

令和2年度高性能汎用計算機高度利用事業

「富岳」成果創出加速プログラム

「マルチスケール心臓シミュレータと大規模臨床データの革
新的統合による心不全パンデミックの克服」

成果報告書

令和3年5月28日

株式会社 UT-Heart 研究所

代表取締役会長

久田 俊明

目次

目次

1. 補助事業の目的.....	1
2. 令和2年度（報告年度）の実施内容.....	1
2-1. 当該年度（令和2年度）の事業実施計画.....	1
2-2. 実施内容（成果）.....	2
(1) 難治性心疾患のメカニズム解明.....	2
(2) 大規模インシリコ心疾患データベースの作成と公開.....	7
(3) 簡便かつ安価な検査による心不全の早期発見.....	11
(4) 合併症のため多くの薬剤を服用している高齢者心不全の安全確保.....	14
(5) プロジェクトの全体推進.....	19
2-3. 活動（研究会の活動等）.....	21
2-4. 実施体制.....	23
別添1 学会等発表実績.....	25

補助事業の名称

「富岳」成果創出加速プログラム

「マルチスケール心臓シミュレータと大規模臨床データの革新的統合による心不全パンデミックの克服」

1. 補助事業の目的

分子から臓器までを繋ぐ心臓シミュレータを用い、「富岳」のパワーにより「インシリコ心疾患データベース」を生成する。これと大規模実臨床データを統合する新たなデータサイエンスを展開し心不全パンデミックの解決に寄与する。

2. 令和2年度（報告年度）の実施内容

2-1. 当該年度（令和2年度）の事業実施計画

（1）難治性心疾患のメカニズム解明

本実施項目では、「富岳」の性能を活用してミオシン分子モデルと両心室モデルのカップリングシミュレーションを実現するとともに、遺伝子変異（アミノ酸の置換）が心臓レベルでの機能にどのような影響を及ぼすかを検討することによって病態形成のメカニズムを明らかにすることを最終目標とする。本実施項目で得られる結果は、実施項目（2）で開発するインシリコ心疾患データベースの一部としても活用される。本年度は粗視化分子シミュレーションモデルの改良と有限要素モデルとのカップリングの効率化・高速化を行う。

（2）大規模インシリコ心疾患データベースの作成と公開

本実施項目では、「富岳」のパワーを活用し多様なバリエーションを持つ心臓モデルを作成し、電気的興奮伝播シミュレーションのみならず力学的拍動シミュレーションも実施する。そして各々から得られる心電図、心エコーなどのインシリコ臨床データを含むデータベースの完成を最終ゴールとする。本年度は、モデル化の要件検討、細胞および組織モデルの開発、心臓モデルのテストケースシミュレーションを実施する。

（3）簡便かつ安価な検査による心不全の早期発見

東大病院では臨床データに基づき機械学習を活用して、かくれ心不全の検出アルゴリズムを開発するプロジェクトが予定されており、このプロジェクトと提携する。即ち、臨床データから教師あり学習によって開発された心不全イベント予測モデルにインシリコ心疾患データベースを適用することでイベント発生の確率が高い心臓モデル群を抽出し、その背後にある形態、組織、細胞、分子レベルの特徴を探索することにより、かくれ心不全患者の検出感度の向上を目指す。本年度は、臨床データの加工および分析を実施すると共に、臨床データに基づく心不全予後予測モデル作成および検証を開始する。

（4）合併症のため多くの薬剤を服用している高齢者心不全の安全確保

本実施項目では、実施項目（2）によって作成されるインシリコ心疾患データベースから100例を選択

し、チャンネル阻害活性が既知の 50 薬剤について投与シミュレーションを行うことで不整脈発生リスクの定量的データを提供すること、hERG チャンネル、Na チャンネルに加えて Ca チャンネルのモデル化を行い精度の検証を進めること、そして各薬剤の正確な阻害活性を決定するアルゴリズムを完成することを最終ゴールとする。本年度は、50 種類の薬剤の半数について、hERG に対する結合自由エネルギー計算を実施する。さらに、NaV1.5 モデルと CaV1.2 モデルの改良、KV7.1 (KCNQ1) の立体構造予測、IC50 値補正のためのアルゴリズムの開発をそれぞれ開始すると共に、試験的心毒性解析を実施する。

(5) プロジェクトの全体推進

本事業全体の連携を図りまた円滑に運営していくため、研究ミーティング・打ち合わせ等の開催に当たり協力・連携機関相互の調整を行う。その際、遠隔会議システムが活用できるよう工夫する。また限られた予算の下での効果的ホームページ作成と運営ならびにプロジェクトで得られた成果の公表等を通じてアウトリーチを推進する。

2-2. 実施内容 (成果)

(1) 難治性心疾患のメカニズム解明

本年度は先ず粗視化分子シミュレーションモデルの改良を行った。粗視化分子動力学コード CafeMol の AICG ポテンシャル (粗視化分子動力学ポテンシャル関数) は次式のように local 相互作用項と non-local 相互作用項から構成される。

$$\begin{aligned}
 V_{local}(\mathbf{x}) = & \sum_i \frac{C_{B,i}}{2} (\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_{i+1}\| - d_{i,i+1})^2 \quad \text{ボンド} \\
 & + \sum_i C_{13,i} \exp\left(-\frac{(\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_{i+2}\| - d_{i,i+2})^2}{2w^2}\right) \quad \text{結合角} \\
 & + \sum_i C_{14,i} \exp\left(-\frac{(\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_{i+3}\| - d_{i,i+3})^2}{2w^2}\right) \quad \text{二面角}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 V_{non-local}(\mathbf{x}) = & \sum_{(i,j) \in G} C_{G,ij} V_G(\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j\|; d_{G,ij}, w_{G,ij}) \quad \text{Go コンタクト} \\
 & + \sum_{i,j} V_{EV}(\|\mathbf{x}_i - \mathbf{x}_j\|) \quad \text{排除体積}
 \end{aligned}$$

ここで non-local 相互作用項は、例えば Go コンタクトについて図 1.1 に示されるように、構造変化に応じて刻々変化する一般には遠隔のアミノ酸粒子どうしの相互作用を表し、同図中の $i+1$ 番目と $j+3$ 番目の粒子はどれだけ離れているか分からない。他方、local 相互作用項については最大片側に 3 個、両側で 7 個離れた粒子までを用いて、ボンド、結合角、二面角に関するポテンシャルが表現される。このように極く限られた数の連続する粒子間の相互作用のポテンシャルを座標で 2 階微分して得られる剛性の大きさ、並びに剛性マトリクスについて分析した。

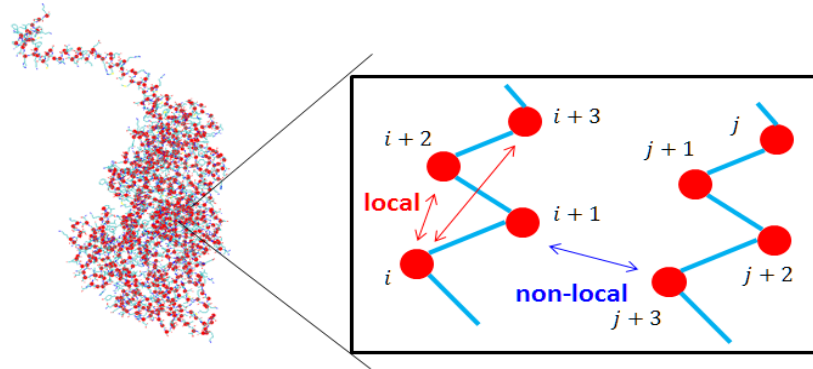


図 1.1 CafeMol の AICG ポテンシャルにおける local 相互作用項と non-local 相互作用項が関与する粒子

図 1.2 左にシミュレーションの対象とするミオシン分子の剛性を色分けして示す。高剛性を意味する赤色は主鎖に沿った local 相互作用から構成される剛性を表し、non-local 相互作用に対し際立って大きな値を持つことが分かる。次に 826 個の粒子からなる 826x3 自由度の剛性マトリクスを、第 3 軸(マトリクスに垂直な軸)を剛性として可視化したものが同図右である。剛性の大きさは左図に倣った配色で区別している。以上から明らかなように、顕著な剛性は local 相互作用に限定され、それはマトリクスで狭い帯状(片側バンド幅 11)を形成する。なおポテンシャルの 2 階微分から得られる剛性マトリクスは対称行列になる。

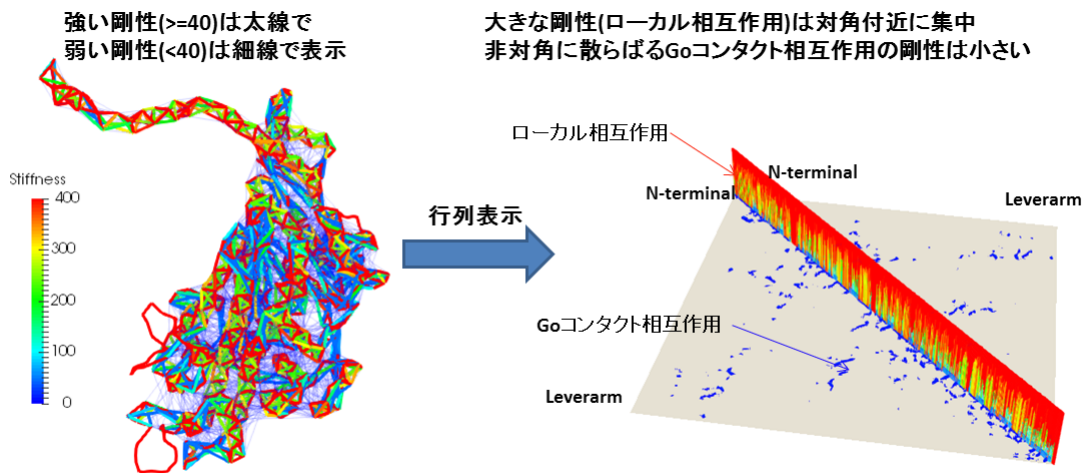


図 1.2 ミオシン分子の剛性の可視化(左図)と対応する剛性マトリクス(右図)

