

新しい理論に基づく電氣的心臓モデルの構築

《研究の概要》

心臓生理学に関する基礎データの蓄積と計算機技術の飛躍的な進歩に伴って心電現象の計算機モデルは大きく発展しつつある。イオンチャンネルの遺伝子レベルの解析に基づく新知見をコンピュータモデルに導入し、種々の膜受容体、イオン交換体等に関する最新の知見を反映させること、最終的には興奮膜モデルに直接の基礎を置く全心臓モデルの構築を目的として関連分野の研究者4名がそれぞれの分野で研究を進めた。

岡本は境界要素法を利用することにより心臓を取り巻く体積導体中の電位分布を効率的に計算する手法を考案し、2次元系での興奮伝播シミュレーションにより本手法の有効性を示した。本手法は不均質系（心筋線維の方向などが場所によって異なる系）や細胞内外での非等方性が異なる系（Unequal anisotropy）でも有効であり、従来手法に比べて計算効率は格段に向上した。また、Equal anisotropy系における興奮伝播方程式の並列解法を考案し、2次元系・3次元系での興奮旋回シミュレーションを試みた結果、数台程度の並列計算では通信オーバーヘッドは全計算時間の10%以下であることを確認した。

野間は心筋活動の包括的細胞モデルの完成を目指した。まず、各イオンチャンネル、イオン交換機転について同一の反応式を用い、細胞種による差は量的な差として記述できた。これは様々な細胞種から構成される全心臓モデルを実現する際のプログラム開発を簡単化する上で効果が大きい。Naチャンネルに関してはHodgkin-Huxleyモデルとは異なる指数関数的な活性化を実験的に示し、これを4状態モデルで記述した。L型Caチャンネルについても従来のモデルを改良し、電位依存性のゲートが開いている限りCa依存性不活性化が持続すると仮定して実験結果再現した。また、収縮に関しても従来のモデルを改変し、独自の実験データとして筋節長の短縮記録を再現することに成功した。

堤は致死性不整脈の代表とされる心室細動発生時の基礎電気生理特性を細胞レベルで測定した。M系列ランダムパルス、及び人心室細動実記録整形パルスで犬心表面スライス標本を刺激して複数箇所から活動電位を記録した結果、1) 高頻度刺激後は横伝導(T伝導)が縦伝導(L伝導)に比して遅れ、非等方比6.0以上ではT伝導に一方向ブロックが発生する、2) 最短APDはL伝導に認められる、3) Na⁺channel blockerは一方向ブロックを消失させ、K⁺channel blockerは非等方比を均一化させる、4) restitution curveの傾きはTよりL伝導で大、細胞種では心室筋に比較してPurkinje fiberで急峻、等の結果を得た。

山下はイオンチャンネル遺伝子発現修飾による心臓電気システム変調の解析法、およびその応用可能性について検討した。心臓に発現する18種類のイオンチャンネルのcDNAクローニングを行う事により同時に複数のイオンチャンネル mRNA 発現の解析を可能とした。本手法を用いてdigoxinの経口投与がSDラットの心電図T波高を減少させる効果について検討した結果、digoxin投与によりKv1.5およびKv4.2のmRNAレベルでの発現が用量依存性に減少し、蛋白レベルでもほぼmRNAの変化に呼応することが判明した。発現量の低下は心

内膜から心外膜にかけてのチャンネル数分布を一様化する方向に生じ、ADP の差が減少するために心電図 T 波が平低化する可能性が示唆された。

| | | |
|------|---------------------|---------------------|
| 野間昭典 | 京都大学 教授 | 心筋イオン電流の解析と細胞モデルの構築 |
| 堤 健 | 昭和大学 助教授 | 動物実験によるモデルの検証 |
| 山下武志 | 心臓血管研究所 第 3 研究部長 | イオンチャンネル発現機構の解析 |

研究報告

「新しい理論に基づく電氣的心臓モデルの構築」という事業名の下に 4 名の班員がそれぞれのテーマを分担して研究を行った。従って、本研究報告もそれぞれのテーマに分けて記載することにする。

1. プログラム開発（岡本）

I. 研究目的

興奮膜モデルに基づく全心臓モデルを構築するための基礎技術開発を目的とする。そのため、興奮膜モデルとバイドメインモデルを組合せて得られる興奮伝播方程式と心臓を取り巻く体積導体中の電位分布を規定する偏微分方程式とを適当な境界条件の下に解くための数値解法を工夫し、この解法に要する膨大な計算を複数の小規模な計算機で処理するための並列計算手法を開発する。また、順次に改良されてゆく興奮膜モデルに迅速に対応するため、プログラムを可能な限りモジュール化することを試みる。

