

Original Research

Visualization of the Lenticulostriate Artery With Flow-Sensitive Black-Blood Acquisition in Comparison With Time-of-Flight MR Angiography

Kimio Gotoh, MD,¹ Tomohisa Okada, MD, PhD,^{1*} Yukio Miki, MD, PhD,¹ Masato Ikedo, BS,² Ayako Ninomiya, RT,² Toshikazu Kamae, MS,¹ and Kaori Togashi, MD, PhD¹

Purpose: To evaluate the capability of flow-sensitive black blood (FSBB) acquisition to visualize the lenticulostriate artery (LSA) in comparison with time-of-flight (TOF) angiography.

Materials and Methods: Twenty-one healthy subjects (13 males and 8 females, 19–44 years old) were enrolled in this study after obtaining written informed consent. Magnetic resonance imaging (MRI) examinations were performed with FSBB and TOF to visualize the LSA using a 1.5T MRI unit. In FSBB acquisition a motion probing gradient of $b = 4 \text{ sec/mm}^2$ was applied to dephase blood flow. Images were reconstructed into coronal sections and were evaluated in terms of number, length, and image quality at origins and distal areas of visualized LSA branches with a four-point scale.

Results: In all, 145 LSA branches were visualized with FSBB and 66 branches with TOF. There was no LSA visualized only with TOF. In all evaluated terms, FSBB was significantly better than TOF.

Conclusion: We could better visualize the LSA with FSBB than with TOF, both quantitatively and qualitatively. FSBB is a promising method, although it remains to be evaluated in clinical cases.

Key Words: lenticulostriate artery; flow-sensitive black blood; time-of-flight; MR angiography; diffusion

J. Magn. Reson. Imaging 2009;29:65–69.

© 2008 Wiley-Liss, Inc.

THE LENTICULOSTRIATE ARTERY (LSA) originates mainly from the middle cerebral artery (MCA) and supplies blood to the basal ganglia and the internal capsule

(1,2). Its occlusion results in lacunar infarct (3,4). In some of these patients, linear structures with abnormal density or signal were observed, consistent with occluded perforating arteries associated with the relevant lacunar infarct (5). In a prospective study of 93 patients of small subcortical infarcts, some relevance to MCA stenosis was observed but about 60% of cases were free of it (6). The LSA plays an important role for vascular disease at basal ganglia; however, its noninvasive visualization was limited.

Recently, susceptibility-weighted imaging (SWI) has been introduced as one of the ways of observing small vessels as black blood (7–9). In SWI, however, the flow rephasing is implemented and phase disturbance is observed mainly in the vein and its power for visualization of the artery is limited. On the other hand, signal from flowing blood can be attenuated by applying very weak motion probing gradients (dephase gradients), which mainly attenuates signal from moving blood in the artery and capillary, as well as in the vein (10), while the signal of the stationary component is almost intact, unlike diffusion-weighted images for stroke examination acquired with much larger motion probing gradients (MPGs). One such method proposed is flow-sensitive black blood (FSBB) acquisition (11,12).

Dilated LSA branches were visualized noninvasively with time-of-flight (TOF) MR angiography (MRA) in moyo-moya patients (13). The TOF-MRA may visualize some branches of the LSA without dilatation, but invasive angiography is used for clinical evaluation (14) and the capability has not been much investigated.

From these considerations we hypothesized that the LSA would be better visualized with FSBB acquisition than with TOF-MRA and the purpose of this study was to examine and illustrate the advantage of using FSBB in comparison with TOF for visualization of the LSA.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Twenty-one healthy volunteers (13 males and 8 females; range 19–44 years old, mean 25 years old) with-

¹Department of Diagnostic Radiology, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan.

²Toshiba Medical Systems Corp., Otawara-shi, Japan.

Contract grant sponsor: R&D of Molecular Imaging Equipment for Malignant Tumor Therapy Support, supported by New Energy and Industrial Technology Development Organization in Japan.

*Address reprint requests to: T.O., Department of Diagnostic Radiology, Kyoto University Graduate School of Medicine, 54 Shogoin Kawaharacho, Sakyo-ku, Kyoto, 606-8507, Japan. E-mail: tomiokada@kuhp.kyoto-u.ac.jp

Received June 24, 2008; Accepted September 10, 2008.

DOI 10.1002/jmri.21626

Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

out any known disease were enrolled in this study after obtaining written informed consent, based on the protocol approved by the Institutional Review Board.

Image Acquisition

The subjects were examined with both FSBB and TOF methods in order to visualize the LSA on a 1.5T MRI unit (EXCELART Vantage Powered by ATLAS, Toshiba Medical Systems, Otawara-shi, Japan). After obtaining localizing images of three orthogonal axis, T2-weighted fast spin echo images were acquired parallel to the AC (anterior commissure)-PC (posterior commissure) with the following parameters: TR/TE 4000/105 msec, flip angle 90/160°, acquisition matrix size 320 × 256, field of view (FOV) 220 × 180 mm, slice thickness 3 mm with 0.6 mm gap in 40 slices to cover the whole brain. In the same AC-PC slice orientation, TOF-MRA and FSBB images were scanned using the 3D gradient echo acquisition. The common imaging parameters were TR 29 msec, flip angle 20°, acquisition matrix size 256 × 224, FOV 205 × 179 mm in one axial 3D slab of 160 slices. The scan resolution was 0.8 × 0.8 × 0.8 mm, which was interpolated into 0.4 × 0.4 × 0.4 mm in order to increase apparent resolution and improve image quality after reformatting. The scan time was 6 minutes 35 seconds. In the TOF scan, TE was 6.8 msec and a magnetization transfer contrast pulse and flow rephasing were used. For the FSBB acquisition, TE was 20 msec and the motion probing gradient of $b = 4 \text{ sec/mm}^2$ was evenly divided and applied to all three axes. At the initial stage we evaluated effect of MPG at different b values of 0, 1, 2, and 4 sec/mm^2 as a preliminary evaluation.

Image Analysis

The 3D image volume data was transferred to a commercially available workstation (AZE VirtualPlace Lexus, AZE, Tokyo, Japan) and the following processings and evaluations were conducted on the same workstation. After reorienting the 3D axial image volumes into coronal (perpendicular to the AC-PC line), each of five consecutive slices was projected by maximum intensity (ie, MIP of 2 mm thickness) for TOF and by minimum intensity (ie, MinIP of 2 mm thickness) for FSBB. By using these images, LSA branches were traced and measured for length on the workstation. On the reconstructed images, LSA branches longer than 5 mm were analyzed. When an artery branches within 5 mm from the MCA origin, each branch was counted and measured separately, because more than 70% of branches were found to originate from common trunks (1). When an artery branches at a more distal site, only the longest branch was counted and measured. Images were analyzed in terms of number, length, and quality of visualization for the visualized LSA branches using a four-point scale (0: not visualized, 1: poor, 2: good, and 3: excellent). The quality of visualization was evaluated separately at origins of the LSA and areas distal to them. The evaluation was performed for each and every visualized LSA branches in random order by two experienced radiologists in consensus, although we could

not avoid evaluators noticing the acquisition method due to differences in appearance between FSBB and TOF images. The length of LSA branches was measured by another researcher. On the T2-weighted axial images, high-intensity spots were examined in the basal ganglia region above the anterior perforated substance and the number of the perivascular space was counted by two radiologists in consensus.

Statistical Analysis

The numbers of visualized branches per subject were compared between FSBB and TOF with a two-tailed paired t -test, separately for left and right hemispheres. The difference in numbers between left and right was also examined. Lengths of all visualized LSA branches were compared between FSBB and TOF with a two-tailed two-sample t -test. In the comparisons of scores for quality of visualization between FSBB and TOF, a Wilcoxon signed rank test was used. A P -value less than 0.05 was considered statistically significant. Statistical analyses were conducted using a commercially available software package (SPSS 16.0, SPSS, Chicago, IL).

RESULTS

Preliminary Evaluation

FSBB acquisitions were performed, with a certain range of b values ($b = 0, 1, 2,$ and 4 s/mm^2 ; the last value was the maximum in the system). Representative images are shown in Fig. 1. Very few LSAs were visualized at $b = 0 \text{ s/mm}^2$ and more of them were better depicted according to the increase of b values. Visualization was best at a b value of 4 s/mm^2 , which was adopted for the current study.

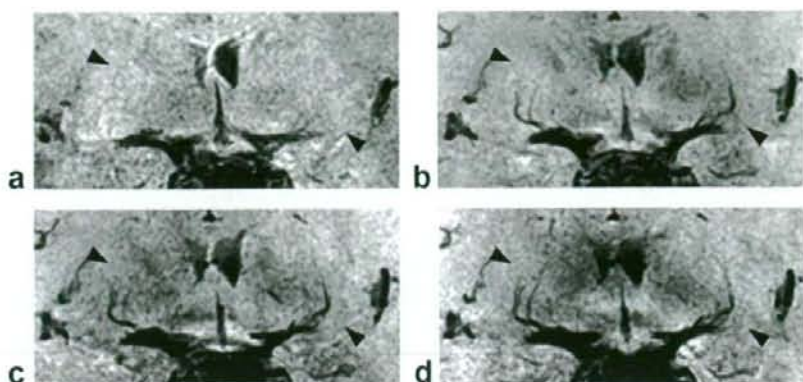
Number and Length of Visualized LSAs

The average numbers and standard deviations of visualized LSAs per subject were 3.6 ± 1.2 and 1.5 ± 0.8 on the left, and 3.3 ± 1.0 and 1.7 ± 0.9 on the right for FSBB and TOF, respectively (Table 1). The differences between FSBB and TOF were significant ($P = 0.001$) on both sides; however, there was no significant difference between left and right for both FSBB and TOF ($P = 0.459$ and $P = 0.479$, respectively). The total number of branches visualized with FSBB was 145, and 66 (46%) were also visualized with TOF. There was no LSA that was visible only in TOF images. The average lengths of visualized LSA branches were $21.8 \pm 7.1 \text{ mm}$ and $18.6 \pm 8.1 \text{ mm}$ for FSBB and TOF, respectively (Table 1), which were statistically significantly different ($P = 0.008$). Some representative images are presented in Fig. 2 using thicker projected images (8 mm) than those used for analysis.

Quality of Visualization at Origins and Areas Distal to Them

Visualization scores are summarized in Table 2. At the origin of LSA branches, FSBB showed significantly better visualization of the LSA than TOF ($P = 0.003$). Also, at the areas distal to the origins, FSBB was better than TOF ($P = 0.001$). The results of the number, length, and

Figure 1. Differences in visualization of the lenticulostriate artery (LSA) dependent on the b values of motion probing gradient (MPG): b = 0, 1, 2, and 4 s/mm², as presented in images (a-d), respectively. Better visualization of LSA is observed (see arrowheads) by increasing b values, whereas CSF signal is gradually decreased.



quality of visualization at distal areas for LSA branches visualized with FSBB and TOF are illustrated in Fig. 3.

Number of the Perivascular Space and Other Lesions on T2WI

No significantly abnormal finding was detected on T2WIs of all the subjects. The perivascular spaces were detected as tiny high intensity spots on axial T2WIs above the anterior perforated substance in some subjects, but the number was 7 in total and they were limited 1 to 2 slices above the slice with the anterior perforated substance.

