

# 心筋細胞活動電位シミュレーションを用いた QT 延長メカニズムの検討

山口 喬弘\*・荒船 龍彦\*・佐久間一郎\*・大内 克洋\*\*  
柴田仁太郎\*\*\*・本荘 晴朗†・神谷香一郎†・児玉 逸雄†

## Analysis of QT Prolongation Using Cardiac Action Potential Simulation

Takahiro YAMAGUCHI,\* Tatsuhiko ARAFUNE,\* Ichiro SAKUMA,\* Katsuhiko OUCHI,\*\*  
Nitaro SHIBATA,\*\*\* Haruo HONJO,† Kaichiro KAMIYA,† Itsuo KODAMA†

**Abstract** In heart failure, QT interval and action potential duration (APD) is prolonged and  $I_{Ks}$ , a slow component of delayed rectifier potassium current, decreases. We have reported that the KCNE1 gene, coding  $I_{Ks}$  channel, increases and QT interval is prolonged in patients with heart failure. Since it is known that increasing KCNE1 increases the maximum conductance of the  $I_{Ks}$  channel, the mechanism of APD prolongation is not explained by the over expression of KCNE1. In this study, we construct a cardiac membrane action potential simulation model based on the experimental data from oocytes expression to investigate the relationship between the increase of KCNE1 and APD. In the experiment of oocyte expression, 1 ng and 5 ng of KCNE1 were co-injected with 5 ng of KCNQ1. Expressed currents were recorded 1-2 days after injection by the double-microelectrode voltage clamp method at 35 degrees centigrade. Maximum  $I_{Ks}$  conductance and relationships between time constants, maximum activation parameter and membrane potential were obtained from fitting functions describing  $I_{Ks}$  channel properties in the Luo-Rudy model to experimental results with the Nelder-Mead simplex method. In simulations, APD was prolonged by increasing the co-injected amount of KCNE1. APD at 5 ng KCNE1 was 183 ms, which is 3.4% longer than that at 1 ng KCNE1 (APD = 177 ms). This study shows that increasing the KCNE1 expression level makes maximum  $I_{Ks}$  conductance increase and  $I_{Ks}$  channel open slowly and  $I_{Ks}$  conductance decrease according to the APD time scale. Therefore increasing the KCNE1 expression level may prolong APD with this mechanism. This method of constructing a simulation model based on experiments helps to explain the relationship between KCNE1 expression ratio and QT interval prolongation.

**Keywords:** QT interval prolongation, remodeling,  $I_{Ks}$  current, KCNE1, Luo-Rudy model.

## 1. 序 論

心不全患者では、心電図 QT 間隔の延長と不整脈がしば

2004年5月1日受付, 2004年8月10日改訂, 2004年10月14日再改訂

Received May 1, 2004; revised August 10, 2004, October 14, 2004.

\* 東京大学大学院新領域創成科学研究科

Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo

\*\* 東京医科歯科大学生体材料工学研究所

Division of Biosystems, Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

\*\*\* 東京都保健医療公社大久保病院

Div. of Cardiology, Dept. of Medicine, Tokyo Metropolitan Ohkubo Hospital

† 名古屋大学環境医学研究所

Research Institute of Environmental Medicine, Nagoya University

しば伴うことが知られている。これら心不全に伴う心電図 QT 延長や不整脈発生の機序としては、心不全の進展に応じて心筋再分極相を規定するイオンチャネルの特性が変化し(リモデリング)、活動電位持続時間(action potential duration: APD)が延長して心室再分極相の不安定性が増した結果と考えられている[1-3]。しかしながら、その詳細については殆ど解明されていない。

我々はこれら不全心筋の再分極相の不安定性に注目し、遅延整流性外向き  $K^+$ チャネル( $I_{Ks}$ チャネル)の特性と APD の関係について研究を行っている。最近では、心不全患者において、心電図 QT 間隔と遅延整流性外向き  $K^+$ 電流( $I_{Ks}$ )の  $\alpha$ サブユニットをコードする KCNQ1 遺伝子さらに  $\beta$ サブユニットをコードする KCNE1 遺伝子の量を測定した。これによれば、心不全の進展に伴って心電図 QT 間隔が延長し、KCNE1 遺伝子の mRNA 量が増加した[4]。通常、細胞電気生理学の実験ではこのような KCNE1 遺伝

子の増加は  $I_{Ks}$  電流量を顕著に増加させることが報告されている [5].  $I_{Ks}$  電流量の増加は再分極を促進すなわち QT 間隔を短縮させるので, KCNE1 遺伝子の増加からは心不全患者の心電図 QT 間隔延長を説明することはできない. 一方, 心不全の動物実験モデルを用いた従来の研究では,  $I_{Ks}$  電流量の減少 [6] が報告されていることから, 人においても心不全では  $I_{Ks}$  電流量が減少すると推定されるがその報告は現在に至るまでない.

KCNE1 遺伝子の増加すなわち  $I_{Ks}$  チャンネル  $\beta$  サブユニットの増加が  $I_{Ks}$  を修飾して心電図 QT 間隔を延長する機序については,  $I_{Ks}$  電流の大きさ (チャンネルコンダクタンス) のみならず電流活性化や不活性化のキネティクスが変化したためである可能性が考えられる [7]. 例えば, KCNE1 遺伝子の増加はチャンネルコンダクタンスを大きくすると同時に活性化を遅延させることが知られており, APD 程度の長さ (約 250 ms) の脱分極では  $I_{Ks}$  電流は却って減少し, その結果心不全では APD が延長しているのではないかと推測される. しかしながら, このような現象は複数の要素が複雑に関わりあって起きており, その関連性を客観的事実に基づいて詳細に示すことは難しい.