一般に、剛性が大きければ固有振動数が高くなるので、時間発展を計算する際の時間刻み幅は小さなものにする必要がある。つまり時間発展のシミュレーションは構造中の高剛性の箇所支配される。一方、時間発展方程式の解法には大別して陰解法と陽解法があるが、時間刻みは陰解法の方が陽解法に較べて桁違いに大きくとることが出来る。但し、陰解法では連立方程式を解く必要があるため計算負荷は大きくなる。そこで剛性の高い帯行列部についてだけ剛性方程式を 1 回解く準陰解法を考案した。つ

まり次式のように Langevin 方程式を離散化し、剛性マトリクスの逆行列 $P(R(t))$ を帯行列部の座標増分計算に適用する一方、他の成分については陽解法を適用する。ここで $R(t)$ は時刻 t での粒子座標、 G は摩擦係数、 $F(R(t))$ は全ポテンシャル力、 $\Xi_{\Delta t}(t)$ はランダム力である。

$$\gamma_i \frac{dr_i}{dt} = f_i + \xi_i \quad \gamma_i \text{ 摩擦力 } f_i \text{ 全ポテンシャル力 } \xi_i \text{ random force}$$

$$G \frac{R(t + \Delta t) - R(t)}{\Delta t} = -P(R(t))(R(t + \Delta t) - R(t)) + F(R(t)) + \Xi_{\Delta t}(t)$$

なお、距離依存ポテンシャルの Hessian 行列は直交分解すると例えば図 1.3 のようになり、質点を結ぶベクトルと直交する方向の曲率は負値をとるため、上記の剛性マトリクスも負の値をとることがある。そこで本研究では、そのような場合にはマトリクスを正定値化させ、右辺にはそれを補償する等価なベクトルを導入する安定化手法を考案した。

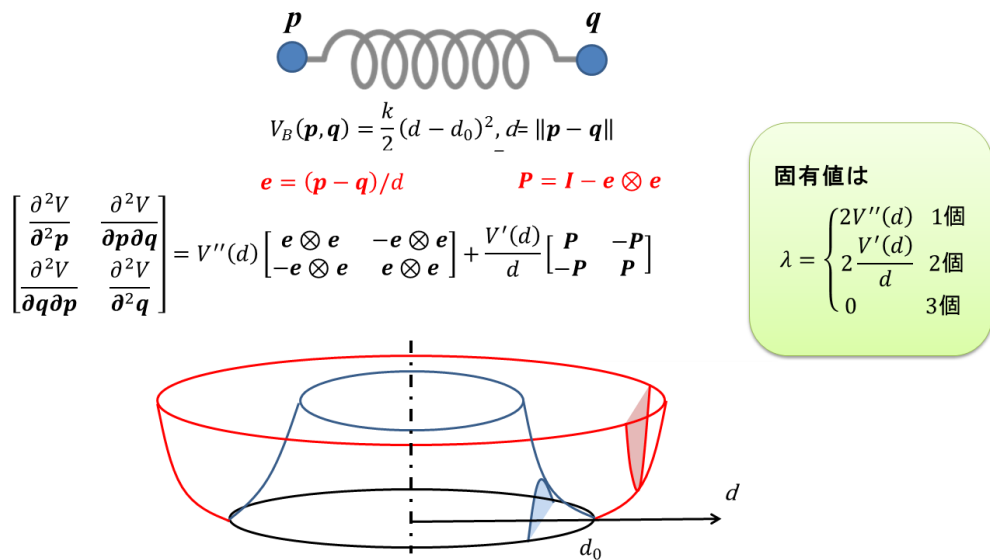


図 1.3 距離依存ポテンシャルの特性

以上のように開発した準陰解法の性能を図 1.4 に示す。即ち、図 1.4 は CafeMol 時間刻み $\Delta t=0.05$ の陽解法によるミオシン・パワーストロークのシミュレーション結果(黒)と $\Delta t=5.0$ の準陰解法による同シミュレーション結果(赤)を比較したものであるが、両者は良い一致を示した。これにより時間刻みは 100 倍大きくとれることとなった。但し、剛性マトリクス算出並びにその求解のオーバーヘッドが 50%程度かかるため、実質的な計算高速化としては 50 倍程度となる。

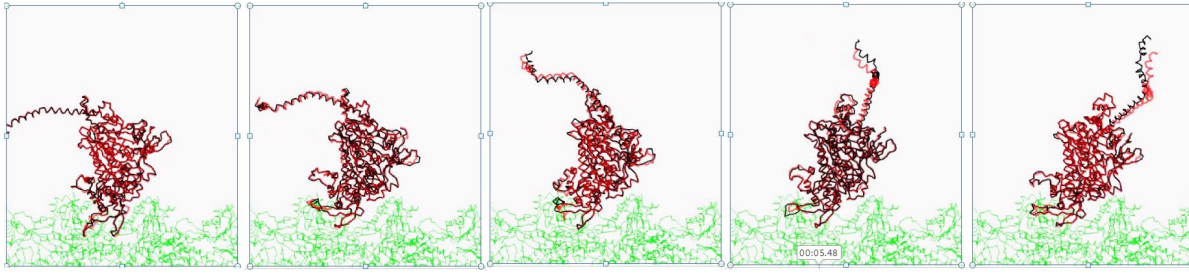


図 1.4 陽解法と準陰解法のシミュレーション結果の比較

本年度は更に有限要素モデルとのカップリングの効率化・高速化に関する研究も行った。マイクロ(分子モデル)とマクロ(有限要素モデル)の連成シミュレーションにおいては、マクロにおける時刻 T から $T+\Delta T$ への増分解析に先立って $[T, T+\Delta T]$ におけるマイクロのシミュレーションを $\Delta t = \Delta T/n$ の時間刻みで予め行い、その結果得られるマイクロの収縮力の力積がマクロのそれに等しくなるようにマクロへ付与する時刻 $T+\Delta T$ での収縮力を決定する。しかし $[T, T+\Delta T]$ における $T+k\Delta t$ でのマイクロの収縮力は、本来はマクロの変位ひいては歪から定まるアクチンのスライドの影響を受ける。何故ならアクチンに結合した状態にあるミオシン分子からアクチンへ及ぼす力、即ち収縮力は、アクチンのスライド量次第で変化するためである。つまりマクロへ与える時刻 $T+\Delta T$ での収縮力は結果的に生じるマクロの時刻 $T+\Delta T$ での変位の関数になっている。また一方で、マクロの $T+\Delta T$ での変位が定まらなければマイクロの収縮力も正確に定まらない。そこで本研究では $T+k\Delta t$ でのマクロの歪 λ を次式のように置くことで、マイクロ・マクロ連成問題を陰的に解く手法を開発した。

$$\lambda_{T+k\Delta t} \equiv \lambda_T + \frac{k}{n} (\lambda_{T+\Delta T} - \lambda_T)$$

これにより時刻 $T+\Delta T$ での収縮力 $T_{act, [T, T+\Delta T]}$ に対する荷重剛性 (load stiffness) が

$$\frac{\partial T_{act, [T, T+\Delta T]}}{\partial \lambda_{T+\Delta T}} = \frac{2}{SA_0 \cdot N_F \cdot n} \sum_{j=1}^{N_F} \sum_{i=1}^{N_M} \sum_{k=1}^n \delta_{A,ij,T+k\Delta t} \frac{d^2 W}{dx^2} (x_{ij,T+k\Delta t}) \frac{\partial x_{ij,T+k\Delta t}}{\partial \lambda_{T+\Delta T}}$$

から適切に算出され、これを組み込むことでマクロ解析における Newton-Raphson 法の安定性・収束性が確保される。ここで SA_0 は無負荷状態におけるサルコメア断面積、 N_F は単位断面積当たりのフィラメント数、 N_M は半サルコメア当たりのミオシン分子数、 W は太いフィラメントとミオシン分子を結ぶロッドの歪ポテンシャル、 x はロッドの歪(変位)である。図 1.5 に荷重剛性を導入したマイクロ・マクロ連成解析アルゴリズムを示す。また陽的解法、即ちマクロの歪を次式：

$$\tilde{\lambda}_{T+k\Delta t} \equiv \lambda_T + k\Delta t \dot{\lambda}_T$$

によって時刻 T での歪速度から予測する方法を採用した場合との性能比較を図 1.6 に示す。同図 A は左心室圧、B は左心室容積を示すが、陽的解法では考案した陰解法の ΔT の $1/128$ にすることで、ようやく準陰解法と同等の解が得られることが分かる。なお以上の検討では理論およびアルゴリズム検証のためマイクロモデルはバネモデルを用いて行った。分子モデルへの実装は次年度行う。