DISCUSSION

Histological examination of the LSAs in the vascular casts of 48 middle cerebral arteries revealed that more than 90% of LSA branches originated from the first segment of the MCA (M1), and they ranged between 2 and 12 (mean 7.1) in number and from 80 μ m to 1,400 μ m in size (1). Another study reported that there were usually three branches in the middle group and one to nine in the lateral group (2). By using the FSBB method, we observed 3.6 and 3.3 branches on average on the left and right sides, respectively. These results conform to the aforementioned histological results. Although the whole branches of the LSA may not be visualized even with FSBB acquisition, length and quality of visualization were significantly better with FSBB scan than TOF-MRA, which requires rapid vascular inflow (15), and LSA branches were considered to be too small to fully visualize with the latter method. On the other hand, even slow flow can be dephased by a weak motion probing gradient and the FSBB acquisition was more sensi-

tive in detecting small vessels with slow flow like the LSA. Although FSBB is suitable for visualizing small arteries, it might be used to evaluate a larger artery with turbulent flow. In patients with sickle cell disease, high-velocity flow secondary to anemia generates turbulence and it produces intimal injury and hyperplasia, resulting in infarction. But at the same time, this turbulence often causes pseudo-lesion on TOF-MRA (16). Although such cases are yet to be evaluated, intimal hyperplasia might show some signal on the FSBB image and it may help to avoid pseudo-lesions. In the FSBB image the perivascular space or cerebrospinal fluid (CSF) might possibly be detected as the same signal void. However, it should be noted that the number of the perivascular space detected on the T2WI was 7 in the whole subjects and they were limited within one or two slices above the anterior perforated substance. In aged subjects, the perivascular space would frequently be dilated, but CSF signal in the space is expected to be higher than LSA signal, which is void, as shown in Figs. 1 and 2. Calcification, small hemorrhage, and iron deposit would be visualized as signal void, but they would be identified as spotty, nodular, or even mass-like lesions and may not be recognized as "string-like" LSAs.

Quality of visualization was evaluated at the origin of LSA branches, because understanding the microanatomy of the proximal middle cerebral artery (M1) and its branches is very important for aneurysm surgery. It may cause clipping or blood flow disturbance of LSA, resulting in cerebral infarction (17, 18). Although aneurysm clipping is generally preceded by digital subtraction angiography (DSA), not all hospitals can use 3D-DSA. 3D and isotropic information of the FSBB image may complement bi-plane DSA. The average scores for the FSBB image were lower compared with those evaluated at distal areas. It was probably caused by the pulsatile motion of CSF, because gross motion causes signal reduction by MPG even at a b value of 4 s/mm². Hence, for better visualization at the origin a lower b value would be appropriate.

In the analysis axial slabs were reformatted into the coronal orientation and every five slices were projected and reconstructed as one slice of 2 mm thickness for minimum intensity in the FSBB images and for maximum intensity in the TOF images. Although thicker

Table 1
Number and Length of Visualized LSA Branches

	Numbers		Length
	Left	Right	
FSBB	3.6 \pm 1.2	3.3 \pm 1.0	21.8 \pm 7.1 (145)
TOF	1.5 \pm 0.8	1.7 \pm 0.9	18.6 \pm 8.1 (66)
P value	P = 0.001	P = 0.001	P = 0.008

Numbers and length are presented in mean \pm standard deviation, and total branch numbers are presented in parentheses.

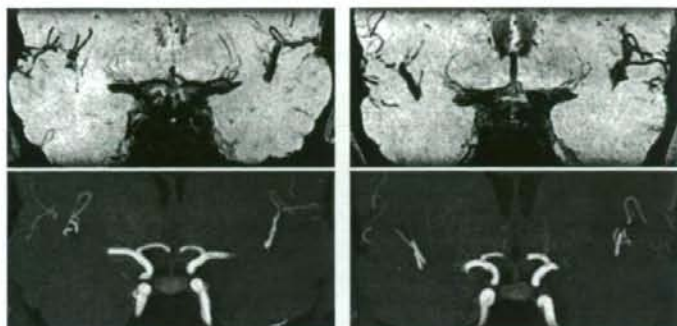


Figure 2. Representative images of LSA branches from two subjects (left and right columns). The upper row shows FSBB images and the lower shows TOF images. Better visualization is noted in images of FSBB than TOF.

slices allowed easier detection, measurement, and evaluation of the LSA, they might yield more errors, because LSA branches looked as if they were fusing each other when viewed on thick slices despite the observation that their anastomosis is very rare (19). On the other hand, when the slice was very thin tracing the continuity of an LSA branch was difficult and it caused some errors in measuring the entire length that was visualized. Hence, a minimum intensity projection of 2 mm slice thickness was adopted for better processing. For viewing purposes, however, thicker reformatting would be useful, as illustrated in Fig. 2 (8 mm thick).

In a series of cases with a small infarct in the territory of the LSAs more than 75% of the patients were either hypertensive or diabetic (20), both of which increase the risk of cerebrovascular disease, including in the areas of deep brain structures. For these patients, screening for abnormal findings of the LSA could be beneficial, as TOF-MRA has been made great contributions to completely noninvasive screening for abnormality of vasculatures of larger size. Cerebral hemorrhage in basal ganglia is also associated with LSA abnormalities, such as dissection, aneurysm, and abnormal dilatation. The microaneurysm of perforating arteries was suggested to be responsible for hypertension-induced cerebral hemorrhage (21). If some morphological changes in the LSA, such as hypovisualization, left-right asymmetry, and an aneurysm are visualized in asymptomatic patients of DM or hypertension, it may allow more rigorous therapeutic interventions to prevent symptomatic events, although further studies are required to clarify a cau-

sality linkage between FSBB findings and future morbidity. The noninvasive nature of FSBB acquisition would also enable regular follow-up observations. The FSBB acquisition is a noninvasive modality and may play an important role in assessing the LSA.

There are some limitations in this study. First, almost all the subjects were younger than 40 years old and the range of subject age was limited because this study intended to evaluate the feasibility of FSBB acquisition to visualize the LSA. Further studies on patients of lacunae, DM, hypertension, and others are yet to be made. Second is the absence of a reference standard. Conventional angiography may better visualize the LSA; however, angiographic images of healthy volunteers were not obtainable because the procedure is invasive and has some risk of complications. Lastly, FSBB is better at visualizing small and slow-flow arteries. For larger arteries, TOF visualizes better and is suitable for multidirectional MIP observation. Therefore, FSBB should be used complementary to TOF.

Table 2
Visualization Scores for LSA Branches

	FSBB	TOF
Origin		
3	43	16
2	66	17
1	34	25
0	2	8
Total	145 ^a	66
Distal area		
3	67	7
2	64	28
1	14	31
Total	145 ^b	66

^a*P* = 0.003, ^b*P* = 0.001.

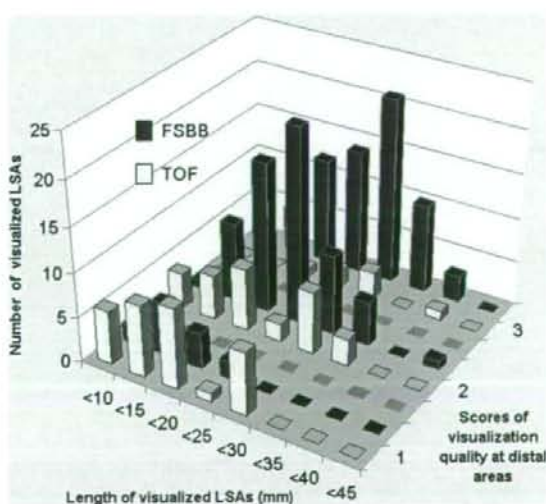


Figure 3. A histogram presentation of numbers, length, and quality scores at distal areas for 145 and 66 LSA branches visualized by FSBB and TOF, respectively. It is illustrated that FSBB visualized longer at higher quality than TOF.

In conclusion, we could better visualize the LSA with FSBB acquisition than with TOF-MRA, both quantitatively and qualitatively. The FSBB scan is considered a promising method, but it remains to be evaluated in clinical cases.

REFERENCES

1. Martinkovic S, Gibo H, Millsavljevic M, Cetkovic M. Anatomic and clinical correlations of the lenticulostriate arteries. *Clin Anat* 2001; 14:190-195.
2. Marinkovic SV, Kovacevic MS, Marinkovic JM. Perforating branches of the middle cerebral artery. Microsurgical anatomy of their extracerebral segments. *J Neurosurg* 1985;63:266-271.
3. Feekes JA, Hsu SW, Chaloupka JC, Cassell MD. Tertiary microvascular territories define lacunar infarcts in the basal ganglia. *Ann Neurol* 2005;58:18-30.
4. Feekes JA, Cassell MD. The vascular supply of the functional compartments of the human striatum. *Brain* 2006;129:2189-2201.
5. Wardlaw JM, Dennis MS, Warlow CP, Sandercock PA. Imaging appearance of the symptomatic perforating artery in patients with lacunar infarction: occlusion or other vascular pathology? *Ann Neurol* 2001;50:208-215.
6. Wang X, Lam WW, Fan YH, Graham CA, Rainer TH, Wong KS. Topographic patterns of small subcortical infarcts associated with MCA stenosis: a diffusion-weighted MRI study. *J Neuroimaging* 2006;16:266-271.
7. Haacke EM, Xu Y, Cheng YC, Reichenbach JR. Susceptibility weighted imaging (SWI). *Magn Reson Med* 2004;52:612-618.
8. Reichenbach JR, Barth M, Haacke EM, Klarhofer M, Kaiser WA, Moser E. High-resolution MR venography at 3.0 Tesla. *J Comput Assist Tomogr* 2000;24:949-957.
9. Wang Y, Yu Y, Li D, et al. Artery and vein separation using susceptibility-dependent phase in contrast-enhanced MRA. *J Magn Reson Imaging* 2000;12:661-670.
10. Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Aubin ML, Vignaud J, Laval-Jeantet M. Separation of diffusion and perfusion in intravoxel incoherent motion MR imaging. *Radiology* 1988;168:497-505.
11. Kimura T, Ikedo M, Furudate N, Takemoto S. Flow-sensitive susceptibility-weighted imaging. In: *Proc Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB*, Berlin; May 19-25, 2007:3015.
12. Tsuchiya K, Tateishi H, Yoshida M, et al. Flow-sensitive susceptibility-weighted imaging of the brain: initial experience in ischemic lesions. In: *Proc Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB*, Berlin; May 19-25, 2007:3016.
13. Fushimi Y, Miki Y, Kikuta K, et al. Comparison of 3.0- and 1.5-T three-dimensional time-of-flight MR angiography in moyamoya disease: preliminary experience. *Radiology* 2006;239:232-237.
14. Nakano S, Iseda T, Kawano H, Yoneyama T, Ikeda T, Wakisaka S. Correlation of early CT signs in the deep middle cerebral artery territories with angiographically confirmed site of arterial occlusion. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001;22:654-659.
15. Bradley WG Jr, Waluch V. Blood flow: magnetic resonance imaging. *Radiology* 1985;154:443-450.
16. Gillams AR, McMahon L, Weinberg G, Carter AP. MRA of the intracranial circulation in asymptomatic patients with sickle cell disease. *Pediatr Radiol* 1998;28:283-287.
17. Sasaki T, Kodama N, Matsumoto M, et al. Blood flow disturbance in perforating arteries attributable to aneurysm surgery. *J Neurosurg* 2007;107:60-67.
18. Park DH, Kang SH, Lee JB, et al. Angiographic features, surgical management and outcomes of proximal middle cerebral artery aneurysms. *Clin Neurol Neurosurg* 2008;110:544-551.
19. Marinkovic S, Millsavljevic M, Marinkovic Z. Anastomoses among the perforating arteries of the brain. Microanatomy and clinical significance. *Neurologija* 1990;39:107-114.
20. Ghika J, Bogousslavsky J, Regli F. Infarcts in the territory of lenticulostriate branches from the middle cerebral artery. Etiological factors and clinical features in 65 cases. *Schweiz Arch Neurol Psychiatr* 1991;142:5-18.
21. Ahn JY, Cho JH, Lee JW. Distal lenticulostriate artery aneurysm in deep intracerebral haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2007;78:1401-1403.

