの距離

これは拡散物質の濃度が軸対称となる無限円筒での定常状態における拡散方程式である。なお、内部で反応するような現象は考えないため、反応項(熱伝導方程式における発熱項)は消去した式となっている。λは熱伝導率であるが、最終的に使わない値となるので今回は無視しても問題はない。

これを一回積分して整理すると次の式が得られる。

$$\lambda \frac{\partial C}{\partial r} = \frac{A}{r} \quad (3.13)$$

A は積分定数である。次のように定数を定めて、区間を分けて積分をすると次のようになる。

r_1 :中心から円筒内側表面までの距離 r_2 :中心から円筒外側表面までの距離
 C_1 : r_1 における濃度 C_2 : r_2 における濃度

$$\lambda \int_{C_1}^C dC = A \int_{r_1}^r \frac{dr}{r} \quad (3.14)$$

$$\lambda \int_{C_1}^{C_2} dC = A \int_{r_1}^{r_2} \frac{dr}{r} \quad (3.15)$$

2式を辺々割って計算することで次の式が得られる。

$$\frac{C - C_1}{C_2 - C_1} = \frac{\ln(r/r_1)}{\ln(r_2/r_1)} \quad (3.16)$$

定常状態となるような十分な時間経過した時の解析結果と、この理論式からの結果を比較した。

なお、3.2.3 の解析条件より常に $C_2 = 0$, $C_1 = 1$ であるから理論式を整理し、

$$C = \frac{\ln(r/r_2)}{\ln(r_1/r_2)} \quad (3.17)$$

を実際には計算した。

また、 $r_1 = 0$ とすることについて、これはある 1 点からの拡散を表すことになるが、 $r \neq 0$ を満たす全ての位置において $C = 0$ となってしまう明らかに実際の現象と矛盾する。これは物質が湧き出す点があまりに微小であるために拡散する範囲も目に見えないほどのごくわずかであることを意味すると考えられる。そこで r_1 に微小な値を与えることでこの矛盾を取り除くことにした。同時にこれは無限に物質が湧き出し続ける点の半径と考えることが出来るため、 r_1 が値を持つことはこの意味において整合性があるといえる。 r_1 の値については後で考察する。なお、 r_2 はモデルの一辺の長さの半分の 5 m である。