II. 研究計画および材料と方法

興奮伝播方程式は非線形性の強い偏微分方程式だが、非線形性は興奮膜モデルのみに起因し、心臓を取り巻く体積導体中の電位分布だけでなく心筋組織における膜内外の電位分布を支配する方程式は全て線形である。そこで、有限要素法や境界要素法などを積極的に利用した効率的な数値解法を工夫し、2次元系・3次元系での具体的な計算を通して各手法の有効性を確認する。また、興奮伝播方程式の並列計算向けの手法を工夫し、Windows 系 OS の標準的通信機構である WinSock を利用して複数の計算機間（複数の CPU を搭載した計算機も含む）での並列計算を試みる。また、全心臓モデルの実現に向けて、ペースメーカー細胞や心房筋、房室結節、プルキンエ繊維、心室筋など、心筋の興奮膜特性や導電特性が場所によって異なる場合にも容易に対応できるようにプログラムを工夫する。

III. 研究成果

境界要素法を利用することにより心臓を取り巻く体積導体中の電位分布を効率的に計算する手法を考案し、矩形状の心筋組織が矩形状の体積導体中にある 2次元系での興奮伝播シミュレーションにより本手法の有効性を示した。心筋線維の方向が場所によって異なり、細胞内外での非等方性が異なる系（Unequal anisotropy）でもシミュレーション可能

であり、体積導体中の電位分布まで繰り返し法で計算する従来の手法に比べて計算効率は格段に向上した。また、Equal anisotropy系における興奮伝播方程式の並列解法を考案し、2次元系・3次元系における興奮旋回シミュレーションを試みた結果、数台程度の計算機を用いた並列計算では通信オーバーヘッドは全計算時間の10%以下であることが分かった。また、1次元系で評価し得る活動電位持続時間のrestitution curveによって2次元・3次元系での興奮旋回が特徴付けられること（興奮旋回の安定性、粗動から細動へ移行のしやすさ、細動の持続性など）を示した。更に、心筋の興奮膜特性や導電特性が場所によって異なる場合にも対応し、障害領域周辺での興奮旋回シミュレーション等によってその有効性を確認した。

IV. 考察

細胞内外における導電率の非等方性（線維方向と直交方向の導電率の比）が同じ（Equal anisotropy）だとすれば並列計算は容易であり、多数のパソコンをLANで結んだ安価なシステムでも実用的である。心筋組織を幾つかに分割し、各分画を個々の計算機に割り当てた場合、各分画の境界面における電位を交換するだけで並列計算が進められるからである。しかし実際の心筋はUnequal anisotropy系であり、交換すべき情報量は膨大になるため複数のCPUを搭載したメモリ共有型の並列計算機でも使わない限り計算効率は低下する。

膜電位に関する特性長は部位によって異なるが0.5mm程度であり、興奮伝播方程式を離散化する際の空間刻みはその数分の1以下であることが望ましいが、大きめに0.2mmとした場合でもヒトの全心臓を分割するには数千万個のブロックが必要となる。各ブロックの活動電位は10個程度の変数によって記述されるため、全心臓内の電気生理現象をシミュレートするには数億個の変数に関する連立微分方程式を解き、細胞内外領域および外部導体中の電位分布を計算する必要がある。従って、現状ではUnequal anisotropyを考慮した全心臓モデルは不可能と言わざるを得ない。一方、Equal anisotropy近似を採用した場合には256MB程度のメモリを搭載した通常のパソコン数百台を使えば1心拍分(500ms程度)のシミュレーションを1日程度で実行できる筈だが、これでも実現は容易ではない。しかし、モルモットやラットの心臓ならば数台のパソコンで十分である。Unequal anisotropyを考慮したヒトの全心臓モデルが最終目標ではあるが、その前段階としてはモルモットやラットの全心臓モデルを構築してみることに意義があるだろう。

2. 心筋イオン電流の解析と細胞モデルの構築（野間）

I. 研究目的

心臓の臓器モデル構築の基礎として、心筋活動の包括的細胞モデルを完成することを目的としている。本研究課題では最初のステップとして、活動電位と膜興奮-収縮連関を再構成するモデルを作成してきた。特に、定性的に同一のイオンチャネルやイオン交換体等の要素を作製し、それらの量的構成比率を変化することによって、ペースメーカー細胞、心房筋、心室筋の形の異なる活動電位と収縮を再構成することを目指した。そのためには、それぞれの要素について、これまで報告されている重要な実験結果をできるだけ広く再現できるモデルユニットを作る必要があった。これまで、Naチャネルの4状態モデル、Caチャネルの不活性化モデル、持続性内向き電流のモデル、Na/Kポンプのアクセスチャネ