そこで我々は, KCNE1 遺伝子の発現量を変化させたアフリカツメガエルの卵母細胞を用い, 発現した  $I_{Ks}$  チャンネル特性を計測する遺伝子発現実験を行い, その結果に基づく心筋細胞活動電位数値計算モデルを構築することによって, APD 延長が発生する機序の解明を進めている. 本報告では, 遺伝子発現実験のデータから心筋細胞活動電位数値計算モデルを構築する手法について報告する.

## 2. 方 法

### 2.1 遺伝子発現実験

KCNQ1 及び KCNE1 遺伝子を一定量で発現させた場合

の  $I_{Ks}$  チャンネルの特性を計測するため, 遺伝子発現実験を行った. アフリカツメガエル卵母細胞に KCNQ1 遺伝子 5 ng と KCNE1 遺伝子 1 ng を注入した試料と, KCNQ1 遺伝子 5 ng と KCNE1 遺伝子 5 ng を注入した試料を用意し, 遺伝子注入から 2~4 日後に二電極膜電位固定法 (double-microelectrode voltage clamp method) によって  $I_{Ks}$  電流の過渡応答特性を計測した. 膜電位は  $-90$  mV に固定して安定させた後, あらかじめ設定した電位 ( $-60$  mV から  $40$  mV まで  $10$  mV 間隔) まで瞬時に上昇させ, 上昇後  $7.5$  s の間膜電位を固定した. さらにその後  $-80$  mV まで低下させ, 再分極時の過渡応答特性を計測した. サンプルング周期は  $1.2$  ms とし, 試料温度は  $35^\circ\text{C}$  に固定した. この実験を上述の 2 種類の遺伝子発現量で 3 例ずつ (計 6 例) 行った. 図 1 に KCNE1 遺伝子 1 ng を注入した場合の実験結果の 1 例を, 図 2 に KCNE1 遺伝子 5 ng を注入した場合の実験結果の 1 例を示す.

### 2.2 遺伝子発現実験に基づくモデル構築

心筋細胞の活動電位数値計算モデルである Luo-Rudy model [8-13] では, 前節の実験プロトコルにおける  $I_{Ks}$  チャンネルの過渡応答は以下のように表現される.

$$I_{Ks}(E_m) = G_{Ks\infty}(E_m) \cdot \{1 - \exp(-t / \tau_{Xs1}(E_m))\} \cdot \{1 - \exp(-t / \tau_{Xs2}(E_m))\} - (E_m - E_{Ks}) \quad (1)$$

$$= \bar{G}_{Ks} \cdot Xs_{\infty}^2(E_m) \cdot \{1 - \exp(-t / \tau_{Xs1}(E_m))\} \cdot \{1 - \exp(-t / \tau_{Xs2}(E_m))\} - (E_m - E_{Ks})$$

$$Xs_{\infty}(E_m) = 1 / \{1 - \exp(-(E_m - 1.5) / 16.7)\} \quad (2)$$

$$\tau_{Xs1}(E_m) = 1 / \{7.19 \times 10^{-5} \cdot (E_m + 30) / [1 - \exp(-0.148 \cdot (E_m + 30))] + 1.31 \times 10^{-4} \cdot (E_m + 30) / [\exp(0.0687 \cdot (E_m + 30)) - 1]\} \quad (3)$$

$$\tau_{Xs2}(E_m) = 4 \times \tau_{Xs1}(E_m) \quad (4)$$

ただし,  $E_m$ : 膜電位 [mV],  $t$ : 時刻 [ms]

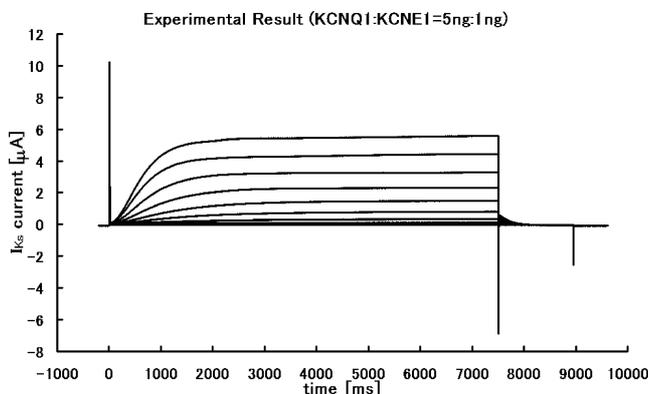


図 1 アフリカツメガエル卵母細胞に KCNQ1 遺伝子 mRNA 5 ng 及び KCNE1 遺伝子 mRNA 1 ng を注入した場合の遺伝子発現実験における,  $I_{Ks}$  電流の過渡応答計測結果

Fig. 1 Transitional  $I_{Ks}$  current in the experiment of oocyte expression when 5 ng KCNQ1 mRNA and 1 ng KCNE1 mRNA were co-injected in *Xenopus* oocyte.