4.2.5 結果

以下に示す図は解析結果から得られた拡散の様子である。

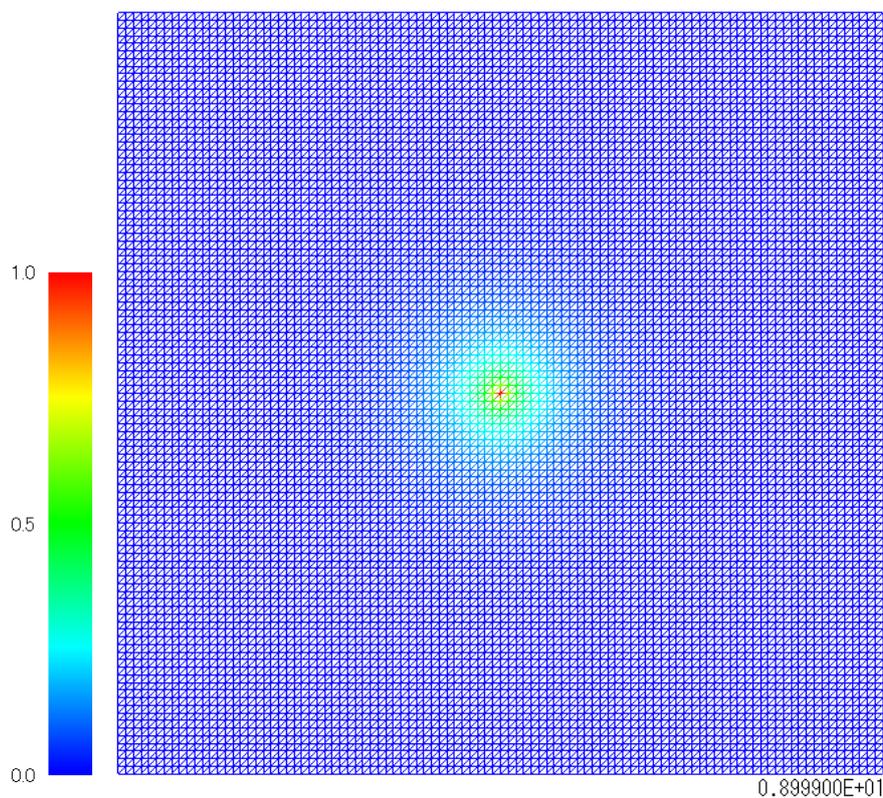


図 5: 拡散途中における様子

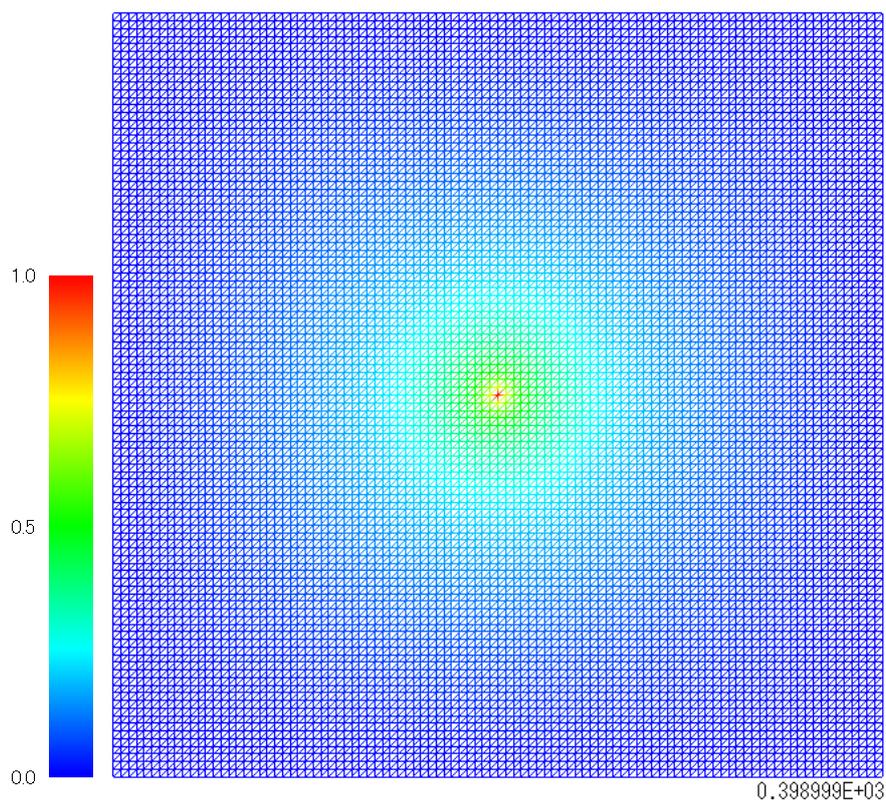


図 6: 定常状態における拡散の様子

次に、十分な時間が経過し定常状態となった解析値と理論値を比較したグラフを示す。

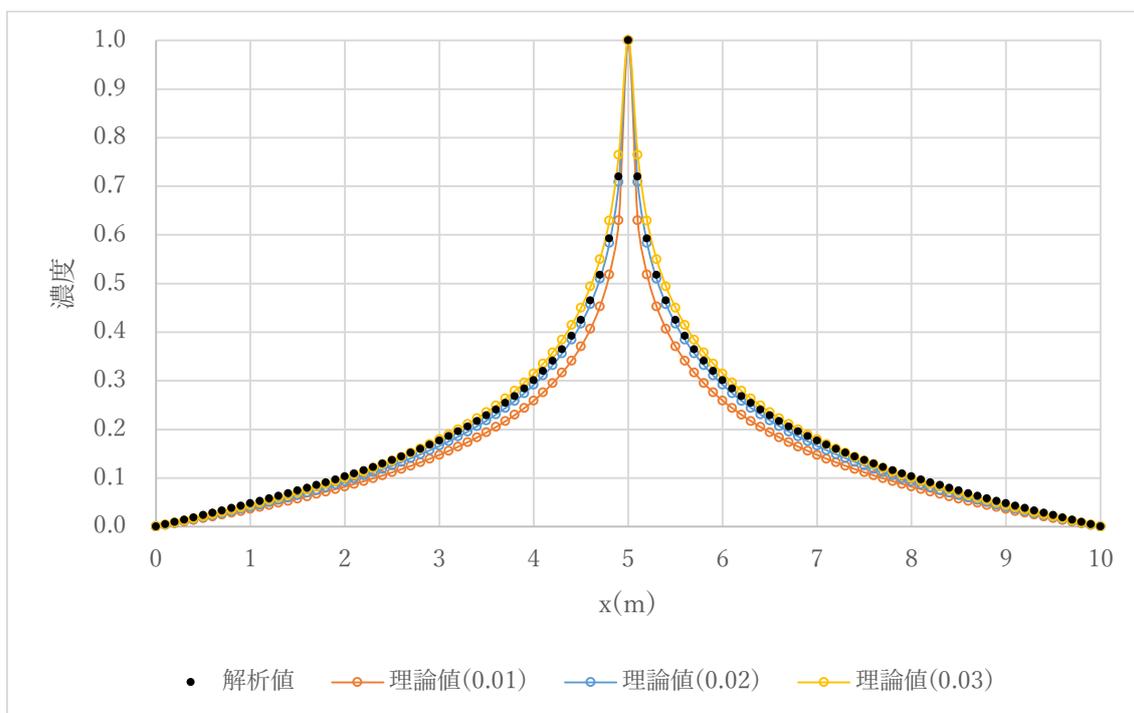


図 7: 定常状態における拡散分布

凡例の数値は r_1 の値である。 $r_1=0.02$ の時に最も理論値が解析値と一致していた(図 7).
したがって、この解析条件下においては、半径が0.02 mの1点の穴から無限に物質が湧き出し、拡散していく様子とほぼ等しいということが分かった。この半径の意味については後で考察する。

4.2.6 考察

まず r_1 の値について。

最終的な分布と湧き出し点(中心点), これらの要因から湧き出し点がどれくらいの距離まで濃度を固定する力を持つかを考える。

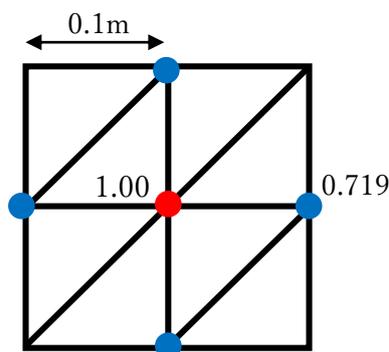


図 8: メッシュと濃度の模式図

図 8 において赤い点は濃度 1 で固定した中心点で、その上下左右にある青い点はその点に最も近い 4 点の位置を表している。解析結果より青い点における濃度の値は 0.719 であったため、中心点での濃度と比べると約 0.28 の差がある。濃度をある点での高さに見立てて考え、2 点間の濃度変化を直線近似すると、青い点 4 点で囲まれた正方形を底面、中心点を頂点とした四角錐の体積を考えることが出来る。

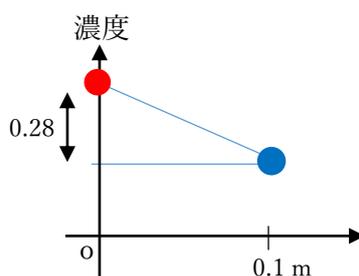


図 9: 濃度と体積の概念図

青い点 4 点からなる正方形の面積が 0.02 m^2 , 差分の 0.28 が高さとなり、中心点にはこの体積分の物質を固定する力があると考えられる。この四角錐の体積は簡単に求まる。

この四角錐に相当する円柱，つまり，これと同じ体積を持つ湧き出し点を中心とした円柱を考える．高さを中心点の濃度と同じく 1 とする．この円柱の半径を r とすると次の式より r が求められる．

$$0.02 \times 0.28 \div 3 = \pi \times r^2 \times 1 \quad (3.18)$$

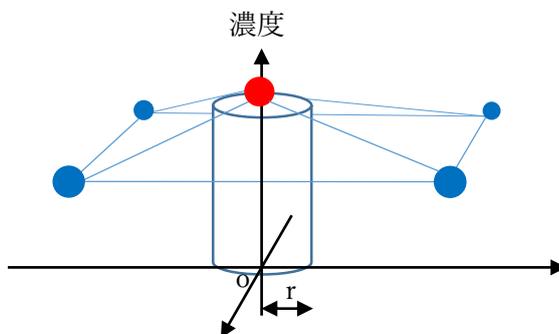


図 10: 四角錐と円柱の関係のイメージ図

よって r は約 0.024 と求まる． r_1 が 0.02 程度であったことと照らし合わせると，この r_1 の値はこの最近傍の点に対してどの程度の物質量を固定する力があるかを示していると考えられる．

次に妥当性について．

r_1 についてのこれまでの考察により r_1 の値がもつ意味が確認され，この値に関して解析値と理論値が一致するため，作成した計算式は拡散の定常状態の様子を再現することが出来る妥当性あるものだと結論付けた．