4. その他の分子イメージング

4) MRI顕微鏡

松田哲也・植崎美智子・水田 忍・塩田浩平

MRIの中でも分子イメージング研究において活躍が期待されるような高い空間分解能をもつシステムはMRI顕微鏡(MRマイクロスコプ)と呼ばれ、すでに小動物を対象とした生物学的研究に利用されている。現在の小動物用MRI装置で実現している数十 μm あるいはそれ以上の空間分解能になると、信号強度の低下をはじめとした様々な問題点が生じ、信号強度の増強や受信感度・受信効率の向上をはかって空間分解能を追求する試みも提案されている。このようなMRI顕微鏡の現状と課題を技術的な側面から説明する。

はじめに

MRIは、分子イメージングを担うであろう様々な画像診断法の中で、PETに次いで期待されている医用画像モダリティであろう。分子イメージングを目的とする場合、臨床的に用いられている一般的なMRIではなく、より高い空間分解能を有するMRI顕微鏡¹⁾(MRマイクロスコプ)と呼ばれるシステムが活躍すると考えられる。MRI顕微鏡は、MRI開発後のかなり早期に提案されており、1986年にはすでに1個の細胞を撮影した画像が報告されている²⁾。このような極めて高い空間分解能をもつMRI顕微鏡も、培養細胞や摘出組織片などを対象に*in vitro*の画像化を行うものから、小動物あるいはヒトまでも対象に*in vivo*での画像化をめざすものまで様々である。前者は診断用の分子プローブの開発や創薬をはじめとした研究目的に用いられ、後者は分子プローブを投与した小動物を対象とする生物学的研究から疾病の診断を対象とする臨床研究までを視野に入れる。ここでは、

分子イメージングの実現を目標として、すでに実際の生物学的研究に用いられている小動物用MRI顕微鏡の現状について解説するとともに、特に空間分解能に焦点をあて、技術的な側面からMRI顕微鏡の問題点や将来への課題をまとめてみる。

I. MRI顕微鏡

臨床で一般的に用いられているMRIでは、その幅や前後径が20~40cm程度のヒトの頭部や体幹部を 256×256 , 512×512 , あるいは 1024×1024 程度の画像収集マトリクスで撮影する。MRIでは一般に1画素(ピクセルまたはボクセル)の大きさ(画素サイズ)を空間分解能と考えるが、このような例では1画素の大きさが0.2mmから1.5mmとなり、一般の臨床用MRI画像の空間分解能は100 μm から1mmのオーダーである。これに対し、小動物用のMRI装置では数cmの大きさを 256×256 から 1024×1024 の画像収集マトリクスで撮影するが、この場合、画素サイズは数十 μm オーダーとなる。一般にこのような小動物用MRI装置で得られる画

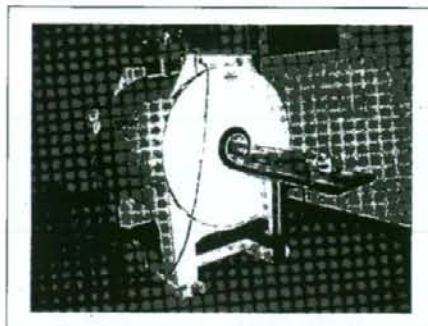
Keywords

MRI顕微鏡、画素サイズ、空間分解能、傾斜磁場強度、静磁場強度、信号強度、受信感度、T1緩和、T2緩和、サーファスコイル

像をMRI顕微鏡画像と呼ぶことが多く、その空間分解能としては数十 μm オーダーと考えてよい。しかし、1画素の大きさは撮影視野全体の大きさとそれを分割する画像収集マトリクス数で決まるため、一般の臨床用MRI画像から小動物用MRI装置で得られる画像まで、その空間分解能は連続的であり、臨床用装置でも手指や足などの小さな部分を100 μm 以下の空間分解能で撮影することも不可能ではなく、MRI顕微鏡と呼ばれるものに明確な定義はない。

MRIの空間分解能は、このように撮影視野全体を画像収集マトリクス数で分割した大きさで決まるが、これはMRI撮影法の原理から考えると、信号の位置を検出するために与える傾斜磁場の強度(傾きの大きさ)と信号収集時間(サンプリング時間)の長さという問題に帰着し、画素サイズは傾斜磁場強度および信号収集時間の両者にそれぞれ反比例する。したがって、傾斜磁場強度を増加させ、あるいは信号収集に費やす時間を延長すると、画素サイズは小さくなり空間分解能が向上する。信号収集時間については、むやみに延長するとT2緩和による信号の減衰や撮影時間の延長などの問題が生じ、実用上の制限がある。そこで、傾斜磁場強度を増加させて空間分解能を向上させることになるが、傾斜磁場強度の最大値はMRI装置の性能を表す指標の一つで、使用する装置によって限界があり、一般の臨床用MRI装置の傾斜磁場強度は数十mT/mであるのに対し、小動物用MRI装置では数百mT/mで、約1桁の違いがある。小動物用のMRI装置のように小さな空間を対象として傾斜磁場強度を増加させるのは比較的容易で、すでに市販の装置でこの程度の傾斜磁場強度が実現されているが、人体用MRI装置のように大きな磁場空間に数百mT/mの傾斜磁場を発生させるのは技術的に容易ではない。さらに、極めて強い傾斜磁場を用いた撮影では、撮影中の傾斜磁場のオン/オフあるいは切り替えにより磁場が時間・空間的に大きく変動することになり、人体を対象とする場合には安全性の問題からも制限される。したがって、人体用MRIの空間分解能を現状より数倍から1桁程度向上させるだけでも、より高度な技術的發展を

図1 小動物用MRI顕微鏡装置



待つ必要があり、また安全面についても考慮しなければならない。

図1に、分子イメージングを目的としたプロジェクト研究で京都大学に最近導入された小動物用MRI顕微鏡装置の外観を示す。本装置は静磁場強度7T、最大で400mT/mの傾斜磁場強度をもつブルカー社製BioSpec70/20である。送受信コイルは内径72mmの開口部をもち、ラットやマウスを対象とした動物実験が可能である。このように臨床用MRI装置と同様に水平な方向に開口する形ではなく、垂直方向の磁場をもつ小動物用MRI顕微鏡装置もある。

II. MRI顕微鏡の課題

前項では、MRIの撮影原理という観点から空間分解能の向上には傾斜磁場強度の増強が必要であることを説明したが、MRI顕微鏡を実現するためのより本質的で最大の課題は信号強度あるいは信号/雑音比(S/N比)の低さである。MRIは原子核スピンの核磁気共鳴(NMR)現象に基づく信号を利用した画像法であるが、信号が微弱で測定感度が低いことはよく知られたNMRの問題点である。

静磁場の中では核スピンはボルツマン分布に従って2つのエネルギー状態に分布するが、このとき2つのエネルギー準位における核スピンの数には、静磁場強度、絶対温度、スピン角運動量で決まる一定の比率でわずかな差が生じる。このわずかな差が巨視的には磁化ベクトル(巨視的磁化ベクトル)として振る舞い、観測可能なNMR信号と

なる。このようにNMR信号は、静磁場強度などで決まる比率で核スピン全体が2つのエネルギー準位に分布することに由来するため、信号強度あるいは巨視的磁化ベクトルの大きさは、観測対象となる核スピン全体の個数に比例することになる。ここでは数式による詳しい解説は省略するが、巨視的磁化ベクトルの大きさは静磁場強度に比例し、また絶対温度には反比例する。

MRI顕微鏡における空間分解能の向上は、1画素の大きさが小さくなることに他ならない。MRI画像において信号強度あるいはS/N比という場合には、一般に1画素あたりの信号強度や雑音成分との比を指すが、空間分解能を向上させると各画素に含まれる核スピンの個数が減少することになり、1画素あたりの信号強度が低下することになる。したがって、MRI顕微鏡における空間分解能の向上は、画素サイズに比例する形で信号強度の低下に直結する。例えば、人体用のMRI画像の空間分解能として一般的な1mm程度の画素サイズが、やや低分解のMRI顕微鏡レベルである $100\mu\text{m}$ になつたとする。三次元画像でボクセルサイズが $1\times 1\times 1\text{mm}$ から $100\times 100\times 100\mu\text{m}$ になると、1ボクセルの体積は $1/1000$ であり、信号強度も $1/1000$ となる。このように、MRIで空間分解能を向上させることは常に信号強度の低下という問題点を惹起するが、NMR信号を利用するMRIでは信号強度の低下が弱点であることを考えると、空間分解能を追求するMRI顕微鏡は、MRI装置の開発研究の中でも挑戦的なテーマといえる。

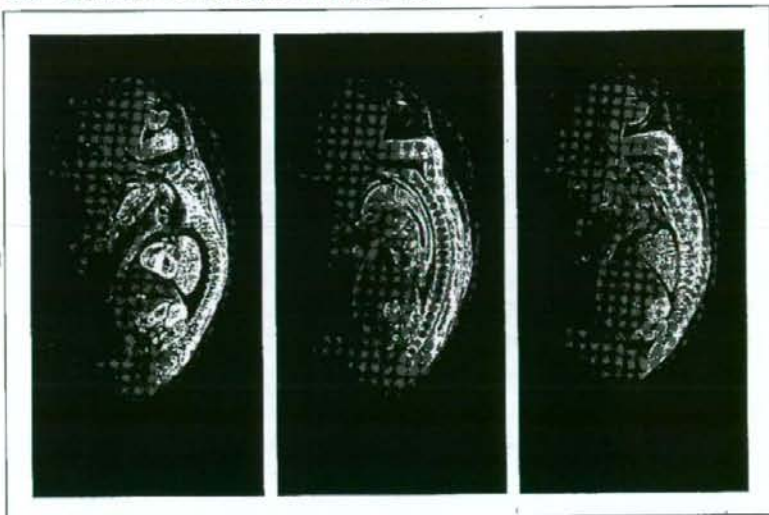
このような信号強度の低下に対する解決策として期待され、また開発が進んでいる代表的なアプローチは、静磁場強度の増強と微弱な信号をとらえる受信感度の向上である。人体用MRI装置の静磁場強度は1.5Tが標準的で、最近では3Tの臨床用装置も普及しつつあり、研究開発用には7Tの装置も登場している。小動物用のMRI装置では4.7Tから11.7Tの装置が市販され、数十 μm オーダーの空間分解能をもつMRI顕微鏡画像が得られている。このような静磁場強度は、NMR信号の観測対象として最も一般的な核種であるプロトンの核磁気共鳴周波数で表現する場合もあり、4.7Tや11.7Tの装

置をそれぞれ200MHzおよび500MHzの装置と呼ぶことがある。静磁場強度が増すと巨視的磁化ベクトルの大きさが増大し、信号強度も増強する。しかし、同時に共鳴周波数も高くなるため、実際に観測される信号強度については、周波数に依存した受信系の感度特性の変化も考慮に入れる必要が生じ、また雑音成分に対する影響も考えると、静磁場強度と信号強度の関係は単純ではない。このように様々な影響を考慮する必要があるものの、一般的には静磁場強度が増加すると信号強度も増加すると考えてよい。ほかにも、静磁場強度が増加すると、撮影対象のT1緩和時間の延長や、共鳴周波数の上昇による電磁波の比吸収率 (specific absorption ratio: SAR) の増大などの変化が生じ、注意を要する。

