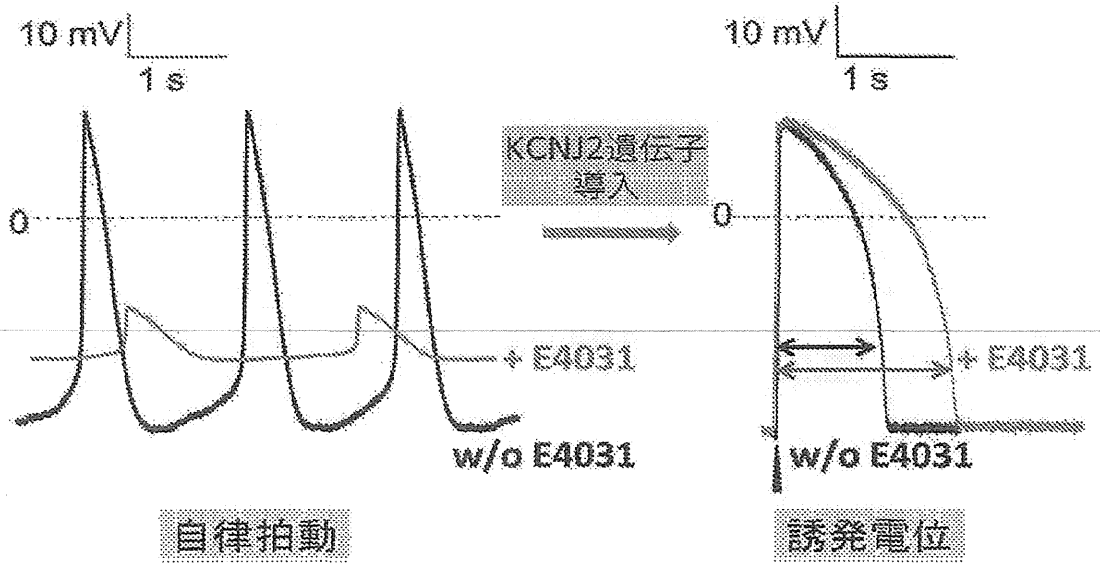


[図23]

hiPS由来心筋細胞を用いたQT間隔延長薬評価
(イメージ)

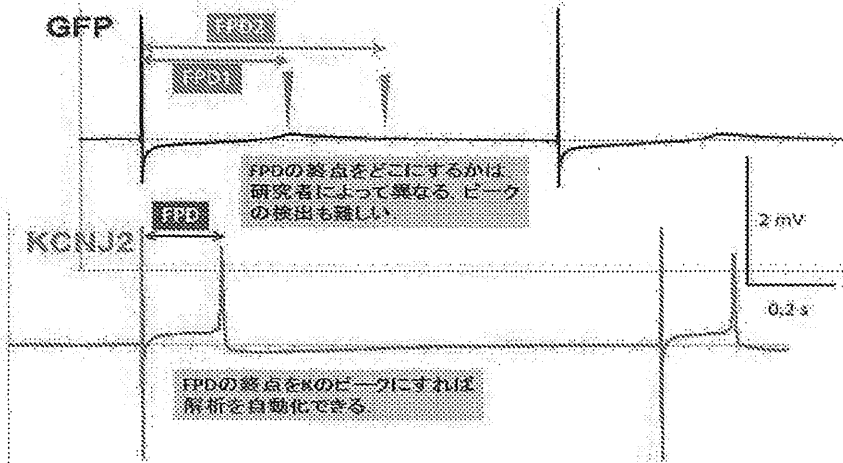


[図24]

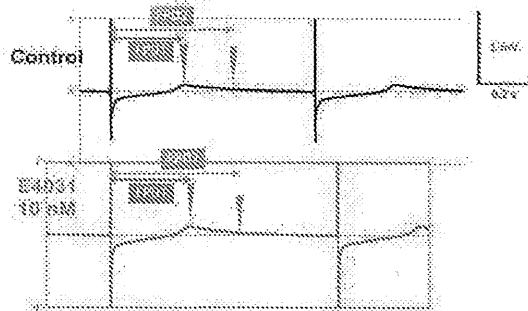
KCNJ2遺伝子導入されたiPS由来心筋細胞がもつ
ハイスループットスクリーニング応用への利点