4.3 過渡応答評価

4.3.1 緒言

全体が濃度 1 で一様な状態のモデルにおいて，時間の経過とともに左右両端へ物質が拡散していくことを想定した解析を行った．

4.3.2 使用モデル

一辺 1 m の長さの正方形に，斜辺ではない一辺の長さが 0.10 m の直角二等辺三角形が規則的に並ぶようにメッシュを切ったものを用いた．4.2.2 のモデルと同じものを用いてもよかったが，定常状態の解析ではなく，また，正方形のメッシュに対して円形に拡散することを想定しているわけでもないため，解析時間の短縮のためこの大きさのメッシュを用いた．

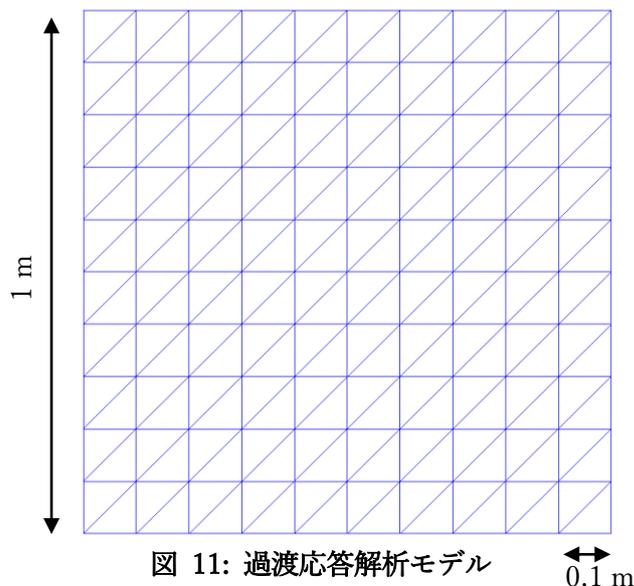


図 11: 過渡応答解析モデル

4.3.3 解析条件

初期値は全体を一様に 1 とした．ただし，両端の濃度は常に 0 とした．これにより左右両端に拡散していく様子を捉える．

$$C(a, t) = 0 \quad (3.19)$$

a: 左右両端の座標

上下方向には周期境界条件を用いた．

4.3.4 用いた計算式

解析モデルに対して用いた計算式は(3.11)と同じである．

続いて理論式を示す．(3.3)の反応拡散方程式から反応項を除き次元拡散方程式を考え，初期条件と境界条件を次のように定めると想定した解析と同じ条件となる．

$$\frac{\partial C(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C(x, t)}{\partial x^2}$$

初期条件 $C(x, 0) = 1$

境界条件 $C(0, t) = C(1, t) = 0$ (3.20)

変数分離法により $C(x, t) = X(x)T(t)$ とおき, (3.20)の式に代入して整理すると次のような式で表すことが出来る.

$$\frac{1}{D} \times \frac{T'}{T} = \frac{X''}{X} \quad (3.21)$$

x と t は互いに独立よりこの値が定数, かつ負の値をとらなければこの式は成立しないため定数 p を用いて次のようになる.

$$\frac{1}{D} \times \frac{T'}{T} = \frac{X''}{X} = -p^2 \quad (3.22)$$

まず $X(x)$ について解くと,

$$X(x) = A \cos px + B \sin px \quad (3.23)$$

境界条件(3.20)より $A = 0$ となり, すると $B \neq 0$ であるはずだから p の値が決まり X が整理される.

$$p_n = n\pi \quad (3.24)$$

$$X(x) = X_n(x) = B_n \sin n\pi x \quad (3.25)$$

次に $T(t)$ について解くと,

$$T_n(t) = G_n e^{-D(n\pi)^2 t} \quad (3.26)$$

$B_n G_n = G_n$ としてまとめると(3.23), (3.26)より次のようになり, 一般解も表せる.

$$C_n(x, t) = G_n \sin(n\pi x) e^{-D(n\pi)^2 t} \quad (3.27)$$

$$C(x, t) = \sum_{n=0}^{\infty} C_n(x, t) = \sum_{n=0}^{\infty} G_n \sin(n\pi x) e^{-D(n\pi)^2 t} \quad (3.28)$$

初期条件とフーリエ級数展開を考え,

$$C(x, 0) = \sum_{n=0}^{\infty} G_n \sin n\pi x = 1 \quad (3.29)$$

$$G_n = 2 \int_0^1 \sin n\pi x \, dx \quad (3.30)$$

また，次の式を考慮しつつ(3.28)に(3.30)を代入すると， $c(x, t)$ がもとまる．

$$\int_0^1 \sin n\pi x dx = \begin{cases} \frac{2}{n\pi} & (nが奇数) \\ 0 & (nが偶数) \end{cases} \quad (3.31)$$

$$c(x, t) = \frac{4}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{2n-1} e^{-D(n\pi)^2 t} \sin(2n-1)\pi x \quad (3.32)$$

(3.32)を計算機で計算したものを理論解とし，解析解と比較した．

4.3.5 結果

以下の図は拡散の様子を示している．

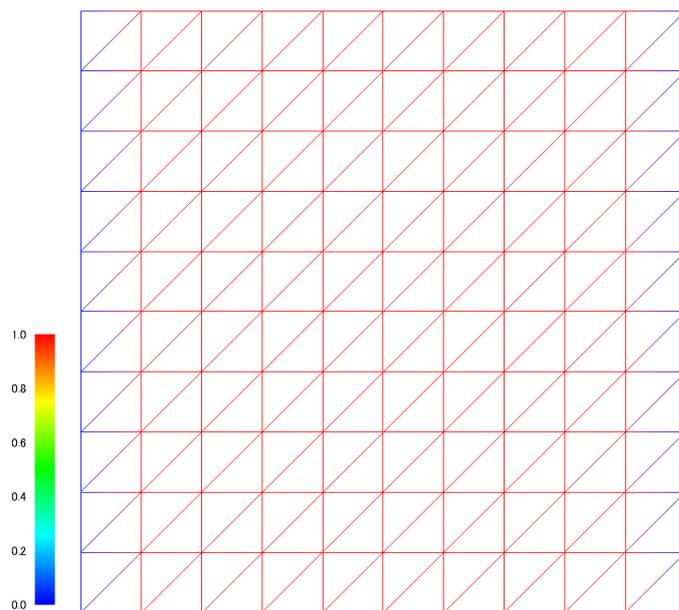


図 12: 過渡応答解析におけるモデルの初期状態

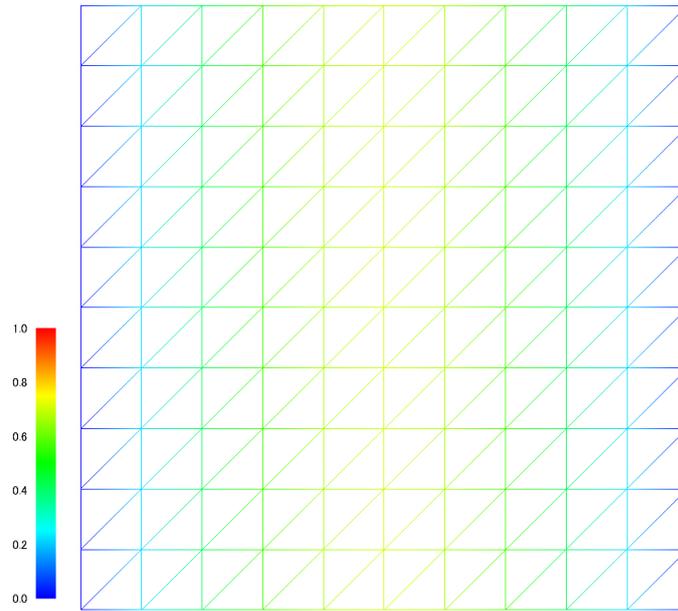


図 13: 拡散途中における様子(0.50s 後)