ルモデル、Na/Ca 交換の不活性化モデル、筋小胞体 Ca 放出チャネルの不活性化モデル、単一細胞収縮モデルを開発し改良してきた。更に、これまで扱われてこなかった Cl チャネルをモデルに組み込むため、細胞の容積を計算することを目指した。Na/K ポンプ、筋小胞体 Ca ポンプ、それに筋収縮に伴う ATP の消費を計算し、これに、ATP の産生を結合することによって、エネルギーバランスを再構築する。

II. 研究計画および材料と方法

参照する実験データは、主にモルモット心室筋細胞とウサギ洞房結節細胞によって得られたものを使用した。単一チャネル電流、細胞全電流、多細胞標本での実験などをその目的に応じて使用した。チャネルの状態遷移、膜電位変化速度、細胞内分子濃度変化速度、収縮に関与する分子の状態遷移について、実験結果を微分方程式として表し、多項連立微分方程式を Runge-Kutta 法で積分した。細胞容積、筋小胞体容積、電流密度などについて、これまで報告されているモデルを考慮して、妥当な値を設定する。特に、収縮モデルについては、Negroni, & Lascano, (1996) のモデルをそのまま使うことによって、細胞内 Ca ダイナミックスの見積もりを検証すると同時に、興奮と収縮の連関をシミュレーションする。また、心筋細胞機能で最も重要な役割をする L-型 Ca チャネルについては、実験と理論的考察が配慮された Shirokov, et al., (1993) のモデルを使用する。

Negroni, J.A. & Lascano, E.C. (1996) A cardiac muscle model relating sarcomere dynamics to calcium kinetics. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 28:915-929.

Shirokov, R., Levis, R., Shirokova, N. & Rios, E. (1993) Ca²⁺-dependent inactivation of cardiac L-type Ca²⁺ channels does not affect their voltage sensor. *Journal of General Physiology* 102:1005-1030.

III. 研究成果

各イオンチャネル、イオン交換機転について同一の反応式を用い、細胞種による差は量的な差として記述することができた。Na チャネルは心室内の興奮伝導、あるいは不整脈の発生に最も深く関与するチャネルであるが、これまでのモデルでは古典的な Hodgkin-Huxley (1952) の式が用いられてきた。我々は、H-H モデルの S 字状の活性化でなく、単純な指数関数的な活性化を実験的に示していたが、これを 4 状態モデルで記述することが出来た。L 型 Ca チャネルについては、Shirokov et al., (1993) のモデルを採用し、Ca 誘発チャネル不活性化のメカニズムを表した。しかし、オリジナルモデルでは不活性化の程度が不十分で、特に細胞外 Ca の効果を再現できなかった。論文では、チャネルが完全に開状態でのみ不活性化が進行するとしているのに対して、電位依存性のゲートが開いている限り Ca 依存性不活性化が持続すると仮定することによって実験結果を良く再現できた。また外液 Ca 濃度上昇によるペースメーカー細胞自発興奮頻度の増加を再現できた。

収縮についての最も不確定要素は筋小胞体からの Ca 放出である。一方、我々独自の実験データとして筋節長の短縮記録があるので、Negroni & Lascano, (1996) モデルでこれをうまく再現できるよう、筋小胞体からの Ca 放出の時間経過をモデル上で調整した。内向き整流 K チャネルの電位依存性ゲートと外液 K 濃度依存性をモデル化することによって外液の K 濃度変化による心室筋細胞の反応を再構成できた。遅延整流 K チャネルの外液 K 濃度

依存性をくわえて、ペースメーカー細胞の活動電位変化を再現した。また、静止電位や収縮強度の外液 K 濃度依存性を再現できた。

イオン交換機転として、Na/K ポンプ、Na/Ca 交換、筋小胞体 Ca ポンプを統一したサイクルモデルで記述した。特に、Na/K ポンプ電流の外液及び内液 Na 濃度依存性、膜電位依存性を再現することが出来た。Na/K ポンプ分子の膜分布密度は心室筋とペースメーカーで同じとした。ATP の消費が計算できるので、これに釣り合う ATP の産生速度を仮定した。この産生速度を減少すると、細胞内 ATP 濃度の減少、それによる ATP 感受性 K チャネルの活性化、活動電位と収縮の抑制が再現できた。陽イオンのみが扱われる場合、全てのイオンの流れは膜電位に反映し、これによってイオンフラックスは、それ自身飽和し、イオン濃度の破綻は起きない。ところが、Cl チャネルをモデルに組み込むと、陽イオンの移動による膜電位の発生が一部電氣的に中和されることになり、イオンフラックスに対する負帰還のメカニズムが働かなくなる。これを解決するためには、Cl イオンの直接あるいは間接的な能動輸送をモデルに組み込む必要がある。現段階では、これを完成することは出来なかった。

