

卒業論文

心筋細胞の実形状データにおける
微細構造のモデリング手法の開発

令和3年1月29日 提出

指導教員 波田野 明日可 講師

03190239 望月 優

目次

第1章 序論	4
1.1 研究背景	4
1.2 過去の研究	5
1.2.1 心筋細胞における代謝・電気生理・力学連成解析に関する先行研究	5
1.2.2 心筋細胞小器官の実形状の影響に関する先行研究	5
1.3 研究の目的	6
1.4 本論文の構成	7
第2章 心筋細胞のモデル構築	8
2.1 心筋細胞の微細構造	8
2.2 実形状メッシュモデル	10
2.3 電気生理現象の記述	14
2.3.1 拡散反応方程式	14
2.3.2 各小器官における電気生理モデルの反応項の記述	15
2.4 力学現象の記述	19
2.4.1 構成則	20
2.5 解析条件	21
2.5.1 境界条件	21
2.5.2 計算条件	21
第3章 結果と考察	23
3.1 JSR の分布評価	23
3.2 Ca_2 + 拡散解析の評価	24
3.3 ミトコンドリア内の拡散評価	30
3.4 力学的変形の影響	32
第4章 結言	35
4.1 結論	35
4.2 今後の課題	35
謝辞	36
参考文献	37

図目次

図 2.1	心筋細胞模式図[4].....	8
図 2.2	筋原線維イメージ図.....	9
図 2.3	田中のマウスの心筋細胞の実形状モデル (桃:筋原線維 青:ミトコンドリア 緑:T管 赤:dyad 灰:細胞膜)	11
図 2.4	位置を調べるのに用いた dyad (左) と T 管 (右) の形状.....	12
図 2.5	dyad (青) と JSR とした節点 (赤) の例.....	12
図 2.6	有限要素解析モデル (全体)	13
図 2.7	ミトコンドリアの形状.....	14
図 2.8	筋原線維の形状.....	14
図 2.9	細胞膜の形状.....	14
図 2.10	SR の形状.....	14
図 2.11	SR の Ca^{2+} 放出・吸収.....	16
図 2.12	力学的境界条件.....	21
図 2.13	計算フローチャート.....	22
図 3.1	有限要素モデルの JSR 節点の分布	23
図 3.2	収縮方向の JSR 節点の分布	23
図 3.3	細胞内と膜直下での Ca^{2+} 濃度変化の解析結果.....	24
図 3.4	NSR 内 Ca^{2+} 濃度変化の解析結果	24
図 3.5	断面位置.....	25
図 3.6	筋原線維と Z 帯の位置 (5ms 後)	25
図 3.7	筋原線維内 Ca^{2+} 濃度変化.....	26
図 3.8	有限要素モデル切断面位置.....	27
図 3.9	Z 帯 (a) と M 線 (b) での各小器官の形状 (灰:細胞質 桃:筋原線維 青: ミトコンドリア)	27
図 3.10	Z 帯周り (a) と M 帯周り (b) における Ca^{2+} 濃度変化.....	28
図 3.11	Z 断面と M 断面での濃度変化の違い	29
図 3.12	ミトコンドリア内における Ca^{2+} 濃度変化.....	30
図 3.13	ミトコンドリア部分の細胞質 Ca^{2+} 濃度変化.....	31
図 3.14	発生した収縮力の変化.....	32
図 3.15	収縮率の変化.....	32
図 3.16	筋原線維に発生した収縮力の空間分布	33
図 3.17	境界条件の変化による拡散結果の違い	34

表目次

表 1.1 死因简单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	4
表 2.1 拡散係数一覧.....	15

第1章 序論

1.1 研究背景

日本における心疾患死亡者数は、近年増加傾向にあり、そのうち虚血性心疾患による死亡者数は、約 3 分の 1 を占めている[1]。また、心臓が虚血状態となることにより心筋の収縮力が低下し、心不全となる場合（虚血性心不全）もある。そのため、虚血を原因とする死亡者数の割合はさらに大きいといえる。心疾患死亡者数の増加は日本社会の高齢化によるものと推測され、ゆえに虚血が原因で亡くなる人数も同様に増えていくと考えられる。

表 1.1 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

死因	死亡数(人)	割合(対心疾患)
心疾患(高血圧性を除く)	207,628	
急性心筋梗塞	31,512	15.2 %
その他の虚血性心疾患	35,760	17.2 %
心不全	85,552	41.2 %
不整脈及び伝導障害	31,241	15.0 %
心筋症	3,804	1.8 %
その他の心疾患	19,759	9.5 %

虚血性心筋症は、加齢や生活習慣が原因で動脈硬化や心筋梗塞を引き起こし、これにより心筋細胞への物資供給が滞ることで細胞内のエネルギー代謝に影響が出る。その結果心筋細胞の収縮力低下、壊死が発生し、心臓全体の力学・電気生理現象へ支障をきたすことがわかっている。

また、虚血時、心筋細胞においてミトコンドリアの凝集[2]、横行小管（T 管）の消失[3]といった細胞小器官の形状変化が報告されている。しかし、この細胞小器官の形状変化と、虚血性心筋症における心機能の低下の因果関係ははまだ解明されていない。虚血時の心筋細胞を実際に観察・計測することは容易ではないため、シミュレーションによりこの因果関係を明かすことができれば、虚血性心筋症への新たな理解が深まり、治療法の開発といった、今後の医療の発展へとつながると考えられる。本研究では、心筋細胞の実形状に基づいたモ

デルを用いたシミュレーションを行い、正常状態の心筋細胞の再現を行うことによりこの課題の解決に迫っていく。

1.2 過去の研究

1.2.1 心筋細胞における代謝・電気生理・力学連成解析に関する先行研究

心筋細胞における、力学的収縮現象と、電気生理現象、代謝現象の連成解析によって細胞内の挙動を再現する研究が波田野[4]によってなされた。この研究において、筋節は周期性と対称性を仮定され、筋節と、細胞小器官である筋原線維・ミトコンドリアを直方体の図形で表現した有限要素モデルで解析が行われた。力学・電気生理・代謝現象連成解析により、心筋細胞の収縮現象、 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、膜電流の変化が確認され、それらの解析結果は実験値との一致が見られた。この研究では、筋節の収縮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おり、力学・電気生理・代謝の3つの現象を3次元解析で行うことを実現した。

一方で、計算量軽減のために簡易化されたモデルでは、実際の心筋細胞の構造を十分に模擬しているとは言い切れない。各細胞小器官の形状や、その配置における意義を見落としている可能性がある。

この研究を受けて、力学・電気生理・代謝連成解析を実形状に基づいたモデルにおいて行うことが橋本[5]によって試みられた。マウスの心筋細胞のSEM画像を使用して1筋節分の三次元の微細構造モデルを作成し、まず電気生理現象の解明を目的とし、 Ca^{2+} の拡散の解析を行った。しかし、T管といった微細な細胞小器官も三次元構造としてモデル化したことにより、有限要素モデルのメッシュの大きさにばらつきが見られた。これが膨大な計算量を必要としたため、1ms未満の解析しかできず、拡散現象を捉えきることはできていない。

1.2.2 心筋細胞小器官の実形状の影響に関する先行研究

実形状モデルを利用した、心筋細胞における電気生理現象の再現に関する研究は、これまでに数多くなされている。Ghoshらは、実形状のミトコンドリアの不均一な配置、不均等な形状による電気生理現象への影響を評価した[6]。彼らは、EMトモグラフィを用いて1つの心筋細胞に対して3か所取り出し、それぞれミトコンドリアについての二次元の実形状モデルを作成し、ADPやATP濃度などの解析を行った。その結果、正常に酸素が供給されれば細胞内のどの位置でもADPやATP濃度は均一になるが、低酸素下では不均一になることが確認された。ミトコンドリアによるATPの継続的、均一的な供給は安定した心機能に不可欠である。十分な酸素下ではミトコンドリアは正常に機能するが、低酸素下ではうまく機能しないことが解明され、この研究によって心筋細胞の病理時における実形状での解析の有用性が示されていると考えられる。

Rajagopalらは1心筋細胞の半筋節分の三次元実形状モデルを作成し、 Ca^{2+} の反応拡散の解析を行った[7]。この研究では、EMトモグラフィよりミトコンドリアと筋原線維の形

状を取り出したメッシュが作成され、微細な小器官である筋小胞体（SR）と T 管の形状に関しては、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表現された。解析結果は実験値と一致しており、正常な細胞の再現に成功している。しかし、筋小胞体における T 管との位置関係が Ca^{2+} 放出に大きく影響を与えるとされているため、上記のような統計的な近似は、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難しいと考えられる。

微小な細胞小器官の形状の再現に関する研究としては、Colman らの研究が挙げられる。彼らは、羊の心筋細胞の SR 及び T 管の三次元構造を再現し、細胞内・NSR 内の Ca^{2+} 反応拡散のシミュレーションを行った[8]。SBF-SEM 画像を使用して筋小胞体と T 管の完全な三次元形状をとらえ、それらを一次元ネットワークの三次元構造に落とし込んだモデルを作成することで、これらの小器官を表現した。解析によって正常状態と病理状態両方での Ca^{2+} 反応拡散の再現をした。また細胞内の理想化された簡易モデルと、 Ca^{2+} の空間的濃度勾配の解析結果を比較し、より高い濃度勾配ができていることを確認し、構造の機能的影響を評価した。

T 管の形状についてさらに踏み込んだ研究もなされている。Uchida らは、T 管内部からの拡散速度の測定の実験と、形状についての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[9]。マウスなど、げっ歯類の心筋細胞の T 管は、多くの部分が直径 200nm 程度であるが、細い部分（狭窄部）と太い部分（膨張部）も存在する。一般部（200nm）だけで構築したネットワーク構造、膨張部を含む構造、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を行った。その結果、膨張部・狭窄部両方を含む構造が T 管の拡散的・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 研究の目的

過去の研究では、簡易的な形状で心筋細胞をモデル化し、それを利用した力学・電気生理・代謝現象についての双方向の連成解析や、細胞内のある小器官に着目し、その実形状を用いたモデルによる、心筋細胞内の電気生理現象のカギとなる物質の拡散や濃度変化、電位変化などの解析がおこなわれてきた。しかし、簡易化されたモデルでは小器官形状の意義の見落としの可能性があり、また、細胞内の現象は、力学的収縮現象や各小器官での電気生理・代謝現象が複雑に絡みあっており、それらを切り離さずに考慮したモデルでの解析が必要となる。

そこで本研究では、実形状データに基づいた 3 次元構造モデルでの力学・電気生理・代謝現象の連成解析を目的とした。プログラムは当研究室の波田野らが作成した力学・電気生理・代謝解析プログラムをベースとし、実形状モデルに対しても使用できるように書き換える。SEM 画像をもとに作成された、心筋細胞内のミトコンドリア・筋原線維・細胞膜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・収縮を解析し、そ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，心筋細胞の微細構造及び各小器官の役割について述べたのち，作成した実形状解析モデルとその解析手法について述べる。

第 3 章では，解析の結果とその考察を述べる。

第 4 章では，本研究の結論と課題について述べる。

第2章 心筋細胞のモデル構築

2.1 心筋細胞の微細構造

心筋細胞の模式図を図 2.1 に示す。心筋細胞は、直径十数 μm 、長さ約 $100\mu\text{m}$ の円筒状の形をしている。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+} が担っており、 Ca^{2+} が収縮現象を直接制御しているといえる。