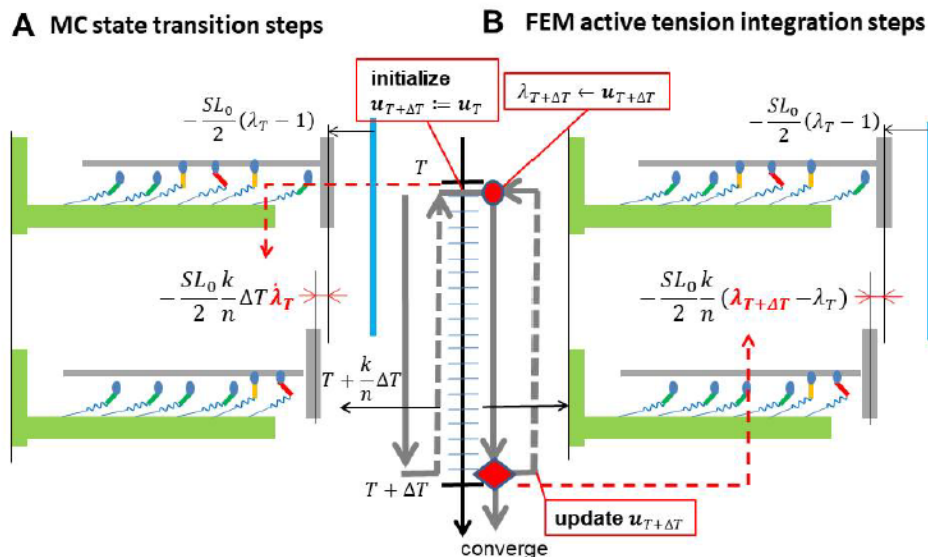


図 1.5 荷重剛性を導入したマイクロ・マクロ連成解析アルゴリズム

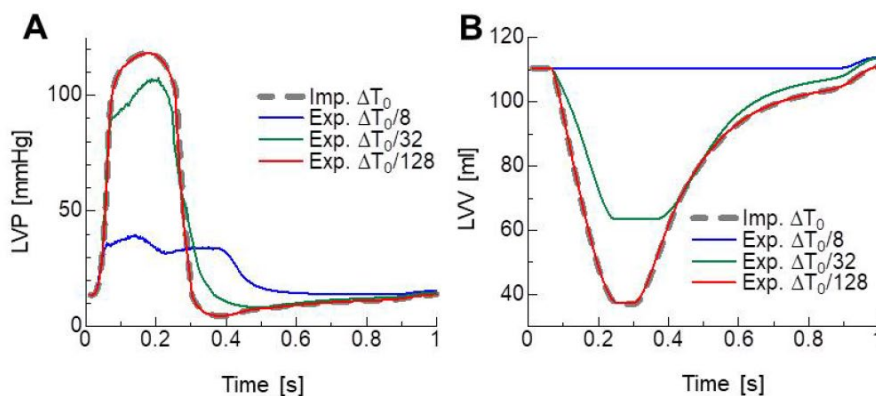
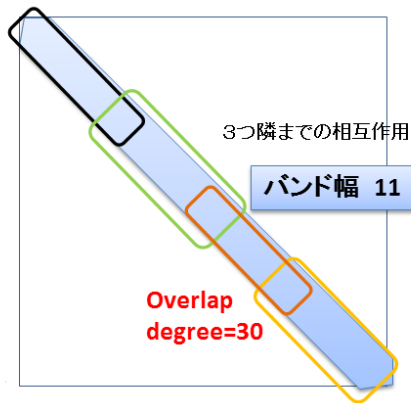


図 1.6 陽的解法と今回開発した陰解法の性能比較

本年度は更に並列化によるスピードアップについても検討を行った。即ち、前出のような幅の狭い帯行列のスレッド並列解法の効率を調べた。図 1.7 は半バンド幅が 11 で自由度 2400 超の対称行列について、オーバーラップ領域を 30 自由度としスレッド数を 1 から 16 まで変えて並列化効率を調べたものであるが、16 スレッドで 8.55 倍の高速化が達成できた。今後、連立 1 次方程式ソルバーについては、富岳のライブラリーの活用も検討する方針である。



Intel® Xeon® E5-2670 (20 MB Cache, 2.6 GHz)

#Threads	time/step [msec]	speedup
1	1.88	1
2	1.03	1.82
4	0.55	3.42
8	0.32	5.88
16	0.22	8.55

図 1.7 帯行列のスレッド並列解法によるスピードアップ

(2) 大規模インシリコ心疾患データベースの作成と公開

本テーマの最終ゴールは、図 2.1 に概念を示すように「富岳」のパワーを活用して心不全に関わる可能性のある多様な変動因子の組み合わせを持つ心臓モデル群を作成し、電気的興奮伝播シミュレーションのみならず力学的拍動シミュレーションも実施し、総ての計算結果を大規模インシリコ心疾患データベースとして登録・公開することである。本年度は、以下のようにモデル化の要件検討、細胞および組織モデルの開発、心臓モデルのテストケースシミュレーションを実施した。

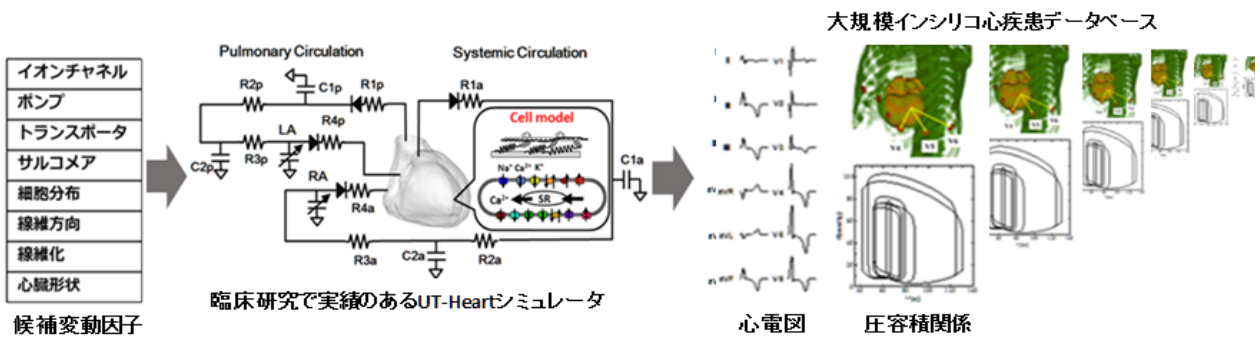


図 2.1 大規模インシリコ心疾患データベースの概念

まず、モデル化の要件検討、細胞および組織モデルの開発については、今年度は電気現象に焦点を当て、以下のように実施した。

心筋細胞の活動電位の再分極に寄与する外向きカリウム電流はQT 延長に深く関わることが知られ、それを制御する遅延整流性カリウムチャネルは瞬時活性型 IKr チャネルと緩徐活性型 IKs チャネルからなる。活動電位再分極相への寄与は、低頻度刺激時に IKr チャネル、高頻度刺激時に IKs チャネルがそれぞれ大きくなることが知られており、先ずこれらを細胞モデルのパラメータとした。同じく、一過性

の外向きカリウム電流を制御し再分極に重要な働きをされると言われる Ito チャンネル、また伝導遅延や伝導途絶に関わると考えられるナトリウム電流を制御する INaL チャンネル、心筋細胞の総てのイオン電流の背景に流れる電流であり、過分極側で流れやすく脱分極側では流れにくい特性を持ち静止膜電位を決定する IK1 チャンネル、脱分極で活性化ゲートが開口し脱分極が続くと不活性化ゲートが閉じる特性を持ち活動電位発生の閾値にも関わると言われる L 型カルシウムチャンネル ICaL を選択した。さらに筋収縮に関わるカルシウムイオン関係では、カルシウムイオンを貯蔵すると共に細胞内カルシウムイオン濃度の調節を行う小胞体への取り込みを担う Serca pump、また ATP は消費せず細胞膜を介するナトリウムイオンの濃度勾配を使い細胞内から細胞外へ濃度勾配に逆らってカルシウムイオンを搬出する機構であるナトリウム/カルシウム交換機構・Na/Ca exchanger を選択した。以上を図 2.2 に示す。

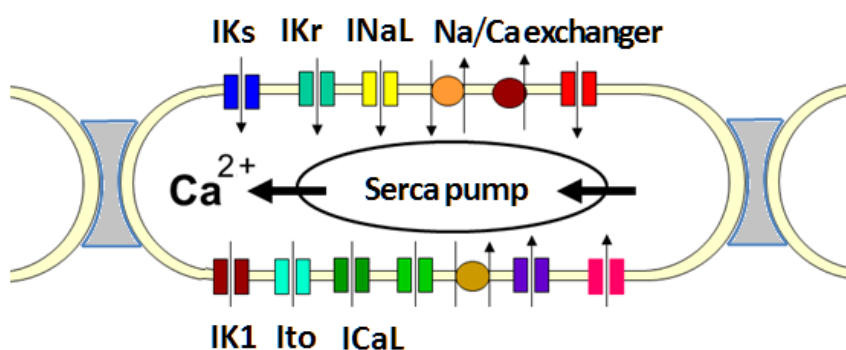


図 2.2 細胞モデルに関する候補因子

一方、心筋細胞活動電位の特性は心筋層において均一ではないことが知られている。即ち、図 2.3 に示すように、心内膜細胞、心外膜細胞とは性質の異なる M 細胞が中間層に存在する。M 細胞の特徴として、心外膜や心内膜領域の細胞群に比較し活動電位持続時間の顕著な延長を示す。その理由は、他の心筋細胞と較べ外向きカリウム電流が少ないことや、再分極相の内向きナトリウム電流が増加しているためと推察されている。M 細胞の再分極終了点は T 波の終末に一致することから、心電図における二相性の T 波や U 波の出現と密接に関係する。特に徐脈時や活動時間延長作用を有する種々の薬剤の使用時に、M 細胞の活動電位持続時間は選択的に延長を示し、QT 時間の延長、さらにはその不均一性の増大を招くことになる。現在、M 細胞の状態に起因する QT 時間の延長や QT 時間の不均一性と臨床的な心室性不整脈との関連性が示唆されている。このような理由から M 細胞も変動因子として選択した。