一方、受信感度の向上については、電磁波であるNMR信号を収集する受信コイルおよびそれに付随するプリアンプなどの電子回路の改良が進められている。径が小さく局所的に高感度なサーファコイルを用い、コイルを信号源に近づけることにより受信感度を向上させるという簡単なアプローチは、古くから、また広く利用されている。このようなサーファコイルの究極的な姿の1つが、超小型のコイルをカテーテル⁴⁾や内視鏡などで体内へ入れるアプローチであり、臨床応用をめざした開発も行われている。また最近、臨床装置ではコイルと受信系回路を複数化し撮影の高速化につなげるパラレルイメージングが急速に普及しているが、これに伴って多数のサーファコイルを並列に配置するようなフェーズドアレイコイルの開発も進んでいる。このようにフェーズドアレイコイルと多チャネル受信系を有するシステムは、撮影の高速化を追求する代わりにS/N比の向上につなげることもでき、今後はMRI顕微鏡でも普及していくと考えられる。このほか、コイルと受信系プリアンプを低温に冷却するシステムや、受信回路の中で通信距離が長くなる経路部分をシールド線から光ケーブルに置き換えるなどの技術的な改良により、受信系の電気回路やコイルへの電気的ノイズを抑制する工夫も行われはじめています。

様々な高速撮影法などを応用し、信号収集の時

図2 週齢約8週の子鼠胎児標本のMRI顕微鏡画像例



間的効率を向上させることも、信号強度の低下に対する間接的な対策となる⁹⁾。空間分解能を追求し、信号強度の低い撮影となった場合、多数の信号を加算せざるを得ず、結果的に撮影時間が長時間となってしまうことがある。このような場合には、信号強度の増強あるいはS/N比の向上という目的で、多数の信号を加算するために高速撮影法を利用する。

図2に、高速撮影法を利用し、極めて高い空間分解能で撮影したヒト胎児標本（胚子の発生段階を表すCarnegie Stage分類でStage 23、週齢約8週、頭尾長約3cm）のMRI顕微鏡画像例を示す。標本は京都大学医学研究科附属先天異常標本センターに所蔵されているヒト胎児・胚子標本コレクション（Kyoto Collection）⁹⁾の1例で、画像は画素サイズ $37.5 \times 37.5 \times 75 \mu\text{m}$ で撮影した三次元のT1強調画像から、代表的なスライスを抜粋して示している。本画像はFLASH法と呼ばれる高速撮影法を用いて撮影したものであるが、画素サイズが小さく極めてS/N比が低いため、8回の画像加算を行っており、高速撮影法を用いても撮影には16時間もの長時間を費やしている。

図2に示したような静止している標本を対象と

したMRI顕微鏡画像では撮影が長時間に及んでも大きな問題とはならないが、小動物などの生体を対象とする場合には、体内の臓器・組織の生理的な運動が空間分解能を追求する際の大きな障壁となる⁹⁾。空間分解能を向上させると、小さくなった画素サイズに比べて生体組織の運動の大きさが相対的に増大することになる。例えば、直径1mmの動脈で血管壁が拍動によって $50 \mu\text{m}$ だけ運動しているとしよう。このような状況は、ヒトや大型の動物では末梢の細動脈で、また小動物では大動脈のような大きな血管で、同様に起こっていることが期待されるであろう。この $50 \mu\text{m}$ の運動は画素サイズが1mmであればほとんど無視できる大きさであるが、画素サイズが $50 \mu\text{m}$ のMRI顕微鏡画像では1画素の大きさにあたる距離を移動していることになり、撮影が一瞬で完了しないかぎりその部分は必然的に輪郭が不鮮明になってしまうことが容易に推察できるであろう。このように、*in vivo*の画像化の場合には、生体の動きが空間分解能の向上における極めて重要な課題となる。

このほか、空間分解能を追求すると顕在化する問題として、水分子の拡散、信号のT2あるいはT2*緩和時間などがある。これらはNMR信号の性質に

関わる複雑な問題であるため、ここでは説明を省くが、いずれも数 μm 程度まで空間分解能が向上すると考慮する必要があるが生じる問題であり、MRI顕微鏡を使用する場合には、拡散やT2緩和が空間分解能の限界を規定する要因となることを意識しておくといよい。

まとめ

以上、空間分解能に焦点をあて、技術的な側面からMRI顕微鏡の現状や課題を説明した。MRIは

分子イメージングにおいても活躍が期待される画像診断法であり、小動物用MRI装置はその先鞭をつけるものと考えられるが、わが国における稼働台数はわずかであり、臨床用MRI装置の人口あたりの普及率が世界的にも最も高いことを考慮すると⁸⁾、小動物用MRI装置の稼働状況は貧弱といわざるを得ない状況である。本稿が、高い空間分解能をもつMRI顕微鏡の普及や、MRIを用いて分子イメージングをめざす研究者の増加の一助となれば幸いである。

参考文献

- 1) Tyszka JM, Fraser SE, et al : Curr Opin Biotechnol 16, 93-99, 2005.
- 2) Aguayo JB, Blackband SJ, et al : Nature 322, 190-191, 1986.
- 3) Takahashi M, Uematsu H, et al : Eur J Radiol 46, 45-52, 2003.
- 4) Atalar E, Bottomley PA, et al : Magn Reson Med 36, 596-605, 1996.
- 5) Zhou X, Cofer GP, et al : Magn Reson Med 30, 60-67, 1993.
- 6) Yamada S, Uwabe C, et al : Dev Dyn 235, 468-477, 2006.
- 7) Mai W, Baden CT, et al : Magn Reson Med 53, 858-865, 2005.
- 8) <http://www.oecd.org/dataoecd/20/51/37622205.xls> (経済協力開発機構の年次統計)

参考図書

- *Magnetic Resonance Imaging: Physical Principles and Sequence Design, Haacke EM, Brown RW et al, Wiley-Liss, 1999.
- *MRI レクチャー 基礎から学ぶMRI, 日本磁気共鳴医学会教育委員会 編, インナービジョン, 2004.
- *NMR イメージング, 巨藤勝美, 共立出版, 2004.

松田哲也

1981年 京都大学医学部卒業
 1988年 同大学院博士課程修了(医学博士)
 同大学医学部附属病院助手
 1997年 同助教授
 2000年 同大学院情報学研究所教授
 循環器領域のMRI撮像法・画像処理・心臓の収縮・拡張に関する研究に従事

An Approximation Model of Myocardial Crossbridge for Weak Coupling Calculation of Left Ventricle Model and Circulation Model

Akira AMANO, Yasuhiro TAKADA, Jianyin LU, Takao SHIMAYOSHI, Tetsuya MATSUDA

Abstract—It is necessary to use complicated myocardial cell model and heart model to evaluate the regional energy production and consumption which leads to the unrealistic computational time. In this research, a left ventricle (LV) simulation model was constructed which includes accurate myocardial cell model. In order to simulate the model in realistic time, we introduced an approximation model of the crossbridge model which can be calculated with weak coupling calculation. The LV model was combined with a circulation model to validate the proposed model by calculating the hemodynamics parameters and ventricular energetics indices. The ESPVR (End Systolic Pressure Volume Relation) showed linear relation, and also the PVA - ATP consumption relation showed linear relation which are widely known as the physiological characteristics of mammalian hearts. From these results, we can say that the model can be used as a model for physiological simulation experiments which are related to the ventricular energetics.

I. INTRODUCTION

Since many heart diseases are considered to come from the lack of the balance between the energy (ATP) production and consumption, it is very important to evaluate energetics of heart. The computer simulation of heart model with an accurate cell model is expected to be a power tool for such research. However, the computational cost of such model becomes very high since the accurate left ventricle (LV) model constructed from the accurate myocardial cell model and the LV tissue model needs to be calculated by the strong coupling calculation due to their physiological characteristics.

In this research, we propose a LV simulation model which can be used to evaluate regional and global energy production and consumption. The model includes an accurate myocardial cell model. In order to simulate the model in realistic time, we introduced an approximation model of the crossbridge mechanics model which can be calculated by weak coupling calculation.

A circulation model was combined with the model to validate the hemodynamic characteristics of the proposed model by calculating the hemodynamics parameters and ventricular energetics indices. The ESPVR (End Systolic Pressure Volume Relation) showed linear relation and also the PVA - ATP consumption relation showed linear relation which are widely known as the physiological characteristics of mammalian hearts which were difficult to reproduce in previous heart simulation researches.

A. Amano, Y. Takada, J. Lu, T. Matsuda is with Graduate School of Informatics, Kyoto University, Kyoto, 606-8501, Japan (phone:+81-75-753-3373; fax:+81-75-753-3375; e-mail:amano@i.kyoto-u.ac.jp)
T. Shimayoshi is with ASTEM RI, Kyoto, 600-8813, Japan

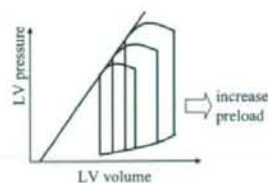


Fig. 1. Pressure volume loop under different preload.

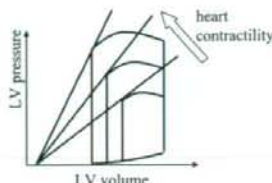


Fig. 2. Pressure volume loop under different heart contractility.

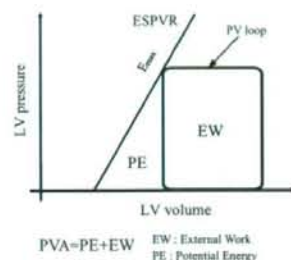


Fig. 3. PV Area (PVA)

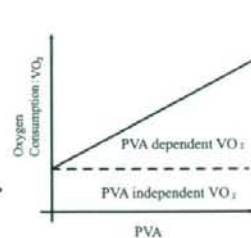


Fig. 4. PVA-VO₂ relation

II. BACKGROUNDS

The pressure volume (PV) loop of LV are widely used to evaluate the heart performance which changes according to the afterload and the preload. The end diastolic pressure increases according to the increase of the preload which results in the increase of the stroke volume (Fig.1). The end systolic pressure increases according to the increase of the afterload which results in the decrease of the stroke volume.

Various PV loops can be obtained by providing various preloads and afterloads. It is widely known that the end systolic pressure volume points of LV distribute on a linear line [1]. This relation is called ESPVR (end-systolic pressure-volume relation) and the angle of this linear line is called E_{max} (maximum elastance). E_{max} is known to increase according to the increase in the heart contractility [1] (Fig.2). The physiological range of E_{max} of excised canine LV is reported to be 4.2 to 10.8[mmHg/ml] by Suga et al. [2]. Sunagawa et al. also reported that the canine E_{max} is 5.4 ± 1.00 [mmHg/ml] [3].

The closed loop area of a PV loop is called external work (EW) which corresponds to the external work of LV. Also the triangle area between an ESPVR and a PV loop is called potential energy (PE). The pressure volume area (PVA) is defined as the sum of EW and PE (Fig.3). PVA

TABLE I
LIST OF THE FUNDAMENTAL MODELS.

Element	Model	Species	Reference
cardiac cell	Kyoto model	guinea pig	[5]
left ventricle	Ring Shape	canine	[6]
tissue material	Mooney-Rivlin	canine	[7]
circulation	Nikos model	canine	[8]

is widely known to be linearly related to the ventricular oxygen consumption (VO_2) from many animal experiments [1] (Fig.4).