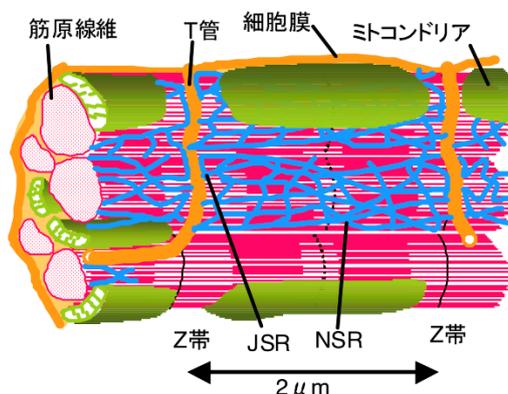


図 2.1 心筋細胞模式図[4]

まず、各小器官について説明する。

細胞膜

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、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。 Ca^{2+} などのイオン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。この膜の機能によって、細胞内外の Ca^{2+} 濃度に大きな差をつけることが可能になっている。

細胞質

細胞内部を満たす液体のことである。細胞質内部のイオン濃度は、細胞膜や筋小胞体によって制御されている。細胞内器官による物質のやり取りは全て細胞質の拡散を通して行われている。

ミトコンドリア

心筋細胞内の2割~3割の体積を占め、細胞の活動エネルギーであるATPを生成する。二重膜構造をしており、内側の膜はマトリクスと呼ばれる。 Ca^{2+} 濃度によってATP生産の調節を行い、またミトコンドリア自体も Ca^{2+} を吸収・排出を担うイオンチャンネルを持つ。

筋原線維

心筋細胞の大部分を占め、収縮現象を主に担う小器官である。直径約 $1\mu\text{m}$ で円筒状に存在しており、筋細胞の5割~6割を占める。繰り返し単位を持ち、これは筋節（サルコメア）と呼ばれ約 $2\mu\text{m}$ の長さがある。図2.2に筋原線維の構造のイメージ図を示す。筋原線維は、それぞれアクチン、ミオシンと呼ばれるタンパク質からなる2種類のフィラメントでできており、両方のフィラメントで構成され、収縮力が発生するA帯と、アクチンフィラメントのみで構成され、収縮力が発生しないI帯が交互に存在する。筋節と筋節の間に存在し、アクチンフィラメントを繋いでいる部分はZ帯、筋節の真ん中の線はM線と呼ばれる。T管とJSRは主にZ帯付近に存在している。

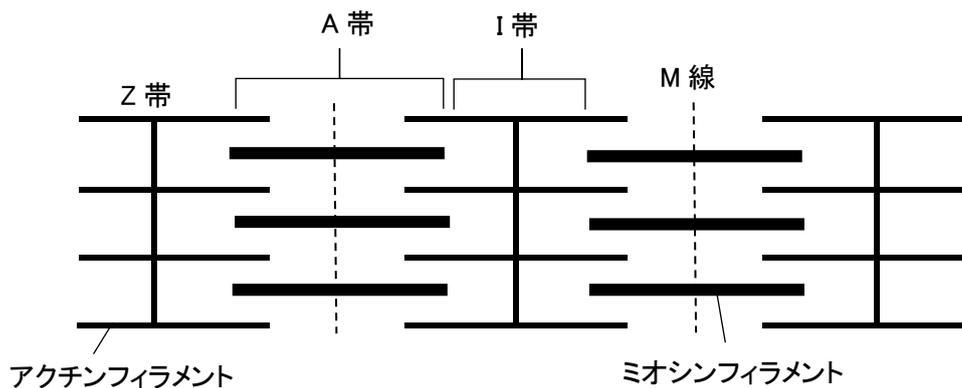


図 2.2 筋原線維イメージ図

横行小管 (T管)

心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。細胞膜への電気刺激はT管にも同様に伝わり、電気刺激を細胞内部にまですばやく伝える役割を果たしている。表面には細胞膜と同様にイオンチャンネルを持つ。電気刺激によりT管上と細胞膜上のイオンチャンネルはほぼ同時に開くため、この陥没構造により、心筋細胞内の細胞膜に近い部分も遠い部分も同時に収縮することが可能となる。また、細胞膜の面積を少なくとも3割ほど広げているとされ、細胞内外の物質輸送にも関わっている。

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網目状の小胞体で、細胞全体に広く分布しており、その内部には Ca^{2+} が蓄えられている。SRのうちT管と向き合っている部分をJunctional SR(JSR)と呼び、それ以外の部分をNetwork SR(NSR)と呼ぶ。JSRとそれに向きあうT管の一部分には放出口(CaRU, Calcium Release Unit)が形成されている。CaRUはT管型の Ca^{2+} チャネル(LCC)とJSR側のリアノジンレセプタ(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、一方RyRは Ca^{2+} 濃度変化によって開く Ca^{2+} チャネルである。主に収縮にかかわるのはRyRから放出された Ca^{2+} である。このCaRUが存在するT管とJSRの間の僅かな隙間はdyadと呼ばれる。

次に、心筋細胞が収縮する過程での Ca^{2+} の動きを簡単に説明する。心筋の細胞膜に活動電位が生じると、T管のLCCが開き、 Ca^{2+} を放出する。その Ca^{2+} によってJSRのRyRが開かれ、SR内部に蓄えられていた Ca^{2+} が大量に細胞質に放出される。 Ca^{2+} が拡散されることにより細胞全体で Ca^{2+} 濃度が上昇し、筋原線維がフィラメントの作用によって収縮する。収縮した後、細胞質内の Ca^{2+} はNSRにより吸い上げられSRに貯蔵される。このNSRの働きにより Ca^{2+} 濃度が細胞全体で低下し、筋原線維のフィラメントの相互作用が弱まり、心筋細胞は弛緩する。

2.2 実形状メッシュモデル

本研究では、当研究室の田中が作成した心筋細胞の有限要素モデル(図 2.3)をベースに作成した。田中が作成したモデルは、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、筋原線維、ミトコンドリア、横行小管、dyad、細胞膜の位置と形状を取り出し、それらの形状の表面に三角要素のメッシュが切られている。本解析では、この田中のモデルから、収縮方向に約3筋節分を箱状に切り出し($5.5\mu\text{m} \times 12.6\mu\text{m} \times 6.7\mu\text{m}$)、境界を設定し、解析対象とした。心筋細胞の約4分の1断面になっているため、対称の境界条件に正当性がある。

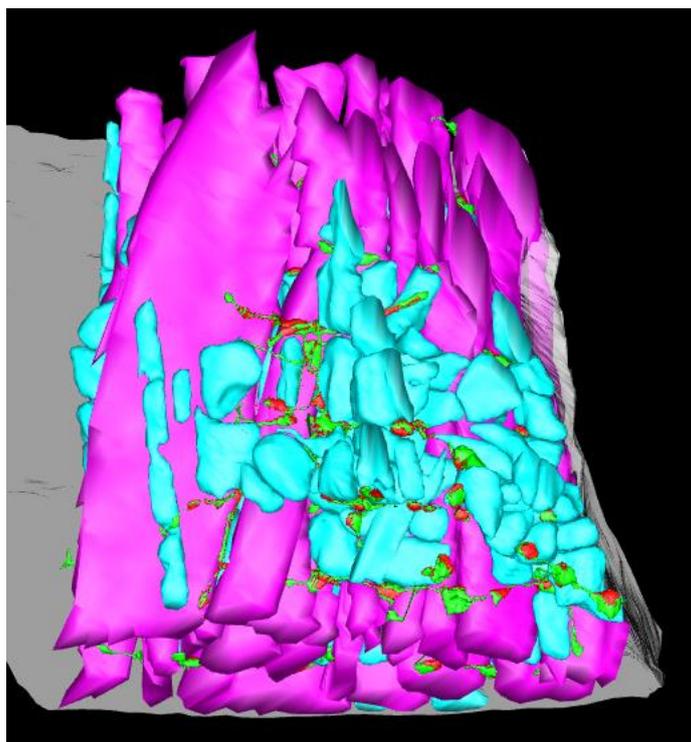


図 2.3 田中のマウスの心筋細胞の実形状モデル (桃：筋原線維 青：ミトコンドリア
緑：T管 赤：dyad 灰：細胞膜)

比較的大きな小器官である筋原線維，ミトコンドリア以外の境界内の空間は全て細胞質とし，四面体のメッシュを切った．四面体要素として存在するのはミトコンドリア，筋原線維，細胞質のみとした．

筋原線維は，I帯とA帯を区別せず，一様に縮むと仮定した．またミトコンドリアは波田野モデル[4]と同様に，二重膜構造を拡散の仕方によって考慮する形とした．細胞膜は平面の三角要素として表現した．

その他の細胞小器官について説明する．NSRは三角要素の平面とした．田中がモデルを作成するにあたって，目視で各小器官を判断しているが，筋小胞体は微細な小器官であるため，使用した電子顕微鏡トモグラフィ画像では判別することが難しかった．筋小胞体は筋原線維の表面上に網目状に分布しているが，本研究では橋本の先行研究[5]と同様に，その役割に大きな影響を与えないと考えて，薄く筋原線維の表面に分布していると仮定し，メッシュは三角要素の平面とした．これに仮想的に一樣な厚みを与えてNSRを表現した．

また，T管とJSRは，筋原線維やミトコンドリアと比べてかなり微細な細胞小器官であり，四面体要素としてしまうとメッシュの大きさのばらつきを生じさせてしまう．橋本の研究[5]によると，このメッシュの大きさのばらつきが，陽解法において反応拡散現象を解く際に膨大な計算時間を必要とした原因であると考えられる．ゆえに四面体要素でなく二重節点として近似することとした．T管とJSRの簡易化については，田中の有限要素モデルで細胞内のT管とdyadの形状と位置はわかっている(図2.4)ため，これを利用した．もともとT管とdyadが存在した部分は，他の小器官形状で隙間をうめた．このようにして作成した四面体要素の節点のうち，細胞質の節点の中から田中モデルのT管に近いものをT

管の節点とし、筋原線維の表面の三角要素の節点である、NSR の節点の中から dyad に近いものを JSR の節点として、仮想的に体積を与えた。その例を図 2.5 に示す。