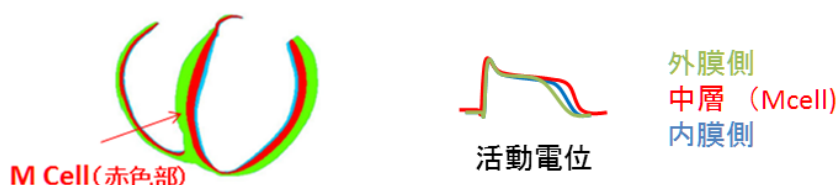


図 2.3 M 細胞分布の概念

次に、組織レベルではギャップ結合を選定した。ギャップ結合は心筋細胞どうしを接続する介在板（図 2.4 左に青色で表示）に見られる構造で、直径 2nm の通路をイオンや小分子が通過し心筋の同期性収縮に寄与している。このギャップ結合タンパクの発現異常は正常な興奮伝播を阻害し心不全期における不整脈を誘発する。有限要素法に基づく心臓シミュレーションでは、心筋を異方性（細胞走行方向すなわち線維方向）を有する超弾性連続体と見做し、節点に細胞モデルを配置する（図 2.4 中央）。その場合、細胞どうしの接続は有限要素ごとに定義される異方性（線維方向および直交方向）伝導率テンソルを付与することで表される（図 2.4 右）。従ってここではギャップ結合の発現異常を伝導率テンソルの変動として与える。

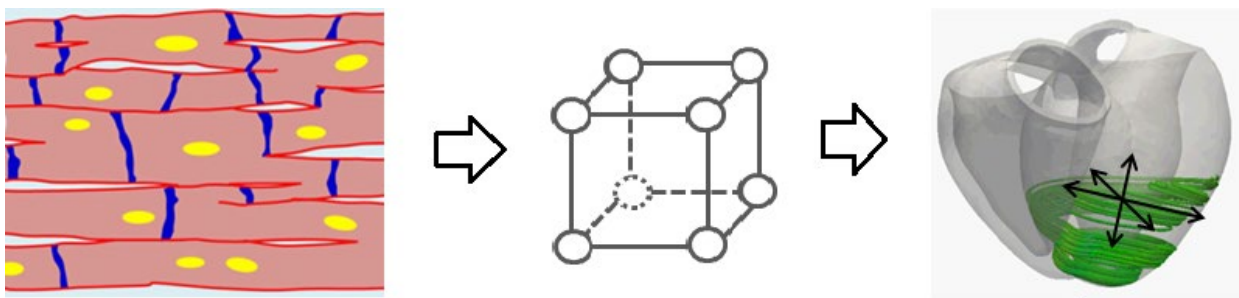


図 2.4 心筋伝導率のモデル化

臓器レベルでは次の二因子を選定した。まず、心筋症とは通常不適切な心室の肥大や拡大を呈するような心筋の器質的あるいは電氣的異常を有する多様な疾患群であり、その原因は多岐にわたるとされている。特に左室の形態を定量化するには球形度（sphericity index SI）が有用である。SI は左室四腔像における長軸径に対する短軸径の比率として表すことができ、左室心筋重量ならびに左室機能が正常の心臓においては 0.45~0.62 であるとされている。そこで今回は試験的に図 2.5 に示される丸さの異なる二種類の心室を比較することとした。

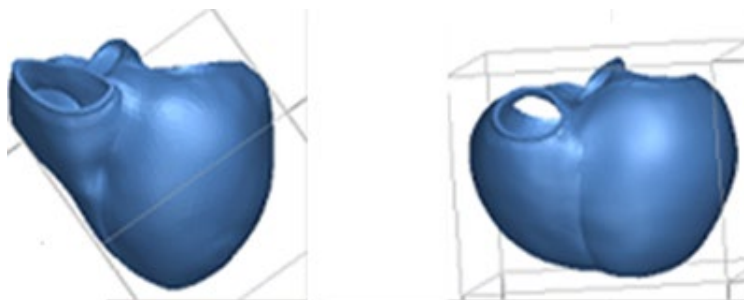


図 2.5 球形度の異なる 2 種類の心臓

虚血性心疾患は心不全の原因として第一位となる重要な病気で、心筋を養う冠動脈が動脈硬化で狭くなったり詰まったりして心筋への血流が阻害され、酸素が供給できないため心筋傷害が起こる狭心症や心筋梗塞のことを指す。心筋虚血により心筋の収縮力が弱まると心不全状態になる（虚血性心不全）。そ

ここで今回は図 2.6 に示す中隔から前壁および後壁にかけての典型的な二種類の虚血領域を設定し、その影響を調べることにした。



図 2.6 中隔から前壁および後壁にかけての二種類の虚血領域

以上に取り上げた変動因子は合計 12 種類になり、その具体的な設定を示したものが表 2.1 である。本年度はこれらのモデル開発を行い、O' Hara & Rudy human ventricular cell model に基づく心臓シミュレータに実装した。そしてこれらから 16,384 通りの組み合わせを選択し、心臓シミュレーションを実施して試験的インシリコ心疾患データベースを作成した。但し、変動因子[11]、[12]については、[Sphericity Index 0, Anterior]については ISCH002、003、005、008、[Sphericity Index 0, Posterior]については ISCH002、003、[Sphericity Index 1, Anterior]については ISCH002、003、004、005、008、[Sphericity Index 1, Posterior]については ISCH002、003、004、005、008、の計 16 通りの組み合わせについて行った。これにより、変動因子[1]～[10]についての組み合わせ数 2^{10} (1024 通り) に 16 を乗じた 16,384 通りとなる。

表 2.1 変動因子設定一覧

[1] IKs		normal or -50%
[2] IKr		normal or -20%
[3] INaL		normal or +20%
[4] IK1		normal or -20%
[5] Ito		normal or -70%
[6] ICaL		normal or -30%
[7] SERCA pump (Jup in ORd model)		normal or -20%
[8] INaCa		normal or +50%
[9] M細胞分布		normal or M cell only
[10] 心筋伝導率	Conductance	normal or fiber direction -20%, fiber normal +10%
[11] 球形度	Sphericity index	0 or 1
[12] 虚血	Anterior or Posterior and the followings:	
	心筋梗塞	線維化
	ISCH001 : Mild	ISCH005
	ko = 5.4D0	伝播速度-20%
	ATPi = 2.D0	筋線維の割合-20%
	PH = 6.0	ISCH006
	ISCH002 : Moderate	伝播速度-20%
	ko = 9.D0	筋線維の割合-40%
	ATPi = 1.D0	ISCH007
	PH = 6.0	伝播速度-40%
	ISCH003 : Severe	筋線維の割合-20%
	ko = 12.D0	ISCH008
	ATPi = 0.1D0	伝播速度-40%
	PH = 6.0	筋線維の割合-40%
	ISCH004 : Chronic	
	no propagation	

(3) 簡便かつ安価な検査による心不全の早期発見

本年度は、先ず東大病院で臨床データの加工および分析を実施し、特に心電図に基づく心不全予後予測の機械学習モデルの開発を行った。具体的には、東大病院では外来患者約 25 万症例の心電図データが蓄積されており、そのデータベース中から心不全で入院に至った患者につき、機械学習に掛けるに相応しいノイズの少ない約 9,000 の心電図を選択した。これらの各症例には心不全重症度のラベルを付与した。更に、これとほぼ同じ重みになるようデータベースの中から約 10,000 の健常人の心電図を抽出した。以上、合計で約 19,000 例を教師データとして整備した。次にこの教師データを用いて心電図から心不全予後予測を行う機械学習モデルを開発した。即ち、図 3.1 に示されるような Feature Learning 部と Classification 部からなる深層学習により、健常人、早期 (NYHA 0 と表記)、New York Heart Association の心機能分類における、NYHA I、NYHA II、NYHA III~IV を予測できるような機械学習システムを開発した。なお本システムは特許出願されている (特願 2020-145822 号)。

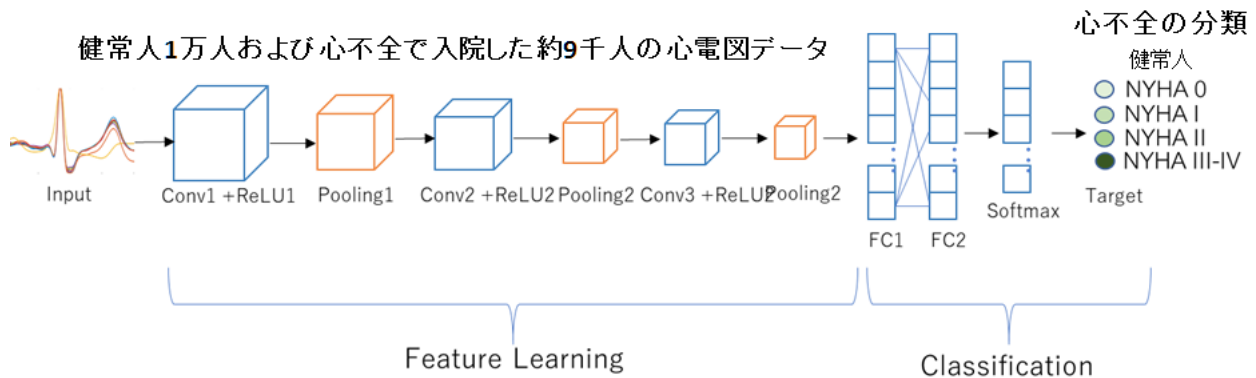


図 3.1 東大病院で開発した心電図に基づく心不全予後予測機械学習モデル

この機械学習システムの心不全予測性能を検証するため ROC 解析を行ったところ、図 3.2 に示されるように NYHA I、NYHA II、NYHA III～IV の分類それぞれに対して非常に良好な結果を得た。適当な閾値を設定すれば、感度、特異度共に高精度で分類が可能になると考えられる。なお、NYHA I については症状の有無により更に 2 群に分類した。