以上の研究成果を 2 編の論文としてまとめることが出来たので、専門誌に投稿した。

IV. 考察

モデルを構築する際、定常状態が得られることが必須条件である。今回のモデルでは、活動電位波形の妥当性に加えて、細胞内イオン濃度が安定するか否かが大きな要点であった。完成したモデルは、細胞外液のイオン濃度変化、生理学的刺激によるイオン電流の一過性の増強、あるいは抑制、ATP 産生の抑制、などの外乱に対して可逆的に反応することが出来た。今後、ATP の産生に関わるミトコンドリア、解糖系などの生化学モデルを組み合わせ、細胞内の pH、代謝産物の消長等が再構成できるように、今回のモデルをより生物学的なモデルへの改良する必要がある。これによって、真に病態時の活動変化をシミュレーションできるものにすると同時に、臓器モデルの基礎として、使用できる細胞モデルを完成する必要がある。今後、イオンチャネルの発現調節を加えたモデルの構築を目指して、心筋のリモデリングのモデル化に挑戦する必要がある。

3. 動物実験によるモデルの検証 (堤)

I. 研究目的

心臓コンピューターシミュレーションの成否は、実際に心筋標本より測定された電気生理特性を高いレベルで再現できるかどうかであろう。そこで致死性不整脈の代表とされる心室細動発生時の基礎電気生理特性を、細胞レベルで測定する方法を考案し、シミュレーション結果の検証を行えるデータを得ることを研究の目的とした。

II. 研究計画および材料と方法

心筋反応性を細胞レベルで検討するために犬心表面のスライス標本を使用した。標本を四角または L 字状に切断し、段端から刺激を加え、複数箇所から心筋膜活動電位を記録した。心室細動類似条件を作成するため、細動時の心室反応間隔に類似した二種類のパルス列を作製した。ひとつは心室細動の周波数分布と一致した周波数を有する M 系列ランダム

パルス、他は人心室細動実記録をもとに作製した人心室細動パルス (VF pulse) である。VF pulse を標本へ加えた場合、刺激部位を心室細動時に出現する vortex wave の中心と仮定し、細動興奮波が心臓全体へ広がっていく一段面を解析することが可能となる。また細動波の伝播を解析するさいには心臓心筋にみられる内因性の電氣的不均一性 (intrinsic heterogeneity) に触れる必要がある。そこで異種細胞の反応性 (Purkinje vs ventricular muscle) と異方向伝導 (anisotropic conduction) について検討を行った。活動電位記録は PC analyzer (LEG-1000、ver3.1、日本光電社) へ入力され、以下の指標について分析を行った; 1) 活動電位持続時間 (APD) と拡張期間隔 (DI) の dynamic restitution curve、2) curve の slope > 1 となる条件、3) 2) が設立するための APD の履歴 (memory)、4) 高頻度刺激が与えられたさいの心筋不応期の振動、5) 1~4) に対する抗不整脈薬の作用。

III. 研究成果

M 系列高頻度ランダム刺激を行ったさいの心筋応答の特徴は、1) 高頻度刺激後、横伝導 (T 伝導) が縦方向伝導 (L 伝導) に比して遅れ、anisotropic ratio が 6.0 以上になると T 伝導に一方向ブロックが発生する。2) 最短 APD は L 伝導に認められ (82ms)、平均 APD90 は T/L 伝導で 130/106ms。発火電位は T/L 伝導で 80.6/74.3mV。また dv/dt_{max} の時定数は T/L 伝導で 7.0/2.6ms であった。3) Na^+ channel blocker (mexiletin) は一方向ブロックを消失させ、 K^+ channel blocker は anisotropic ratio を均一化させた。4) restitution curve の slope は T より L 伝導で大、細胞種では心室筋に比較して Purkinje fiber で急峻になった。しかしながら reentry 発生の基準とされる slope > 1 という値は得られなかった。そこで VF pulse を用いて同様の実験を施行した。その結果 1) ~4) の結果には差を認めないもの、高頻度 VF pulse 刺激に対する最短 APD は 46ms とさらに短縮し、reentry を示唆する波形を誘発できた。VF pulse 刺激に対する restitution curve は三つの時相に分けられた; 1) APD 短縮期、2) APD、DI の振動期、3) slope > 1 で最短 APD 出現期。3) の時相は基本刺激周期が 400~500ms の時に出現しやすい。加えて最短 APD 出現後の活動電位は短縮-延長を繰り返し、APD の concertina effect が観察された。