III. COUPLING CALCULATION OF LV MODEL AND CIRCULATION MODEL

A. Fundamental models

One of the most accurate myocardial cell model is Kyoto model [5] which is the only model which can calculate ATP consumption and production. Most of the physiological parameters are known to be related with body weight by a special function which is known as the allometric scaling [4]. Since the baseline RR interval of Kyoto model is 400[msec] which is close to the canine RR interval, it is natural to think that the physiological properties of Kyoto model is close to those of canine ones. Therefore, we used Kyoto model as canine cardiac cell model. The fundamental models of the proposed LV model are described in Table I.

B. Calculation scheme of the model.

The contraction model proposed by Negroni and Lascano (NL model) [9] is incorporated in Kyoto model. By denoting the concentration of the crossbridge states that develop force by $[TCa^*]$ and $[T^*]$, the contraction force F_b is represented by the following equation.

$$F_b = A(L - X)([TCa^*] + [T^*]) \quad (1)$$

Note that $A (= 1800[\text{mN/mm}^2/\mu\text{m}/\mu\text{M}])$ is a constant which represents crossbridge spring constant. L represents half sarcomere length. The term $L - X$ represents the crossbridge elongation where X shortens according to the following equation.

$$dX/dt = B(L - X - h_c) \quad (2)$$

Note that $B (= 1.2[1/\text{msec}])$ is a constant which represents crossbridge sliding rate. h_c is a constant.

Parallel elastic component of NL model is represented as follows.

$$F_{p,NL} = K_p(L_0 - L)^5 \quad (3)$$

In the physiological range, this equation can be approximated by the linear elastic component which can easily be modeled by many finite element solvers. Therefore, we used linear elasticity for the parallel elastic component which can be represented as follows.

$$F_p = K_l(L_0 - L) \quad (4)$$

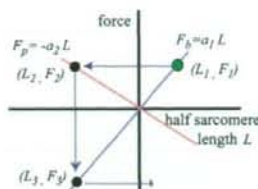


Fig. 5. Resulting sarcomere length and crossbridge force under weak coupling calculation.

Finally, from the following balance equation, we can calculate the sarcomere length i.e. tissue strain.

$$F_b = F_p + F_{ext} \quad (5)$$

Here, the term F_{ext} represents LV tissue stress which is related with LV blood pressure.

There are two types of calculation method in the coupling simulation: one is the strong coupling calculation, and the other is the weak coupling calculation. The strong coupling calculation gives accurate results however, the calculation time becomes large especially in the case of calculating complex simulation model. On the other hand, the calculation time becomes small for weak coupling calculation, however the accuracy of the result becomes low and in some case unstable.

In our model, the calculation step of these two methods can be described as follows.

strong coupling calculation:

$$A(L^{(t_n)} - X^{(t_n)})([TCa^*]^{(t_n)} + [T^*]^{(t_n)}) = K_l(L_0 - L^{(t_n)}) + F_{ext}^{(t_n)} \quad (6)$$

weak coupling calculation:

First, calculate contraction force from sarcomere length at time t_{n-1} .

$$F_b^{(t_n)} = A(L^{(t_{n-1})} - X^{(t_n)})([TCa^*]^{(t_n)} + [T^*]^{(t_n)}) \quad (7)$$

Then, calculate sarcomere length at time t_n .

$$F_b^{(t_n)} = K_l(L_0 - L^{(t_n)}) + F_{ext}^{(t_n)} \quad (8)$$

In the coupling calculation of a LV model and a circulation model, the weak coupling calculation is known to become unstable in some case. Therefore, strong coupling calculation is used in most case.

C. Condition of unstable calculation

Here, the condition of the instability in the weak coupling calculation of NL model and the LV model is analyzed. For the simplicity, we only consider NL model and the LV mechanical model in this analysis.

The contraction force of NL model is described by equation (1) and the tissue passive force is described by equation (4). By denoting $a_1 = A([TCa^*] + [T^*])$ ($a_1 > 0$) and $a_2 = K_l$ ($a_2 > 0$), both forces can be denoted as follows.

$$F_b = a_1 L, F_p = -a_2 L \quad (9)$$

Here we assume that the half sarcomere length and the contraction force at time $t = 1$ be denoted as L_1, F_1 . In the weak coupling calculation, the half sarcomere length at time $t = 2$ (L_2) is calculated from F_1 and the equation $F_p = -a_2 L_2$. Using this length, the contraction force at time $t = 2$ (F_2) is calculated from equation $F_2 = a_1 L_2$. By iterating these steps, the track of the half sarcomere length and the contraction force becomes as in Fig.5.

$$\begin{aligned} (L_1, F_1) &= (L_1, a_1 L_1) \\ (L_2, F_2) &= (-a_1/a_2 L_1, a_1 L_1) \\ (L_3, F_3) &= (-a_1/a_2 L_1, -a_1^2 L_1) \\ &\vdots \\ (L_n, F_n) &= \begin{cases} ((-a_1/a_2)^{n-1} L_1, (-a_1/a_2)^{n-1} a_1 L_1) & (n : \text{odd}) \\ ((-a_1/a_2)^n L_1, (-a_1/a_2)^{n-1} a_1 L_1) & (n : \text{even}) \end{cases} \end{aligned} \quad (10)$$

From this result, we can find that the weak coupling calculation becomes unstable if $\frac{a_1}{a_2} > 1 \Leftrightarrow a_1 > a_2$ which means that if the contraction force becomes larger than the tissue passive force, the calculation becomes unstable.

IV. STABLE WEAK COUPLING CALCULATION BY THE CROSSBRIDGE APPROXIMATION MODEL

A. Approximation model

The weak coupling calculation is effective for reducing the computational time, however, the accuracy of the calculation results become low and in the myocardial cell and LV tissue coupling, the calculation becomes unstable. To overcome this problem, we propose a crossbridge approximation model.

In the force calculation equation (equation (1)), X changes according to equation (2). From these equations, X can be recognized as the first order delay variable of L . Note that by denoting the input signal as e , output signal as y , Laplace transformed variables of e and y as $E(s)$ and $Y(s)$, the first order delay system can be denoted as follows.

$$G(s) = Y(s)/E(s) = K \frac{1}{1 + Ts} \quad (11)$$

Here, K is called the gain, T is called the time constant. By the inverse Laplace transformation, equation (11) is transformed into following equation.

$$y + T \frac{dy}{dt} = Ke \Leftrightarrow \frac{dy}{dt} = \frac{Ke - y}{T} \quad (12)$$

If we consider $e = L - h_c$, $y = X$, $K = 1$ and $T = 1/B$, then equation (2) becomes equivalent to equation (12).

Since this first order delay system is stable in weak calculation, we construct a crossbridge approximation model with this formulation. Here we replace $L - X$ in equation (1) by the constant h_c , and the number of crossbridge is calculated by the following first order delay system.

$$F_b = A \cdot h_c \cdot y \quad (13)$$

Here, y satisfies the following equation.

$$\frac{dy}{dt} = \frac{[TCa^*] + [T^*] - y}{T} \quad (14)$$

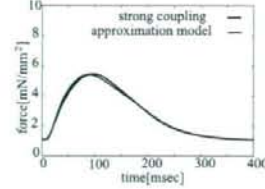


Fig. 6. Isotonic (noload) contraction.

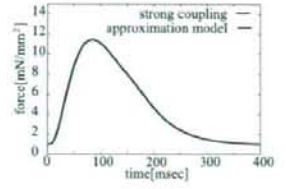


Fig. 7. Isometric contraction.

In the case of the isometric (fixed cell length) condition, the sarcomere length is fixed ($L = \text{const}$). In this case, the developed force is proportional to the number of crossbridge that means there is no delay in contraction force compared to the number of crossbridge.

To reproduce above characteristics, the time constant T is defined to be proportional to the sarcomere length change as follows.

$$T = \alpha |dL/dt| + \beta \quad (15)$$

Note that β was set to a small number compared to the maximum value of $\alpha |dL/dt|$.

B. Experimental results of the approximation model

Resulting developed force of the isotonic (free contraction) and the isometric condition with the strong coupling and the weak coupling with the proposed approximation model are presented in Fig.6 and Fig.7, respectively. The difference in the resulting total ATP consumption of both models were less than 1%. From these results, we can say that the accuracy of the weak coupling calculation result for the approximation model is very high.

V. EXPERIMENTAL RESULTS

Pressure volume loop and the ATP consumption were evaluated for the proposed model by providing different preload and afterload values.

We used a ring shaped finite element model for the LV model which has 80 elements in the circumferential direction and 5 layers in the transmural direction. The myocardial cells are aligned with the circumferential direction. The LV volume was assumed to be proportional to the inner area of the ring where the end-diastolic volume was set to be 54[ml] according to the physiological value [6]. We used the Mooney-Rivlin material for the tissue where the corresponding Young's modulus was set to be 50[kPa]. The distribution of the cellular excitation time was determined by calculating the excitation propagation model with the same LV model.

The aortic compliance (C) was set to 0.25[ml/mmHg], and the characteristic impedance (R) was set to 2000, 3000, 4000 [mmHg·msec/ml] according to the published physiological values [8]. The preload (E_v) was set to 4.0, 7.0, 10.0[mmHg] according to the published physiological values [10]. 10 heart cycles were calculated with the model and the result of the last cycle was evaluated. The calculation time step

TABLE II
RESULTING HEMODYNAMIC PARAMETERS.

Variable	Target	Simulation results
HR(bpm)	115-150	150
LVEDV(ml)	42-65	53
LVEDP(mmHg)	3.6-16.1	4-10
LVESV(ml)	21-40	43.7-48.4
LVESP(mmHg)	69-110	43.9-65.1

HR:Heart rate, LVEDV:left ventricular end-diastolic volume, LVEDP:left ventricular end-diastolic pressure, LVESV:left ventricular end-systolic volume, LVESP:left ventricular end-systolic pressure

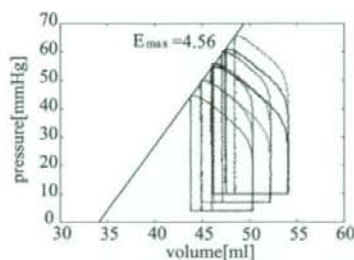


Fig. 8. Resulting pressure volume loop under 9 preload and afterload.

was 0.1[msec], and the total calculation time with IBM p690 (96CPU, PowerPC 1.5GHz) was about 60 min.

Resulting hemodynamic parameters are presented in Table II with the published experimental values [6][2][10]. Corresponding pressure volume loops are presented in Figure 8. From this result, we can recognize that all the end-systolic pressure volume point coincide in single line where R^2 was 0.989. Corresponding E_{max} was 4.56[mmHg/ml] for these results.

In Kyoto Model, ATP consumption is calculated at the crossbridge and the ion transporters. Here we define ATP_{CB} as the ATP consumption at the crossbridge, and ATP_{other} as the ATP consumption at the ion transporters. Resulting ATP consumption and EW, PE and PVA for different afterloads and preloads are presented in Table III. The relation between PVA and the total ATP consumption is presented in Fig.9. Also the relation between PVA and ATP_{CB} , ATP_{other} are presented in Fig.10. From these results we can recognize that only the crossbridge ATP consumption is linearly related to PVA. Note that there is no clear relation between the total ATP consumption and EW or PE.

VI. CONCLUSIONS

We proposed an approximation model of the crossbridge model which can be stably calculated by the weak coupling calculation. From the experimental results, the model showed very good agreement with the animal experimental results.