～KCNJ2遺伝子を導入したiPS心筋シートにおけるMEA測定～

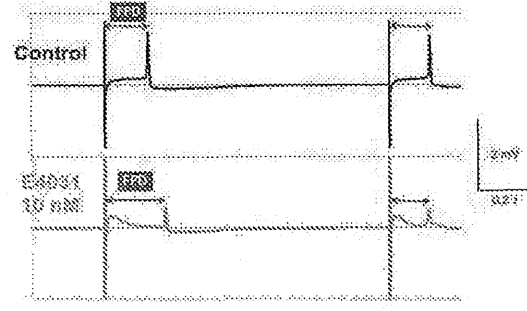
A Effects of KCNJ2 o/e on FP in iPS-CM sheets



B Field potentials of GFP-iPS-CMs



C Field potentials of KCNJ2-iPS-CMs



ヒト iPS 細胞由来心筋細胞シートの不整脈研究への応用可能性: *in silico* 不整脈学の観点から

芦原 貴司*1, 黒川洵子*2, 諫田泰成*3, 原口 亮*4, 稲田 慎*4, 中沢 一雄*4, 堀江 稔*1

年 月 日 受付

*1 滋賀医科大学循環器内科・不整脈センター

*2 東京医科歯科大学難治疾患研究所生体情報薬理学分野

*3 国立医薬品食品衛生研究所薬理部

*4 国立循環器病研究センター

hiPSC-CM シートの不整脈研究への応用可能性

Applicability of Human Induced Pluripotent Stem Cell-derived Myocardial Sheet to the Study of Arrhythmias: From the Viewpoint of *in silico* Arrhythmology

Takashi Ashihara*1, Junko Kurokawa*2, Yasunari Kanda*3, Ryo Haraguchi*4, Shin Inada*4, Kazuo Nakazawa*4, Minoru Horie*1

*1 Department of Cardiovascular Medicine, Shiga University of Medical Science, Shiga, Japan.

*2 Department of Bio-informational Pharmacology, Tokyo Medical and Dental University, MRI, Tokyo, Japan.

*3 Division of Pharmacology, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan.

*4 National Cerebral and Cardiovascular Center, Suita, Japan.

Applicability of hiPSC-CM Sheet to the Arrhythmia Study

Received 受付日付 (空欄のこと)

Revised 再受付日付 (空欄のこと)

Abstract

Background: Recently, myocardial sheet consisting of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes (hiPSC-CM) has been attempted to be utilized in clarifying the mechanisms of inherited arrhythmias and evaluating the efficacy of antiarrhythmic drugs. However, whether the electrophysiological property of the hiPSC-CM is consistent with that of the original human cardiomyocytes (hCM) is still unclear. Indeed, hiPSC-CM has automaticity, longer action potential duration (APD), smaller action potential amplitude (APA), and positively-shifted diastolic potential (DP). **Methods:** To clarify this issue, we constructed *in silico* models of hCM and hiPSC-CM sheets based on the experimental data, and performed simulations of spiral wave (SW) reentry. Then we analyzed the SW behaviors in the *in silico* myocardial sheets, and the effect of I_{Kr} blockade was also evaluated. **Results:** (1) The *in silico* model of hiPSC-CM had spontaneous activations 0.5-1Hz, longer APD, smaller APA, and DP positively shifted by ~15 mV. (2) Conduction velocity (CV) in the hiPSC-CM sheet was ~5 cm/s, which was only ~1/10 of CV in the hCM. (3) Mean cycle length (mCL) of excitations during the SW reentry in the hiPSC-CM sheet was ~0.9Hz, whereas that in the hCM was ~5Hz identical to that of human VF. (4) Both CV and mCL during SW reentry in the model of hiPSC-CM sheet were very consistent with previous experimental data. (5) The mCL of SW reentry in hCM was markedly prolonged by I_{Kr} blockade, whereas that in hiPSC-CM sheet was shortened. **Conclusion:** The SW behavior and the antiarrhythmic drug efficacy in the *in silico* models of hCM and hiPSC-CM sheets were different. Our findings suggest that such *in silico* analytical approach might fill the gap between hCM and hiPSC-CM when we apply the hiPSC-CM sheet to clinical practice.