IV. 考察

心室細動時に心筋膜活動電位を直接記録することは現在なお困難であるため、電位感受性色素を用いて間接的に記録し、不整脈の発生、進行を解析する方法が多く報告されている。しかし電位感受性色素を用いて記録した活動電位は正確さに欠け、心室細動時に起こる心筋細胞反応の解析にとって十分な記録とは言いがたい。そこで本研究では、VF pulse を使用して擬性 rotor を作製、心筋膜活動電位を記録することにより、心筋細胞レベルの電気生理特性を記録した。最近の Jalife の総説によれば、心室細動発生時にはその電氣的活性中心 (rotor) が心臓各所をさまよう (meandering) 型と、rotor の局在がほぼ固定し興奮波の進行過程で波面が破断 (breakup) する型の二種類があることが指摘されている。そこで本研究は、後者の型の心室細動進行過程を検討したと位置づけられる。本研究で新たに注目される点として、1) 正常組織から記録された APD が 80msec 以下に短縮するためには、数十拍前からの細胞反応履歴 (memory) が関与する。2) slope > 1 になる条件として、APD ならびに DI の振動が先行する必要がある。3) 高頻度 VF pulse 刺激中には、活動電位

不応期の concertina effect が認められる等が挙げられる。3) の特性は、Tdp 波形成立の一原因となるであろう。理由は反応間隔が wavelength の大きさを決めるため、心臓起電力の総和に concertina effect が反映されると考えられるためである。それゆえ Tdp 波形成立に rotor の meandering は必須条件ではない。また心室細動発生を抑制する薬理作用として、使用頻度依存性の不応期延長効果が有効と推定される。以上の結果を充足させるシミュレーションを行うためには、イオン電流に加え心筋繊維の anisotropy や心筋細胞内外の構造にも配慮する必要がある。

1. イオンチャネル発現機構の解析 (山下)

I. 研究目的

心臓という電気システムは主に、細胞膜に存在するイオンチャネルなどの膜蛋白と、これらの膜蛋白に対する細胞内外の刺激因子による修飾によって成立している。1980年代よりパッチクランプ法による生理学的研究が精力的になされ、このような膜蛋白の生理学的な修飾およびその機構解析から膜蛋白機能面については十分な検討がなされ、またその情報も蓄積している。しかし一方で膜蛋白量自体の生化学的情報に関する情報は乏しく、問題点として残されたままである。近年の分子生物学的進歩はイオンチャネルを物質として解析可能とし、そのことで種々の病態において「電気的リモデリング」としてまとめられる、遺伝子発現修飾による膜蛋白発現変化が心臓電気システムの構成に重要な役割を演じている可能性を指摘してきた。そこで本研究では、このようなイオンチャネル遺伝子発現修飾による心臓電気システム変調の解析法、およびその応用可能性についての検討をおこなった。

II. 研究計画および材料と方法

まず、心臓電気システムを考える上では、一つのイオンチャネルに注目するだけではなく、心臓に発現する Na^+ 、 Ca^{2+} 、 K^+ 、HCN チャネルすべての発現動態をスクリーニングする必要がある。一方で一般的にイオンチャネル遺伝子発現量は常に低くおさえられており、かつその変化量も他の一般的遺伝子に比べ小さいことから、mRNA 発現量の解析を行うためには定量性の高い ribonuclease protection assay 法を用いる必要がある。このようなことを考慮し、計 18 種類の mRNA を解析するために必要となる probe 作成のストラテジーを、1) probe 長、2) 各遺伝子のホモロジーから構築し、同時に多種類の mRNA 発現が解析可能となる multiprobe ribonuclease protection assay 法を想定して、cDNA クローニングを行った。このようにして得られた cDNA から作成した複数 probe を用い、同法による mRNA 発現複数同時解析の可能性を検討した。さらにこのような方法の妥当性を検討するために、ヒトにおける digitalis 効果を想定して、SD ラットに digoxin を経口投与した digitalis モデルを作成し、すべてのイオンチャネル mRNA 発現をスクリーニングした。mRNA 発現に変化の認められるイオンチャネルについては Western blotting 法により蛋白発現量を検討した。さらに本モデルにおいて実際にこのようなイオンチャネル遺伝子発現量の変化が心臓電気システムの変調を来しうるかについて、摘出灌流標本、および生体位心における電気生理学的側面の検討を行った。