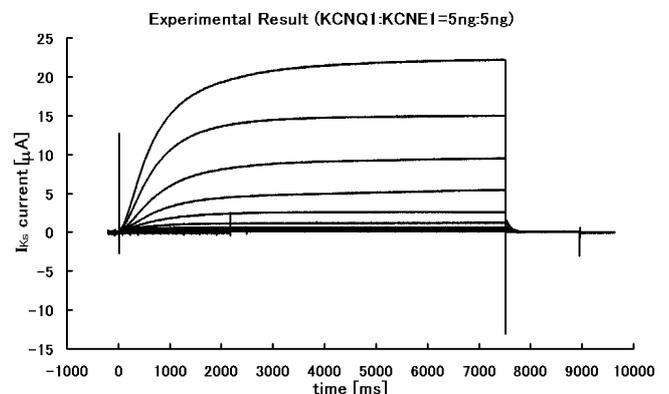


図 2 アフリカツメガエル卵母細胞に KCNQ1 遺伝子 mRNA 5 ng 及び KCNE1 遺伝子 mRNA 5 ng を注入した場合の遺伝子発現実験における,  $I_{Ks}$  電流の過渡応答計測結果

Fig. 2 Transitional  $I_{Ks}$  current in the experiment of oocyte expression when 5 ng KCNQ1 mRNA and 5 ng KCNE1 mRNA were co-injected in *Xenopus* oocyte.

$G_{Ks\infty}(E_m)$ : 膜電位別最大コンダクタンス [mS]

$\tau_{Xs1}(E_m)$ ,  $\tau_{Xs2}(E_m)$ : 時定数 [ms],  $E_{Ks}$ : 平衡電位 [mV]

$\bar{G}_{Ks}$ : 最大コンダクタンス [mS],  $X_{s\infty}(E_m)$ : 最大活性化係数

そこで、これらのパラメータのうち膜電位  $E_m$ , 時定数  $\tau_{Xs1}(E_m)$  及び  $\tau_{Xs2}(E_m)$ , 最大  $I_{Ks}$  コンダクタンス  $\bar{G}_{Ks}$ , 最大活性化係数  $X_{s\infty}(E_m)$  を、前節の実験結果より導出することによって KCNE1 遺伝子発現量の異なる心筋細胞の数値計算モデルを構築することとした。

まず、膜電位別の最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスを導出するため、遺伝子発現実験で得られた  $I_{Ks}$  コンダクタンス (試料数  $6 \times$  固定膜電位 11 段階) の定常状態 (時刻  $t=6,900 \sim 7,500$  ms) に対して式 (5) をフィッティングすることによって、最大  $I_{Ks}$  コンダクタンス  $G_{Ks\infty}(E_m)$  を膜電位ごとに導出した。フィッティング手法は直接探索手法である Nelder-Mead simplex method [14, 15] を用い、最大  $I_{Ks}$  コンダクタンス  $G_{Ks\infty}(E_m)$  及び時定数  $\tau_{Xs}(E_m)$  を調節することによって式 (5) の実験データとの誤差を最小化する手法を用いた。

$$I_{Ks}(E_m, t) = G_{Ks\infty}(E_m) \cdot \{1 - \exp(-t / \tau_{Xs}(E_m))\} \cdot (E_m - E_{Ks}) \quad (5)$$

次に、膜電位別の時定数を導出するため、遺伝子発現実験で得られた  $I_{Ks}$  コンダクタンス (試料数  $6 \times$  固定膜電位 11 段階) の過渡状態 (時刻  $t=36 \sim 1,800$  ms) に対して式 (6) をフィッティングすることによって、時定数  $\tau_{Xs1}$  及び  $\tau_{Xs2}$  を膜電位ごとに導出した。フィッティング手法には Nelder-Mead simplex method を用い、膜電位別最大  $I_{Ks}$  コンダクタンス  $G_{Ks\infty}(E_m)$  は前述の手法で同定したものをを用いて固定し、時定数  $\tau_{Xs1}(E_m)$  及び  $\tau_{Xs2}(E_m)$  を調節することによって式 (6) の実験データとの誤差を最小化する手法を用いた。

$$I_{Ks}(E_m, t) = G_{Ks\infty}(E_m) \cdot \{1 - \exp(-t / \tau_{Xs1}(E_m))\} \cdot \{1 - \exp(-t / \tau_{Xs2}(E_m))\} \cdot (E_m - E_{Ks}) \quad (6)$$

以上の手法によって、全実験結果の膜電位別最大  $I_{Ks}$  コンダクタンス  $G_{Ks\infty}(E_m)$ , 膜電位別時定数  $\tau_{Xs1}(E_m)$  及び  $\tau_{Xs2}(E_m)$  が求められた。これらを KCNE1 注入量ごとに平均することによって、KCNE1 遺伝子注入量が 1 ng の場合と 5 ng の場合の平均膜電位別最大  $I_{Ks}$  コンダクタンス  $G_{Ks\infty}(E_m)$ , 平均膜電位別時定数  $\tau_{Xs1}(E_m)$  及び  $\tau_{Xs2}(E_m)$  が求められた。しかし、これらのパラメータは実験で固定した膜電位ごとの離散的なデータであるため、膜電位依存性を連続関数で表現する必要がある。