以上のようにして得られた有限要素モデルは節点数 70042 で、要素数 444702 であった。作成したモデルの全体像を図 2.6 に示す。

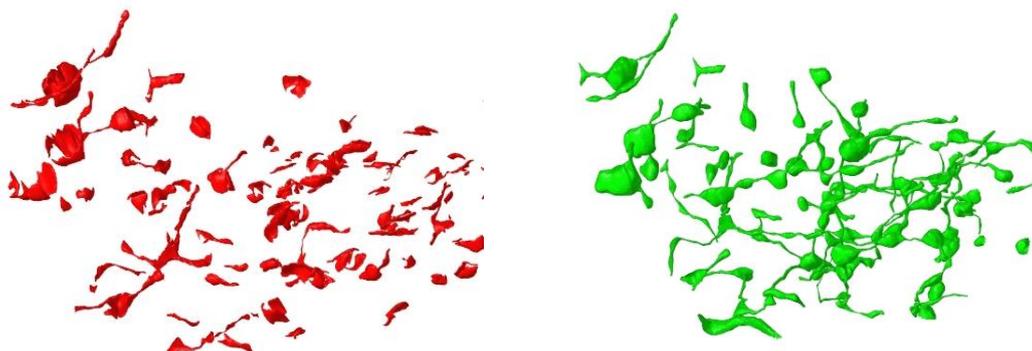


図 2.4 位置を調べるのに用いた dyad (左) と T 管 (右) の形状

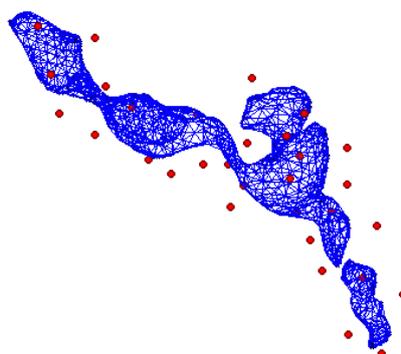


図 2.5 dyad (青) と JSR とした節点 (赤) の例

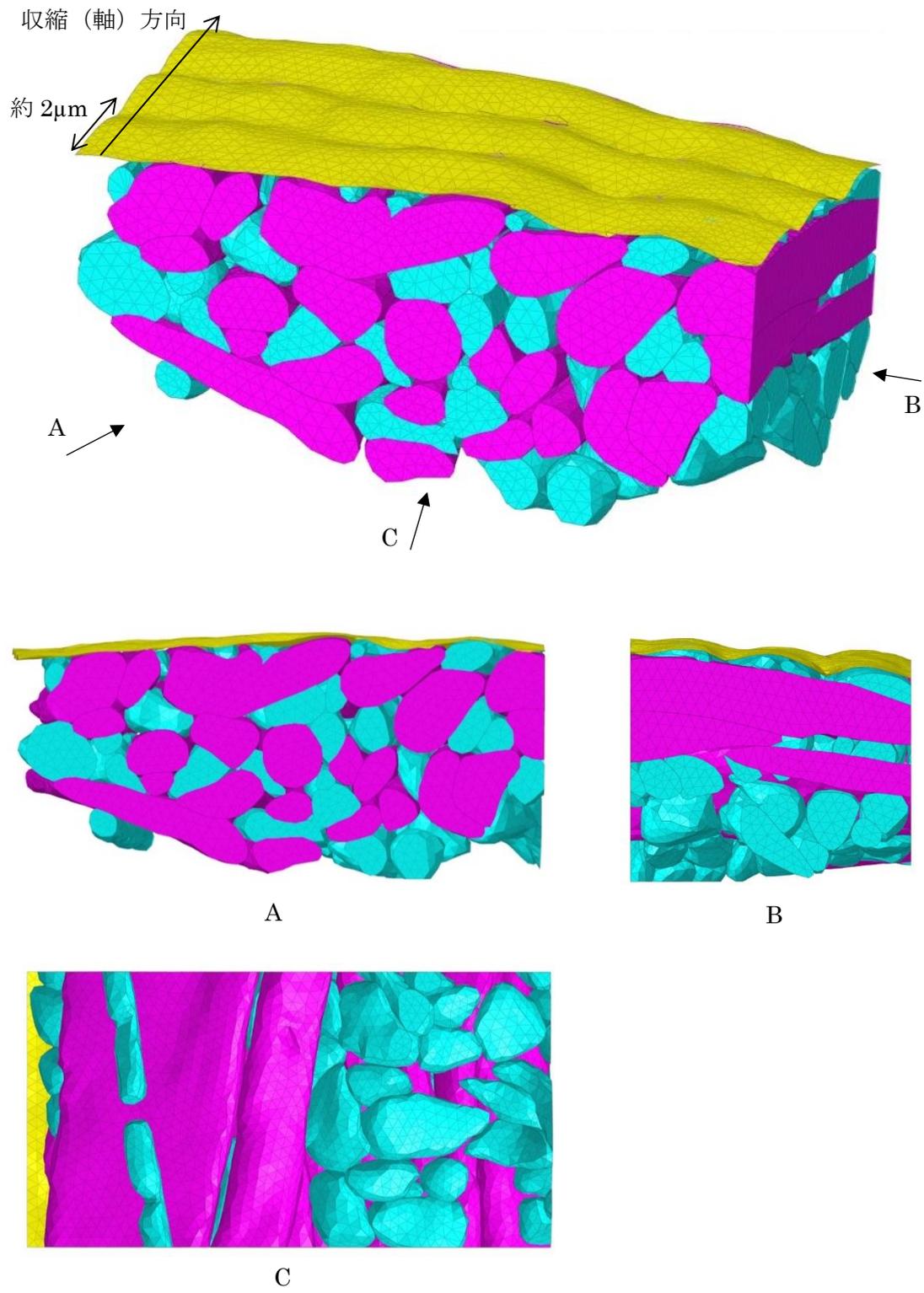


図 2.6 有限要素解析モデル (全体)

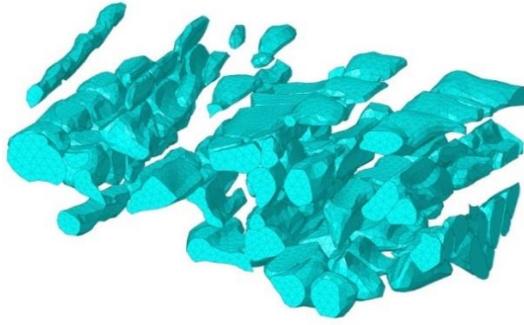


図 2.7 ミトコンドリアの形状

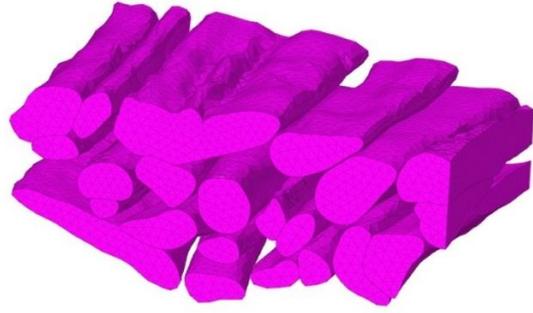


図 2.8 筋原線維の形状



図 2.9 細胞膜の形状

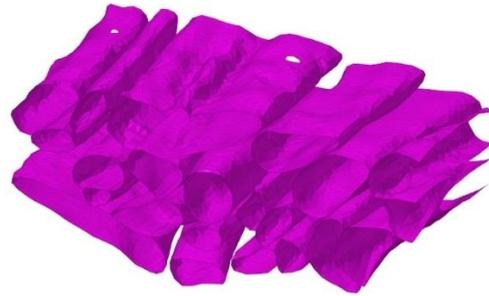


図 2.10 SR の形状

2.3 電気生理現象の記述

2.3.1 拡散反応方程式

本研究でベースに使用し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]。反応拡散方程式は以下のとおりである。

$$\frac{\partial [Ca^{2+}]_i}{\partial t} = \nabla \cdot (D_i^{Ca^{2+}} \nabla [Ca^{2+}]_i) + f_i^{Ca^{2+}} \quad (2.1)$$

$$\frac{\partial [ATP]_i}{\partial t} = \nabla \cdot (D_i^{ATP} \nabla [ATP]_i) + f_i^{ATP} \quad (2.2)$$

$$\frac{\partial [ADP]_i}{\partial t} = \nabla \cdot (D_i^{ADP} \nabla [ADP]_i) + f_i^{ADP} \quad (2.3)$$

$$\frac{\partial [CP]_i}{\partial t} = \nabla \cdot (D_i^{CP} \nabla [CP]_i) + f_i^{CP} \quad (2.4)$$

$$\frac{\partial[Cr]_i}{\partial t} = \nabla \cdot (D_i^{Cr} \nabla[Cr]_i) + f_i^{Cr} \quad (2.5)$$

$$\frac{\partial[Pi]_i}{\partial t} = \nabla \cdot (D_i^{Pi} \nabla[Pi]_i) + f_i^{Pi} \quad (2.6)$$

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，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・放出を意味する．この各小器官における反応項については後述する．

拡散係数は細胞内の位置によって異なると仮定された．解析に用いた拡散係数を表 2.1 に示す．筋原線維，ミトコンドリア，細胞質の各小器官での拡散係数は，波田野のモデル[4]と同様にした．NSR 内の拡散係数については，Colman の先行研究[8]をもとに，筋原線維内の拡散係数と同様とした．

表 2.1 拡散係数一覧

基質	axial D	transverse D
Ca ²⁺	0.300	0.1880
ATP	0.083	0.0520
ADP	0.078	0.0490
CP	0.114	0.0713
Cr	0.149	0.0936
Pi	0.140	0.0877

2.3.2 各小器官における電気生理モデルの反応項の記述

本研究では，波田野モデルの各細胞小器官での反応式を利用した．以下には，Ca²⁺の拡散に関連する項と，収縮に関連する項，波田野モデルと変更したものを記述していく．

細胞膜と T 管

膜電位は膜と T 管で同じであると仮定する．細胞膜と T 管の反応項は以下ようになる．

$$f_{mbr}^{Ca^{2+}} = -I_{Ca_{tot}} \frac{area}{2vol_{cyto}F} \quad (2.7)$$

$$f_{mbr}^{ADP} = +(I_{pCa} + I_{NaK}) \frac{area}{vol_{cyto}F} \quad (2.8)$$

$$f_{mbr}^{ATP} = -(I_{pCa} + I_{NaK}) \frac{area}{vol_{cyto}F} \quad (2.9)$$

areaは節点での膜面積, vol_o は節点での○の相当体積, F はファラデー定数, I_o は○種の膜電流である. $I_{Ca_{tot}}$ はL型 Ca^{2+} チャネル(LCC)の開閉に関する膜電流. I_{NaK} は濃度勾配に逆らい能動輸送を行い, ATPを消費する反応に関わる膜電流, I_{pCa} は細胞外へ Ca^{2+} を輸送する働きに関する膜電流である.

筋小胞体(SR)

JSRの Ca^{2+} 放出口とL型 Ca^{2+} チャネルは間隔で向かい合っており, この狭い領域はsubspace(SS)と呼ばれる. 波田野のモデルはSSが表現されているが, 本研究のモデルではSSを表現していない. そのため, Ca^{2+} はJSRから細胞質へ放出されるとし, JSR節点における Ca^{2+} 濃度を参照するようにした. JSRは, NSRと細胞質と3重節点として定義している. SRにおける Ca^{2+} の出入りのイメージ図を図2.11に示す. RyRが開いているとき, JSRから細胞質へと Ca^{2+} が放出される(J_{tr}). NSRによる Ca^{2+} の吸い上げ(J_{up})とNSRからJSRへの輸送(J_{tr})は常に行われ, これによってNSR内に濃度勾配が生じると, 拡散方程式に従ってNSR内で輸送が行われる.

