分子ポテンシャル理論に基づく骨格筋の収縮運動解析*
(サルコメア単位の収縮運動特性)仲 町 英 治*¹, 塚 本 純*², 田村 陽次郎*³Skeletal Muscle Contraction Analyses Based on Molecular Potential Theory
(Contraction of Sarcomere)

Eiji NAKAMACHI, Jun TSUKAMOTO and Youjiro TAMURA

In this paper, the phenomenological potential theory, obtained by the modification of Mitsui's self-induced translation model, is applied to the simulation of the contraction of a sarcomere in skeletal muscle. The equation of motion of each myosin head is solved under the viscosity dominant assumption. The isotonic and isometric contractions of a half sarcomere was simulated. The numerical result of the load-velocity relationship at the isotonic contraction shows a good agreement with Hill's experimental equation. The numerical result of the length-tension relationship contents with Gordon's experimental result qualitatively. The result of quick release in the isometric contraction demonstrated the visco-elastic feature of skeletal muscle. Therefore, it can be concluded that this macromolecular dynamics simulation will contribute the investigation of the mechanism of skeletal muscle contraction.

Key Words: Muscle Contraction, Molecular Potential Theory, Skeletal Muscle, Myosin Head, Sarcomere, Isotonic Contraction, Isometric Contraction, Length-Tension Relationship, Quick Release

1. 結 言

著者らは、これまで、現象論的分子ポテンシャル理論によって骨格筋の収縮運動の素過程であるアクトミオシン系の滑り運動解析を試みてきた⁽¹⁾、高効率な生命分子エンジンと定義できるアクトミオシン系の相対滑り運動を説明するモデルは、Huxley らの分子駆動モデル⁽²⁾に始まり数多く提案されている⁽³⁾。最近、分子生物学分野の進歩を背景にして、アクチンおよびミオシン頭部 S1 の三次元分子構造の実験解析結果⁽⁴⁾⁽⁵⁾も公表されるようになっており、バイオメカニックスの分野においても分子レベルでの滑り運動機構の解明が重要な課題になるものと考え⁽⁶⁾。本研究では、タンパク質構成原子個々の力学解析を目指すのではなく、あくまでも実験に基づく現象論モデルによって、数ナノメートル(mm)のアクチン・ミオシン分子と数十ミリメートル(mm)の骨格筋線維の運動を結び付けるためのメソスコピックレベルの収縮運動モデルを提案することにある。このモデルは三井らの提案による

アクチン・ミオシンの現象論的分子ポテンシャル理論⁽⁷⁾を修正して得たものであり、実験観察される静電的、生化学的および機械的な特性を反映したものである。このポテンシャルを用いてサルコメアの収縮運動に対するランジュヴァン方程式を求め、数値シミュレーションを行う。シミュレーションでは、サルコメアに一定荷重を負荷したときの等張性収縮と筋の長さを一定に保持する等尺性収縮、また、等尺性収縮中に筋の長さを急激に変化させるクイックリリースの3種の問題を取り上げ、実験結果と比較することにより、提案する筋収縮モデルの妥当性を検討する。

2. 分子ポテンシャル理論

本解析では、三井の提案⁽⁷⁾を参考にして、相対滑りの方向にとった一次元座標の関数によってアクチン・ミオシン分子間にポテンシャルを設定する⁽¹⁾。

2・1 分子ポテンシャルモデル 以下の3種類のポテンシャル(経験ポテンシャル)を設定する。

(A) 周期ポテンシャル U_0 : ミオシン頭部 S1 と細いアクチンフィラメントとの間の分子間ポテンシャルを G-アクチンを周期単位とする $\cos$ 曲線近似で表示する⁽⁷⁾。

* 平成6年1月21日 第3回バイオエンジニアリングシンポジウムにおいて講演、原稿受付 平成6年2月21日。

*¹ 正員、大阪大学工学部 (〒565 吹田市山田丘2-1)。

*² 正員、鈴鹿工業高等専門学校 (〒510-02 鈴鹿市白子)。

*³ 正員、(株)東芝 (〒183 府中市片町3-22)。

$$U_o(x) = \frac{H_o}{2} \left[\cos\left(\frac{2\pi x}{L}\right) - 1 \right] \dots\dots\dots (1)$$

ここで, x はアクチンフィラメントに沿った座標, L はアクチンフィラメントのらせん周期(カエルの骨格筋で 5.46 nm⁽⁷⁾), H_o はポテンシャルの振幅であり, $H_o = 0.914 \times 10^{-19}$ [J] とする.

(B) 誘起ポテンシャル U_i : ATP 加水分解によって誘起されるポテンシャルによりミオシン頭部はアクチンフィラメントに沿って滑ることになる. この誘起ポテンシャル U_i は, ミオシン頭部を収縮の順方向に滑らせるように設定した空間分布関数 $u(X)$ (ここでは, 正規確率密度分布関数を採用する), および化学反応の時間経過を表す関数 $v(t)$ との積によって表されるとする⁽¹⁾. X はミオシン頭部を原点とする座標とする.

$$U_i = v(t) \cdot u(X) \dots\dots\dots (2)$$

$$v(t) = v_0 \cdot \exp(-k_1 t) \cdot [1 - \exp(-k_2 t)] \dots\dots (3)$$

$$u(X) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma} \exp\left(-\frac{X^2}{2\sigma^2}\right) \dots\dots\dots (4)$$

ここで, k_1, k_2 はそれぞれ化学反応定数 ($k_1 \geq k_2$) であり, σ は正規確率分布の標準偏差である. ここでは, $k_1 = 75.87$ [s⁻¹], $k_2 = 1.00$ [s⁻¹], $\sigma = 1.812 \times 10^{-9}$ [m] とする.