まず、式 (1) より膜電位別最大  $I_{Ks}$  コンダクタンス  $G_{Ks\infty}(E_m)$  は式 (7) のように表されるため、最大活性化係数は式 (8) のように表される。

$$G_{Ks\infty}(E_m) = \bar{G}_{Ks} \cdot X_{s\infty}^2(E_m) \quad (7)$$

$$X_{s\infty}(E_m) = \sqrt{G_{Ks\infty}(E_m) / \bar{G}_{Ks}} \quad (8)$$

ここで、最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスを式 (9) のように設定し、式 (2) を参考に最大活性化係数の膜電位依存性を式

(10) のように設定した。これにより、式 (11) を実験より求められた膜電位別最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスの平方根に対してフィッティングすることによって、各パラメータ  $a_1 \sim a_4$  を求めた。ただし、 $a_4$  は遺伝子発現実験時に生じた誤差が現れたものであると考えられるため、Luo-Rudy model に組み込む際には無視した。

$$\bar{G}_{Ks} = a_1^2 \quad (9)$$

$$X_{s\infty}(E_m) = 1 / [1 + \exp\{-(E_m - a_2) / a_3\}] + a_4 \quad (10)$$

$$\sqrt{G_{Ks\infty}(E_m)} = \sqrt{\bar{G}_{Ks}} \cdot X_{s\infty}(E_m) = a_1 / [1 + \exp\{-(E_m - a_2) / a_3\}] + a_1 a_4 \quad (11)$$

次に、時定数については、上述の方法で得られた時定数に対して式 (12) 及び式 (13) をフィッティングすることによって、時定数の膜電位依存性を導出した。

$$\tau_{Xs1}(E_m) = a_5 / \{7.19 \times 10^{-5} \cdot (E_m + a_7) / [1 - \exp(-0.148 \cdot a_6 \cdot (E_m + a_7))] + 1.31 \times 10^{-4} \cdot (E_m + a_7) / [\exp(0.0687 \cdot a_6 \cdot (E_m + a_7)) - 1]\} \quad (12)$$

$$\tau_{Xs2}(E_m) = a_8 / \{7.19 \times 10^{-5} \cdot (E_m + a_{10}) / [1 - \exp(-0.148 \cdot a_9 \cdot (E_m + a_{10}))] + 1.31 \times 10^{-4} \cdot (E_m + a_{10}) / [\exp(0.0687 \cdot a_9 \cdot (E_m + a_{10})) - 1]\} \quad (13)$$

フィッティング手法はいずれも Nelder-Mead simplex method を用い、 $a_1 \sim a_{10}$  を調節することによって、フィッティング関数と実験によって求められたパラメータの誤差を最小化する手法を用いた。

### 2.3 シミュレーション

前節から求められた連続関数を Luo-Rudy model に組み込み、シミュレーションを行った。ただし、Luo-Rudy model では最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスは膜容量  $1 \mu\text{F}$  当たりの数値で表現されているのに対し、本手法で求められた最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスはアフリカツメガエル卵母細胞 1 個分の細胞膜全体での数値であるため、このままでは Luo-Rudy model に組み込むことができない。ここで、KCNQ1 遺伝子と KCNE1 遺伝子の質量比は種によって異なるが、我々はヒト心筋細胞においては約 1:1 であることを報告している [4]。また、塩基配列の長さが KCNQ1 遺伝子の mRNA については 2,031 bp, KCNE1 遺伝子の mRNA については 390 bp であることから、KCNQ1 遺伝子の mRNA と KCNE1 遺伝子の mRNA を質量比 5:1 で注入すれば分子数は約 1:1 となると考えられる。そこで本研究では、KCNE1 遺伝子を 1 ng 注入した場合が正常な心筋細胞に対応するものと仮定し、この時の最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスは正常な心筋細胞の Luo-Rudy model の数式を変更せずを使用することとした。また、KCNE1 遺伝子を 5 ng 注入した場合の最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスは、KCNE1 遺伝子を 1 ng 注入した場合に対する相対関係で表現することとし、式 (14) で求められる係数  $gks\_rate$  を正常な心筋細胞の Luo-Rudy

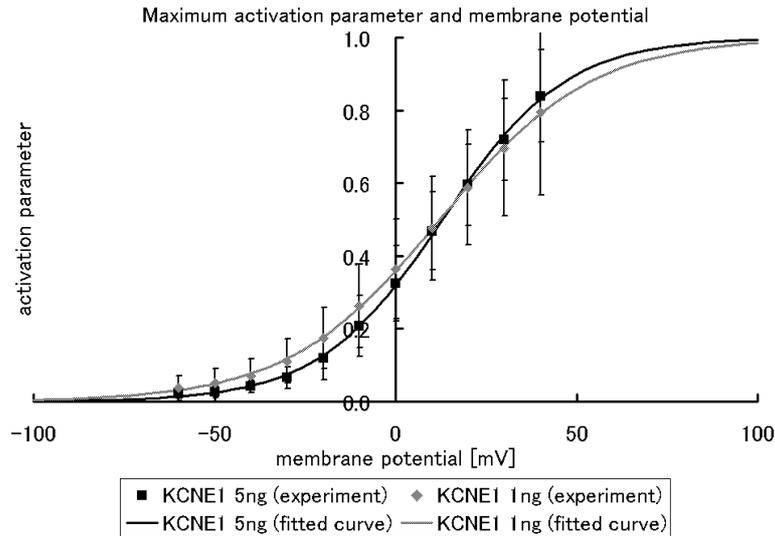


図 3  $I_{Ks}$  チャンルの最大活性化係数の膜電位に対する依存性  
**Fig. 3** Relation between maximum activation parameter of  $I_{Ks}$  channel and membrane potential.