次に、解析値と理論値を比べたグラフを示す。

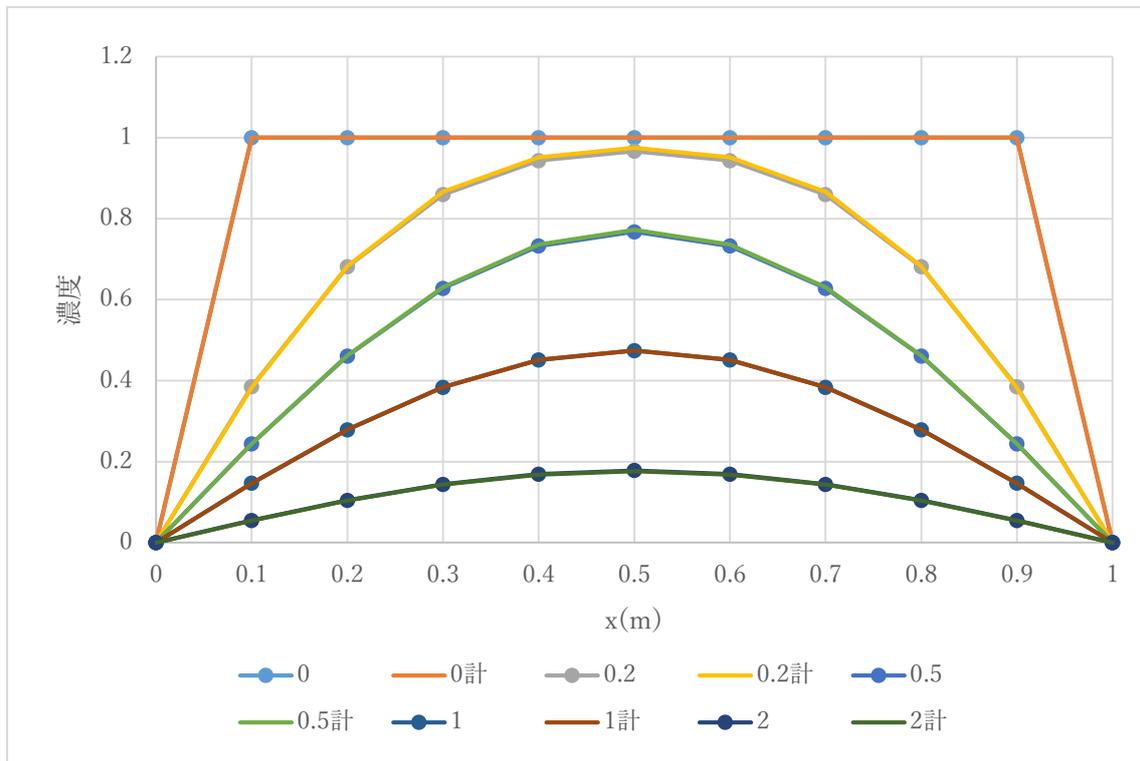


図 14: 過渡状態における拡散分布(凡例の値:経過時間(s) '計':理論値 文字無:解析値)

図 14 において初期値を表す 0 s の理論値グラフの 0 m 付近と 1 m 付近は、解析解から取り出す点に合わせて 0.1 m の距離間隔ごとにしか値を取り出さなかったために台形のよな形状のグラフとなっているが、実際は両端以外は全ての位置で初期値は濃度 1 となっている。実際の解析では 2 s の拡散時間より長く解析値を得ることが出来たが、濃度差が小さくなっていくことで濃度変化が顕著にみられなくなったので、それ以後の解析値は省略した。

4.3.6 考察

図 14 より、解析値と理論値のきれいな一致を確認することが出来たため、作成した計算式は拡散の過渡状態を解くことに関して妥当性あるものだと考えられる。

4.4 結言

4.2.6 及び 4.3.6 より、作成した計算式による 3 次元空間における平面での拡散解析は十分に信頼性があるものだと評価した。

第5章 実形状モデル解析

5.1 実形状モデル

本研究では、当研究室の田中が作成したモデルを使用した。マウスの心筋細胞の電子顕微鏡トモグラフィ像をもとに細胞膜、筋原線維、ミトコンドリア、横行小管、dyad、これらの形状と位置を取り出し、ハイパーメッシュを用いて内部まで自動的にメッシュがきられている。細胞膜以外の要素は四面体要素によって内部までメッシュが切られ、すべての要素の表面はCST要素としてメッシュが切られている。細かな部分の異常は手作業でメッシュが修正されている。

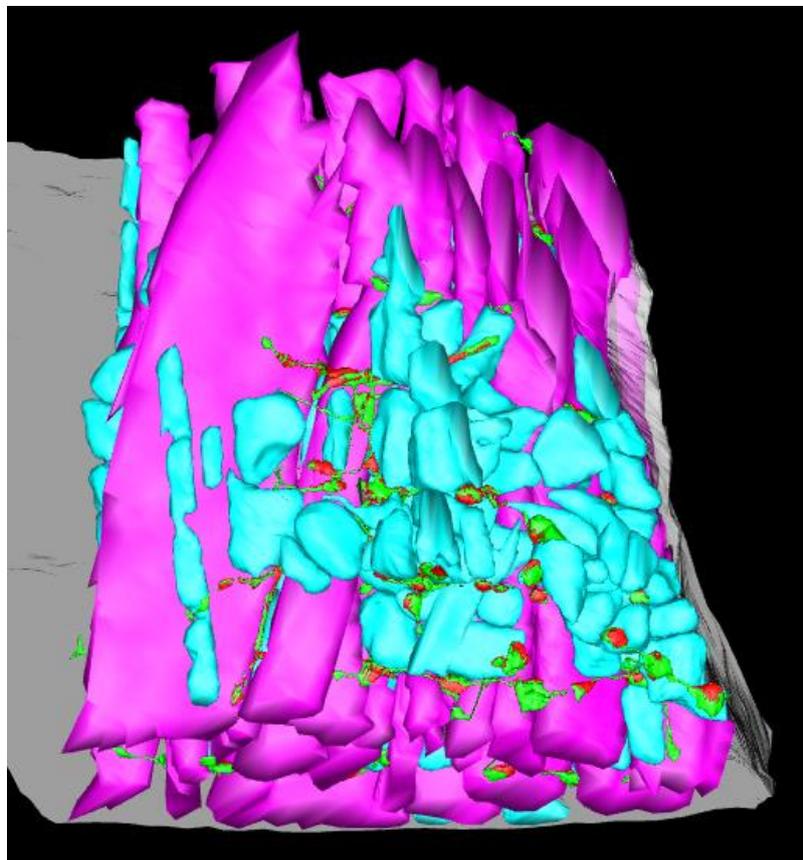


図 15: マウスの心筋細胞の実形状モデル(桃色:筋原線維 水色:ミトコンドリア 緑色:T管 赤色:SR 灰色:細胞膜)