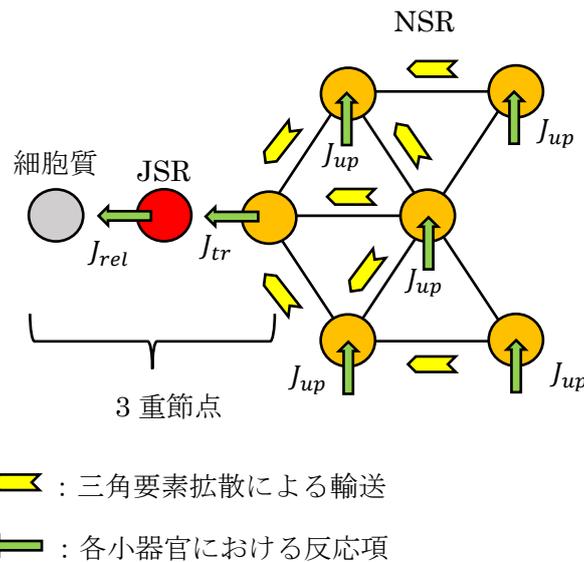


図 2.11 SRの Ca^{2+} 放出・吸収

NSR 節点における反応項 f_{NSR} は

$$f_{NSR}^{Ca^{2+}} = -J_{up} \frac{vol_{NSR}}{vol_{cyto}} \quad (2.10)$$

$$f_{NSR}^{ADP} = +0.5J_{up} \frac{vol_{NSR}}{vol_{cyto}} \quad (2.11)$$

$$f_{NSR}^{ATP} = -0.5J_{up} \frac{\text{vol}_{NSR}}{\text{vol}_{cyto}} \quad (2.12)$$

NSR 内の Ca^{2+} 濃度変化は以下の様になる.

$$\frac{d[Ca^{2+}]_{NSR}}{dt} = J_{up} - J_{tr} \frac{\text{vol}_{JSR}}{\text{vol}_{NSR}} \quad (2.13)$$

NSR による Ca^{2+} の吸い上げ J_{up} は

$$J_{up} = \frac{V_f^{max} f_b - V_r^{max} r_b}{1 + f_b + r_b} f_{SERCA}^{ATP} \quad (2.14)$$

$$f_b = \left(\frac{[Ca^{2+}]_{cyto}}{K_{fb}} \right)^{N_{fb}} \quad (2.15)$$

$$r_b = \left(\frac{[Ca^{2+}]_{cyto}}{K_{rb}} \right)^{N_{rb}} \quad (2.16)$$

$$f_{SERCA}^{ATP} = \left\{ \frac{K_m^{ATP}}{[ATP]_{cyto}} \left(1 + \frac{[ADP]_{cyto}}{K_{i,up}} \right) + \left(1 + \frac{[ADP]_{cyto}}{K'_{i,up}} \right) \right\}^{-1} \quad (2.17)$$

JSR から細胞質への Ca^{2+} 放出 J_{rel} は

$$J_{rel} = v_1 \cdot RyRopen \cdot ([Ca^{2+}]_{JSR} - [Ca^{2+}]_{cyto}) \quad (2.18)$$

$$RyRopen = v_{max} e^{-0.07(t-t_0)} (1 - e^{-0.07(t-t_0)}) \quad (2.19)$$

NSR から JSR への輸送 J_{tr} は

$$J_{tr} = \frac{[Ca^{2+}]_{NSR} - [Ca^{2+}]_{JSR}}{\tau_{tr}} \quad (2.20)$$

JSR 節点における反応項 f_{JSR} は

$$f_{JSR}^{Ca^{2+}} = J_{rel} \frac{\text{vol}_{JSR}}{\text{vol}_{cyto}} \quad (2.21)$$

JSR 内の Ca^{2+} 濃度変化は以下の様になる.

$$\frac{d[Ca^{2+}]_{JSR}}{dt} = J_{tr} - J_{rel} \quad (2.22)$$

JSR に存在するリアノジンレセプタ (RyR) に関しては, 実際の心筋細胞では T 管の LCC より放出される Ca^{2+} によって開かれるが, 本研究では一定の間隔で開くと仮定している.

筋原線維

筋原線維は, $[Ca^{2+}]_{cyt}$, $[ATP]_{cyt}$, $[Pi]$ に応じて収縮力を生じさせ, 力学的収縮現象と, 代謝・電気生理現象をつなぐ重要な役割を担う. 本研究では, 筋原線維の A 帯の反応項については, 筋原線維のすべての節点で計算した. 筋原線維の反応項と収縮力発生について記す.

筋原線維での反応項 f_{myo} は以下の様に表される.

$$f_{myo}^{Ca^{2+}} = -J_{TRPN} \frac{vol_{myo}}{vol_{cyto}} \quad (2.23)$$

$$f_{myo}^{ADP} = -V_{AM} \frac{vol_{myo}}{vol_{cyto}} \quad (2.24)$$

$$f_{myo}^{ATP} = V_{AM} \frac{vol_{myo}}{vol_{cyto}} \quad (2.25)$$

V_{AM} は ATP の消費速度である.

収縮力発生モデルは波田野の A 帯の収縮力発生モデルを利用した. 筋原線維に 4 状態 (TCa, TCa*, T, T*) を定義している. T はトロポニン, TCa は Ca^{2+} と T が結合した状態, *は収縮力発生を起こしている状態を示す. Ca^{2+} 濃度と筋の収縮状態に応じ以下のように変化する.

$$\frac{dX}{dt} = -B \cdot (h_c - h) \quad (2.26)$$

$$Q_1 = \alpha_1 [Ca^{2+}]_{cyto} [T] - \beta_1 [TCa] \quad (2.27)$$

$$Q_2 = \alpha_2 [TCa] e^{-20(SL - SL_0)^2} - \beta_2 [TCa^*] \quad (2.28)$$

$$Q_3 = \alpha_3 [TCa^*] - \beta_3 [Ca]_{cyto} [T^*] \quad (2.29)$$

$$Q_4 = \alpha_4 [T^*] + \alpha_5 \left(\frac{dX}{dt} \right)^2 [T^*] \quad (2.30)$$

$$Q_5 = \alpha_5 \left(\frac{dX}{dt} \right)^2 [TCa^*] \quad (2.31)$$

$$\frac{d[TCa]}{dt} = Q_1 - Q_2 \quad (2.32)$$

$$\frac{d[TCa^*]}{dt} = Q_2 - Q_3 - Q_5 \quad (2.33)$$

$$\frac{d[T^*]}{dt} = Q_3 - Q_4 \quad (2.34)$$

$$\frac{d[T]}{dt} = -\left(\frac{d[T^*]}{dt} + \frac{d[TCa]}{dt} + \frac{d[TCa^*]}{dt}\right) \quad (2.35)$$

$$J_{TRPN} = (Q_1 - Q_3 - Q_5) \cdot [TRPN] \quad (2.36)$$

$$h = SL - X \quad (2.37)$$

$$Force = \zeta[TRPN] \cdot [TCa^*] \cdot [T^*] \cdot h \quad (2.38)$$

$Force$ は筋原線維の各節点で発生した収縮力， SL は筋原線維の長さである．

ミトコンドリア

ミトコンドリア節点での反応項は以下のようになる

$$f_{mit}^{Ca^{2+}} = -(V_{uni} - V_{ANT}) \frac{vol_{mit}}{vol_{cyto}} \quad (2.39)$$

$$f_{mit}^{ADP} = -V_{ANT} \frac{vol_{mit}}{vol_{cyto}} \quad (2.40)$$

$$f_{mit}^{ATP} = +V_{ANT} \frac{vol_{mit}}{vol_{cyto}} \quad (2.41)$$

V_0 はタンパク質の反応速度である． V_{ANT} はアデニンヌクレオチド交換体， V_{uni} はミトコンドリアの Ca^{2+} 単輸送の速度となる．

2.4 力学現象の記述

筋原線維によって発生し，細胞形状内に分布した収縮力を用いて変形を解析するために，有限要素法で力学的平衡問題を解く．

筋肉は超弾性体と仮定した．超弾性体は歪から応力状態が一意に求まる材料である．歪みポテンシャル W の定義により物質特有の応力歪特性を与える（構成則）．

本研究で解かれている力学平衡方程式は，以下の通りである．

$$\int_V \left(2 \frac{\partial W}{\partial C} + \lambda J C^{-1}\right) : \delta E dV + \int_{S_t} \bar{t}_b \cdot \delta u dS = 0 \quad (2.42)$$

$$\int_V \delta\lambda \left\{ (J-1) - \frac{2\lambda}{\kappa} \right\} dV = 0 \quad (2.43)$$

V は解析領域, \mathbf{u} は仮想変位, $\delta\mathbf{E}$ は \mathbf{u} に由来する仮想歪, λ はラグランジュ未定乗数, κ は体積弾性率, $\bar{\mathbf{t}}_b$ は応力境界条件, \mathbf{S}_t は応力境界条件の定義される面である.

2.4.1 構成則

筋原線維の構成則として, 波田野は *passive* な剛性と *active* な剛性を組み合わせたものを用いており [4], 本研究でもこれを使用した. ただし, 定数は波田野のモデルを 2.5 倍したものをういた. これは筋原線維以外の部分が波田野モデルより多く, それに加えて, I 帯がないことを考慮したからである.

ミトコンドリアと細胞質は, 波田野モデルと同様に, 一般的な生体材料の特性を示す 3 次の Mooney-Rivlin 体の構成則をもちいることとし, 係数も参照した [4].

2.5 解析条件

2.5.1 境界条件

モデルの表面全てにおいて，細胞膜のイオンチャンネルを介するイオンの出入りを除き，流入 0 のノイマン境界条件を用いた．力学の境界条件については，単軸方向には片面は変位固定，もう一面は応力 0 の境界条件を用いた．変位固定と応力 0 の面の位置は図 2.12 に示す．

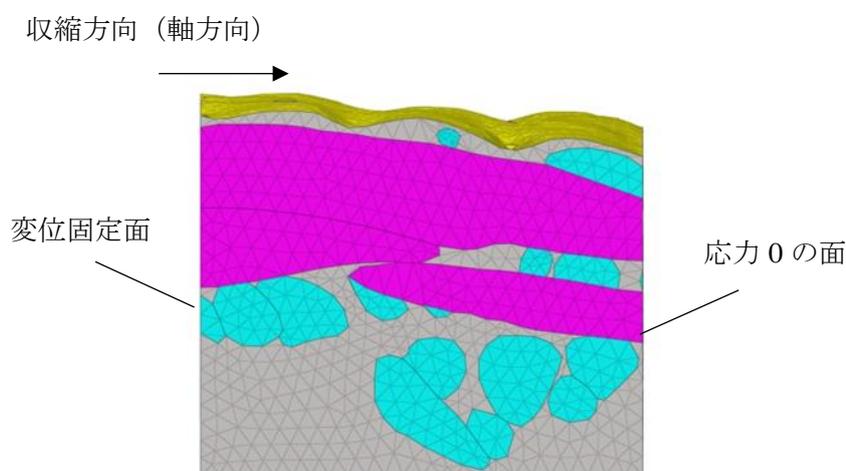


図 2.12 力学的境界条件

2.5.2 計算条件

拡散解析には陽解法を用いた．電気生理モデルの特性上， Ca^{2+} の放出のタイミングでは解が収束するために非常に細かいタイムステップ必要とする．最大のタイムステップを $1.0 \times 10^{-1}ms$ ，最小のタイムステップを $1.0 \times 10^{-6}ms$ として，濃度変化が急な時，つまり Ca^{2+} 放出のタイミングでは最小のタイムステップとなるようにした．

力学解析には陰解法を用いた．内力と合成マトリクスの計算を行い，変位増分修正量を導出し，力学的平衡の解が収束するまで反復を行う．力学解析は，拡散解析ほど細かくタイムステップを取る必要がないため，本解析では変形するタイムステップとして $1ms$ を用い，その間は形状の修正を行わずに反応拡散のみを解いた．