Keywords: *in silico*, simulation, human induced pluripotent stem cell, myocardial sheet, spiral wave reentry.

要旨

【背景】ヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (hiPSC-CM) シートを用いた不整脈研究は、遺伝性不整脈の機序の解明や、抗不整脈薬の効果判定や安全性評価への応用に繋がると期待されている。しかし、体細胞由来の hiPSC-CM がオリジナルの心筋細胞と同じとは限らない。実際、hiPSC-CM には興奮自動能があり、通常より活動電位持続時間 (APD) が長く、活動電位波高 (APA) が低く、静止膜電位の浅いことが指摘されている。そこで、本研究ではコンピュータシミュレーション (*in silico*) で hiPSC-CM シートにおける不整脈動態と薬効を評価することで、hiPSC-CM シートの不整脈研究への応用可能性を検討した。【方法】まず、ヒト心室筋細胞 (hCM) の数学モデルをもとに、hiPSC-CM の特徴を備えた数学モデルを作製した。次に、hiPSC-CM の心筋細胞シートを構築し、興奮伝播速度やスパイラルリエントリーの動態ならびに I_{Kr} 遮断の影響を hCM シートと比較した。【結果】(1) *In silico* hiPSC-CM は上述のような実験的観察における 4 つの特徴を備えていた。(2) *In silico* hiPSC-CM シートでの興奮伝播速度は約 5 cm/s と遅く、hCM シートでの興奮伝播速度の約 1/10 であった。(3) 両シートのスパイラルリエントリー動態は大きく異なり、hCM シートの興奮頻度は約 5Hz と実心臓に近かったのに対して、hiPSC-CM シートの興奮頻度は約 0.9Hz と極めて低かった。(4) これらの *in silico* 結果は、過去の hiPSC-CM シートでの実験結果に矛盾しない。(5) I_{Kr} 遮断によりスパイラルリエントリーの旋回周期は、hCM シートで延長したが、hiPSC-CM シートでは短縮した。【結語】hCM と hiPSC-CM の *in silico* 心筋細胞シートにおけるスパイラルリエントリーの動態と薬効は異なっていた。hiPSC-CM シートを臨床応用するには何らかの組織学的な改変が必要と考えられるが、*in silico* による生体医工学的アプローチがその溝を埋められる可能性がある。

.....

1 1. はじめに

2 山中伸弥教授ら^{[1],[2]}が iPS 細胞を発見してから、
 3 ヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (hiPSC-CM) を用いた
 4 機能評価や薬効評価に対する期待が高まっており、
 5 それらの研究開発が国策となりつつある^{[3],[4]}。
 6 このような試みは遺伝性不整脈のように、症例
 7 数が少ないために大規模臨床試験を行えない疾患
 8 に対するテーラーメイド医療と、その安全保証に
 9 も繋がる。実際、QT 延長症候群 1 型の患者由来
 10 の hiPSC-CM では、健常人 (野生型) 由来のそれ
 11 よりも活動電位持続時間 (APD) が延長しており、
 12 臨床と同様に β 遮断薬による早期後脱分極の抑制
 13 が確認されている^[5]。
 14 しかし、山中 4 因子^{[1],[2]}を導入したとはいえ、
 15 皮膚の線維芽細胞のように、一度分化し終えた体
 16 細胞に由来する hiPSC-CM が、オリジナルのヒト
 17 心筋細胞と全く同じ電気生理学的性質を有する
 18 は限らない。実際、hiPSC-CM は胎生期の心筋細
 19 胞に似ており、(1) 結節細胞のような興奮自動能
 20 を有するとともに、ヒト心筋細胞 (hCM) よりも
 21 (2) 活動電位持続時間 (APD) が長く、(3) 活
 22 動電位波高 (APA) が低く、(4) 拡張期電位 (DP)
 23 が 10~20 mV ほど浅いことなどが指摘されている
 24^[6]。結節細胞ならまだしも、成熟した心室筋細胞
 25 には hiPSC-CM のような高い興奮自動能は無いの
 26 が一般的である。興奮自動能のある細胞を、心筋
 27 細胞として選び出す現在の分化誘導方法で良いの
 28 かという点にも疑問が残る。
 29 また薬効評価には、心筋細胞のみならず心筋組
 30 織レベルでの検討が必要と考えられるが、
 31 hiPSC-CM を用いた心筋シートの作製には、まだ
 32 技術的な限界がある。事実、hiPSC-CM シートに
 33 おける興奮様式を調べた実験報告^[7]によると、平
 34 面波の興奮伝播速度は 5~6 cm/s とかなり遅く (ヒ
 35 ト心室筋では 50~60 cm/s)、リエントリー性不整
 36 脈を誘発した際の興奮頻度も 1Hz 前後と極めて低