本解析においては計算負荷を低減させるため、そのモデルから筋節1つ分を箱状の形で取り出し($1.10\ \mu\text{m} \times 3.30\ \mu\text{m} \times 2.80\ \mu\text{m}$)この部分を解析対象とした。なお、細胞内の細胞小器官がない部分はすべて細胞質として定義している。

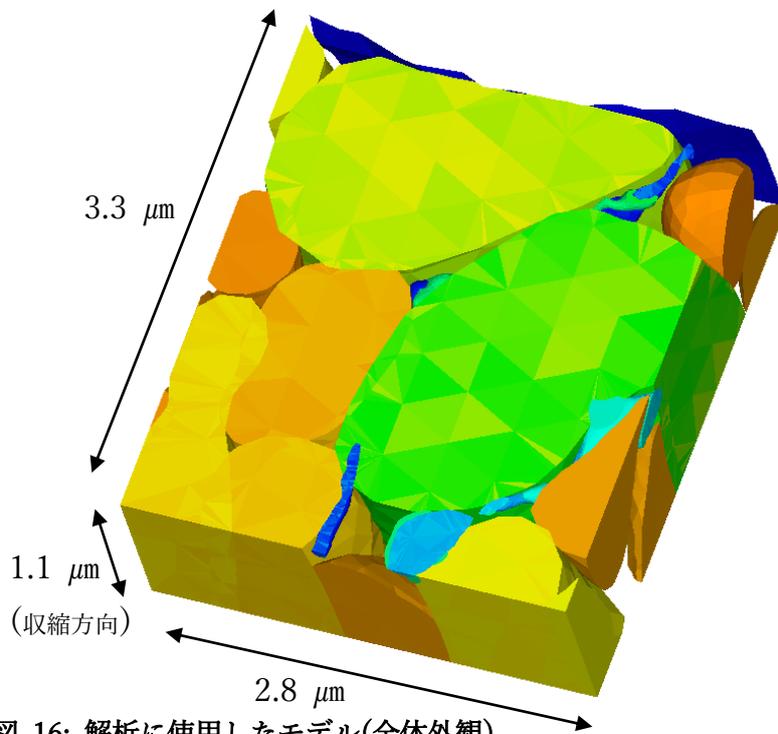


図 16: 解析に使用したモデル(全体外観)