計算のアルゴリズムを以下に示す．

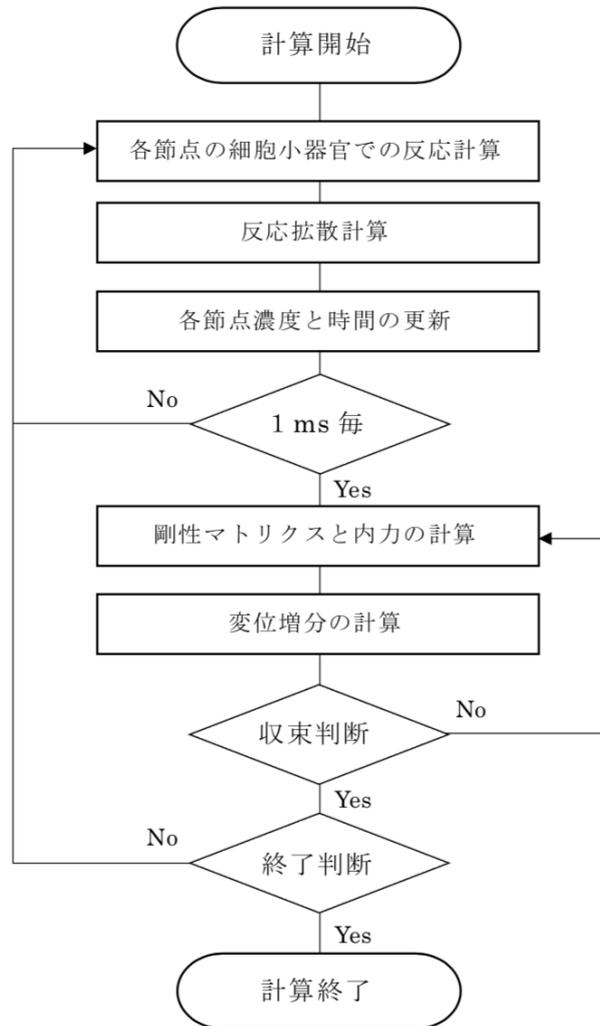


図 2.13 計算フローチャート

第3章 結果と考察

3.1 JSR の分布評価

図 3.1 は有限要素モデルにおける JSR 節点の分布を、収縮方向を縦軸として示したものである。赤い点線は Z 帯の位置である。図 3.2 は収縮方向を横軸にとり、約 1.1 μm ほどの JSR 節点数を表している。Z 帯が端に位置しているため、最初と最後はおよそ 0.55 μm の間に位置する節点数となっている。これらの図から、収縮方向におよそ 2 μm ごとに JSR の節点位置が集中していることがわかり、この部分が Z 帯である。Z 帯から 0.55 μm 以内の JSR 節点数は全体の JSR 節点数の 76%を占めている。

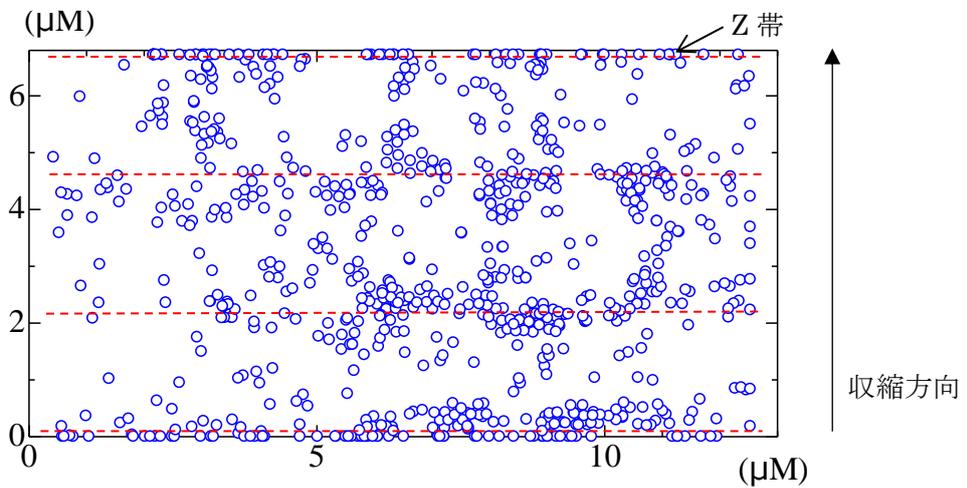


図 3.1 有限要素モデルの JSR 節点の分布

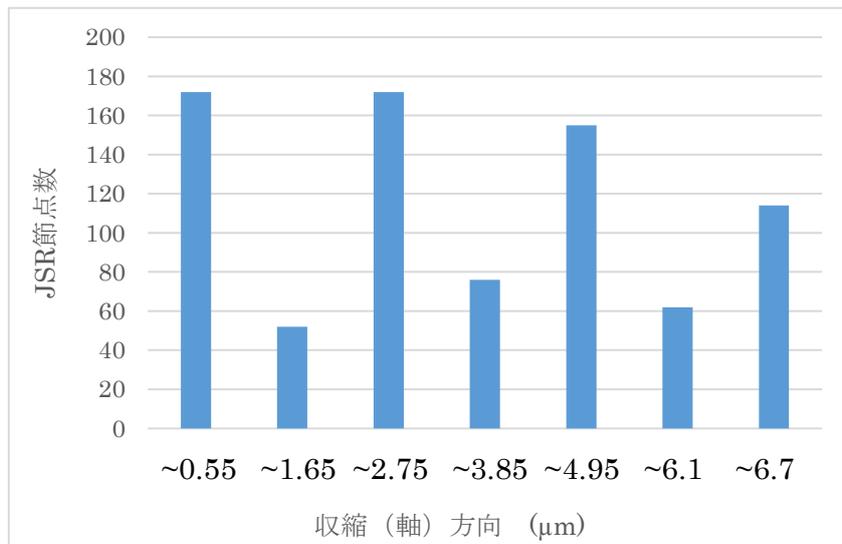


図 3.2 収縮方向の JSR 節点の分布

3.2 Ca^{2+} 拡散解析の評価

細胞全体での平均 Ca^{2+} 濃度変化と膜直下における Ca^{2+} 濃度変化を図 3.3 に示す. ミトコンドリア以外の細胞質領域全体を細胞全体とし, また T 管と節点を共有する細胞質の領域を膜直下とした. 細胞全体の濃度の挙動として, 54ms に 1.2 μ M のピーク値を示し, その後徐々に濃度が低下し, 収束していくことがわかる. 一方で膜直下における Ca^{2+} 濃度は, 細胞全体に比べ急激に上昇し, 10ms に 3.4 μ M のピーク値を示す. その後低下していき, 300ms 以降は細胞全体の濃度とほとんど同じ挙動を示す. Weber らの実験値[10]では, 細胞全体の Ca^{2+} 濃度のピーク値は 81ms で 1.1 μ M, 膜直下の Ca^{2+} 濃度のピーク値は 32ms で 3.2 μ M の値をとっている. 解析値はこの実験値を再現できているといえる.

図 3.4 は NSR 内の Ca^{2+} 濃度変化を示す. グラフは細胞全体での Ca^{2+} 濃度変化と逆の形を描いており, 最初は JSR からの放出に伴い NSR からの輸送項が多くなるため濃度が下がるが, その後汲み上げによって濃度が上がっていく. 最小値は 48ms で 98 μ M となった. 波田野[4]の解析結果は約 120ms で最小値約 100 μ M を示しており再現しているといえる.

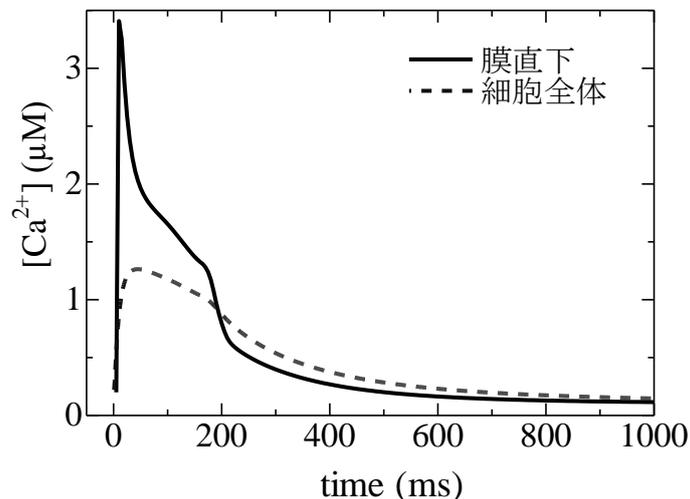


図 3.3 細胞内と膜直下での Ca^{2+} 濃度変化の解析結果

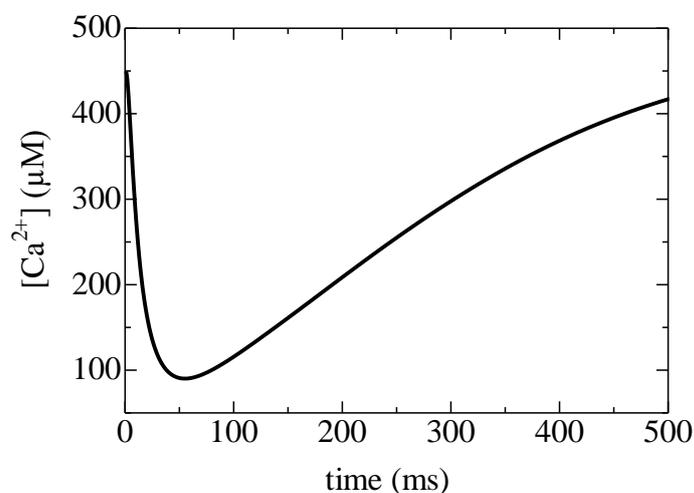


図 3.4 NSR 内 Ca^{2+} 濃度変化の解析結果

次に収縮（軸）方向の筋原線維における拡散の分布を示す．図 3.5 は解析モデルの切断位置を示し，図 3.6 は 5ms の時間が経過した状態の，切断面での筋原線維における Ca^{2+} 分布であり，点線は Z 帯の位置を示している．図 3.7 は，実形状モデルでの筋原線維における Ca^{2+} 拡散の時間経過による分布変化を示す．まず，リアノジンレセプタ(RyR)が開くことによって JSR から Ca^{2+} が大量に放出され，Z 帯付近の Ca^{2+} 濃度が急激に上昇していることがわかる．その後 Ca^{2+} が拡散されていき，細胞全体で濃度が上昇する．筋原線維内の反応拡散係数が他の小器官内よりも高いため，筋原線維内を通じて全体に広がっていく様子が確認される．十分全体に拡散したのちに NSR の汲み上げにより 200ms 前後で急速に吸収され，濃度が低下する．