The results show that the model can be used for evaluating the energetics of heart. The results imply that the mechanism of the linear relation between PVA and ATP consumption is not simple since the relation between the PVA and EW or PE

TABLE III

ATP CONSUMPTION AND AREA OF PRESSURE VOLUME LOOP.

pre-load	after-load	ATP_{CB}	ATP_{other}	ATP_{total}	EW	PE	PVA
4.0	2000	22.9	37.0	59.9	206	186	407
4.0	3000	24.3	37.0	61.3	219	213	449
4.0	4000	25.5	37.0	62.5	250	255	497
7.0	2000	24.7	37.0	61.7	221	231	476
7.0	3000	26.5	37.0	63.5	263	292	537
7.0	4000	27.7	37.0	64.7	273	313	572
10.0	2000	26.5	37.0	63.5	262	275	535
10.0	3000	28.4	37.0	65.4	281	323	595
10.0	4000	29.8	37.0	66.8	282	370	643

Units: preload, [mmHg]; afterload, [mmHg-msec/ml]; ATP, [mM]; EW, PE, PVA, [ml-mmHg].

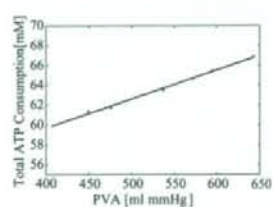


Fig. 9. Resulting relation between PVA and total ATP consumption.

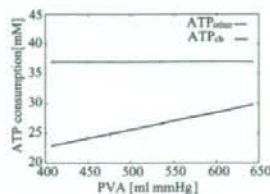


Fig. 10. Resulting relation between PVA and ATP consumptions in cross-bridge and other components.

are not linear. The analysis of this relation is the important future work.

REFERENCES

- [1] Suga, Takagi, Gotoh, Sunagawa: Heart Mechanics and its Energetics, Corona, pp.11, 2000. (in Japanese)
- [2] Hiroyuki Suga, Ryuichi Hisano, Shunji Hirata, Takakazu Hayashi, Osamu Yamada, Ishio Ninomiya: Heart rate-independent energetics and systolic pressure-volume area in dog heart, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 199, vol.244, pp.H2111-H2115, 1983.
- [3] Kenji Sunagawa, W. Lowell Maughan, Daniel Burkoff, Li-Chi Sagawa: Left ventricular interaction with arterial load studied in isolated canine ventricle, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 245, pp.H773-H783, 1983.
- [4] S. L. Lindstedt, P. J. Schaeffer: Use of allometry in predicting anatomical and physiological parameters of mammals, *Laboratory Animals*, vol.36, pp.1-19, 2002.
- [5] Satoshi Matsuoka, Nobuaki Sarai, Hikari Jo, Akinori Noma: Simulation of ATP metabolism in cardiac excitation-contraction coupling *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, vol.85, pp.279-299, 2004.
- [6] S. Solomon, S. Nikolic, S. Glantz, E. Yellin: Left ventricular diastolic function of remodeled myocardium in dogs with pacing-induced heart failure, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, vol.274, pp.H945-H954, 1998.
- [7] Tokuda, Sekioka, Ueno, Hayashi, Havlicek: Numerical Simulator for Evaluation of Mechanical Function of Left Ventricle, *Japan Society of Mechanical Engineering*, Vol. 37, No. 1, pp.98-104, 1992. (in Japanese)
- [8] N. Stergiopoulos, B. E. Westerhof, N. Westerhof: Total arterial inertance as the fourth element of the windkessel model, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, vol.276, pp.H81, 1999.
- [9] Jorge A. Negroni, Elena C. Lascano: A Cardiac Muscle Model Relating Sarcomere Dynamics to Calcium Kinetics *J Mol Cell Cardiol*, vol.28, pp.915-929, 1996.
- [10] L. Carr McClain, Leon D. Wright, Raj K. Bose, John A. Spratt, George W. Maier: Afterload Sensitivity of Nonlinear End-Systolic Pressure-Volume Relation vs Preload Recruitable Stroke Work in Conscious Dogs, *J Surgical Research*, vol.75, pp.6-17, 1998.

記述言語を用いた細胞生理学実験シミュレーション手法

嶋吉 隆夫^{*,**}・天野 晃^{*}・松田 哲也^{*}

A Simulation Method of Cell Physiological Experiments with a Novel Description Language for Experimental Protocols

Takao SHIMAYOSHI^{*,**} Akira AMANO^{*} Tetsuya MATSUDA^{*}

Abstract For computer simulations of physiological experiments by physiological models, a machine-readable description of experimental protocols is useful. Although description formats for cell physiological models are already available, there is no specialized representation format for experimental protocols. Here, we propose an XML-based language, PEPML (Physiological Experimental Protocol Markup Language), and a simulation method of experimental protocols in PEPML. In the PEPML, conditions and procedures of an experimental protocol are procedurally described as a list of events, each of which consists of a condition for execution and an action to be executed. By specifying the references of variables in a protocol using an ontology, the protocol can be applied to various models without editing tasks. The proposed simulation method allows unambiguous numerical calculation of a procedural experimental protocol, which is applied to a declaratively represented model by interpretation of the protocol as a set of boundary conditions for the model variables. PEPML and the proposed method allow applying both multiple protocols to a single model and a single protocol to multiple models. This feature facilitates the efficient simulation for verification, comparison and utilization of physiological models.

Keywords: physiology simulation, experimental protocol, description language, cell physiological model.

1. 序 論

細胞の活動機序を解明することは生命科学の発展のみならず医療および創薬への応用にとっても重要であり、それを目的として、細胞の生理学的機能のモデリングが行われている。これまでも細胞の生理学的機能について数多くのモデルが公開されているが、精密化、高機能化を目指したモデルの開発が現在も引き続き行われている。それらのモデルの開発および利用にとって、計算機シミュレーションは必要不可欠な技術である。細胞生理学モデルのシミュレーション実行において、モデルを電子的形式的に記述することは重要であり、その目的のためにSBML (Systems Biology Markup Language) [1]やCellML [2]といった記述形式が開発されている。CellMLはオークランド大学により開発されているXML (Extensible Markup Language) ベースの記述形式であり、一連の数式として表現されたモ

デルを記述することができる。また、多くのモデルについてCellMLで記述したファイルがCellMLウェブサイト (www.cellml.org) で公開されている。

現実の細胞や組織を用いた生理学実験は実験プロトコルに従って行われることから、細胞生理学モデルを用いたシミュレーション実験では実験プロトコルに応じたシミュレーションが実行される。モデル検証やモデル応用の場面では、単一のモデルに対して複数の異なる実験プロトコルを適用する必要がある一方、モデル間の比較を行う場合には、異なるモデルに対して同一の実験プロトコルを適用する必要がある。単一モデルへの複数プロトコルおよび、複数モデルへの単一プロトコルの効率的な適用には、モデルだけでなく実験プロトコルについても電子的形式的に記述することが効果的である。しかしながら、生理学実験のプロトコルを記述することに特化した汎用的記述形式は未だ発表されていない。生理学モデルの記述形式であるCellMLを用いて数式として表現することで実験プロトコルを記述可能ではあるが、生理学研究者にとって実験プロトコルは手書きとして見なされるため、記述性、可読性の点で、数式による宣言的記述は実験プロトコルに適しているとはいえない。

そこで本稿では、生理学実験プロトコル記述言語

生体医工学シンポジウム 2007 発表 (2007 年 9 月, 札幌)
2007 年 7 月 31 日受付, 2007 年 10 月 15 日改訂
Received July 31, 2007; revised October 15, 2007.

* 京都大学大学院情報学研究所
Graduate School of Informatics, Kyoto University

** 財団法人京都高度技術研究所
ASTEM Research Institute of Kyoto

PEPML (Physiological Experimental Protocol Markup Language) を提案し, さらに, PEPML を用いた細胞生理学実験シミュレーション手法を提案する. PEPML では, オントロジーを利用することで特定モデルに依存しないプロトコル記述を可能とする. ここでオントロジーとは, ある分野における概念 (語彙) 関係の集合を形式的に表現したものである. PEPML と提案シミュレーション手法を用いることで, CellML 等を用いて記述された細胞生理学モデルに対して実験プロトコルを適用した計算機シミュレーションが可能である.

2. 提案手法

2.1 生理学実験プロトコル記述言語 PEPML

生理学実験プロトコルは, 細胞外液イオン組成や温度などの実験環境の条件, 定頻度電気刺激や薬剤によるイオンチャネルの阻害などの実験手続きからなる. PEPML は, 生理学モデルから分離して実験プロトコルを記述することを目的とした XML ベースの記述言語である. PEPML ではモデル変数への操作として表現可能な実験プロトコルが記述可能である. 例えば, 薬剤投与条件はイオンチャネルの阻害率といった定量的薬剤効果として表現できる. 細胞電気生理学および生体力学分野における多くの実験プロトコルが PEPML により記述可能である. 一方, モデル構成式を変更, 交換するような場合は記述できない.

PEPML 文書の基本構造を以下に説明する. なお, 基本構造を UML (Unified Modeling Language) クラス図として図 1 に示す. 一つの PEPML ファイルには一つの実験プ

ロトコルが最上位 XML 要素である protocol を用いて記述される. 実験プロトコルの実験条件および手続きはイベントのリストとして表現される. イベントは実行のための条件および実行される動作を持つ. 各イベントは protocol 要素配下の event 要素として記述され, イベントの条件および動作は condition 要素および action 要素を用いて記述される. イベントの条件は比較演算子およびブール演算子を用いた単一条件文として定義される. イベントの動作はモデル変数への代入文の系列として定義され, 代入文は対象変数とオペランド式を子要素を持つ代入命令を用いて記述される. 条件文および代入文中には, モデル変数の参照 (variable 要素), 実数値 (literal 要素) および, それらを用いた算術演算および数学関数が使用できる. PEPML で定義する演算子の一覧を表 1 に示す.

variable 要素が参照するモデル変数は ref 属性を用いて指定されるが, ref 属性は二種類の方法で記述可能である. 第一の方法は, 特定のモデルにおける変数を直接指定する方法であり, 以下に示すように, ある CellML ファイル中の変数は, CellML コンポーネント名および変数名をドット記号で連結した形式で指定される.

```
<variable ref="compA.var1"/>
```

第二の方法は, オントロジーを用いることで特定のモデルに依存せずに変数を指定する方法であり, オントロジーに定義される識別子を用いて, 以下の形式で記述される.

```
<variable ref="cmo:1234"/>
```

モデルへの適用の際には, 参照されるオントロジー識別子に対応づけられたモデル変数が選択される (図 2). こ

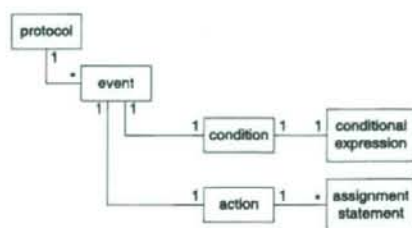


図 1 PEPML 基本構造
Fig. 1 Main structure of PEPML.

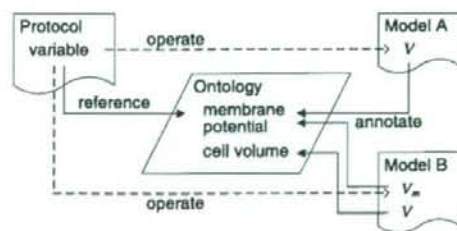


図 2 オントロジーを用いたモデル変数の参照
Fig. 2 Variable reference with an ontology.

表 1 PEPML 演算子一覧
Table 1 Operator elements of PEPML.