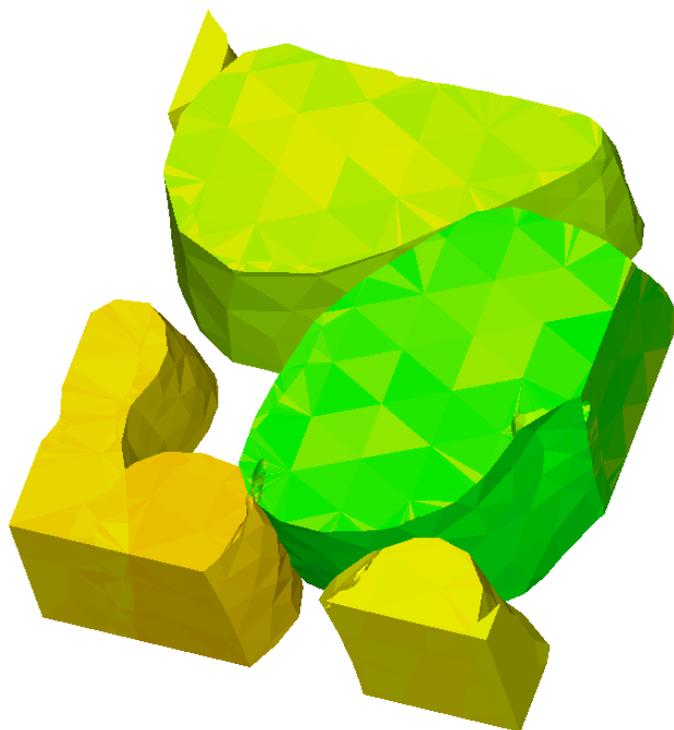


図 17: 筋原線維の形状

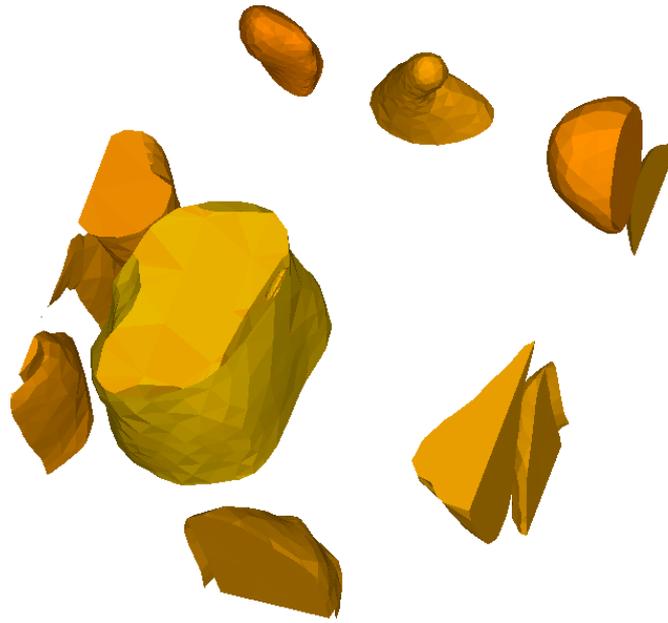


図 18: ミトコンドリアの形状

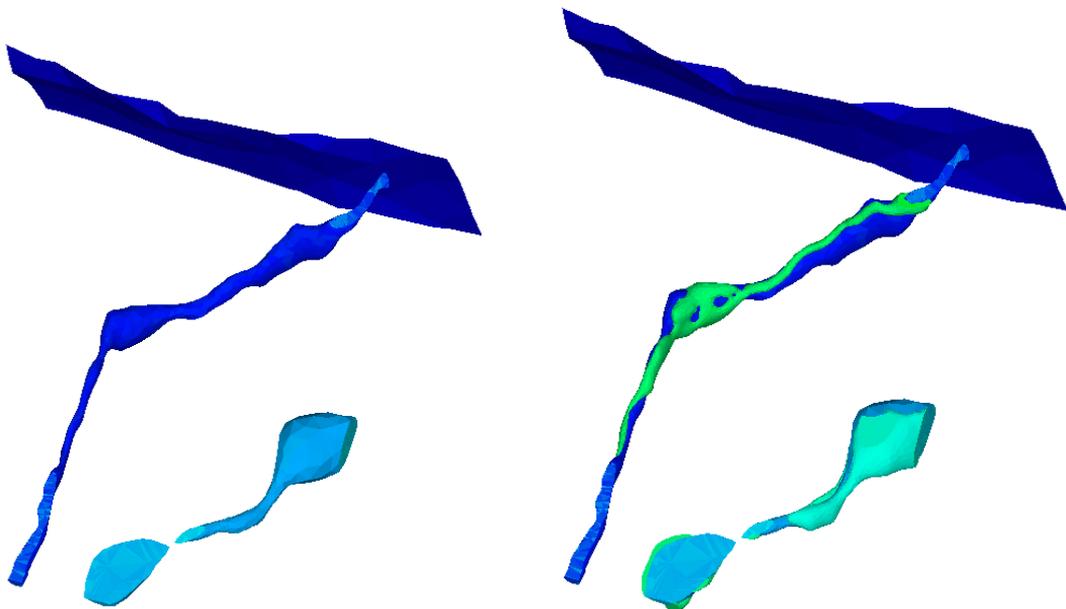


図 19: (左)膜と T 管の形状 (右)膜と dyad が付属した T 管の形状

5.2 反応拡散計算

本研究においてベースに用いた波田野の解析プログラムでは細胞内の Ca^{2+} , Creatine(Cr), Creatine Phosphate(CP), inorganic Phosphate(Pi), Adenosine DiPhosphate(ADP), Adenosine TriPhosphate(ATP)の6物質についての反応拡散方程式によって, 電気生理・代謝現象を記述している [4]. Ca^{2+} 以外はエネルギー代謝に関わる物質である. 今回は計算時間の関係上 Ca^{2+} のみの反応拡散を解いた

$$\frac{\partial [Ca^{2+}]_i}{\partial t} = \nabla \cdot (D_i^{Ca^{2+}} \nabla [Ca^{2+}]_i) + f_i^{Ca^{2+}} \quad (4.1)$$

i は節点, D は拡散係数を格納した対角マトリクス, $[A]_i$ は節点 i における物質 A の濃度である. 右辺第一項が拡散項, 右辺第二項の f は反応項であり, この反応項はその節点における細胞小器官による物質の取り込み・放出を意味している.

この式は以下のように記述できる.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \nabla \cdot (D \nabla C) + f(C) \quad (4.2)$$

これは数式(3.33)と同様であり,

$$\frac{\partial C_b}{\partial t} = -[M]^{-1} \int \frac{dN_a}{dx_i} D_{ij} \frac{dN_b}{dx_j} dV C_b + f(C_b) \quad (4.3)$$

となる.

これを用いて陽解法によって物質の反応拡散を解く.

解析に用いた拡散係数(D)を次の表に示す.

基質	axial D	transverse D
Ca^{2+}	0.300	0.188

表 2: 拡散係数 [4]

初期状態の Ca^{2+} 量は, JSR において $0.060 \mu M$, それ以外において $0.055 \mu M$ と設定した.

5.3 結果

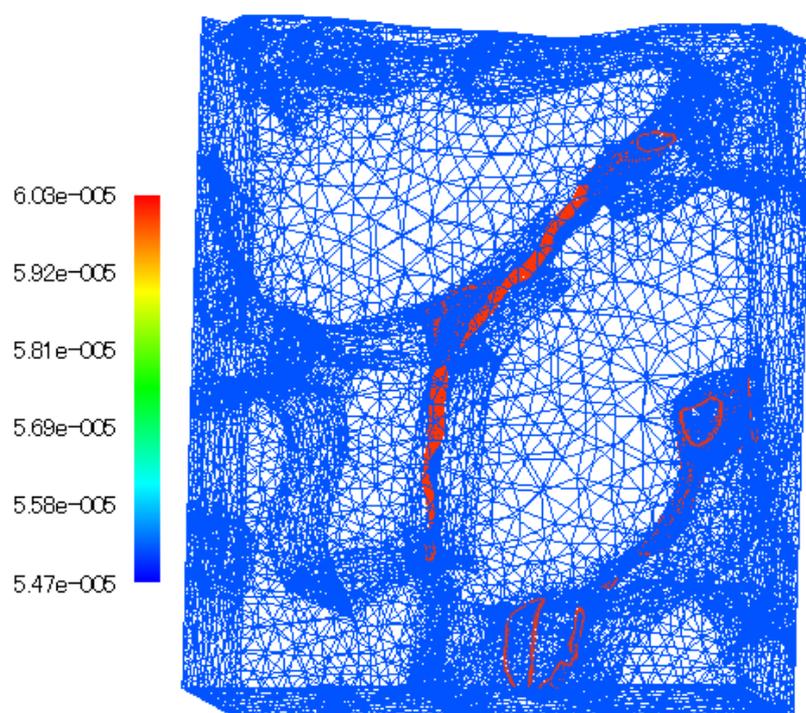


図 20: 実形状モデルにおける反応拡散の様子(初期状態)