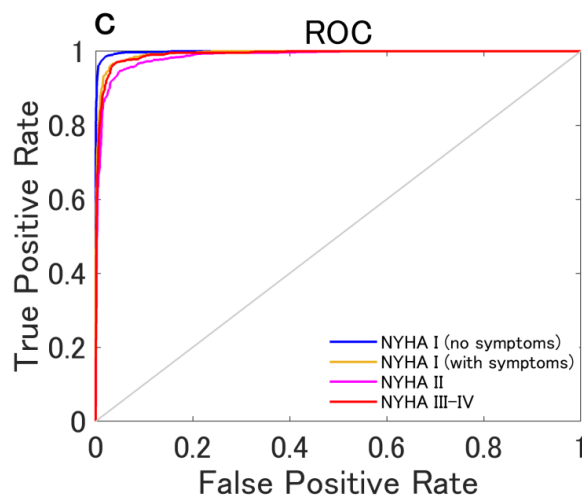


図 3.2 ROC 解析による本機械学習システムの心不全予測性能の検証

更に一人の患者について、血液検査による BNP 値と同時に計測した心電図の機械学習システムによる解析結果の推移を調べたところ、図 3.3 のように良好な相関が見られた。

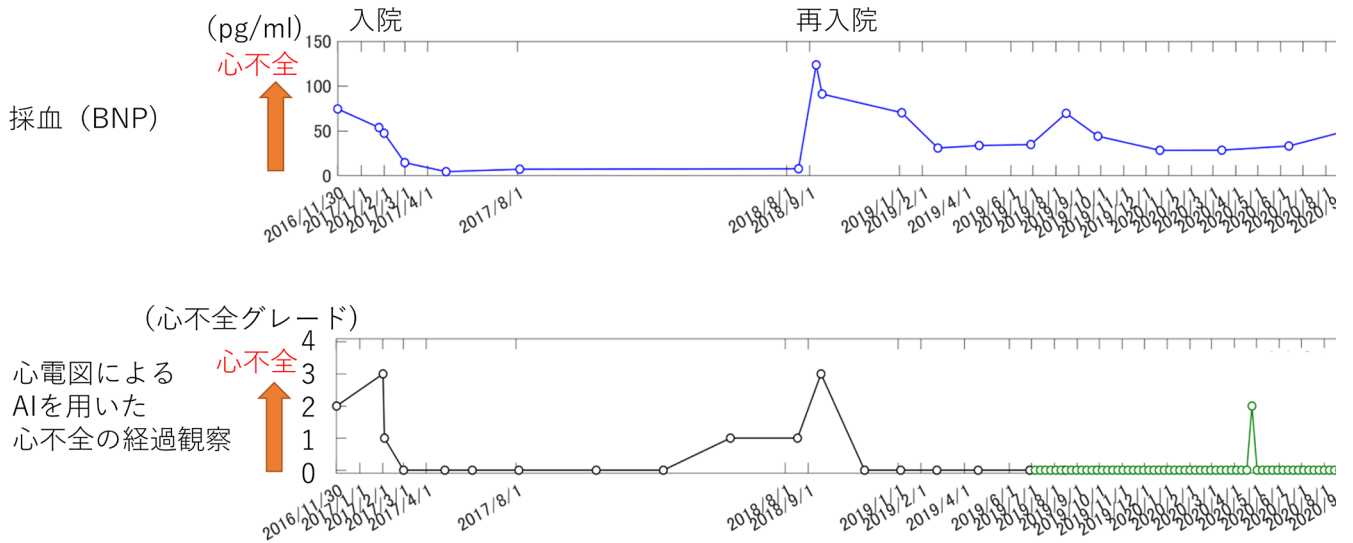


図 3.3 一人の患者のBNP値と機械学習システムによる心電図解析結果の推移

なお図 3.4 は、NYHA I (no symptoms)、NYHA I (with symptoms)、NYHA II、NYHA III~IVの各群において、機械学習が心電図のどこを見ているかをグレーのヒストグラムで示したものである。特に NYHA III~IVでは他の群と異なる個所に注目している様子がうかがえる。

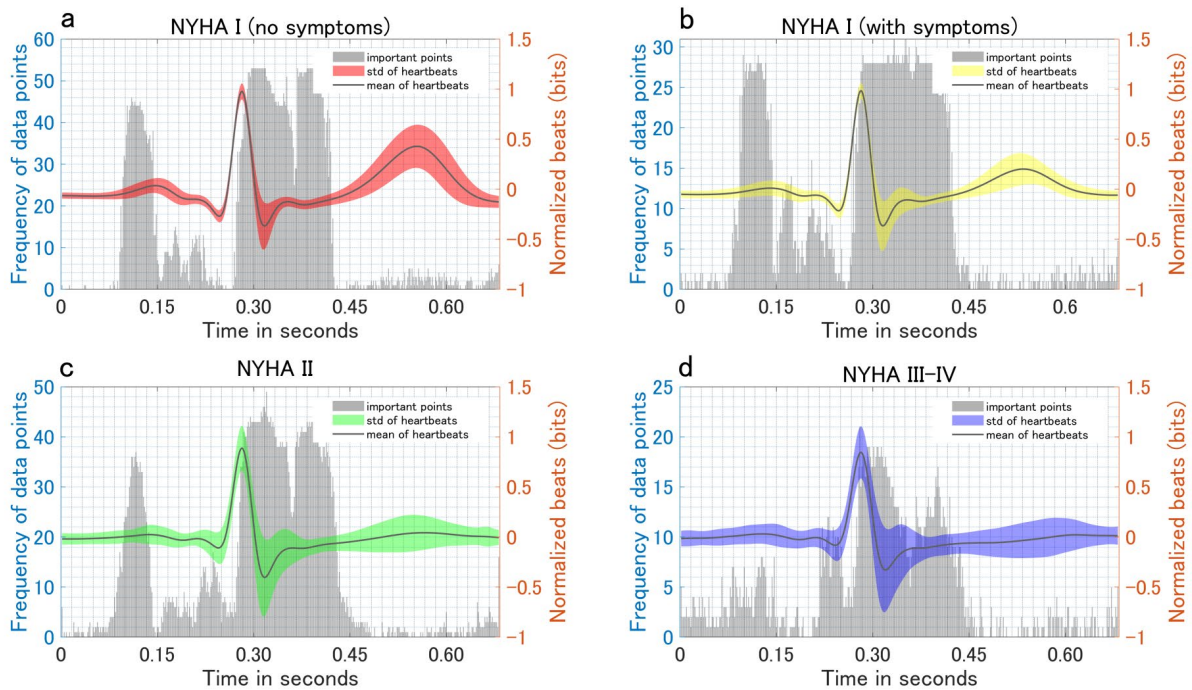


図 3.4 重症度別の各群の判別において機械学習システムが着目する心電図の箇所

(4) 合併症のため多くの薬剤を服用している高齢者心不全の安全確保

本年度は、データセットとして定めた 50 薬剤のうち 27 薬剤について、hERG チャンネルに対する薬剤の親和性予測を実施した。ここでは、薬剤のドッキングシミュレーションによる複合体構造予測および MD シミュレーションに基づく結合自由エネルギー計算手法の一種である MP-CAFE 法を組み合わせることで親和性の予測を目指している。hERG チャンネルにおいては、低分子薬剤は pore 内部に存在する S624、Y652、F656 などの残基と相互作用して結合することが過去の変異体実験により明らかとなっているため、最初に pore 内部への薬剤分子のドッキングシミュレーションを行った。ドッキングに際しては 4 つのサブユニットにおける Y652 の重心を探索範囲の中心として設定し、ソフトウェア Glide および Prime を組み合わせた induced fit プロトコルを用いることで S624、Y652、F656 の配向の変化を考慮した。ドッキングの結果、いずれの場合についても pore 内部の S624、Y652、F656 の残基が薬剤分子付近に存在するような複合体構造が得られた (図 4.1 左)。続いて、各薬剤について、得られたドッキング構造のうちスコアの最もよいものを選び MP-CAFE 法による結合自由エネルギー計算を実施した。得られた計算値 ΔG_{calc} を実験における IC_{50} 値から換算した結合自由エネルギー $\Delta G_{\text{exp}} (= RT \ln(IC_{50}))$ と比較した結果、実験値と計算値の間に決定係数 $R^2 = 0.515$ の相関がみられた (図 4.1 右)。一方、計算結果が回帰直線から大きく乖離している薬剤が 5 つ存在した。このうち 1 つの薬剤については、過去の変異体実験の結果において、Y652 が結合に関与していないことが示唆されており、異なる結合サイトへの結合を考慮する必要があることが明らかとなった。残りの 4 つの薬剤については、過去の研究結果に基づき、薬剤の電荷状態や、薬剤における電荷をもつ部位の結合ポーズにおける配置に着目してドッキングポーズの選択を行った結果、相関が改善した ($R^2 = 0.694$)。この結果から、ドッキングポーズを適切に選択することにより、計算結果と実験データの間に良い相関が得られることが示唆された。