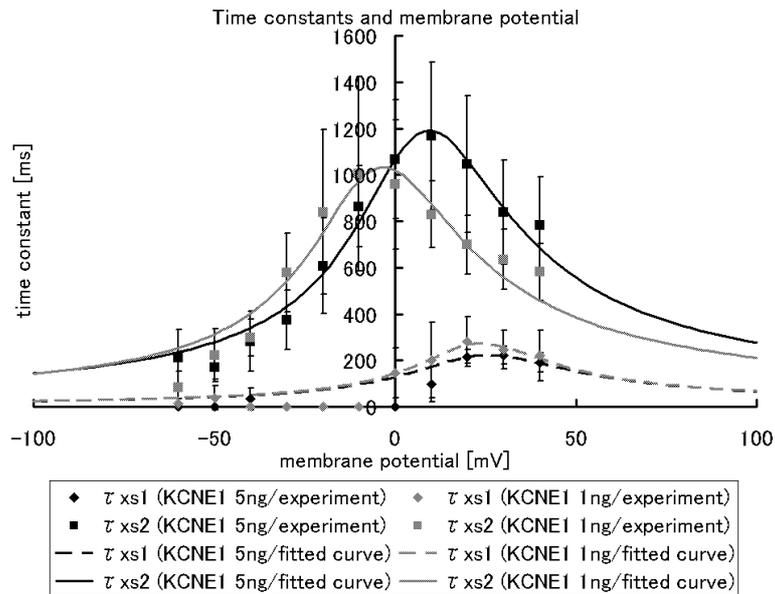


図 4  $I_{Ks}$  チャンルの時定数の膜電位に対する依存性  
**Fig. 4** Relation between time constants of  $I_{Ks}$  channel and membrane potential.

model の最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスに乗じたものを使用した。

$$gks\_rate = (a1\_KCNE1\_5ng / a1\_KCNE1\_1ng)^2 \tag{14}$$

シミュレーションプロトコルは、シミュレーション間隔を  $10 \mu s$  とした。刺激印可回数は 60 回とし、刺激周期は 1,000 ms とした。60 回目の刺激印可時のシミュレーション結果を評価対象とし、APD は 90% 再分極時の APD ( $APD_{90}$ ) を採用した。

### 3. 結 果

#### 3.1 パラメータ同定

KCNE1 遺伝子 1 ng を注入した場合及び KCNE1 遺伝子

5 ng を注入した場合の最大活性化係数の膜電位依存性を図 3 に、時定数  $\tau_{xs1}$  及び時定数  $\tau_{xs2}$  の膜電位依存性を図 4 に示す。KCNE1 遺伝子 5 ng 注入した場合の最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスは、KCNE1 遺伝子 1 ng 注入した場合より 17.4% 大きいことが確認された。また、KCNE1 遺伝子 1 ng を注入した場合及び KCNE1 遺伝子 5 ng を注入した場合の  $a_1 \sim a_{10}$  は表 1 のように求められた。

#### 3.2 シミュレーション結果

シミュレーション結果のうち、60 回目の刺激印加後の Luo-Rudy model, KCNE1 遺伝子 1 ng 注入した場合及び KCNE1 遺伝子 5 ng を注入した場合についてそれぞれの活動電位及び  $I_{Ks}$  電流の変化を図 5 に示す。また、シミュレー

表1 最大活性化係数及び時定数に対して連続関数をフィッティングする際に導出されたパラメータ

Table 1 Parameters adjusted to fit the continuous function to experimental maximum  $I_{Ks}$  conductance and time constants.

	KCNE1 1 ng	KCNE1 5 ng
$a_1$	0.3357	0.3638
$a_2$	12.1407	12.8825
$a_3$	20.9619	17.0336
$a_4$	0.0386	0.0518
$a_5$	1.6732	1.9343
$a_6$	1.3927	1.3906
$a_7$	10.0351	-2.6781
$a_8$	0.399	0.3949
$a_9$	1.5549	1.2801
$a_{10}$	-17.8881	-18.5452

シミュレーションから求められた  $APD_{90}$  は、KCNE1 遺伝子 1 ng を注入した場合は 177 ms、KCNE1 遺伝子 5 ng を注入した場合は 183 ms と求められ、KCNE1 遺伝子 5 ng を注入した場合の  $APD$  が KCNE1 遺伝子 1 ng を注入した場合より 3.4% 延長していた。

#### 4. 考 察

##### 4.1 シミュレーションモデルの妥当性

本研究では、2.2 節で述べた通り、遺伝子発現実験で得られた  $I_{Ks}$  コンダクタンス (試料数 6 × 固定膜電位 11 段階) に対して、式 (5) 及び式 (6) をフィッティングすることによって、各実験結果における最大  $I_{Ks}$  コンダクタンス及び時定数を得ている。そこで、2.2 節で得られた各実験結果に対するフィッティング関数のフィッティング誤差について検証するため、フィッティング関数の遺伝子発現実験で得られた  $I_{Ks}$  コンダクタンスとの誤差を求めた。この結果、フィッティング関数の遺伝子発現実験で得られた  $I_{Ks}$  コンダクタンスとの自乗誤差平均は、試料別・膜電位別最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスの 0.96% 以内に収められており、十分な精度が得られていることが確認された。したがって、本研究で用いたフィッティング関数の設定及びフィッティング手法は適切であったと考えられる。