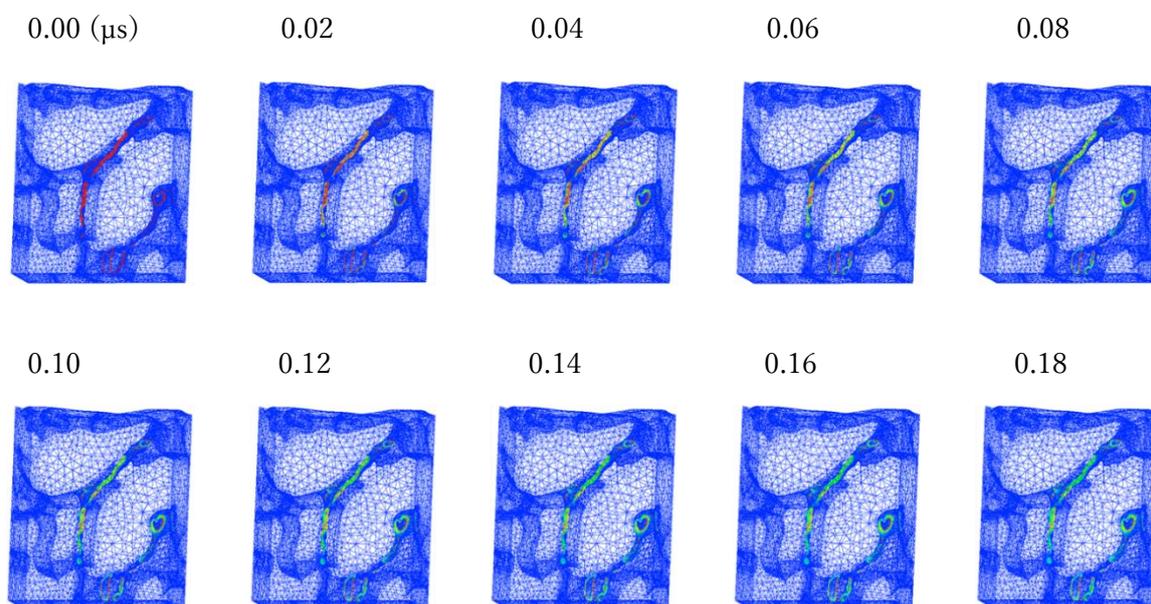


図 21: 実形状モデルにおける反応拡散の様子($0.02 \mu\text{s}$ 間隔)

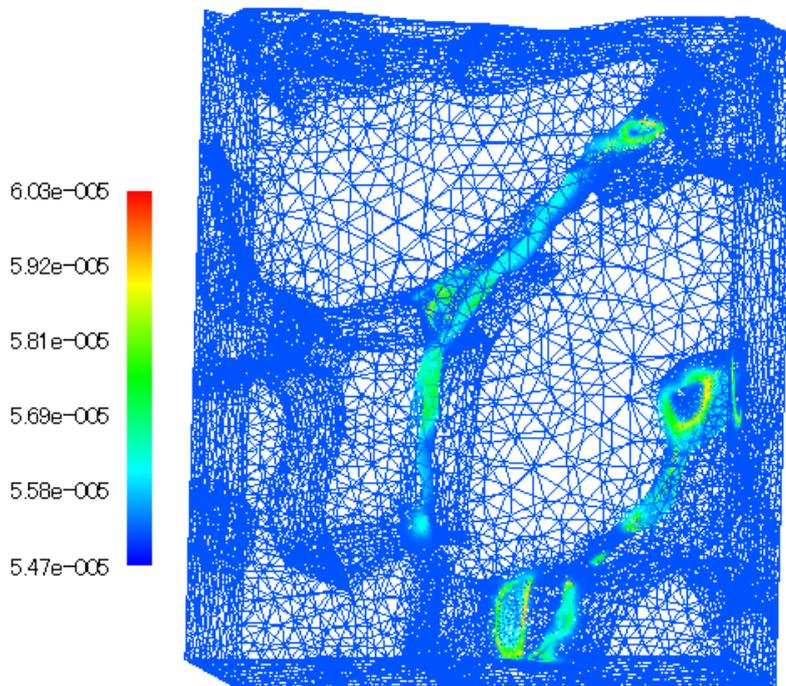


図 22: 実形状モデルにおける反応拡散の様子(0.92 μs 後)

図から Ca^{2+} が濃度勾配の影響を受けて、JSR からその周辺に拡散していく様子が見て取れる。0.18 μs 頃にはほとんど拡散自体大きく変化していない。しかし、タイムステップが細くならざるを得なかった影響を受け、SR から Ca^{2+} が細胞内全体へ拡散していく様子は確認することが出来ていない。このことに関して詳細を考察にまとめた。

5.4 考察

5.4.1 緒言

今回のこの解析では、筋肉が収縮する時に発生している Ca^{2+} の挙動を捉えきることが出来なかった。十分な時間、拡散させた解析結果を得ることができなかったからである。今回得られたデータの拡散時間は計算時間の関係上 0.92 μs であったが、RyR からの Ca^{2+} 拡散、すなわち Ca^{2+} の拡散が最も顕著に現れる現象を確認するためには、少なくとも 200 ms 必要である。現状、これだけの解析を行うためには 1 年間では足りない計算時間が必要となる。さらにその Ca^{2+} が全体に拡散していく様子を捉えるためには更に時間が必要だ。計算時間が長くなり、短い拡散時間のデータしか得ることが出来なかった原因として時間変化に関しての計算について、陽解法を使用しているということが考えられる。

5.4.2 メッシュと解析方法

この解析に用いた実形状モデルはハイパーメッシュというソフトを用いて、メッシュを自動的に切って作成されたモデルであるが、自動であるがゆえに様々な不都合な問題が生じる。例えば、メッシュの細かさに不自然にばらつきがでる、メッシュが局所的に細かくなって節点が集中する、(ソフトウェア上の問題であるが)座標の情報上は異なる節点のはずであるのに、同一節点と認識される、そのような節点の存在が原因となって体積をもたない四面体図形が存在する、等といったことが実際に起きた。同一節点が存在する問題はソフトウェア上で手で消す方法や、計算の際にそういう点を除外するという方法が可能であった。だが、メッシュの細かさに関する問題は、手作業で全てのメッシュを切るのは現実的ではないため、プログラムで自動的に計算させて出力させたものを編集する方法しかなく、膨大な節点数を持つメッシュを編集する方法ではそう簡単には解決するのは難しい。作成者の田中によって何度かメッシュの切り直しが行われ、メッシュの細かさのばらつきの問題は多少の改善が見られた。だが、それでもメッシュが細かくなりすぎる部分は存在し、数 nm 以下の節点間隔である部分がみられた。先行研究において波田野が用いたメッシュは最も短くて 20 nm の節点間隔であったため、10 分の 1 もしくはそれ以上の細かさとなる。陽解法においてはクーラン条件により、メッシュが細かくなったことによってタイムステップを短くしなければ発散してしまい、物理的な意味をなさなくなる。そのため、必要な時間分解析をすすめるにはこれまでよりも時間がかかることは予想していた。だが、タイムステップ間隔を波田野が実施したものより 10 分の 1 や 1000 分の 1 ほどに細かくした程度では解析結果が発散してしまい、発散しなくなったタイムステップは波田野が用いたものより 10^{-6} 倍もの細かさであった。これにより、十分なデータを得るために必要な時間が異様に延びた。メッシュが細かくなったとはいえ、ここまでタイムステップが細くなるのは違和感が残る。考えられる要因は存在する。波田野のモデルでは六面体によりメッシュが切られていた。本研究の実形状モデルは、対称性をもったきれいな形状をしているわけではなく、全てを六面体で埋めることはできない。図形を混ぜて計算することは不可能ではないが、コードが複雑になることは免れられないため、今回はモデル全体を一様に四面体でメッシュを切った。六面体ではなく四面体でメッシュを切ったことが大きく影響していると考えている。ただ、これだけで説明がつくようなタイムステップの細かさではないようにも考えられるため、さらに考えていく必要がある。