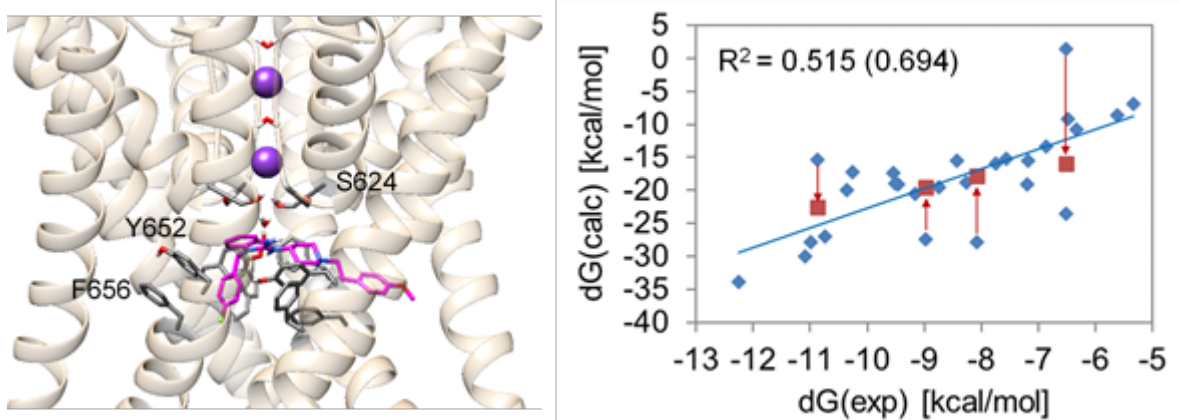


図 4.1 左図：hERG チャンネルに対する薬剤のドッキング構造の一例（チャンネルの主鎖を茶色のリボン、薬剤分子をマゼンタ、S624、Y652、F656 を灰色のスティックモデルで表示）右図：結合自由エネルギーの

実験値 ΔG_{exp} ($= RT \ln(IC_{50})$) に対する計算値 ΔG_{bind} のプロット (4つの薬剤についてドッキングポーズを再検討した後の結果を赤で表示)

加えて、Nav1.5、Cav1.2 チャンネルについてこれまでに用いていたモデルの改良を行うとともに、Kv7.1 チャンネルについて新たにモデル構造の構築に取り組んだ。Nav1.5 チャンネルについては、従来のモデルではヒト Nav1.4 (配列一致度 67%) を鋳型にしたホモロジーモデルを用いていたが、2020年にラットの Nav1.5 (配列一致度 97%) の電子顕微鏡構造が解かれたことから、この構造を鋳型としたモデルを構築することとした。このモデル構造について、全長および pore ドメインを抜き出した部分構造について脂質二重膜中での MD シミュレーションを実施した結果、500 ns のシミュレーション中で RMSD が 3.0 Å 程度となり、安定であることが示された (図 4.2 左)。Cav1.2 チャンネルについては、これまで、S4-5 linker から S6 helix までからなる部分構造を用いて解析を行っていたが、細胞内ドメインまで含めた部分構造を検討した結果、500 ns のシミュレーションにおいて RMSD がチャンネル全長と同程度の大ききで推移し、以前の部分構造よりも安定であることが示された (図 4.2 右)。Kv7.1 チャンネルは、2020年にヒト Kv7.1 チャンネルの電子顕微鏡構造が閉状態 (PDB ID: 6V00) および開状態 (PDB ID: 6V01) について解かれたことから、これらの構造における膜貫通部位を解析に用いることとした (図 4.3)。各構造について、チャンネル全長および pore ドメインを抜き出した部分構造について脂質二重膜中における 500 ns の MD シミュレーションを実施した。その結果、閉状態および開状態いずれの構造においても、全長、pore 部分構造ともに RMSD が 2.0 Å 程度で推移し、安定であることが示された (図 4.4)。

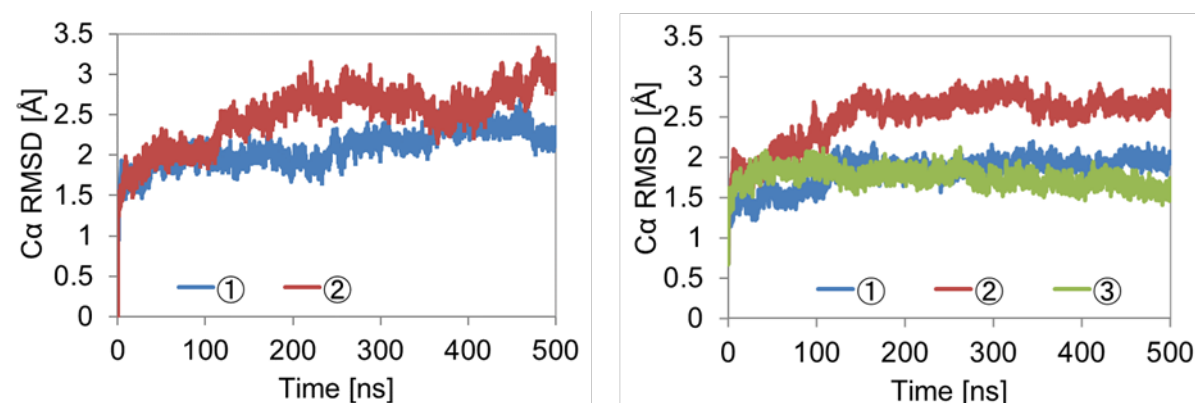


図 4.2 モデル構造の MD シミュレーション中における pore 膜貫通部位の $C\alpha$ -RMSD のプロット (左図 : Nav1.5 チャンネルのモデルに対するプロット [① : 全長構造、② : pore 部分構造] 右図 : Cav1.2 チャンネルのモデルに対するプロット [① : 全長構造、② : pore 部分構造、③ : 細胞内ドメインまで含めた部分構造])

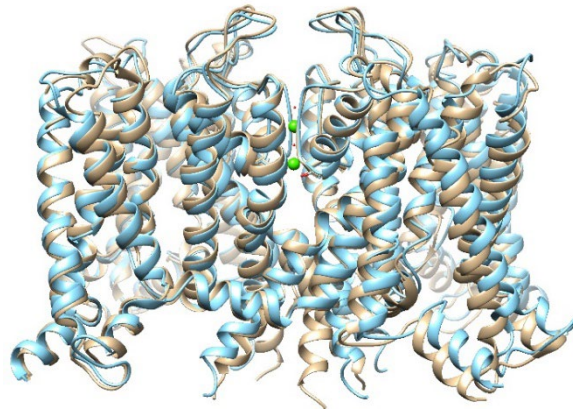


図 4.3 KV7.1 チャンネルの膜貫通部位の構造（閉状態（PDB ID: 6V00）を茶色、開状態（PDB ID: 6V00）を青色のリボンモデルで表示）

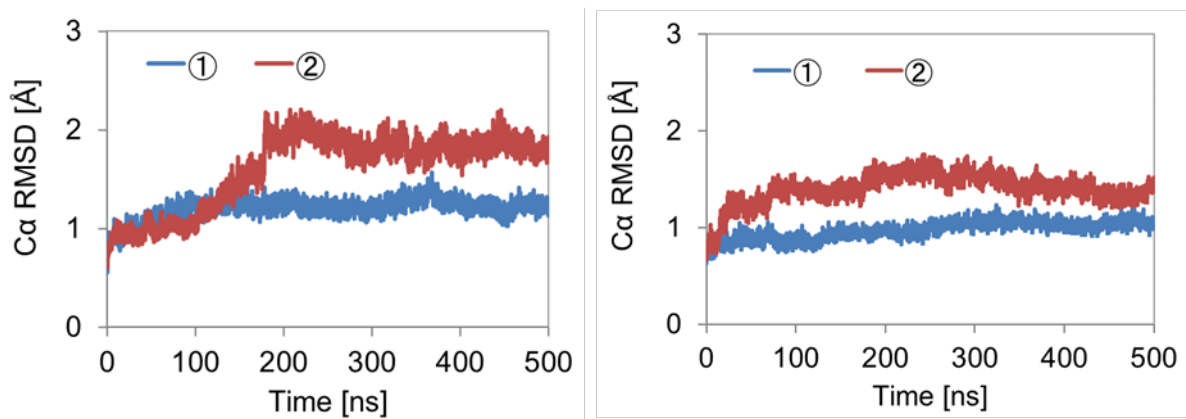


図 4.4 KV7.1 チャンネルの閉状態（左図）および開状態（右図）の構造の MD シミュレーション中における pore 膜貫通部位の C α -RMSD のプロット（①：全長構造、②：pore 部分構造）

以上のようなチャンネルの分子シミュレーションモデルの精度検証を行うに際しての問題点として、Na、Ca チャンネルの実験による阻害活性計測に関して、実験プロトコルに依存して大幅に異なる IC50 値が報告されており、gold standard が存在しないという点が挙げられる。そこで今年度は、エーザイ株式会社・吉永貴志博士、東京大学・澤田光平特任教授と UT-Heart 研究所で IC50 値補正のためのアルゴリズムの開発を開始した。議論の結果、次のような方針を進めることとなった。即ち、①臨床試験データと類似した心電図を有する個別心臓モデルをインシリコ心疾患データベースから抽出する。このモデルはボランティアの心臓(特に各種イオンチャンネルの状態)を近似すると考えられる。次に、②この心臓モデルを用いた投薬シミュレーションを実施し、実際の臨床試験における心電図変化を再現できるようなイオンチャンネルの阻害活性を決定する。以上の結果を、③実験およびドッキングシミュレーションにフィードバックすることで各薬剤の正確な阻害活性を決定するアルゴリズムを完成する。この方針のもとに次年度インシリコ心疾患データベースの進捗にあわせ開発を実施する予定である。