<i>Relational operators</i>
eq, gt, lt, ge, le
<i>Boolean operators</i>
and, or, not
<i>Arithmetic operators</i>
add, sub, mul, div, mod
<i>Assignment operators</i>
set_value, add_value, sub_value, mul_value, div_value

で利用できるオントロジーとして、生理学モデルの構成要素に関するオントロジーとして著者らが提案している Cell Model Ontology がある [3]。また、CellML ファイルに対してこの方法を用いるには、あらかじめ CellML ファイルとオントロジーとの対応付けを行う必要があるが、CellML ファイルと Cell Model Ontology との対応関係を推定する手法についてもすでに報告している [3]。PEPML ファイル中でオントロジーを用いてモデル変数を参照することにより、異なるモデルに対して同じプロトコルファイルを適用することが可能である。

2.2 PEPML の形式的意味論

本節では、シミュレーション計算を行う際に PEPML に記述された実験プロトコルをどのように解釈すべきかを定義した形式的意味論について述べる。まず、細胞生理学モデルは一般的に、時刻に対する常微分方程式あるいは微分代数方程式として定式化される。シミュレーションにおいては、モデルは対象となる方程式系を定義し、実験プロトコルは方程式系に対する境界条件として使用される。PEPML ファイルのモデルへの適用においても、記述されたプロトコルは対象モデルに対する境界条件として適用され、シミュレーション実行中のあらゆる時刻において、条件が真となるイベントの動作結果が、モデル変数に対して満たされなければならない制約条件であると解釈する。任意の時刻に複数のイベント条件が同時に成立した場合は、成立した全ての動作が有効である。記述された境界条件がモデルと整合しない、つまりモデルの計算において境界条件が不足または過多である実験プロトコルについては適用を考慮しないものとし、そのような場合の形式的意味論は規定しない。代入命令 `set_value` の対象変数は、そのイベントの条件が満たされる場合のみ変数に境界条件が与えられるものとする。これは、一つのプロトコルを用いたシミュレーション中に、境界条件が与えられる変数が変わりうることを意味する。また、`set_value` 以外の命令、つまり `add_value`、`sub_value`、`mul_value`、`div_value` の対象変数は、プロトコルを用いたシミュレーションを通じて境界条件が与えられるものし、条件を満たすイベントが存在しない場合は、直前の境界条件が引き続き与えられるものとする。なお、`set_value` 以外の代入命令を含む動作について、幅を持った区間の時刻に対して条件が満足される場合、その結果は不定である。

プロトコルを、満たされるべき命題として表現した厳密な定義を以下に記す。プロトコル P を、各イベントに対応する N 個の要素を持つ列 $\{E_i\}_{i=1..N}$ とする。 E_i は命題 $\text{Cond}_i(v)$ および関数列 $A_i: \{\text{Act}_{i,j}(v)\}_{j=1..M_i}$ の組であり、それぞれイベントの条件および、動作に含まれる M_i 個の代入命令に対応する。なお、 v はプロトコルから参照される変数のベクトルである。

$$\begin{aligned} P &: \{E_i\}_{i=1..N} \\ E_i &: (\text{Cond}_i(v), A_i) \\ A_i &: \{\text{Act}_{i,j}(v)\}_{j=1..M_i} \quad \text{Act}_{i,j}: \mathbb{R}^K \rightarrow \mathbb{R}^K \\ v &: [v_1 \dots v_n \dots v_K] \end{aligned} \quad (1)$$

ここで、各代入命令における対象変数が v の第 $s_{i,j}$ 要素 $v_{s_{i,j}}$ 、オペランド式が $u_{i,j}(v)$ であるとする、関数 $\text{Act}_{i,j}$ はベクトルを返す関数として、

$$\begin{aligned} \text{Act}_{i,j}(v) &= [\text{act}_{i,j,1}(v) \dots \text{act}_{i,j,k}(v) \dots \text{act}_{i,j,K}(v)] \\ \text{act}_{i,j,k}(v) &= \begin{cases} \text{act}_*(v_k, u_{i,j}(v)) & (k = s_{i,j}) \\ v_k & (k \neq s_{i,j}) \end{cases} \quad k=1, \dots, K \end{aligned} \quad (2)$$

と定義される。ここで act_* は、各 i, j について代入命令 `set_value`、`add_value`、`sub_value`、`mul_value`、`div_value` に対応する関数 act_{set} 、 act_{add} 、 act_{sub} 、 act_{mul} 、 act_{div} のいずれかであり、

$$\begin{aligned} \text{act}_{\text{set}}(v, u) &= u \\ \text{act}_{\text{add}}(v, u) &= v + u \\ \text{act}_{\text{sub}}(v, u) &= v - u \\ \text{act}_{\text{mul}}(v, u) &= v \cdot u \\ \text{act}_{\text{div}}(v, u) &= v / u \end{aligned} \quad (3)$$

と定義される。

このときプロトコル P は、時刻 t における変数ベクトル $v^{(t)}$ に対して

$$\begin{aligned} v^{(t)} &= \text{Act}_x \circ \text{Act}_{x-1} \circ \dots \circ \text{Act}_1(v^{(t-0)}) \\ \{\text{Act}_i\}_{i=1..N} &= \{\text{Act}_{i,j}\}_{i \in X, j=1..M_i} \\ X &= \{i \in \{1, \dots, N\} \mid \text{Cond}_i(v^{(t-0)})\} \\ (v^{(t-0)}) &= \lim_{\tau \rightarrow 0} (v^{(t-\tau)}) \end{aligned} \quad (4)$$

なる制約条件が与えられているものと解釈する。 $v^{(t-0)}$ は時刻 t 直前の v であり、 X は命題 $\text{Cond}_i(v^{(t-0)})$ が成立する i の集合である。また、 X に含まれる全ての i に対する関数列 $\{\text{Act}_{i,j}\}_{i \in X, j=1..M_i}$ について添字を振り代えた関数列が $\{\text{Act}_x\}_{x=1..N}$ である。

ここで、数例のプロトコルを挙げて、プロトコルの解釈について具体的に説明する。なお簡単のため、あるイベントの条件と動作の組を `condition` \rightarrow `action` と表記する。まず、次の 3 イベントからなるプロトコルを考える。ここで p, q, x はモデル変数、 p_0, q_0, x_0, x_1 は定数とする。

$$\begin{aligned} E_1 &: \text{always} \rightarrow \text{set_value}(x, x_0) \\ E_2 &: (p > p_0) \rightarrow \text{set_value}(x, x_1) \\ E_3 &: (q < q_0) \rightarrow \text{set_value}(x, x_2) \end{aligned}$$

このプロトコルで境界条件が与えられる変数は x だけであるので、以下では v のうち x についてだけ考える。条件 $(p^{(t)} > p_0), (q^{(t)} < q_0)$ がともに成立する時刻 t においては、

$$x^{(t)} = \text{act}_{3,1}(\text{act}_{2,1}(\text{act}_{1,1}(x^{(t-0)})))$$

であるが、 $\text{act}_{3,1}(v) = x_2$ であるため、

$$x^{(t)} = x_2$$

である。それ以外の場合についても同様に考えると、上記プロトコルが表す境界条件は

$$x = \begin{cases} x_2 & (q < q_c) \\ x_1 & (p > p_c, q \geq q_c) \\ x_0 & (p \leq p_c, q \geq q_c) \end{cases} \quad (5)$$

となる。

次に、以下のプロトコルを考える。ここで t は時刻であり、 p, x, y はモデル変数、 p_c, x_0 は定数とする。

$$E_1: \{(t=0) \rightarrow \text{set_value}(x, x_0)\}$$

$$E_2: \{(p=p_c) \rightarrow \text{add_value}(x, y)\}$$

条件 $p=p_c$ を初めて満たす時刻 t_1 における境界条件は

$$x^{(1)} = x^{(0)} + y^{(1-0)}$$

である。ここで、時刻 $t=0$ における境界条件は $x=x_0$ であり、条件 $p=p_c$ が成立するまでは同じ境界条件が与えられることから、 $x^{(1-0)}$ は x_0 である。また、 y は境界条件が与えられないので $y^{(1-0)}=y^{(0)}$ である。すなわち、上記プロトコルが表す境界条件は、

$$x = \begin{cases} x_0 & (t < t_1) \\ x_0 + y^{(1)} & (t \geq t_1, p^{(1)} = p_c) \\ x_0 + y^{(1)} + y^{(2)} & (t \geq t_2, p^{(2)} = p_c, t_2 > t_1) \\ \dots & \dots \end{cases} \quad (6)$$

となる。

実際のプロトコルの記述例とその解釈を以下に示す。図 3 に細胞外液の実験条件をプロトコルとして記述した例を示す。このプロトコルは、外液イオン濃度を表す 3 変数の値を実験を通じて維持するものである。このプロトコルは以下の数式により定義される境界条件として解釈される。

$$[Na^+]_o = 140[\text{mM}]$$

$$[K^+]_o = 5.4[\text{mM}]$$

$$[Ca^{2+}]_o = 2.0[\text{mM}]$$

次に、細胞に対する 1 Hz 電気刺激の手続きを記述した例を図 4 に示す。このプロトコルは周期的に刺激電流値を刺激電流振幅に設定するものであり、以下の境界条件として解釈される。ここで、 I_{stim} が刺激電流値、 $I_{stimamp}$ が刺激電

```

<protocol>
  <event id="tyrode">
    <condition>
      <always />
    </condition>
    <action>
      <set_value>
        <variable ref="cmo:ID.[Na]_o" />
        <literal value="140" units="mM" />
      </set_value>
      <set_value>
        <variable ref="cmo:ID.[K]_o" />
        <literal value="5.4" units="mM" />
      </set_value>
      <set_value>
        <variable ref="cmo:ID.[Ca]_o" />
        <literal value="2.0" units="mM" />
      </set_value>
    </action>
  </event>
</protocol>

```

図 3 細胞外液条件イベント例

Fig. 3 An experimental condition of external solution.

流振幅である。

$$I_{stim} = \begin{cases} I_{stimamp} & (50.0 \leq (t \bmod 1000.0 [\text{ms}]) < 52.0) \\ 0 & (\text{otherwise}) \end{cases}$$

2.3 生理学実験プロトコルシミュレーション手法

本節では、前節で述べた形式的意味論がシミュレーション可能であることを示すため、PEPML により記述された実験プロトコルを、形式的意味論に従って細胞生理学モデルに適用し数値シミュレーションを行う一手法について述べる。なお、ここでは対象とする細胞生理学モデルは、境界条件により拘束される変数に応じて適切に計算可能な状態にあるものとする。

あるモデルの常微分方程式について数値計算する場合、各時刻ステップにおいて以下の手続きを行う (図 5)。なお、ここでは簡単のため、常微分方程式の解法としてオイラー法を前提に議論を進めるが、ルンゲ・クッタ法、多段法、また、それらの適応的時刻刻みを用いた手法についても、各反復で同様の手続きを行うことで計算可能である。1: 前ステップ時刻 t_0 における微係数を用いて、オイラー法により現在時刻 t_1 における微分変数の値を計算する。この値を用いて対象モデルを計算し、時刻 t_1 における全モデル変数 (微係数を含む) を求め、計算された変数値を $\psi^{(1-0)}$ および $\psi^{(1)}$ に代入する。2: PEPML ファイル中の各イベントについて記述順に次の処理を行う。2a: イベント

```

<protocol>
  <event id="default">
    <condition>
      <always />
    </condition>
    <action>
      <set_value>
        <variable ref="cmo:ID.stim.current" />
        <literal value="0.0" />
      </set_value>
    </action>
  </event>
  <event id="periodic stimuli">
    <condition>
      <and>
        <gmod>
          <time /><literal value="400.0" units="ms" />
        </mod>
        <literal value="50.0" units="ms" />
      </gmod>
      <lt>
        <mod>
          <time /><literal value="400.0" units="ms" />
        </mod>
        <literal value="52.0" units="ms" />
      </lt>
    </and>
    </condition>
    <action>
      <set_value>
        <variable ref="cmo:ID.stim.current" />
        <variable ref="cmo:ID.stim.amplitude" />
      </set_value>
    </action>
  </event>
</protocol>

```

図 4 定頻度電気刺激イベント例

Fig. 4 An experimental procedure for periodic stimuli.