37 かった (ヒト心室細動では 4~7Hz)。

38 2. 方法

39 2.1 *In silico* hiPSC-CM シートの意義

40 このような hiPSC-CM シートと実心臓との間の
 41 ギャップを埋めるために、我々の研究チームでは、
 42 コンピュータシミュレーション (*in silico*) で
 43 hiPSC-CM シートの薬効評価への応用可能性を検
 44 討した^{[8],[9],[10]}。本研究の立案に至った背景には、
 45 心臓におけるイオンチャネルの構成がヒトとは異
 46 なるマウスやラット等の異種心臓を用いるよりも、
 47 ヒト心臓の電気生理学的特性を導入した *in silico*
 48 モデルの方が、臨床不整脈とそれに対する薬効を
 49 再現しやすいことが示されるようになるなど^[11]、
 50 近年、*in silico* に対する理解が進み、期待感が膨ら
 51 んだことが挙げられる。
 52 図 1 には hiPSC-CM の *in silico* モデル構築の意
 53 義を示した。これまでの心臓電気生理・不整脈の
 54 分野における数多くの *in silico* 研究にも示されて
 55 きたように、実際のヒト心筋細胞からパッチクラ
 56 ンプ等で得たイオンチャネルの情報をもとに *in*
 57 *silico* 心筋細胞を再構成した場合、元の hCM の活
 58 動電位をかなり忠実に再現できることが知られて
 59 いる^[12]。また、そうした *in silico* 心筋細胞をもと
 60 にして、ギャップ結合や心筋線維構造ならびに線
 61 維化などの不均質性を導入すれば、そこから組み
 62 上げた *in silico* 心筋組織で観察される不整脈も、
 63 臨床不整脈の特徴をよく再現していることが確認
 64 されている^{[11],[13]} (図 1, 左端ルート)。
 65 同じ手法を hiPSC-CM に適用すれば、hiPSC-CM
 66 の活動電位のみならず、hiPSC-CM シートにおけ
 67 るいわゆる iPS 不整脈も再現できるはずである
 68 (図 1, 右端ルート)。そこで、我々は hCM と
 69 hiPSC-CM それぞれの *in silico* モデルを比べるこ
 70 とで、hiPSC-CM シートの応用可能性を探れるの
 71 ではないかと考えた。

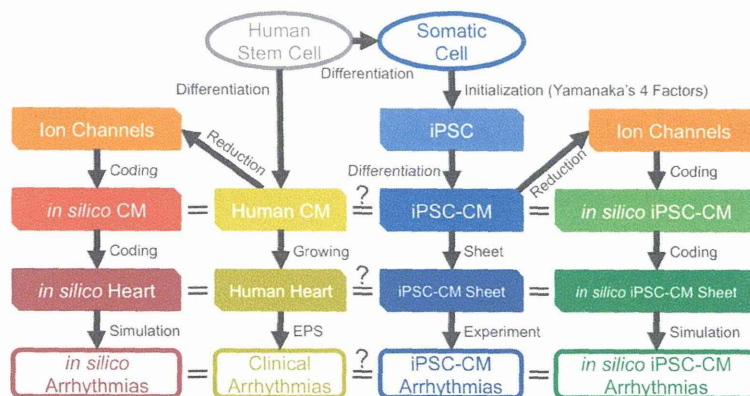


図 1 ヒト iPS 細胞由来心筋細胞 (hiPSC-CM) の *in silico* モデル構築の意義。

Fig. 1 The significance of the *in silico* model of hiPSC-CM sheet in the study of cardiac arrhythmias.