最後に、インシリコ心疾患データベースから抽出された心臓モデルに対して試験的心毒性解析を実施した。薬剤としては dl-Sotalol を用いた。dl-Sotalol は非常に強力な抗不整脈作用がある反面、新た

な不整脈や心不全を起こし易いため、日本では専門医によって他の薬が無効な致死性不整脈に対して処方される。図 4.5 は dl-Sotalol の血中濃度に対する各チャネルの阻害率をパッチクランプ実験により求めた結果を示す。緑丸印は常用量に対応する濃度である。

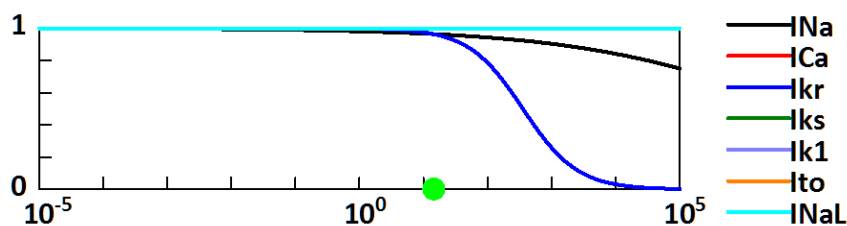


図 4.5 dl-Sotalol による各チャネルの阻害率

図 4.6 左は標準的な健常者を模した心臓モデルを用い興奮伝播シミュレーションを行って得られた 12 誘導心電図である。同図右はその心臓モデルに常用量の 80 倍、120 倍、140 倍、160 倍の dl-Sotalol を与えた場合の心電図（第 II 誘導）の変化を示す。120 倍から波形が乱れ不整脈の発生が観測される。

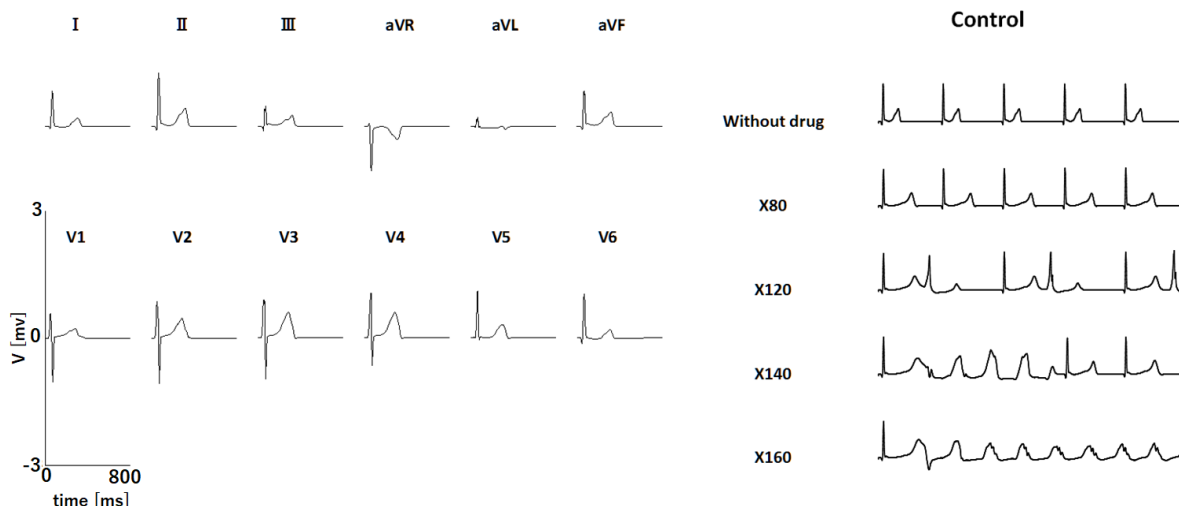


図 4.6 標準的健常者の心臓モデルの心電図と dl-Sotalol に対する反応

次に、前項 ((3) 簡便かつ安価な検査による心不全の早期発見) で早期、NYHAI、NYHA II、NYHA III~IV と分類された各群から心臓モデルを一つ取り出し dl-Sotalol を与えた場合の心電図変化を図 4.7 に示す。

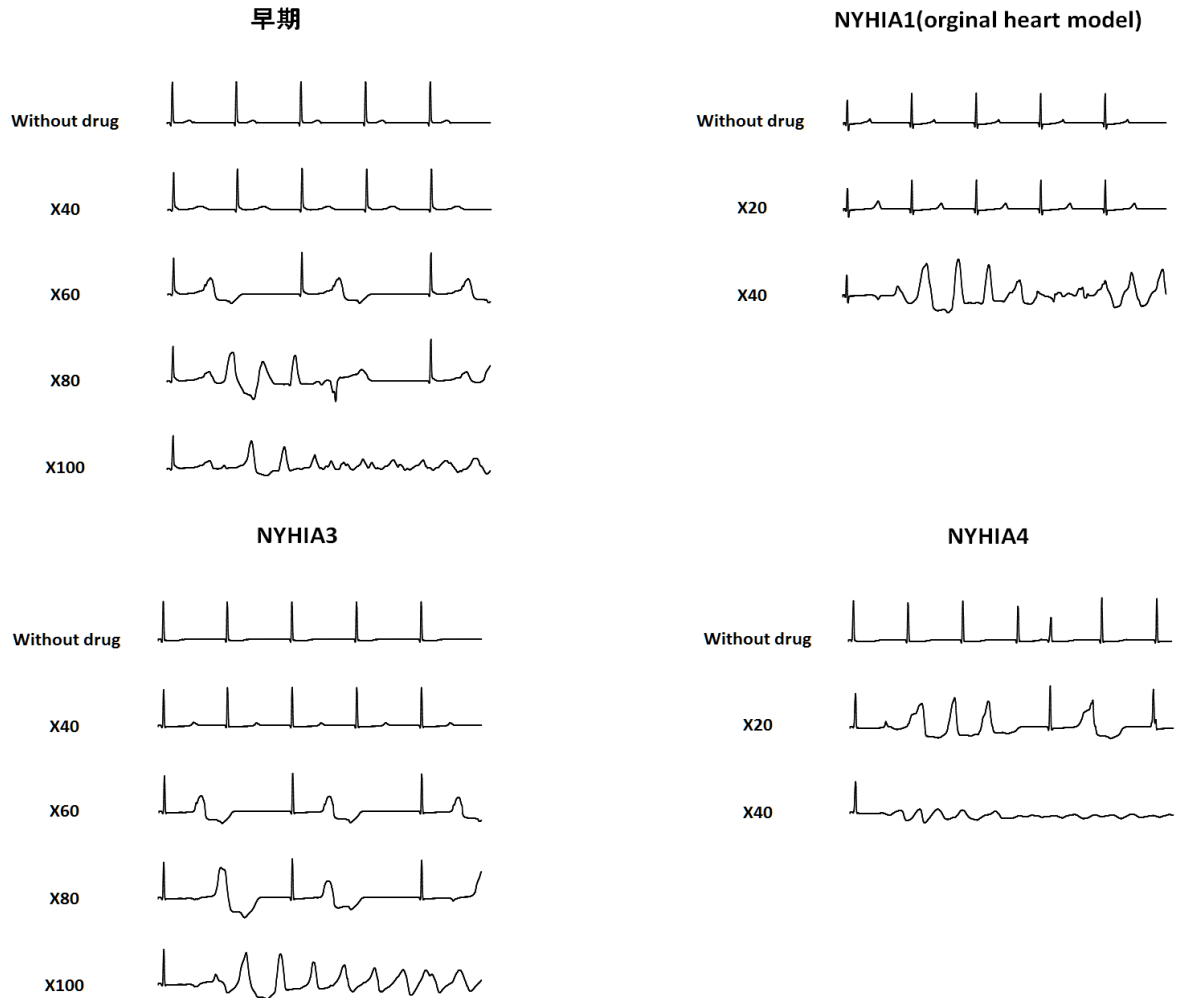


図 4.7 機械学習により分類された心不全重症度の異なる心臓の dl-Sotalol に対する反応例

以上の心電図波形の変化から、早期では常用量の 60 倍、NYHA I では 40 倍、NYHA II では 60 倍、NYHA III ~IV では 20 倍の濃度で不整脈を発生すると判断された。心臓は各群から無作為に一つ抽出したためばらつきがあるが、概ね心不全の重症度に応じて不整脈が生じ易くなっていることが示された。

(5) プロジェクトの全体推進

本年度は遠隔会議を活用することで研究者間の連絡を密にとった。また以下の 3 項目を実施した。

1) ホームページの作成

<http://ut-heart.com/Fugaku/index.html>

にて本プロジェクトのホームページを立ち上げた(図 5. 1)。



図 5.1 「富岳」成果創出加速プログラム用ホームページ表紙

2) 「健康と医学の博物館」における UT-Heart の展示

東大病院正面玄関前にある「健康と医学の博物館」にて、企画展 D として重点課題から引き継ぎ UT-Heart の展示を行った(図 5.2)。



図 5.2 「健康と医学の博物館」での UT-Heart の展示

3) 臨時公募課題（課題番号 hp200149）との連携

前項（(4) 合併症のため多くの薬剤を服用している高齢者心不全の安全確保）で改良中の心臓シミュレータを用い、臨時公募課題（課題番号 hp200149）として COVID-19 候補治療薬 Hydroxychloroquine 等の心毒性を評価し国際誌で公表した。パッチクランプ実験ではエーザイ(株)の協力を得た(図 5.3)。

実験協力 エーザイ(株)