次に、KCNE1 遺伝子 1 ng を注入した場合を正常な心筋細胞と仮定した点について検証する。心筋細胞において発現する KCNE1 遺伝子の量は、種や個体、心臓上の部位によって異なるため、明確に定義することが難しい。そこで、この仮定の正当性を検証するために、KCNE1 遺伝子 1 ng を注入した場合の最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスを正常な心筋細胞の Luo-Rudy model における最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスの 40 ~ 340% の範囲で変化させ、KCNE1 遺伝子 5 ng を注入した場合の最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスを、KCNE1 遺伝子 1

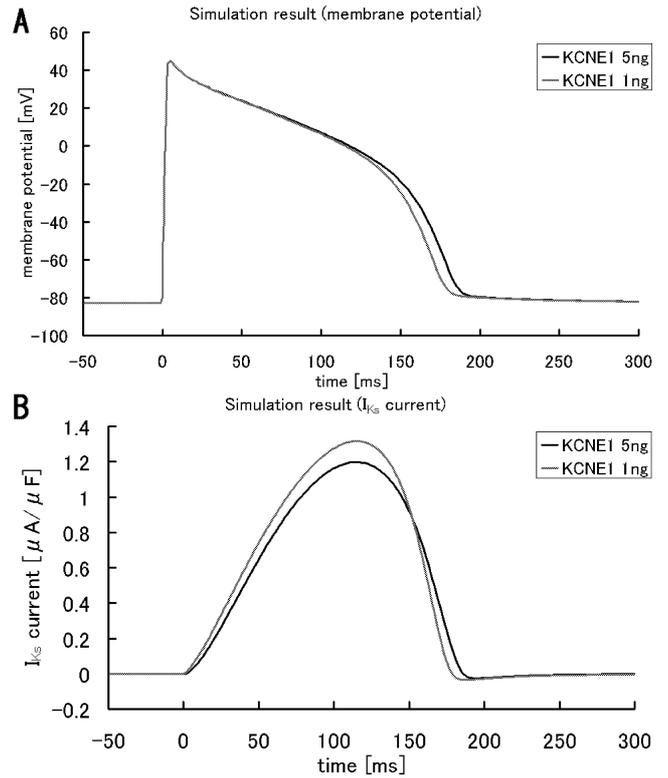


図5 シミュレーション結果 (刺激間隔 1,000 ms, 60 回目刺激印可後)

A: 膜電位の時間変化, B:  $I_{Ks}$  電流の時間変化.

Fig. 5 Simulation result (Cycle length = 1,000 ms, after stimulation 60 times).

A: Transition of membrane potential, B: Transition of  $I_{Ks}$  current.

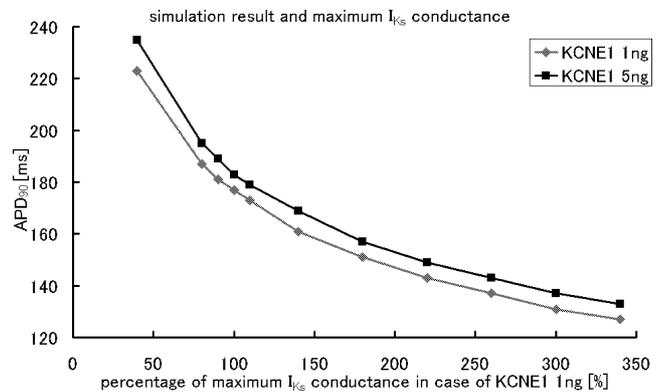


図6 KCNE1 遺伝子 mRNA を 1 ng 注入した場合の最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスを変化させた時のシミュレーションによって求められた  $APD$  の変化

Fig. 6 Changes in simulated  $APD$  when the maximum  $I_{Ks}$  conductance of 1 ng KCNE1 mRNA injected oocyte was changed.

ng を注入した場合との相対関係で表現した場合のシミュレーション結果の変化を検証した。その結果を図 6 に示す。これを見ると、標準の  $I_{Ks}$  コンダクタンスの変化にかかわらず、KCNE1 遺伝子 1 ng 注入した場合と比較して KCNE1 遺伝子 5 ng 注入した場合の方が、 $APD$  が延長することが確認された。したがって、本研究で用いた仮定はシ

ミュレーション結果に影響を与えるものではないと考えられる。

最後に、シミュレーション中の全イオン電流の変化を、正常な心筋細胞の Luo-Rudy model の場合の変化と比較したところ、 $I_{Ks}$  電流量の変化や APD の変化に伴う変化は見られたが、電気生理学的に不自然なものではなく、本研究で構築した 2 種類の KCNE1 遺伝子注入量の数値計算モデルは妥当なものであると考えられる。