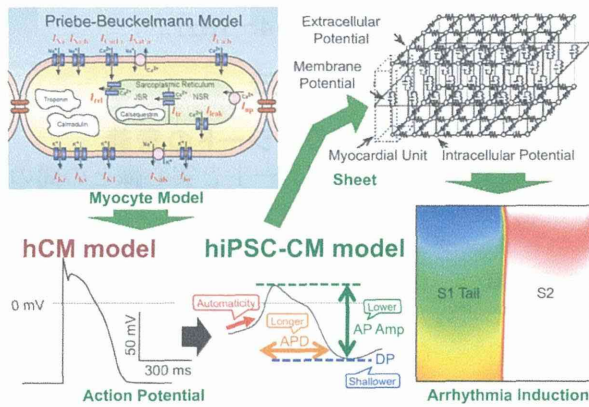


図2 ヒト心筋細胞 (hCM) と iPS 細胞由来心筋細胞 (hiPSC-CM) による *in silico* 心筋細胞シート の構築と不整脈誘発の方法.

Fig. 2 Schematic representation of the *in silico* hCM and hiPSC-CM sheet models and the method for arrhythmia induction.

2.2 *In silico* hiPSC-CM シートの構築

これまで実験で報告された観察的事実^{[14],[15]}に基づき, hCM と hiPSC-CM を基にした心筋細胞シートの *in silico* モデルを構築した (図2).

hCM の活動電位には, Priebe-Beuckelmann ヒト心室筋細胞モデル^[14]を採用した (図2, 左上&左下パネル). それを心筋ユニット (機能単位) として, 16 万ユニットを細胞内同士および細胞外同士で電気的に結合し (図2, 右上パネル), 大きさ 6 cm×6 cm のバドメイン hCM シートを作製した (図2, 右下パネル). なお, 実際の心筋組織には湾曲した線維走向が存在するため, *in silico* モデルでは心筋線維の長軸 (線維方向) と短軸 (直交方向) の電気伝導性をそれぞれ細胞外で 6.25 と 2.36 mS/cm, 細胞内で 1.74 と 0.19 mS/cm に設定し, 均質異方性で湾曲した線維走向^[16]を組み込んだ.

hiPSC-CM の活動電位には, 基礎電気生理学的な実験データ^[13]に基づき, Priebe-Beuckelmann ヒト心室筋細胞モデル^[14]の内向き整流性 K⁺チャネル電流 (I_{K1}) を 18% にまで減らしたものをを用いた (図2, 中下パネル). それを心筋ユニットとして, 同様に 16 万ユニットを電気的に結合し, 同じ大きさのバドメイン hiPSC-CM シートを作製した. ただし, 実際の hiPSC-CM シートには線維走向が存在しないため, *in silico* モデルでは電気伝導性をどの方向にも細胞外で 4.305 mS/cm, 細胞内で 0.965 mS/cm の均質等方性とした.

2.3 hiPSC-CM シートにおける不整脈誘発

心臓における頻脈性不整脈の基本メカニズムであるスパイラルリエントリー (spiral wave reentry) の発生には, 定常刺激 (S1) による興奮波の後面

(tail) に早期刺激 (S2) による興奮波を交差させる S1-S2 cross-field 刺激法を用いた (図2, 右下パネル). その上で, hCM シートと hiPSC-CM シートにおけるスパイラルリエントリーの動態を観察した.

3. 結果

3.1 *In silico* hiPSC-CM の活動電位

方法のところでも述べたように, hiPSC-CM の I_{K1} がかなり小さいかほとんど無いという観察的事実^[15]に基づき, hCM の数学モデル^[14]に含まれる I_{K1} を 18% にまで低下させたところ, 細胞内 Na⁺ 濃度の低下 (10.0→7.0 mmol/L) とともに, 前述の hiPSC-CM 活動電位の 4 つの特徴^[6] (結節細胞のような 0.5-1Hz の興奮自動能, hCM よりも長い APD, hCM よりも低い APA, hCM よりも浅い DP) がすべて再現された (図2, 中下パネル).

3.2 *In silico* hiPSC-CM シートの興奮伝播

構築した *in silico* hiPSC-CM シートにおいて, 興奮伝播速度やスパイラルリエントリーの動態を観察したところ, 興奮伝播速度は約 5 cm/s で, 同じ方法で構築した hCM シートにおける興奮伝播速度の約 1/10 となっており, かなり遅くなることが分かった (図3, 左データ). これらの *in silico* 結果は, ヒト心室筋^[17]や hiPSC-CM シート^[7]を用いた過去の実験報告と矛盾しない (図3, 右データ).