5.4.3 課題

今後の課題として、この問題を解決する方法を考えた。既存の研究と今回の研究で異なる部分は、形状を大きく近似することなく、実際の形をそのまま用いている部分である。今回の結果を通して、細かさのばらつきがメッシュについてあまり見られないきれいなモデルを用いることは、実形状を用いた解析を行ううえで考慮すべき重要なポイントであると考えられる。特に、節点間距離の最小値があまりに小さいと陽解法の解析に対して多大な影響を及ぼす。そのような部分を持たない、きれいなモデルが今後望まれる。

だが、メッシュの精度の向上が望ましい解析結果を必ずしももたらすわけではない

う。むしろ、今後の研究において実形状を扱っていくうえでメッシュが複雑にならざるをえない部分も出てくるはずである。そうすると、このままではタイムステップを現状のように細かくとらざるを得なくなる。よって時間経過にそって解析をすすめていくうえで陰解法を用いる必要性があると考え。計算式がやや複雑になったとしても全体的な計算時間は短くなると見込まれ、求める解析結果がでるのではないかと思う。しかし、 Ca^{2+} の拡散を細かい時間間隔で確認しようと思うと、陰解法で解くのは適当とはいえない。時と場合に分けて使い分けていく必要があるそうであるが、この点についてはさらに深く考えていく必要があるだろう。

第6章 結言

本研究では、細胞内小器官のうち細胞内物質の拡散に関わる器官を概ね考慮し、それらの実形状を用いることで、細胞内における物質の拡散のより実際のものに即した解析を行った。実形状モデルにおいて不足していたSRの形状について、筋原線維の表面上に一様にSRが配置されているとすることで簡易的なモデルを考案した。さらに、表面上での物質の拡散の様子を解くため、空間上における平面での拡散を解く三角形一次要素の有限要素法コードを作成し、その妥当性の評価を行った。

そして、先行研究において用いていた解析コードを実形状モデルに適応できるように修正・改善を行い、実形状をもつ細胞内における物質の反応拡散を実現した。

だが、今回はそこから十分なデータ量を取り出すことは出来なかった。タイムステップが細かくならざるを得なかった。複雑な形状に対してメッシュがきれいに切れない、そして、メッシュが細かくなりすぎるために陽解法で十分な時間の経過した拡散を解くのはあまりに時間がかかるということが原因の一部であったと考えている。

今後は、メッシュの精度を向上させていくとともに、陰解法による解析をこころみること、陽解法で取得されるデータと比べて、さらにより解析手法を考えていく必要がある。

第7章 謝辞

本研究に関して、多くの方々の支えを賜りました。まずは、関係者全ての方にお礼申し上げます。

諸所の締め切り時間が近づいてきても、それをもろともせず、普段通りのふるまいで学生居室に明るさと活気をもたらし続ける、同じ居室のメンバーのみなさんからは、何とかなるという気持ちで様々な壁に立ち向かっていく姿勢を見せてもらい、勇気をもらいました。

また、Dr.の方々、助教の高本さんらからは、学術的な物事にとらわれない幅広いコンテンツで毎回話を下さり、知見が広がった気がします。が、どんな話をしたかあんまり覚えていないのが非常に残念です。金曜ロードショー関連のお話は何か覚えています。

そして、泉教授には素晴らしい研究環境を用意して頂きました。入浴睡眠以外のことをここで済ませていた気がします。また、何かと体調面など気遣って頂き感謝しております。また、それだけご心配をおかけしてしまい申し訳ありませんでした。

最後に、担当教員の波田野講師に感謝の意を述べたいところではありますが、その思いを書き切るには余白が狭すぎるので、ここには書きません。

第 8 章 参考文献

- [1] 厚生労働省, “平成 29 年 人口動態統計(確定数)の概況, 死因簡単分類別にみた性別死亡数・死亡率(人口 10 万対)・構成割合,” 2018.
- [2] A. Maloyan, A. Sanbe, H. Osinska, M. Westfall, D. Robinson, K.-i. Imahashi, E. Murphy, J. Robbins, “Mitochondrial dysfunction and apoptosis underlie the pathogenic process in α -B-crystallin desmin-related cardiomyopathy,” *Circulation*, 2005.
- [3] F. R. Heinzel, V. Bito, L. Biesmans, M. Wu, E. Detre, F. v. Wegner, P. Claus, S. Dymarkowski, F. Maes, J. Bogaert, F. Radmakers, J. D'hooge, K. Spido, “Remodeling of T-tubules and reduced synchrony of Ca^{2+} release in myocytes from chronically ischemic myocardium,” *Circulation Research*, 2008.
- [4] 波田野明日可, “心筋細胞の微細構造を考慮した電気生理・代謝・力学統合マルチフィジックスシミュレーション,” 2012.
- [5] E. A. ROG-ZIELINSKA, O. T. E, A. HOENGER, P. KOHL, “Mitochondrial Deformation During the Cardiac Mechanical Cycle,” *The Anatomical Record*, 2018.
- [6] T. Hayashi, M. Martone, Z. Yu, A. Thor, M. Doi, M. Holst, M. Ellisman, M. Hoshijima, “Three-dimensional electron microscopy reveals new details of membrane systems for Ca^{2+} signaling in the heart,” *J Cell Sci*, 2009.
- [7] C. C. Lopez, C. Pennanen, T. C. Vasquez, P. Morales, S. R. Bravo, A. Quest, M. Chiong, S. Lavandero, “Sarcoplasmic reticulum-mitochondria communication in cardiovascular pathophysiology,” *Nat Rev Cardiol*, 2017.
- [8] X. Lu, K. Ginsburg, S. Kettlewell, J. Bossuyt, G. Smith, D. Bers, “Measuring local gradients of intramitochondrial Ca^{2+} in cardiac myocytes during sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release,” *Novelty and significance*, 2013.
- [9] J. Hake, “Modelling cardiac calcium sparks in a three-dimensional reconstruction of a calcium release unit,” *The Journal of Physiology*, 2012.
- [10] R. V, B. G, G. S, H. H, W. C, H. E, C. E, S. C, “Creating a Structurally Realistic Finite Element Geometric Model of a Cardiomyocyte to Study the Role of Cellular Architecture in Cardiomyocyte Systems Biology,” *J.Vis*, 2018.
- [11] K. Uchida, A. Lopatin, “Diffusional and Electrical Properties of T-Tubules Are Governed by Their Constrictions and Dilations,” *Biophysical Journal*, 2018.
- [12] A. M. Katz, “Molecular and Cellular Basis of Myocardial Contractility,” *Essential Cardiology: Principles and Practice*, 2013.

[13] 岡本良夫, 心臓のフィジオーム, 森北出版株式会社, 2003.

[14] 庄司正弘, 伝熱工学, 東京大学出版会, 1995.