#### 4・2 KCNE1 の発現重量と APD 延長

KCNE1 遺伝子 1 ng 注入した場合のモデルと 5 ng 注入した場合のモデルの比較を行う。

まず、最大  $I_{Ks}$  コンダクタンスを比較すると、前述の通り KCNE1 遺伝子 5 ng 注入した場合の方が明らかに大きく、 $I_{Ks}$  電流量を増大させる方向に作用すると考えられる。これより、KCNE1 遺伝子発現量が増大すると再分極が促進され、APD の短縮をもたらすことが予想されるが、シミュレーション結果では逆に APD が延長した。次に、時定数の膜電位依存性を比較すると、KCNE1 遺伝子 5 ng 注入した場合の方が KCNE1 遺伝子 1 ng 注入した場合に比べて時定数が延長し、時定数のピークが脱分極側にシフトする傾向が見られた (図 4)。時定数の延長は  $I_{Ks}$  電流の立ち上がりを抑制する方向に働くため、KCNE1 遺伝子の増加は APD の延長をもたらすと考えられる。また、最大活性化係数の膜電位依存性を比較すると、KCNE1 遺伝子発現量の変化に伴う変化は見られなかった (図 3)。

ここで、シミュレーション結果に注目すると、脱分極時には時定数の延長が大きく影響し、KCNE1 遺伝子 5 ng 注入した場合においては  $I_{Ks}$  電流の立ち上がりが抑制されていることがわかる。また、立ち上がりが抑制された影響から  $I_{Ks}$  電流のピークも抑制され、その結果 APD が延長していると考えられる。以上より、KCNE1 遺伝子発現量の増加と APD 延長の因果関係を示すことができた。

ただし、心不全心においては、 $I_{Ks}$  チャンネル以外のイオンチャンネルについてもリモデリングが生じていることが報告されている。例えば、一過性外向き  $K^+$  チャンネル ( $I_{to}$  チャンネル) を発現すると考えられている Kv4.3 遺伝子の mRNA が、心不全心において 30% 減少していることが報告されており、この mRNA の減少が  $I_{to}$  電流の減少をもたらすことから、再分極過程の延長に作用しているのではないかと考察されている [16]。以上より、心不全心における心電図 QT 間隔の延長に対しては、本研究で示した  $I_{Ks}$  チャンネルのリモデリングだけではなく、他のイオンチャンネルのリモデリングも複合的に作用していると考えられ、他のイオンチャンネルの作用についても今後検証する必要があると考えられる。

## 5. 結 論

KCNE1 発現量の異なる  $I_{Ks}$  チャンネル特性を再現した、遺

伝子発現実験に基づくシミュレーションモデルを構成した。これによって、KCNE1 遺伝子の増大によって  $I_{Ks}$  チャンネルの最大コンダクタンスが増大する一方で、時定数の延長がもたらされることにより、それらの要素のバランスによって結果的に APD が延長するという考え方に対する客観的な裏づけを行うことができた。本研究で行った、実験データに基づく数値計算モデルを構築し、心疾患の発生機序について検証するという手法は、複雑な心疾患の発生機序について客観的な検証を可能にし、その解明において有効であると考えられる。

## 文 献

1. Hombach V: Electrocardiogram of failing heart, *Card Electrophysiol Rev.* **6**(3): 209-214, 2002.
2. Antzelevitch C, Fish J: Electrical heterogeneity within the ventricular wall. *Basic Res Cardiol.* **96**: 517-527, 2001.
3. Kaab S, Nuss HB, Chiamvimonvat N, O'Rourke B, Pak PH, Kass DA, Marban E, Tomaselli GF: Ionic mechanism of action potential prolongation in ventricular myocytes from dogs with pacing-induced heart failure, *Circ Res.* **78**: 262-273, 1996.
4. Watanabe E, Yasui K, Kamiya K, Morimoto S, Kodama I: Upregulation of KCNE1 to contribute to QT prolongation in patients with chronic heart failure. *Circulation.* **106**: II-204, 2002.
5. Sanguinetti MC, Curran ME, Zou A, Shen J, Spector PS, Atkinson DL, Keating MT: Coassembly of KvLQT1 and minK (IsK) proteins to form cardiac  $I_{Ks}$  potassium current. *Nature.* **384**: 80-83, 1996.
6. Tsuji Y, Opthof T, Yasui K, Inden Y, Takemura H, Niwa N, Lu Z, Lee JK, Honjo H, Kamiya K, Kodama I: Ionic mechanisms of acquired QT prolongation and torsades de pointes in rabbits with chronic complete atrioventricular block. *Circulation.* **106**(15): 2012-2018, 2002.
7. Zipes DP, Jalife J: *Cardiac Electrophysiology from Cell to Bedside*, 3rd ed. W. B. Saunders, 2000, pp. 104-112.
8. Luo C-H, Rudy Y: A Model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction. *Circ Res.* **68**: 1501-1526, 1991.
9. Luo C-H, Rudy Y: A dynamic model of cardiac ventricular action potential. I. Simulations of ionic currents and concentration changes. *Circ Res.* **74**: 1071-1096, 1994.
10. Luo C-H, Rudy Y: A dynamic model of cardiac ventricular action potential. II. Afterdepolarizations, triggered activity, and potentiation. *Circ Res.* **74**: 1097-1113, 1994.
11. Chen J, Laurita KR, Rosenbaum DS, Rudy Y: Two components of the delayed rectifier  $K^+$  current in ventricular myocytes of guinea pig type theoretical formulation and their role in repolarization. *Circ Res.* **77**: 140-152, 1995.
12. Viswanathan PC, Shaw RM, Rudy Y: Effects of  $I_{Kr}$  and  $I_{Ks}$  heterogeneity on action potential duration and its rate dependence. A simulation study. *Circulation.* **99**: 2466-2474, 1999.
13. Ouchi K, Fukui Y, Sakuma I, Shibata N, Honjo H, Kodama I: A dynamic action potential model analysis of shock induced aftereffects in ventricular muscle by reversible breakdown of cell membrane. *IEEE Trans Biomed Eng.* **49**: 18-30, 2002.
14. Lagarias JC, Reeds JA, Wright MH, Wright PE: CONVER-

GENCE properties of the Nelder-Mead simplex method in low dimensions. *SIAM J Optim.* **9**(1): 112-147, 1998.