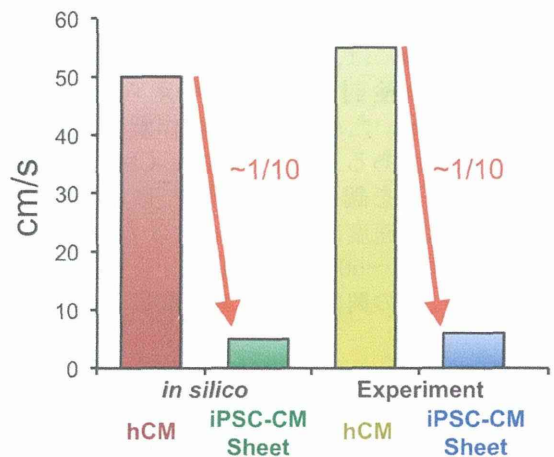


図3 hCM と hiPSC-CM で構成された *in silico* 心筋細胞シートにおける興奮伝播速度. 比較のため, ヒト心室筋^[17]と hiPSC-CM シート^[7]を用いた実験結果を右に併記.

Fig. 3 Conduction velocities of excitation waves in the *in silico* hCM and hiPSC-CM sheets. For comparison, the experimental data using human ventricular tissue^[17] and hiPSC-CM sheet^[7] were shown in the right half.

1 **3.3 *In silico* hiPSC-CM シートの不整脈**

2 上述の hCM と hiPSC CM それぞれの *in silico* 心
3 筋細胞シート上で誘発したスパイラルリエント
4 リーの動態は大きく異なっており, *in silico* hCM
5 シートでの興奮頻度は, 実心臓に極めて近い約
6 5Hz であったのに対して, *in silico* hiPSC-CM シー
7 トでは約 0.9Hz であった (図 4). この *in silico*
8 hiPSC-CM シートにおける興奮頻度は, hiPSC-CM
9 シートを用いた実験データ^[7]に矛盾しない.

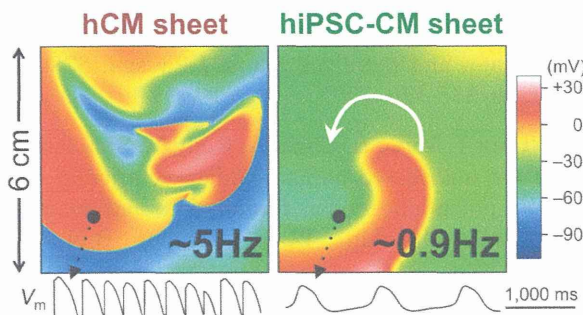
10 **3.4 *In silico* hiPSC-CM シートでの薬効**

11 これらの心筋細胞シートにおいて I_{Kr} チャネル
12 を 50%遮断したところ, *in silico* hCM シートでは,
13 スパイラルリエントリーの周期が 13.3%延長 (角
14 速度が 11.8%低下) し, スパイラルリエントリー
15 が停止しやすくなった (図 5, 左パネル). これは,
16 APD が延長し, 興奮間隙が狭小化したことで, 興
17 奮波前面が興奮波後面へ部分的な衝突を繰り返す
18 ようになり, ミアンダリング (さまよい運動) が
19 大きくなったためと考えられた.

20 一方, *in silico* hiPSC-CM シートでは, 逆に興奮
21 周期が 10.0%短縮 (角速度が 11.1%上昇) したが,
22 スパイラルリエントリーは持続した (図 5, 右パ
23 ネル). これは, 組織興奮性の変化により興奮伝播
24 速度が少し上がったものの, 元々十分な大きさの
25 興奮間隙が存在したため, スパイラルリエント
26 リーの持続性に影響を与えなかったと考えられた.