Ⅲ. 研究成果

心臓に発現する 18 種類のイオンチャネルの probe 作成に用いる cDNA を probe 長、ホモロジーから決定し、目的とする cDNA のクローニングを行った。クローニングされた cDNA より probe を作成、さらに ribonuclease および input RNA 量の調整を行うことにより multiprobe ribonuclease protection assay が可能となり、同時に複数のイオンチャネル mRNA 発現を解析することが可能となった。本法では、Na⁺、Ca²⁺チャネルを subunit も含めて膜 1 枚で、内向き整流 K⁺チャネルすべてを膜 1 枚で、さらに電位依存性 K⁺チャネルすべてを膜 1 枚で、HCN チャネルすべてを膜 1 枚で解析することが可能である。本法を実際の病態モデルにおいて適応した。SD ラットを用い digoxin を経口投与すると、投与する digoxin 量を増加させるに伴い、体表面心電図 T 波高は用量依存性に減少した。この効果は従来 digitalis の生理学的作用として説明されてきた効果に等しい。一方で、今回開発した multiprobe nuclease protection assay によりすべてのイオンチャネル mRNA 発現を解析すると、digoxin 投与により Kv1.5 および Kv4.2 の mRNA レベルでの発現が用量依存性に減少していることが判明した。これらふたつのイオンチャネルは蛋白レベルでもほぼ mRNA レベルの変化に呼応する変化が呈した。このうち特に Kv4.2 は一過性外向き電流をコードすると考えられており、心筋外膜側で内膜側より豊富に存在し、このチャネルの不均一な分布が T 波成因として注目されている。digitalis 投与は Kv4.2 遺伝子発現を抑制することで、この不均一分布の発現 gradient を減少させる効果があるものと推定された。実際に digoxin 慢性投与心の摘出灌流標本では digoxin 非存在下においても、心外膜／内膜側の活動電位持続時間の差が減少しており、イオンチャネルの発現量自身が心電図 T 波の平低化に関与する可能性が示唆された。

Ⅳ. 考察

心臓電気システムのシミュレーションモデルを構築する際には、イオンチャネルの機能だけではなく、その量の設定も重要となる。特に近年「電氣的リモデリング」として知られるように、病態では種々のイオンチャネル産生量の変化が生じている。しかし、このようなリモデリング効果をモデル化するにあたっての生化学的情報はまだ欠けているといわざるをえない環境にある。今回本研究で開発した multiprobe ribonuclease assay 法は、心臓に発現するすべてのイオンチャネル遺伝子発現を比較的簡便にスクリーニングすることができる方法である。本法により種々の病態における生化学的情報を定量性をもって得ることが可能となり、心臓電気システムのモデル構築に要する基礎的情報を与えるものと考えられる。実際、digitalis 投与モデルにおいて心電図 T 波の平低化がみられたが、従来生理学的に説明されてきたこのような現象にも、生化学的な心筋外膜／内膜側に存在する Kv4.2 遺伝子発現 gradient の減少も関与している可能性を指摘できた。このような情報はより実際に近いシミュレーション構築に必要であろう。しかし、一方で mRNA 発現をスクリーニングした後、実際には蛋白レベルでの解析が不可避である。post-transcriptional regulation の存在を考慮すると、今後蛋白レベルでの簡便なスクリーニング法の開発が必要と考えられる。

V. 研究成果の発表

1. 岡本良夫：心電現象におけるコンピュータシミュレーション、心電図、**19**[1]53-61, 1999
2. Okamoto Y, Sugita K & Sekine M: Weyl transformation in Fermi systems, *Annalen der Physik*, **8**[10]829-836, 1999
3. Musha T & Okamoto Y: Forward and Inverse Problems of EEG Dipole Localization, *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, **27**[3-5]189-239, 1999
4. 古屋一、金丸新、岡本良夫、本間生夫、松本清：実測導電率を用いた双極子追跡法による脳機能局在推定、CI研究, **22**[1]51-56, 2000
5. 松波謙一、韓曉燕、岡本良夫、出口一樹、本間三郎：脳波を用いた脳内電流双極子発生源の特定について、日本バーチャルリアリティ学会論文誌, **5**[2]867-874, 2000
6. Akabane H, Okamoto Y & Agu M: 1/f Fluctuation in a Discrete One-Dimensional Diffusion System, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **39**:4241-4244, Part 1, No.7A, 2000
7. Flink R, Homma S, Kanamaru A, Miyamoto K & Okamoto Y: Source localization of interictal epileptiform spike potentials estimated with a dipole tracing method using surface and subdual EEG recordings. *Clin. Neurophysiol., Suppl.* **53**:275-286, 2000
8. Homma I, Masaoka Y, Hirasawa K, Yamane F, Hori T, Okamoto Y: Comparison of source localization of interictal epileptic spike potentials in patients estimated by the dipole tracing method with the focus directly recorded by the depth electrodes, *Neuroscience Letters*, **304**:1-4, 2001
9. 本間生夫、政岡ゆり、岡本良夫：双極子追跡法の確実性と呼吸情動関連脳電位の起源推定、臨床脳波, **43**[5]299-307, 2001
10. 岡本良夫、真島三郎：心筋組織における組織内外の電位および周辺電位の関係について（バイドメインモデルによる検討）、心臓, **34**[4]361-367, 2002
11. Ohyu S, Okamoto Y & Kuriki S: Use of the Ventricular Propagated Excitation Model in the Magnetocardiographic Inverse Problem for Reconstruction of Electrophysiological Properties, *IEEE Transaction on BME*, **BME-49**[6]509-519, 2002
12. Xie LH, Takano M, Kakei M, Okamura M & Noma A: Wortmannin, an inhibitor of phosphatidylinositol kinases, blocks the MgATP-dependent recovery of Kir6.2/SUR2A channels. *Journal of Physiology* **514**:655-665, 1999
13. Sasaki N, Mitsuiye T, Noma A & Powell T: Sarcomere length during contraction of isolated guinea-pig ventricular myocytes. *Pflugers Archiv* **437**:804-811, 1999
14. Sasaki N, Takano M, Mitsuiye T & Noma A: Changes in cell volume induced by ion channel flux in guinea-pig cardiac myocytes. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **26**:698-706, 1999
15. Ishii TM, Takano M, Xie LH, Noma A & Ohmori H: Molecular characterization of the hyperpolarization-activated cation channel in rabbit heart sinoatrial