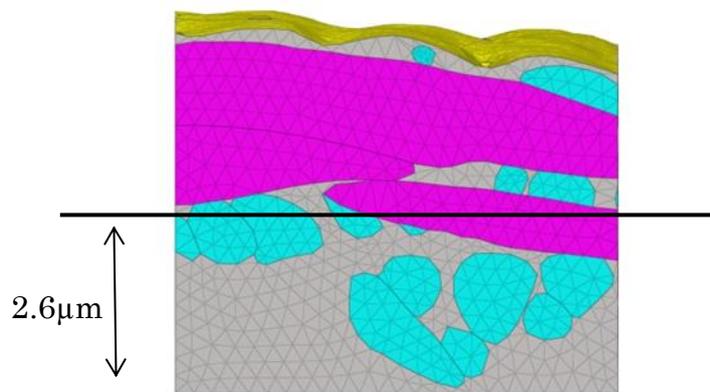


図 3.5 断面位置

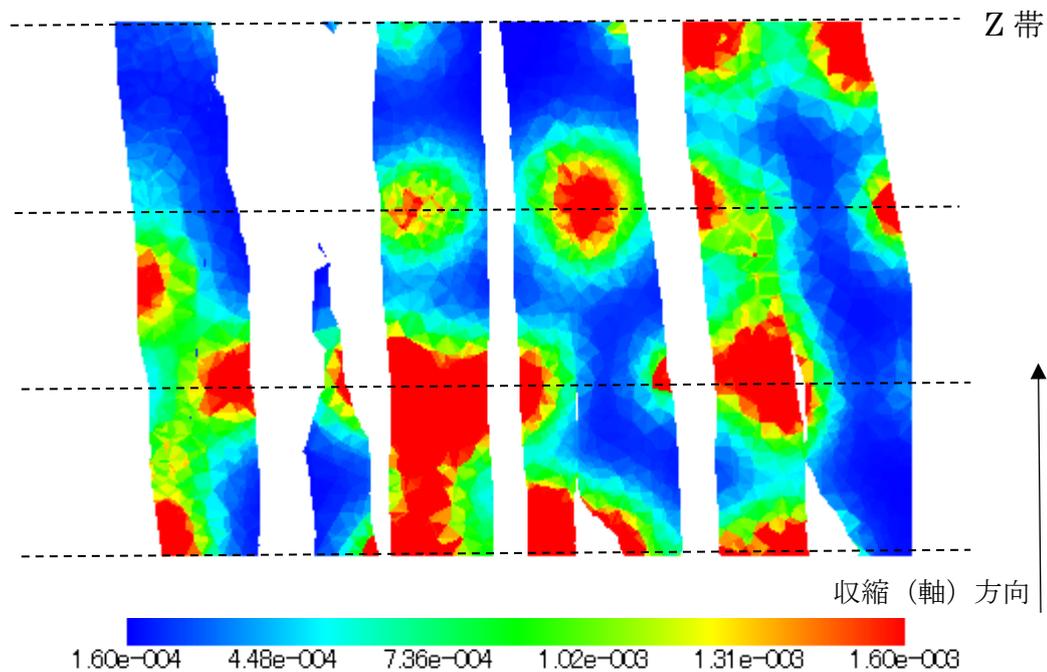


図 3.6 筋原線維と Z 帯の位置 (5ms 後)

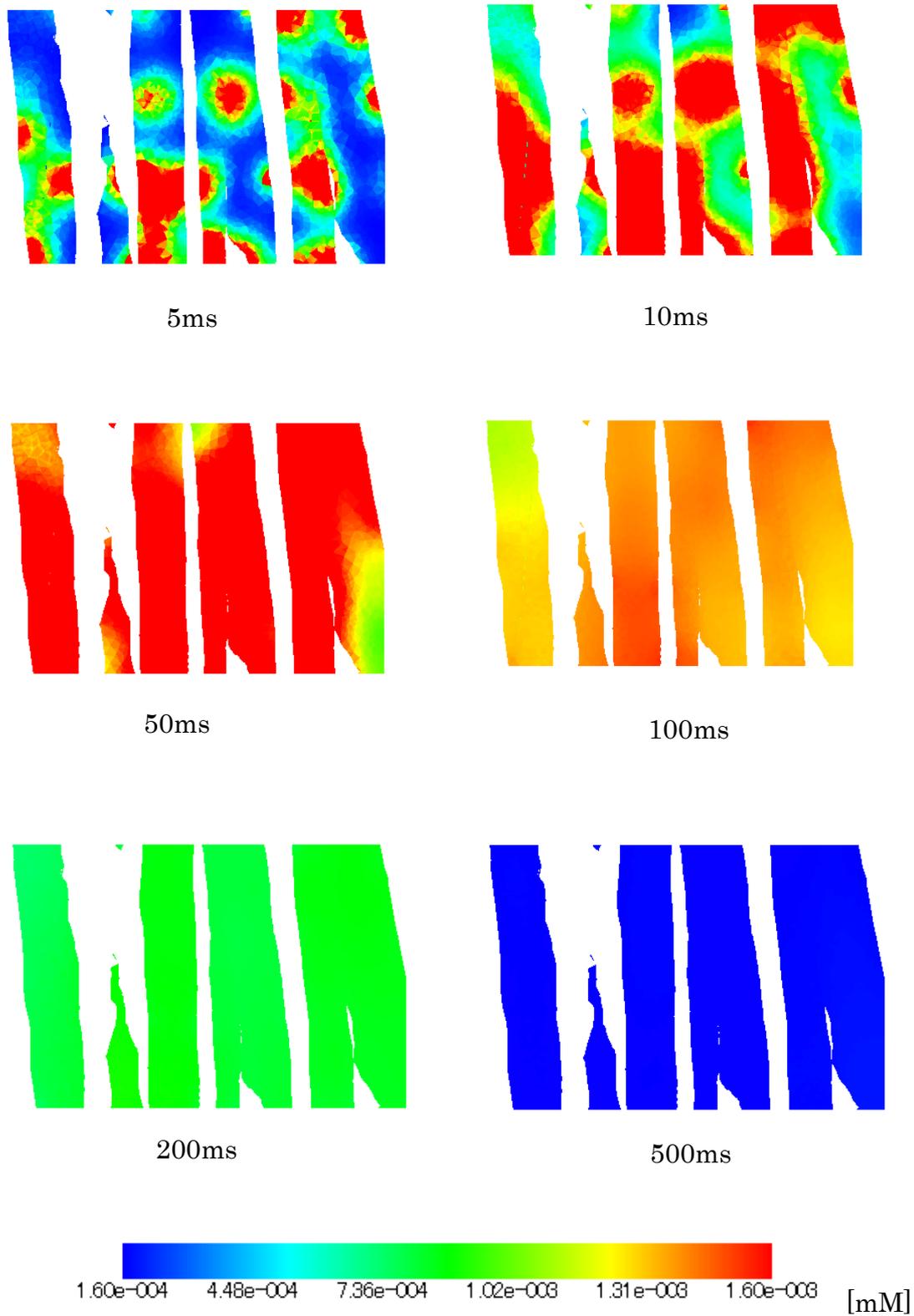


図 3.7 筋原線維内 Ca^{2+} 濃度変化

次に M 線断面と Z 帯断面での Ca^{2+} 濃度の空間分布の比較をする。図 3.8 は解析モデルにおける切断面位置，図 3.9 は各位置でのミトコンドリア，筋原線維，細胞質の形状を示す。図 3.10 は各切断面での Ca^{2+} 濃度空間分布の変化である。Z 帯付近は JSR の節点数が多いため，リアノジンレセプタが開いた直後は局所的濃度が非常に高くなっている。一方で，M 線付近には JSR が少ないため，リアノジンレセプタ (RyR) が開いた直後に，急激に濃度が上がることはない。時間が少し経過すると，M 線付近の濃度と Z 帯付近の濃度の勾配が小さくなっていく。これは先述したように，筋原線維内の拡散性が高いため収縮（軸）方向に拡散していくからであると考えられる。100ms が経過すると，RyR から放出された Ca^{2+} が細胞全体に拡散し，また NSR による汲み上げは筋原線維全体に生じるため，Z 帯付近と M 線付近での Ca^{2+} 濃度の勾配差はほとんどなくなる。100ms 以降は NSR による汲み上げが Ca^{2+} における最も強い反応項となるため，Z 帯と M 線付近で勾配が生じないまま濃度が下がっていくことがわかる。

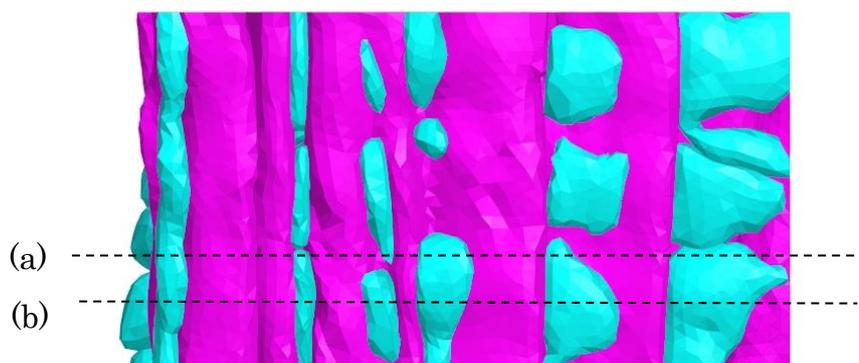


図 3.8 有限要素モデル切断面位置

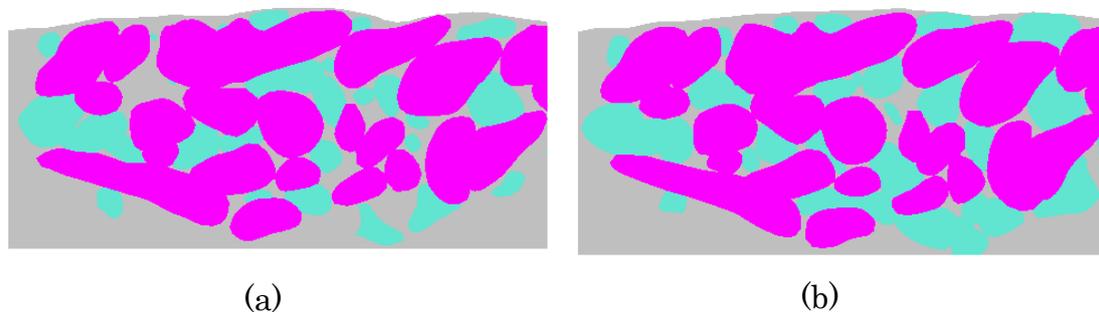


図 3.9 Z 帯 (a) と M 線 (b) での各小器官の形状 (灰：細胞質 桃：筋原線維 青：ミトコンドリア)