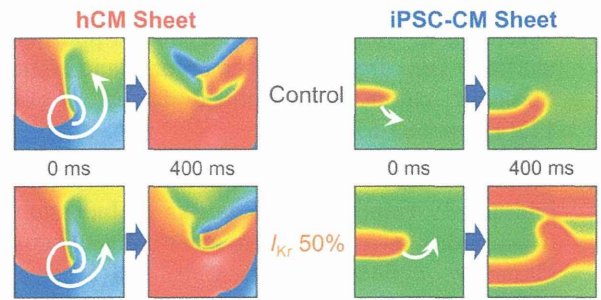
27 **4. 考察**

28 まず, hiPSC-CM の活動電位の特徴を *in silico*
29 で再現できれば, それを基に構成された *in silico*
30 心筋細胞シートにおける興奮伝播速度や不整脈の



31 図 4 hCM と hiPSC-CM で構成された *in silico*
32 心筋細胞シートにおけるスパイラルリエ
33 ントリー動態の違い. マップ内のカラー
34 スケールは右に示す. 下段の V_m は局所
35 の細胞膜電位を示す.

36 **Fig. 4** Differences in spiral wave behavior between *in silico* hCM and hiPSC-CM sheets. The map was color-coded according to the color bar. V_m in the bottom denotes regional membrane potentials.



37 図 5 hCM と hiPSC-CM で構成された *in silico*
38 心筋細胞シートにおける I_{Kr} 遮断のスパイ
39 ラルリエントリー動態への影響の違い.

40 **Fig. 5** Differences in the effect of I_{Kr} blockade
41 on the spiral wave behavior between *in silico*
42 hCM and hiPSC-CM sheets.

43 動態も, かなりの高い精度で再現されることを確
44 認した. さらに, ヒト心室筋^[17]と hiPSC-CM^[7]を
45 用いた実験報告でもスパイラルリエントリーの動
46 態における違いが示されているが, それと酷似し
47 た形で, 今回, 我々が行った *in silico* のモデル実
48 験でも両者の違いが再現された.

49 これは, hiPSC-CM の長い APD と浅い DP が組
50 織興奮性に影響を与え, hiPSC-CM シートにおけ
51 る不整脈の動態を変化させたためと推察される.
52 そのため, hiPSC-CM シートをそのまま用いるの
53 では正しい薬効評価ができない可能性もある.

54 一方, 今回は *in silico* hiPSC-CM のベースに
55 Priebe-Beuckelmann モデル^[14]を用いたが, 現在,
56 それを最新の O'Hara-Rudy dynamic モデル^[18]に置
57 き換え, より精巧な微細構造と電気生理学的特性
58 を組み入れるべく研究を進めている. 今回の結果
59 の再検討も含め, さらに *in silico* 研究を進めて,
60 hiPSC-CM シートの臨床応用の可能性を探りたい.

61 **5. おわりに**

62 今後, hiPSC-CM シートを臨床応用するには,
63 何らかの組織学的な改変が必要と考えられるが,
64 *in silico* による生体医工学的アプローチがその溝
65 を埋められる可能性がある^[19].

66 **利益相反**

67 日本生体医工学会の投稿規定の基準による利益
68 相反はない.

69 **謝辞**

70 本研究は, 文部科学省科学研究補助金 (新学術
71 領域研究 22136011, 基盤研究(C) 24300159, 基盤
72 研究(C) 24591074, 基盤研究(C) 25461106) および
73 厚生労働科学研究委託費 (医薬 B-一般-016) によ
74 る研究成果の一部である.