- node. *Journal of Biological Chemistry* **274**:12835-12839, 1999
16. Mitsuiye T, Guo J & Noma A: Nicardipine-sensitive Na⁺-mediated single channel currents in sinoatrial node pacemaker cells of guinea-pig. *Circ Res* **87**:88-91, 2000
 17. Shinagawa Y, Satoh H & Noma A: The sustained inward current and inward rectifier K⁺ current in pacemaker cells dissociated from rat sinoatrial node. *Journal of Physiology*, **523**:593-605, 2000
 18. Noma A, Matsuoka S, Sarai N, Kuratomi S & Ono K: Role of individual ionic current systems in the SA node pacemaker activity hypothesized by a model construction (submitted)
 19. Matsuoka S, Sarai N, Kuratomi S, Ono K & Noma A: Role of individual ionic current systems in the ventricular cell activities revealed by a model study (submitted)
 20. Sato M, Tsutsumi T, Shibata M, Sato T, Asano F, Zenda N, Ide H, Shimizu Y, Kasama M, Takeyama Y: Clinical efficacy of long-term treatment with pimobendan in chronic heart failure. *Thr Res.*, **20**[12]3281-3283, 1999
 21. Shimizu Y, Tsutsumi T, Takeyama Y, Iwasawa A, Nakamura Y, Okamoto Y: A new computer method for analysing contractile movement of myofibril under cardio tonic drugs. Reprinted from 21st congress of ESC, Edit. by Fransisco, N, L., International Proceedings Division, 985-989, 2000
 22. 堤 健: T波のコンピューターシミュレーションと ventricular gradient (心室較差) シンポジウム II, *Jpn J Electrocardiol*, **121**[2]109-117, 2001
 23. Sato M, Tsutsumi T, Zenda N, Kasama M, Takeyama Y, Mashima S: Suppressive action of AT1 blocker on reperfusion arrhythmias in spontaneously hypertensive rat. *Electrocardiology 2000*. Ed. by Ambroggi LD. Casa Editrice Scientifica Internazionale Co. Ltd., 57-60, 2001
 24. Zenda N, Tsutsumi T, Sato M, Takeyama Y, Harumi K, Wei D: Computer simulation of notches on initial part of QRS complex in patients with anterior myocardial infarction. *Electrocardiology 2000*. Ed. by Ambroggi LD. Casa Editrice Scientifica Internazionale Co. Ltd., 117-120, 2001
 25. Yamashita T, Murakawa Y, Hayami N, Inoue M, Fukui E, Kasaoka Y, Omata M. Infradian rhythm of paroxysmal atrial fibrillation: a case report. *Jpn Heart J* **40**:227-232, 1999
 26. Murakawa Y, Yamashita T, Kanese Y, Sezaki K, Omata T. Is ventricular fibrillation interval an indicator of electrical defibrillation threshold? *PACE* **22** :302-306, 1999
 27. Murakawa Y, Yamashita T, Kanese Y, Omata M. Effect of a class III antiarrhythmic drug on the configuration of dose response curve for defibrillation. *PACE* **22**:479-486, 1999
 28. Kasaoka Y, Yamashita T, Fukui E, Hayami N, Inoue M, Sezaki K, Yazaki Y, Omata