ト条件の成立判定を行う。条件中の不等式については、 $v^{(i-1)}$ を用いて評価する。条件中の等式については、前タイムステップ時刻 t_0 から t_1 までの間に等式が成立していたかを判定する。この判定は、 $v^{(i)}$ および $v^{(i-1)}$ を用いて評価した等式両辺の大小関係の反転により行う。2b: イベント動作を実行する。各代入命令では $v^{(i)}$ に対して評価、代入する。

3. 実験

3.1 既発表論文の再現実験

発表された論文に記載されている細胞生理学モデルを用いたシミュレーション実験について、実験プロトコルを PEPML で記述し提案シミュレーション手法を用いて再現する実験を行った。対象とした論文は、ten Tusscher らによるヒト心室筋細胞の、主に膜興奮現象を対象としたモデル(以下 ten Tusscher モデル)に関する論文[4]である。なお、シミュレーションにおいて、モデルとして CellML ファイルから変換した計算コードを用いた。CellML ファイルは、公開されている CellML ファイルに対して、変数値の論文記載値への変更、ファイルに埋め込まれた刺激プロトコルの削除を行った上で使用した。以降の実験でも公開 CellML ファイルに対して同様の処理を行っている。

シミュレーション結果を図 6 に示す。図 6A は、実験条件として外液のイオン濃度をそれぞれ $5.4 \text{ mM} [K^+]_o$, $2 \text{ mM} [Ca^{2+}]_o$, $140 \text{ mM} [Na^+]_o$ に固定し、実験手続きとして 1 Hz の外部電気刺激を与えた場合の、活動電位 (V_m) および細胞内カルシウム濃度変化 ($[Ca^{2+}]_i$) を示したものである。図 6B は、実験手続きとして刺激頻度を 0.25 Hz から 0.5 Hz 、それ以降 0.5 Hz 刻みで 3 Hz まで 10 分間ずつ順に増加させた場合に、細胞内カルシウム濃度 $[Ca^{2+}]_i$ および細胞内ナトリウム濃度 $[Na^+]_i$ の刺激頻度依存性を示したものである。前者のプロトコルとして 2.2 節図 3 および図 4 において示

```
var v: array of all model variables including derivatives;
var v_d: array of differential variables;
var v_d_dot: array of derivatives of differential variables;
```

```
while (simulation) {
    t1 := t0 + dt;
    v_d_dot := v_d_dot + v_d_dot ? dt;
    v^{(i-1)} := calculate_model(v_d^{(i)});
    v^{(i)} := v^{(i-1)};

    foreach (e: event) {
        if (condition(e, v^{(i-1)})) {
            v^{(i)} := action(e, v^{(i)});
        }
    }
}
```

図 5 実験プロトコルシミュレーションアルゴリズム

Fig. 5 Simulation algorithm of an experimental protocol.

したプロトコルを合成した PEPML ファイルを用い、後者は図 4 のプロトコルにおける第 2 イベントに対して、 10 分間ごとに成立するよう条件を追加し、それぞれ刺激周期を異なる値に設定したイベントを記述した PEPML ファイルを用いた。それぞれ異なる二つのプロトコルに対応した PEPML ファイルを同一 CellML ファイルに適用することで、論文 [4] に記されたシミュレーション結果と同等の結果が再現された。

3.2 モデルの比較実験

異なる二つの細胞生理学モデルに対して、オントロジーを用いて記述した同一の実験プロトコルを適用することで、モデルの挙動を比較する実験を行った。比較に用いたモデルは、いずれもモルモット心室筋細胞の膜興奮モデルである LRd モデル[5]および Noble モデル[6]である。いずれのモデルについても、公開された CellML ファイルに対して論文[3]に報告されている方法を用いて Cell Model Ontology との対応関係を追記したのち、コードに変換してシミュレーションに用いている。このコード変換時に、PEPML ファイルに記載のオントロジー識別子に対して対応づけられ CellML ファイル中の変数を検索することによ

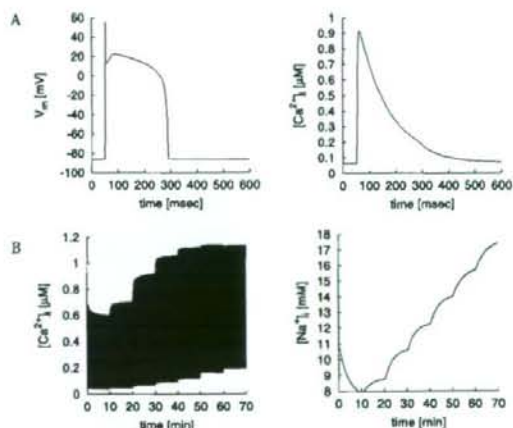


図 6 ten Tusscher モデル再現実験結果

A: 外液条件 $5.4 \text{ mM} [K^+]_o$, $2 \text{ mM} [Ca^{2+}]_o$, $140 \text{ mM} [Na^+]_o$, 1 Hz 外部電気刺激による活動電位 (V_m) および細胞内カルシウム濃度変化 ($[Ca^{2+}]_i$)。B: 10 分間ごとに 0.25 Hz から 0.5 Hz 、それ以降 0.5 Hz 刻みで 3 Hz まで順次増加させた刺激頻度における細胞内カルシウム濃度 ($[Ca^{2+}]_i$) および細胞内ナトリウム濃度 ($[Na^+]_i$) の刺激頻度依存性。

Fig. 6 Reproduced simulation results with ten Tusscher model.

A: an action potential and a calcium transient under $5.4 \text{ mM} [K^+]_o$, $2 \text{ mM} [Ca^{2+}]_o$, $140 \text{ mM} [Na^+]_o$ and 1 Hz pacing. B: the changes in the intracellular calcium and sodium levels when the pacing frequency is varied from 0.25 to 0.5 Hz and then in 0.5 Hz steps from 0.5 to 3 Hz for 10 minutes in each step.

り、参照対象の変数を選択している。また、いずれのモデルについても、論文記載の実験が再現できることを確認している。

図7は、細胞外カリウム濃度 $[K^+]_o$ を生理的濃度5.4 mMおよび高濃度8.1 mMとして固定した場合の、1 Hz 刺激下における活動電位のシミュレーション結果を比較して示している。ここでは、2・2節図3および図4において示したプロトコルを合成した上で、 $[K^+]_o$ の設定値を5.4 mMおよび8.1 mMとした2つのPEPMLファイルを用いた。細胞外カリウム濃度の5.4 mMから8.1 mMへの増加に伴い、LRdモデルでは約11%、Nobleモデルでは約30%の APD_{90} の短縮が見られた。なお、Wanらによる実細胞の生理学実験結果として、 APD_{90} の短縮率は心室筋内の部位によって異なり、心内膜側細胞で約28%、心外膜側細胞で約13%であると報告されている[7]。同一PEPMLファイルを用いるモデルに適用することにより、モデル間のシミュレーション結果、さらにはシミュレーション結果と実生理学実験結果とが比較できた。

3・3 モデルの解析実験

細胞生理学モデルの解析のため、実験プロトコルをPEPMLで記述しシミュレーション実験を行った。対象としたモデルは、Negroniらによる哺乳類心筋の収縮モデル[8](以下Negroniモデル)である。シミュレーションには、著者らが作成したCellMLファイルから変換した計算コードを用いた。なお、モデルについては論文記載の実験が再現できることを確認している。

シミュレーション結果を図8に示す。また、ここで用いたPEPMLファイルの主要部分を図9、10に示す。図8Aは、細胞半筋節長 L を0.97 μm に拘束した等尺性条件下において、細胞発生張力 F が25 mN/mm^2 となった時点で、半筋節長を瞬間的に0.006 μm 短縮させた場合の発生張力 F および細胞内カルシウム濃度 $[Ca^{2+}]$ を示したものである。半

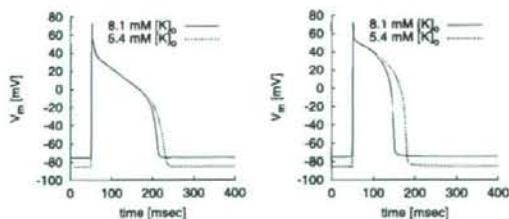


図7 高カリウム外液下活動電位の比較実験結果
細胞外カリウム濃度 $[K^+]_o$ 5.4 mM, 8.1 mM, 1 Hz 刺激下におけるLRdモデルおよびNobleモデルの活動電位。

Fig. 7 Compared action potentials under a hyperkalemic condition.

Action potentials of the LRd model and the Noble model under 5.4 mM and 8.1 mM $[K^+]_o$ and 1 Hz pacing.

筋節長の短縮を行った直後の発生張力 F は負の値となり、Negroniモデルでは瞬間的に大きな細胞長変位を与えた場合に、細胞が拡張方向に力を発生することが分かる。図8Bは、張力 F を3 mN/mm^2 に拘束した等尺性条件下において、時刻0.1 s時点でクロスブリッジ発生張力 F_b

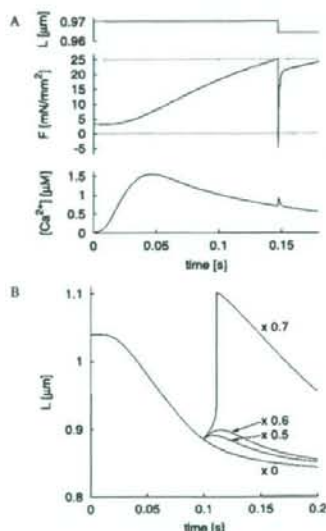


図8 Negroniモデル実験結果

A: 発生張力 (F) 25 mN/mm^2 時点で細胞半筋節長 (L) を0.97 μm から0.006 μm 瞬間的に短縮させた場合の発生張力および細胞内カルシウム濃度 $([Ca^{2+}])$ 。B: 初期張力3 mN/mm^2 において時刻0.1 sにクロスブリッジ発生張力 F_b の0, 0.5, 0.6, 0.7倍だけ張力を増加させた場合の半筋節長変化。

Fig. 8 Simulation results for analysis of Negroni model.

A: force (F) and calcium transient $([Ca^{2+}])$ when half sarcomere length (L) are instantaneously shortened by 0.006 μm from 0.97 μm at 25 mN/mm^2 force. B: the changes of half sarcomere length when the forces are increased by 0, 0.5, 0.6 and 0.7-fold cross-bridge force F_b from the initial force 3 mN/mm^2 at 0.1 ms.

```
<event id="ForceClamp">
  <condition>
    <eq><time /><literal value="0.1" units="s" /></eq>
  </condition>
  <action>
    <add_value>
      <variable link="cmo:ID.external.force" />
      <mul>
        <variable link="cmo:ID.crossbridge.force" />
        <literal value="0.5" />
      </mul>
    </add_value>
  </action>
</event>
```

図9 Negroniモデル実験プロトコルA PEPML主要部分
Fig. 9 Main part of experimental protocol A for Negroni model.