Okada J, Yoshinaga T, Washio T, Sawada K, Sugiura S, Hisada T. Chloroquine and hydroxychloroquine provoke arrhythmias at concentrations higher than those clinically used to treat COVID-19. A simulation study. *Clinical and Translational Science*. 2021. DOI:10.1111/cts.12976

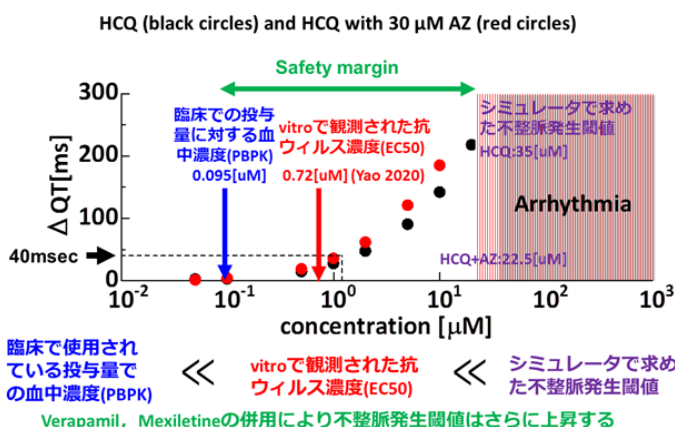


図 5.3 COVID-19 候補治療薬 Hydroxychloroquine 等の心毒性評価

2-3. 活動（研究会の活動等）

研究会名称：

粗視化分子シミュレーション研究会

参加者	日時	国内・外の別
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年4月10日（金）14：00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年4月15日（水）15：00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年4月24日（金）15：00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年4月30日（木）15：00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年5月11日（月）16：30 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮、京都大学 高田 彰二	2020年5月13日（水）10：30 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年5月27日（水）15：00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年6月4日（木）10：00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年6月11日（木）13：00 Zoom ミーティング	国内

株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年6月19日(金) 15:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年6月26日(金) 15:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年7月3日(金) 15:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年7月10日(金) 16:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年7月16日(木) 16:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年7月22日(水) 15:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年7月31日(金) 15:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年8月6日(木) 16:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年8月14日(金) 15:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年8月20日(木) 15:30 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年8月27日(木) 15:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年9月3日(木) 15:30 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年9月10日(木) 15:30 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年9月18日(金) 17:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年9月25日(金) 16:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮	2020年11月7日(土) 14:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、理化学研究所 金田 亮、京都大学 高田 彰二	2020年11月17日(火) 15:00 Zoom ミーティング	国内

・細胞代謝研究会

参加者	日時 他	国内・外の別
-----	------	--------

株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、東京大学 波田野明日可	2020年11月20日(金)14:00 Zoom ミーティング	国内
-----------------------------------	------------------------------------	----

・ AI による心不全予後予測研究会

参加者	日時 他	国内・外の別
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、東京大学 藤生克仁	2020年7月22日(水)18:30 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、東京大学 藤生克仁	2020年9月11日(金)16:00 Zoom ミーティング	国内
株式会社 UT-Heart 研究所メンバー、東京大学 藤生克仁	2021年1月29日(金)14:00 Zoom ミーティング	国内

2-4. 実施体制

業務項目	担当機関	担当責任者
(1) 難治性心疾患のメカニズム解明	千葉県柏市若柴178-4-4 東京大学柏の葉キャンパス駅前サテライト 株式会社 UT-Heart 研究所 東京都文京区本郷7-3-1 東京大学 医学部附属病院循環器内科	代表取締役会長 久田俊明 教授 小室 一成
(2) 大規模インシリコ心疾患データベースの作成と公開	千葉県柏市若柴178-4-4 東京大学柏の葉キャンパス駅前サテライト 株式会社 UT-Heart 研究所 東京都文京区本郷7-3-1 東京大学 医学部附属病院循環器内科	代表取締役会長 久田俊明 教授 小室 一成
(3) 簡便かつ安価な検査による心不全の早期発見	千葉県柏市若柴178-4-4 東京大学柏の葉キャンパス駅前サテライト 株式会社 UT-Heart 研究所	代表取締役会長 久田俊明

	東京都文京区本郷7-3-1 東京大学 医学部附属病院循環器内科	教授 小室 一成
(4) 合併症のため多くの薬剤を服用している高齢者心不全の安全確保	千葉県柏市若柴178-4-4 東京大学柏の葉キャンパス駅前 サテライト 株式会社UT-Heart研究所 東京都文京区本郷7-3-1 東京大学 大学院農学生命科学研究科 応用生命工学専攻	代表取締役会長 久田俊明 准教授 寺田 透
(5) プロジェクトの全体推進	千葉県柏市若柴178-4-4 東京大学柏の葉キャンパス駅前 サテライト 株式会社 UT-Heart 研究所	代表取締役会長 久田俊明

別添 1 学会等発表実績

論文発表

1. Okada J, Yoshinaga T, Washio T, Sawada K, Sugiura S, Hisada T. Chloroquine and hydroxychloroquine provoke arrhythmias at concentrations higher than those clinically used to treat COVID-19. A simulation study. *Clinical and Translational Science*. 2021. DOI:10.1111/cts.12976
2. Shintani SA, Washio T, Higuchi H. Mechanism of contraction rhythm homeostasis for hyperthermal sarcomeric oscillations of neonatal cardiomyocytes. *Scientific Reports*. 2020;10(1):20468. doi.org/10.1038/s41598-020-77443
3. Okada J, Fujiu K, Yoneda K, Iwamura T, Washio T, Komuro I, Hisada T, Sugiura S. Ionic mechanisms of ST segment elevation in electrocardiogram during acute myocardial infarction. *The Journal of Physiological Sciences*. 2020;70(1):36. DOI:10.1186/s12576-020-00760-3
4. Washio T, Sugiura S, Okada J, Hisada T. Using Systolic Local Mechanical Load to Predict Fiber Orientation in Ventricles. *Frontiers in Physiology*. 2020;11(467). DOI:10.3389/fphys.2020.00467
5. Isotani A, Yoneda K, Iwamura T, Watanabe M, Okada J, Washio T, Sugiura S, Hisada T, Ando K. Patient-specific heart simulation can identify non-responders to cardiac resynchronization therapy. *Heart and Vessels*. 2020. DOI:10.1007/s00380-020-01577-1

学会発表

1. 招待講演、JPS 優秀論文賞受賞講演（入澤賞/入澤記念循環賞）、岡田純一、急性心筋梗塞の心電図における ST 上昇のイオン機構、第 126 回日本解剖学会総会・全国学術集会 / 第 98 回日本生理学会大会 合同大会（オンライン）、Mar. 2021
2. 招待講演、鷺尾巧、A preconditioned Krylov subspace iterative method for indefinite matrices arising from beating heart simulations, Second Workshop on Numerical Algebra, Algorithms and Analysis in Honor of Professor Ken Hayami's Retirement,（オンライン）Mar. 2021
3. Web 展示、久田 俊明、領域 2 国民の生命・財産を守る取組の強化
マルチスケール心臓シミュレータと大規模臨床データの革新的統合による心不全パンデミックの克服（「富岳」課題番号 hp200121）、スーパーコンピュータ「富岳」共用開始記念イベント HPCI フォーラム -スーパーコンピュータ「富岳」への期待-（オンライン）Mar. 2021

4. 招待講演、杉浦清了、究極の循環 Simulator、循環動態アカデミーコラボレーション企画 循環動態学を科学する
第 41 回日本循環制御医学会総会・学術集会、福岡県太宰府、Feb. 2021
5. 一般講演、Akita T, Akita S, Honjo H, Ishiguro Y, Okada J, Hisada T, Painless Epicardial Implantable Cardioverter Defibrillator Net System With Electric Conductive Fibers, American Heart Association Scientific Sessions 2020, A virtual experience, Nov. 2020
6. 招待講演、Masuda H, Miyagawa S, Washio T, Sugiura S, Okada J, Toda K, Hisada T, Sawa Y, Evaluation of the Mechanical Effect of Thickened iPS derived Cardiomyocyte Patch on the Distressed Left Ventricle using Cardiac Simulator “UT-Heart”, American Heart Association Scientific Sessions 2020, A virtual experience, Nov. 2020
7. 招待講演、鷺尾 巧、CP1 心臓シミュレータ UT-Heart による多様な拍動補助方式の効果予測と今後の医療との協業について[委員会特別企画1 研究推進委員会]、第 58 回日本人工臓器学会大会、高知、Nov. 2020
8. 招待講演、Sugiura S, Okada J-I, Yoshinaga T, Kurokawa J, Washio T, Furukawa T, Sawada K, Hisada T, Improving the assessment of heart toxicity for all new drugs through translational regulatory science, The 72nd Annual Meeting of The Korean Physiological Society Symposium 5: Physiome-based assessment of cardiac toxicity of new drug, (E-Conference) Nov. 2020
9. 一般講演、岡田純一、COVID-19 治療の候補薬:chloroquine,hydroxychloroquine,azithromycin の催不整脈リスクの評価ならびにその低減策に関する研究 (OFP)、第 9 回 JCAHPC セミナー (第 4 回 OFP 利活用報告会)「人類と地球を護るスーパーコンピューティング」(オンライン) Oct. 2020
10. 招待講演、鷺尾巧、生体现象を理解するための分子動力学モデルとその時間積分法を行列と固有値から考える、SwoPP2020 (Summer United Workshops on Parallel, Distributed and Cooperative Processing) (オンライン) July 2020
11. 根上樹、寺田透、「心筋カルシウムチャンネル Cav1.2 と薬剤間の結合自由エネルギー計算」、第 58 回日本生物物理学会年会、2020 年 9 月 16 日 (水) -18 日 (金) オンライン開催