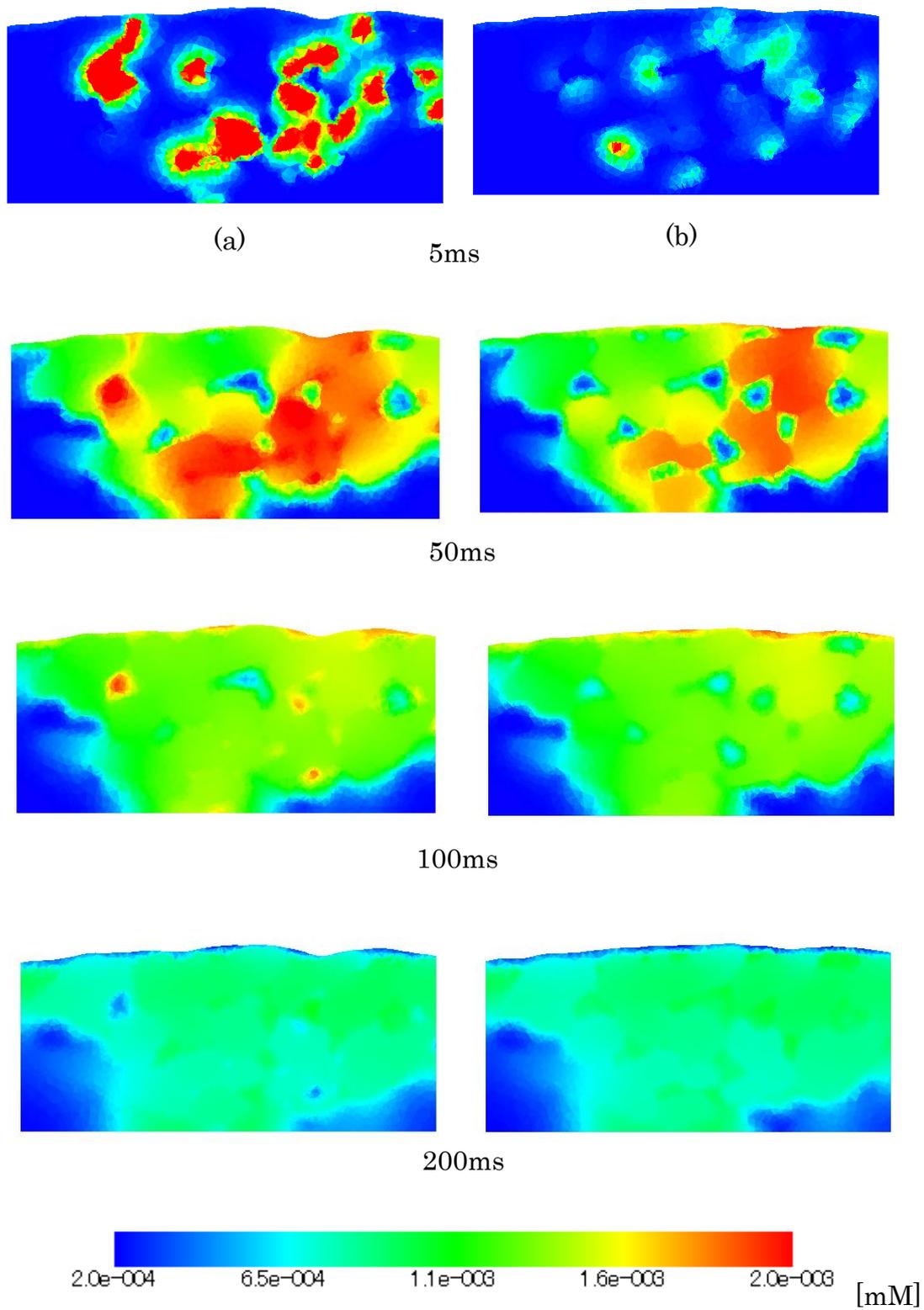


図 3.10 Z 帯周り (a) と M 帯周り (b) における Ca^{2+} 濃度変化

図 3.11 に Z 断面(a)と M 断面(b)での平均 Ca^{2+} 濃度変化を示す. ミトコンドリア以外の細胞領域での濃度とした. Z 断面は, ピーク値 $1.25\mu M$ を $45ms$ でむかえており, M 断面は Z 断面よりも少し遅れて $60ms$ で $1.15\mu M$ のピークを迎えていることがわかる. おおよそ $200ms$ で 2 つのグラフは重なり, 以降同じ挙動を示す. M 断面が Z 断面よりピークが遅れ, そのピーク値も小さくなっているのは, 主に Z 帯, M 線の順に Ca^{2+} が拡散していくからであると考えられる.

波田野の研究では, I 帯と A 帯における平均 Ca^{2+} 濃度の解析結果が示されており, A 帯のピーク値は約 $1.3\mu M$, I 帯のピーク値は約 $1.6\mu M$ となっている[4]. 筋原線維の構造を鑑みると, A 帯と I 帯の濃度差よりも M 線と Z 帯での断面間の濃度差のほうがより顕著に表れるはずである. しかし本解析では, 先行研究で示された A 帯と I 帯の濃度差を断面間の濃度差が下回るという結果になった. これは波田野の研究で使用された簡易化モデルが, Z 帯にのみ JSR を配置しており, 規則的になっているため, 実際の JSR 分布から誇張されすぎていた可能性がある.

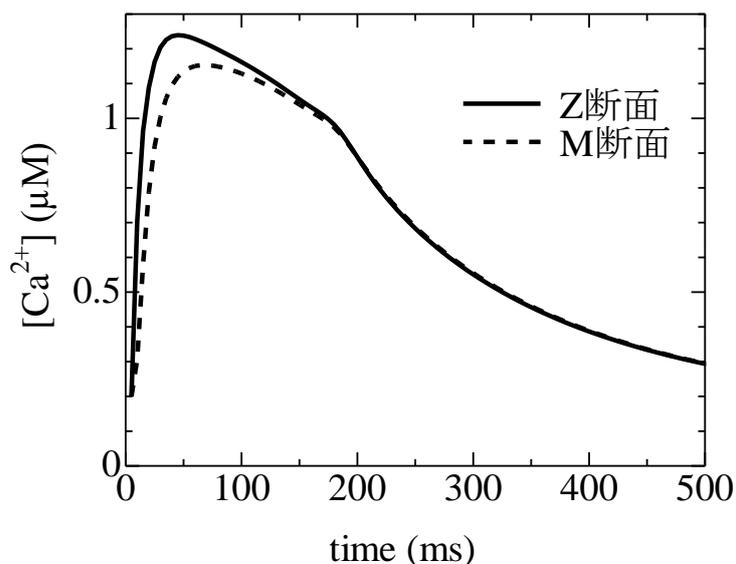


図 3.11 Z 断面と M 断面での濃度変化の違い

3.3 ミトコンドリア内の拡散評価

各ミトコンドリア内の平均の Ca^{2+} 濃度変化と膜直下 (T管に近いところに位置する) ミトコンドリアでの Ca^{2+} 濃度変化を図 3.12 に示す. 細胞全体と比べるとその振れ幅はかなり小さく約 $0.01\mu M$, また濃度が上昇したのちに細胞全体とは異なり濃度が低下していないことから, ミトコンドリア内に Ca^{2+} が徐々に貯蓄されていくことが予測される. T管に近い位置のミトコンドリアと, 全ミトコンドリアの平均を比較すると, T管に近いミトコンドリアのほうが振れ幅は大きく, 約 1.5 倍となっている. ピーク値を示すのは 300ms 程度となっており, 細胞全体での濃度変化と比べるとかなり遅れてピークを迎えている.

この解析結果は, 波田野の解析結果[4]とは, 一部異なる挙動を示している. 波田野の解析結果でも, 各ミトコンドリア平均の濃度の変動は小さく, 振れ幅は本解析結果と同様の値を示していた. 一方で, Z帯に近いミトコンドリア内の Ca^{2+} 濃度振れ幅は約 $0.04\mu M$, ピークを 200ms で迎えた後, 細胞全体の Ca^{2+} 濃度変化と同様に徐々に濃度が低下していき, 元の濃度に収束していく.

これらの違いが生じた原因として, まず定常状態に本解析が行き着いていないことが挙げられる. また, ミトコンドリア内 Ca^{2+} 濃度は V_{uni} に影響される. V_{uni} はミトコンドリア部分の細胞質 Ca^{2+} 濃度に大きく依存するため, この濃度に違いがあると考えられる.

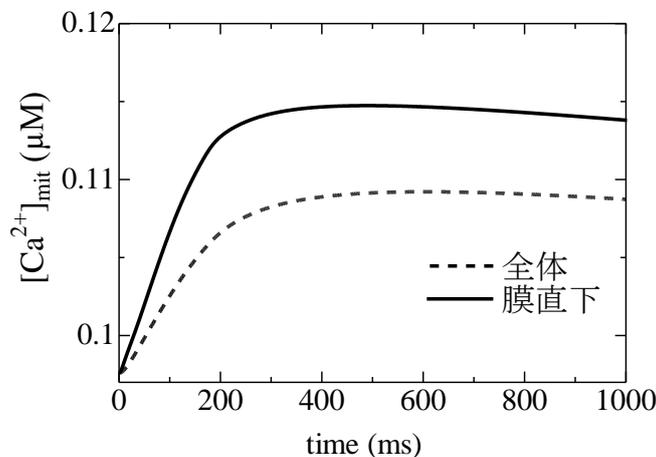


図 3.12 ミトコンドリア内における Ca^{2+} 濃度変化

ミトコンドリア部分の細胞質平均 Ca^{2+} 濃度変化を図 3.13 に示す. 100ms で $1.1\mu M$ のピークを迎え, 1000ms で収束する. 一方波田野の解析結果では, ミトコンドリア部分の細胞質のピーク値は約 60ms で $1.5\mu M$ となっており, 収束するのはおよそ 400ms である[4]. ピーク値はそれぞれ細胞全体の細胞質平均 Ca^{2+} 濃度とほぼ同じ値をとっている. これらの解析結果には大きな違いがみられない. しかし, 細胞全体での断面間での Ca^{2+} 濃度差と同様に考えると, JSR の規則的な配置のために, 波田野の解析における Z帯近くのミトコン

ドリア部分とそれ以外に位置するミトコンドリア部分の細胞質の Ca^{2+} 濃度差は、本解析での濃度差より大きいと考えられる。ゆえに Z 帯近くのミトコンドリア内平均 Ca^{2+} 濃度変化のピーク値は、本解析よりも先行研究の解析結果が高くなっていると推測される。

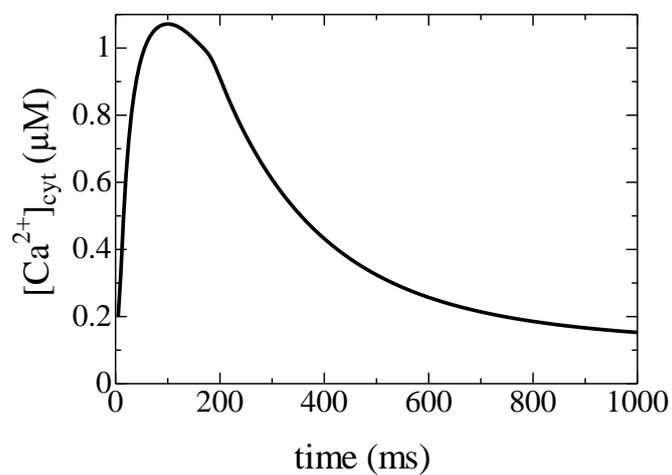


図 3.13 ミトコンドリア部分の細胞質 Ca^{2+} 濃度変化

3.4 力学的変形の影響

片面固定, 片面无負荷の境界条件時の力学的変形の挙動を示す. 発生した収縮力平均値の推移 (図 3.14) より, 210ms にピーク値 7.1kPa を迎え, その後徐々に小さくなっていくことが確認される.

最大収縮率の変化を図 3.15 に示す. 本解析では最大で約 6%の収縮がみられた. 徐々に収縮し始め, 200ms でピークとなり, その後弛緩していく.