1 文献

- 2 [1] Takahashi K, Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. **126**(4), pp. 663-676, 2006.
- 6 [2] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S: Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. **131**(5), pp. 861-872, 2007.
- 11 [3] 関野祐子：霧島会議の開催趣旨について．心電図． **34**(3), pp. 273-275, 2014.
- 13 [4] 澤田光平, 松尾純子, 長田智治, 吉田善紀, 白尾智明, 佐藤 薫, 諫田泰成, 関野祐子：ヒト ES/iPS 細胞由来心筋細胞を用いた不整脈作用検出とその課題．心電図． **34**(3), pp. 302-305, 2014.
- 18 [5] Moretti A, Bellin M, Welling A, Jung CB, Lam JT, Bott-Flügel L, Dorn T, Goedel A, Höhnke C, Hofmann F, Seyfarth M, Sinnecker D, Schömig A, Laugwitz KL: Patient-specific induced pluripotent stem-cell models for long-QT syndrome. *N Engl J Med*. **363**(15), pp. 1397-1409, 2010.
- 24 [6] Ma J, Guo L, Fiene SJ, Anson BD, Thomson JA, Kamp TJ, Kolaja KL, Swanson BJ, January CT: High purity human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: electrophysiological properties of action potentials and ionic currents. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. **301**(5), pp. H2006-H2017, 2011.
- 31 [7] Kadota S, Minami I, Morone N, Heuser JE, Agladze K, Nakatsuji N: Development of a reentrant arrhythmia model in human pluripotent stem cell-derived cardiac cell sheets. *Eur Heart J*. **34**(15), pp. 1147-1156, 2013.
- 36 [8] 芦原貴司, 原口 亮, 中沢一雄, 伊藤 誠, 堀江 稔：ヒト iPS 細胞分化心筋シートの薬効評価への応用可能性: in silico 不整脈学の観点から．心電図． **33**(Suppl.4), p. 79, 2013. (Abstract)
- 41 [9] 芦原貴司, 原口 亮, 稲田 慎, 中沢一雄, 堀江 稔：ヒト iPS 細胞由来心筋細胞シートの不整脈研究への応用可能性: in silico 不整脈学の観点から．生体医工学． **52**(Suppl.1), p. 106, 2014. (Abstract)
- 46 [10] 芦原貴司：TECH PLUS: In silico 心室筋モデルにより検討した iPS 細胞由来心筋細胞シートの応用可能性．不整脈+PLUS． **8**, pp. 12-13, 2014.
- 50 [11] <http://www.scientificamerican.com/article.cfm?id=computer-heart-simulation-arrhythmia>
- 52 [12] O'Hara T, Rudy Y: Quantitative comparison of cardiac ventricular myocyte electrophysiology and response to drugs in human and nonhuman species. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. **302**(5), pp. H1023-H1030, 2012.
- 57 [13] Ashihara T, Haraguchi R, Nakazawa K, Namba T, Ikeda T, Nakazawa Y, Ozawa T, Ito M, Horie M, Trayanova NA: The role of fibroblasts in complex fractionated electrograms during persistent/permanent atrial fibrillation: Implications for electrogram-based catheter ablation. *Circ Res*. **110**(2), pp. 275-284, 2012.
- 64 [14] Priebe L, Beuckelmann DJ: Simulation study of cellular electric properties in heart failure. *Circ Res*. **82**(11), pp. 1206-1223, 1998.
- 67 [15] Doss MX, Di Diego JM, Goodrow RJ, Wu Y, Cordeiro JM, Nesterenko VV, Barajas-Martinez H, Hu D, Urrutia J, Desai M, Treat JA, Sachinidis A, Antzelevitch C: Maximum diastolic potential of human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes depends critically on I_{Kr} . *PLoS One*. **7**(7), e40288, 2012.
- 74 [16] Ashihara T, Haraguchi R, Nakazawa K, Namba T, Ikeda T, Nakazawa Y, Ozawa T, Ito M, Horie M, Trayanova NA: The role of fibroblasts in complex fractionated electrograms during persistent/permanent atrial fibrillation: Implications for electrogram-based catheter ablation. *Circ Res*. **110**(2), pp. 275-284, 2012.
- 81 [17] Noujaim SF, Pandit SV, Berenfeld O, Vikstrom K, Cerrone M, Mironov S, Zugermayr M, Lopatin AN, Jalife J: Up-regulation of the inward rectifier K^+ current (I_{K1}) in the mouse heart accelerates and stabilizes rotors. *J Physiol*. **578**(Pt. 1), pp. 315-326, 2007.
- 87 [18] O'Hara T, Virág L, Varró A, Rudy Y: Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation. *PLoS Comput Biol*. **7**, e1002061, 2011.
- 92 [19] 黒川洵子, 古谷和春, 中谷晴昭, 芦原貴司, 久田俊明, 杉浦清了, 岡田純一, 田保充康, 吉永貴志：霧島会議の総括および今後の展望：コンピュータ(in silico)安全性薬理学ワーキンググループ報告：医薬品安全性評価における in silico アプローチの可能性について考える．心電図． **34**(3), pp. 326-329, 2014.