- M, Murakawa Y. A wide "gap" in retrograde conduction through a concealed accessory atrioventricular pathway depending on ventricular pacing site. *Jpn Heart J* **40**:489-495, 1999
29. Yamashita T, Murakawa Y, Hayami N, Fukui E, Kasaoka Y, Inoue M, Omata M: Short-term effects of rapid pacing on the mRNA levels of voltage-dependent K⁺ channels in the rat atrium: electrical remodeling in paroxysmal atrial tachycardia. *Circulation* **101**:2007-2014, 2000
 30. Murakawa Y, Yamashita T, Ajiki K, Suzuki J, Hayami N, Fukui E, Kasaoka Y, Omata M, Nagai R: Is the QT interval an indicator of autonomic state? *Jpn Heart J* **41**:713-721, 2000
 31. Fukui E, Yamashita T, Sezaki K, Ajiki K, Inoue M, Hayami N, Kasaoka Y, Omata M, Murakawa Y, Nagai R: Overdrive suppression of antegrade conduction over the accessory pathway., *Jpn Heart J* **41**:767-772, 2000
 32. Hatano S, Yamashita T, Hayami N, Fukui E, Murakawa Y, Omata M, Nakazawa K, Nobuoka S, Miyake F, Murayama M: Time- and subunit-dependent mRNA expression of L-type Ca²⁺ channel during progression of right ventricular hypertrophy. *Jpn Heart J* **42**:617-625, 2001
 33. Sahara M, Sagara K, Yamashita T, Abe T, Kirigaya H, Nakada M, Iinuma H, Fu L-T, Watanabe H: J wave and ST segment elevation in the inferior leads. A latent type of variant Brugada syndrome? *Jpn Heart J* **43**:55-60, 2002
 34. 山下武志 : ヒト心電図研究 : 最近の進歩、心電図, 21supl 1:S69-73, 2000
 35. 篠野誠二、山下武志、速水紀幸、福井栄一、村川裕二、小俣政男、中沢潔、信岡祐彦、三宅良彦、村山正博 : 右室肥大における L 型 Ca²⁺チャネルサブユニットの異なる遺伝子発現、心臓, **33**:571-577, 2001
 36. 山下武志 : 心房細動による早期電氣的リモデリング、心臓, **34**:114-125, 2002
 37. 飯沼宏之、傳隆泰、相良耕一、山下武志、加藤和三 : ST 上昇下降と虚血性病変、心メモリー、心電図, **21**:408-415, 2001
 38. 飯沼宏之、山下武志、傳隆泰、加藤和三 : 虚血性 ST-T 波異常の成因、心臓, **33**:409-415, 2001
 39. 山下武志 : 心房細動の日内変動、Annual Review 循環器, 96-99, 1999
 40. 山下武志 : 心房筋リモデリングと細動の慢性化、呼吸と循環, **47**:219-227, 1999
 41. 山下武志 : 心房電氣的リモデリングの分子生物学、不整脈'99:38-47
 42. 山下武志 : トピックス 心房細動のリモデリング : 分子生物学的アプローチ、早川弘一、笠貫宏編。心房細動、粗動、頻拍、77-78, 1999
 43. 山下武志 : 心房細動に関する最近の知見 : 電氣的リモデリング、肺静脈内心房電位、*Medical Practice*, **16**:1326, 1999
 44. 山下武志 : 電氣的リモデリング、*Heart View*, **3**:60-64, 1999
 45. 山下武志 : 心房細動の臨床、Annual Review 循環器, 95-100, 2001
 46. 山下武志、飯沼宏之 : 心筋の電氣的リモデリング、Annual Review 循環器, 39-44, 2001

47. 山下武志：新しい疾患概念：電気的リモデリング、*Pharma Medica*, **18**:93-98, 2000
48. 山下武志：電気的リモデリング、医学のあゆみ：循環器疾患 state of arts 2, 49-51
49. 山下武志、飯沼宏之：細動の基質としての心房筋の電気生理学的特徴、循環器科 **49**:107-113, 2001
50. 山下武志：心房細動の薬物療法、循環器科, **49**:565-566, 2001
51. 篠野誠二、山下武志：心房細動に伴う心房筋リモデリング、内科, **89**:28-32, 2002
52. 篠野誠二、山下武志：心房細動と電気的リモデリング、分子心血管病, **3**:65-72, 2002
53. 岩崎雄樹、山下武志：心房細動におけるイオンチャネルのリモデリングと心房細動にみられるさまざまなイオンチャネルのリモデリングの機序と病態生理学的意義、医学のあゆみ, **200**:701-705, 2002