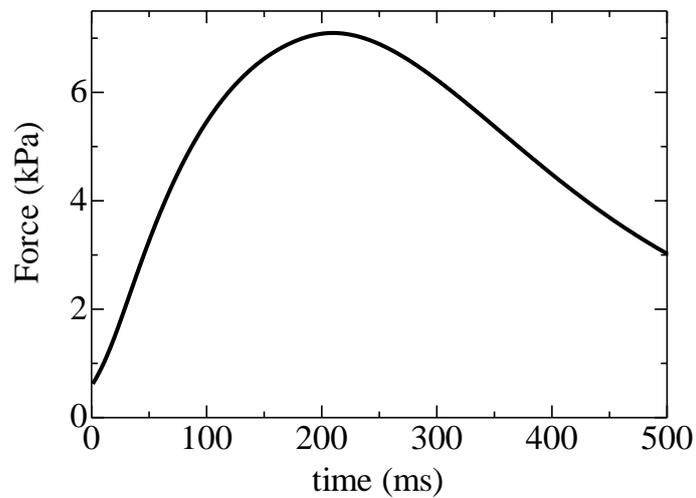


図 3.14 発生した収縮力の変化

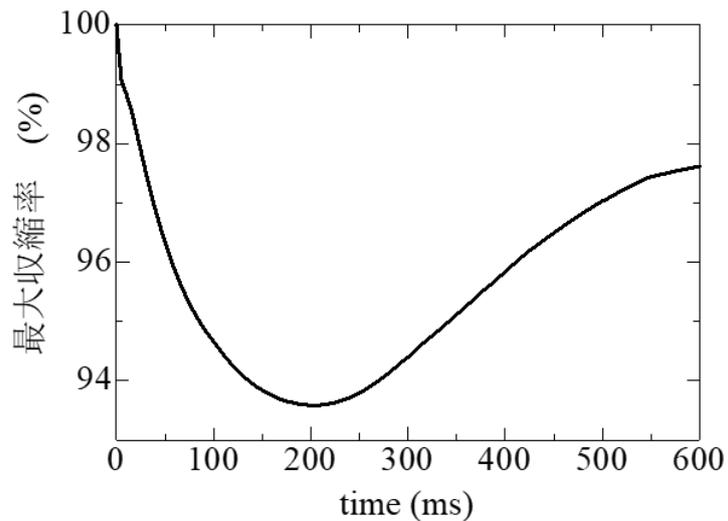


図 3.15 収縮率の変化

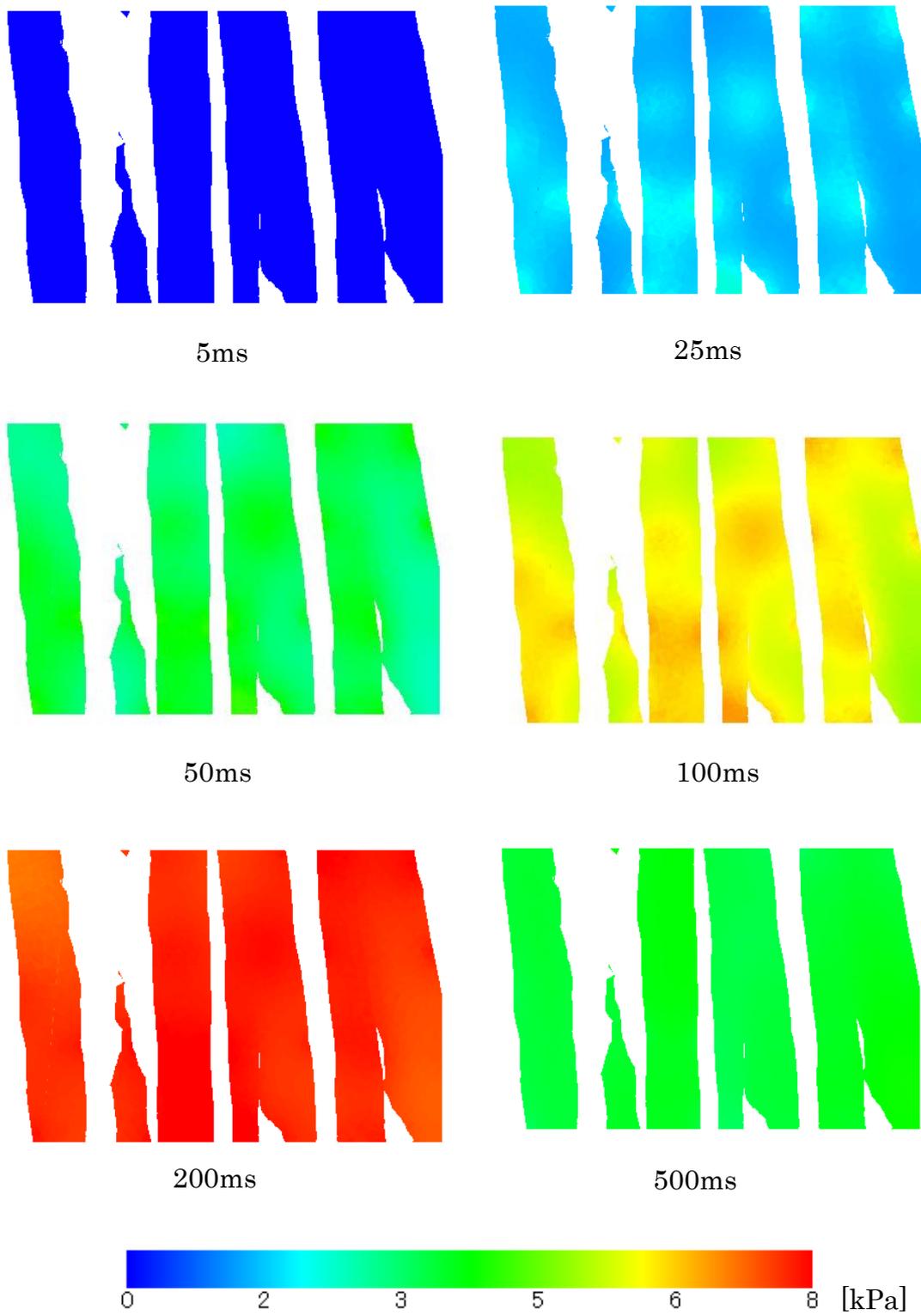


図 3.16 筋原線維に発生した収縮力の空間分布

図 3.16 に筋原線維において発生した収縮力の分布を示す。これは図 3.7 と同様の切断面である。200ms において筋原線維全体に収縮力がかかっていることがわかる。ピークの際は、収縮力のほうが遅れて迎える。RyR が開いた直後 (5ms 前後) では、その時の Ca^{2+} 濃度空間分布のような、位置による大きな収縮力の違いは示さないが、時間が経過すると Ca^{2+} 濃度空間分布と同様の空間分布を示している。

次に力学的境界条件を変えたときの細胞全体における拡散解析結果を図 3.17 に示す。両端固定したものと、片面固定片面無負荷としたものと拡散結果を比べると、その値に有意な差は生じなかった。 Ca^{2+} 濃度変化に対し、変形が主に影響を与えるのは各小器官の反応項ではなく拡散現象であると推測され、本解析では片面固定の場合最大で 6% の収縮であり変形が小さいことから、有意差が生じなかったと考えられる。

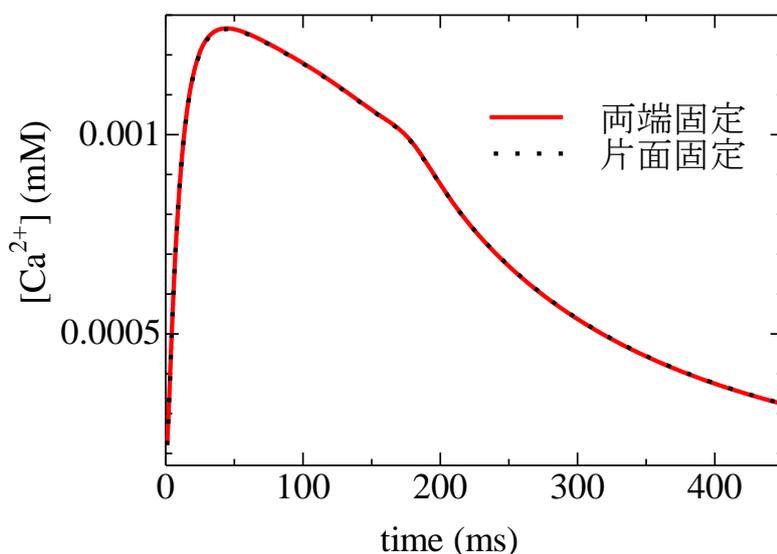


図 3.17 境界条件の変化による拡散結果の違い

第4章 結言

4.1 結論

本研究では、心筋細胞の小器官のうち比較的大きな筋原線維とミトコンドリアを四面体要素とし、微細な小器官である JSR と T 管を節点として近似することにより、その位置は実形状に沿ったものとしながら計算量の軽減を行った。

実形状モデルにおいて、電気生理現象に関しては、有意な時間解析をすることが可能となり、 Ca^{2+} が収縮のために放出、拡散され、その後吸い上げられ次の収縮に備えるところまで再現することが可能となった。力学的現象については、 Ca^{2+} が拡散され、細胞全体の濃度が上がることで収縮力を発生させ、その収縮力に基づいて細胞が収縮し、濃度低下に基づいて収縮力の発生が抑えられ、弛緩していく様子も確認することができた。

4.2 今後の課題

今回の解析では正常な細胞の再現のみとなった。簡易化された心筋細胞モデルにおいて正常状態の力学・電気生理現象は再現されているため、病理状態の細胞において実形状モデルの解析を行うことでその意義を示すことが必要となる。本研究で使用した有限要素モデルは手作業で作成し、修正しているため、多くの細胞について解析を行うことのために自動化されることが望ましい。

また、力学的現象による拡散現象への影響が今回は見られなかった。力学的現象が有意な差を本当に生じさせないのか、本研究の変形が小さすぎるがゆえに生じなかったのかは確認できていない。大きすぎる変形は計算の発散につながりやすく、安易にパラメータを変更することも望ましくない。メッシュの精度をさらに上げ、収縮と拡散現象の関係性を明らかにすることが必要となる。

謝辞

本研究は多くの方のご指導，ご協力を賜りました。まずは，関係者全ての方にお礼申し上げます。

指導教員の波田野明日可講師には大変お世話になりました。大変な時期に，初歩的なところから，最後まで研究のありとあらゆる面でご指導いただきました。この場を借りて感謝申し上げます。誠にありがとうございました。

研究室では，違う分野にも関わらず，色々と助けていただき，先輩方にも大変お世話になりました。

最後に，共に卒業論文を執筆した研究室の同期，これまで私を支えてくれた家族に感謝の意を表して，謝辞とさせていただきます。

参考文献

- [1] 厚生労働省, “令和元年 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,” 2020.
- [2] A. Maloyan *et al.*, “Mitochondrial dysfunction and apoptosis underlie the pathogenic process in α -B-crystallin desmin-related cardiomyopathy,” *Circulation*, vol. 112, no. 22, 2005.
- [3] F. R. Heinzel *et al.*, “Remodeling of T-tubules and reduced synchrony of Ca^{2+} release in myocytes from chronically ischemic myocardium,” *Circ. Res.*, vol. 102, no. 3, 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,” vol. 4, no. 1, pp. 64–75, 2012.
- [5] 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,” pp. 1–40, 2018.
- [6] S. Ghosh *et al.*, “Insights on the impact of mitochondrial organisation on bioenergetics in high-resolution computational models of cardiac cell architecture,” *PLoS Comput. Biol.*, vol. 14, no. 12, 2018.
- [7] V. Rajagopal *et al.*, “Creating a structurally realistic finite element geometric model of a cardiomyocyte to study the role of cellular architecture in cardiomyocyte systems biology,” *J. Vis. Exp.*, vol. 2018, no. 134, 2018.
- [8] M. A. Colman, C. Pinali, A. W. Trafford, H. Zhang, and A. Kitmitto, “A computational model of spatio-temporal cardiac intracellular calcium handling with realistic structure and spatial flux distribution from sarcoplasmic reticulum and t-tubule reconstructions,” *PLoS Comput. Biol.*, vol. 13, no. 8, 2017.
- [9] K. Uchida and A. N. Lopatin, “Diffusional and Electrical Properties of T-Tubules Are Governed by Their Constrictions and Dilations,” *Biophys. J.*, vol. 114, no. 2, 2018.
- [10] C. R. Weber, V. Piacentino, K. S. Ginsburg, S. R. Houser, and D. M. Bers, “ Na^{+} - Ca^{2+} exchange current and submembrane $[\text{Ca}^{2+}]$ during the cardiac action potential,” *Circ. Res.*, vol. 90, no. 2, 2002.

以上

令和 3 年 1 月 29 日 提出

指導教員 波田野 明日可 講師

03190239 望月 優