15. Lewis RM, Torczon V, Trosset MW: Direct search methods: Then and now. NASA/CR-2000-210125 ICASE Report No. 2000-26 (2000)
16. Kaab S, Dixon J, Duc J, Ashen D, Nabauer M, Beuckelmann DJ, Steinbeck G, McKinnon D, Tomaselli GF: Molecular basis of transient outward potassium current downregulation in human heart failure. A decrease in Kv4.3 mRNA correlates with a reduction in current density. *Circulation.* **98**: 1383-1393, 1998.

#### 山口 喬弘 (ヤマグチ タカヒロ)

平成14年慶應義塾大学理工学部卒業。平成16年東京大学大学院新領域創成科学研究科環境学専攻修士課程修了。同博士課程在籍。環境学修士。心筋細胞活動電位光学マッピング、心筋細胞活動電位数値計算シミュレーション、血管内皮機能検査システムの開発等の生体医用精密工学研究に従事。

日本エム・イー学会、日本心電学会等の会員。



#### 荒船 龍彦 (アラフネ タツヒコ)

平成9年東京大学工学部卒業。平成11年同大学大学院新領域創成科学研究科環境学専攻修士課程修了。平成16年同博士課程修了。科学博士。同年東京大学大学院新領域創成科学研究科助手、現在に至る。心筋細胞活動電位光学マッピング、心筋数値シミュレーション、遺伝子導入等の生体医用精密工学研究に従事。

日本エム・イー学会、日本心電学会、ライフサポート学会等の会員。



#### 佐久間 一郎 (サクマ イチロウ)

昭和60年東京大学大学院工学系研究科博士課程中退、平成元年3月工学博士(東京大学)。平成10年東京大学大学院工学系研究科助教授。平成11年同大学院新領域創成科学研究科助教授、平成13年教授、現在に至る。専門研究分野：医用精密工学、コンピュータ外科。

日本エム・イー学会、日本コンピュータ外科学会、ライフサポート学会、精密工学会、日本人工臓器学会等の会員



#### 大内 克洋 (オオウチ カツヒロ)

1995年東京電機大学理工学部応用電子工学科卒業。1997年同大学大学院理工学研究科修士課程修了。1999年同大学大学院理工学研究科博士後期課程中途退学。同年東京医科歯科大学生体材料工学研究所助手、現在に至る。心臓不整脈の工学的解明や不全心への機械的循環補助、人工心臓等の研究に従事。



日本エム・イー学会、IEEE、日本人工臓器学会、日本心電学会等の会員。

#### 柴田 仁太郎 (シバタ ニタロウ)

1979年女子医大大学院修了。1983年アメリカデューク大学留学。榊原記念病院、仙台循環器病センター、済生会栗橋病院で循環器内科勤務の後、1995年より東京都保健医療公社大久保病院。現在、内科部長。東京女子医大、名古屋大の非常勤講師。医学博士、循環器専門医。不整脈の生成と治療、心臓生理と電気現象、医学教育、病院医療などの研究に従事。

ライフサポート学会、日本心電学会の評議員、日本エム・イー学会、日本循環器学会の会員。



#### 本荘 晴朗 (ホンジョウ ハルオ)

昭和58年名古屋大学医学部卒業。名古屋市立東市民病院で臨床研修、名古屋大学大学院医学研究科博士課程修了。英国リーズ大学生理学研究員、名古屋大学環境医学研究所助手などを経て、同大学助教授として現在に至る。医学博士。心臓における電気興奮の生成・伝播に関わる研究に従事。

日本エム・イー学会、日本生理学会(評議員)、日本循環器学会、日本心電学会などの会員。



#### 神谷 香一郎 (カミヤ カイチロウ)

1977年名古屋大学医学部卒業。社会保険中京病院勤務を経て、1984年同大学医学系研究科博士課程修了。1985年米国心臓病学会上級研究員、1987年名古屋大学環境医学研究所助手、1997年同大学助教授、2001年同大学教授。医学博士。心筋イオンチャネルの分子生物学的調節機構、抗不整脈薬の電気生理学的機序、心筋再生医療の実用化に関わる研究に従事。

日本エム・イー学会、日本生理学会(評議員)、日本循環器学会(評議員)、日本心電学会(評議員)等の会員。



#### 児玉 逸雄 (コダマ イツオ)

昭和46年名古屋大学医学部卒業。静岡済生会病院内科勤務、名古屋大学環境医学研究所研究生、同文部教官助手、助教授を経て、同教授として現在に至る。医学博士。抗不整脈薬の作用機序(電気生理)、洞房結節の歩調取り機能、光シグナルによる不整脈解析の研究に従事。

日本エム・イー学会(会員)、日本循環器学会(理事)、日本心電学会(理事長)、国際心臓研究学会日本部会(理事)、日本生理学会(評議員)。