(C) 弾性ばねポテンシャル U_e : ミオシン頭部(S1)を太いミオシンフィラメントにつなぐミオシン鎖部(S2, HMM)を弾性ばねと仮定してポテンシャル U_e を設定する. この弾性ばねはミオシン頭部で発生した力をミオシンフィラメントに伝達する働きをする. ポテンシャル U_e は

$$U_e = \begin{cases} A_1 \Delta l^2 + A_2 \Delta l : \Delta l \geq 0 \\ A_3 \Delta l^2 : \Delta l \leq 0 \end{cases} \dots\dots\dots (5)$$

で与えられるとした. ここで, A_1, A_2, A_3 は定数, Δl は張力が零となるミオシン頭部の位置からの変位である. 本解析では, 弾性定数として, $A_1 = 1.14 \times 10^{-2}$ [N/m], $A_2 = 6.72 \times 10^{-11}$ [N], $A_3 = 3.85 \times 10^{-2}$ [N/m] の値をとる.

2・2 運動方程式 筋収縮は生理水内の運動であ

るので, ミオシン頭部に対する運動方程式はランジュヴァン方程式(Langevin equation)を用いて,

$$m \frac{d^2 x}{dt^2} = -C \frac{dx}{dt} + F + f(t) \dots\dots\dots (6)$$

と書ける. ここで, m はミオシン頭部の質量, C は粘性係数, F は外力, $f(t)$ は分子の熱運動による揺動力を表す. 本研究では, ATP 加水分解のエネルギーがブラウン運動のようなゆらぎのエネルギーより十分大きいと考える決定論の立場をとる. また, 生理水内の滑り運動は粘性が支配的な現象なので, 式(6)の揺動力 $f(t)$ と慣性力 $m(d^2x/dt^2)$ は無視できるとする. ミオシン頭部の駆動力 F は全ポテンシャル U の微分で与えられ, 最終的に, ミオシン頭部に対する運動方程式は次のようになる.

$$C \frac{dx}{dt} = F = F_o + F_e + F_i$$

$$F_o = -\frac{d(U_o)}{dx}, \quad F_e = -\frac{d(U_e)}{dx}, \quad F_i = -\frac{d(U_i)}{dx} \dots\dots\dots (7)$$

ここで, C は粘性係数である. 図1に半サルコメア内の mn 番めのミオシン頭部に作用する力の模式図を示す.

3. 数値解析結果

サルコメアの運動機能を特性づける3種類の収縮運動を数値解析することで, 生体外(in vitro)での骨格筋の実験結果との比較を行い本収縮モデルの妥当性を検討する. 対称性を考慮して, 筋収縮の基本運動単位であるサルコメアの半分を解析対象とし, その半サルコメア内のミオシンフィラメントとアクチンフィラメントの重なり部分に存在する相互作用可能なミオシン頭部の総数を図2のように20とする⁽³⁾. ミオシン頭部には, 二つのS1が存在するが, ここでは二つのS1を1単位とする. 次に, ATP 加水分解発生場所および時刻を表す関数表示式であるが, 生物学の分野で研究が進行中でありまだ確定されていない. そこで,

図1 半サルコメアのミオシン頭部に作用する力

図2 半サルコメアの解析モデル($mn=20$)

ATP 加水分解の発生は時間的および空間的にランダムとし、その平均発生周期を各ミオシン頭部に関して、 $1/30 \text{ s}^{(8)}$ と仮定した。計算では、ATP 加水分解の発生の時間間隔を実数の一様乱数 M ($0 \leq M \leq 1$) を用いて設定した。数値積分はオイラー法を用い、時間 $t=0 \sim 1.0 \text{ s}$ の間を 10 000 増分ステップによって解析した。また、実際の生体内の筋では、ATP 加水分解を発生することができる(活性化)ミオシン頭部の数は変動すると考えられるが、本解析では、クイックリリースの場合を除き 20 個のミオシン頭部のすべてが常に ATP 加水分解可能、つまり強縮(tetanus)状態にあるとした。

3・1 等張性収縮 半サルコメアの両端、つまり図 2 に示す Z 帯および M 帯に一定の張力が負荷される場合の収縮を等張性収縮(Isotonic Contraction)とした。さらに、ここでは単純化のために太いミオシンフィラメントは 20 個のミオシン頭部の滑り速度の平均値で収縮するものと仮定した。実際には各ミオシン鎖部を介して伝達される力の総和を駆動力として太いミオシンフィラメントの運動方程式を解く必要があるが、両フィラメント間に存在する生理水などの粘性係数が新たなパラメータとなることから本論文では以上の仮定を採用した。

ATP 加水分解が発生してもミオシン頭部が移動しなくなるような筋線維に負荷する張力(等尺性張力)を P_0 とし、張力 P を変化させたときの収縮運動を解析した。解析で得られた等尺性張力 P_0 は 55 pN であったことから、この値を用いて張力を無次元化した。

$P/P_0 = (a) 0.0, (b) 0.27, (c) 1.0$ である三つの場合の解析結果を図 3 に示す。図 3 の上段は図 2 のように番号付けしたミオシン頭部のうち、1, 10, 20 番めのミオシン頭部の滑り距離の時間変化、下段は 1 番めのミオシン頭部にかかる駆動力の時間変化を示す。これにより、張力が小さいほど滑り距離は長いことがわかる。また、張力が大きいほど駆動力は減少することが理解できる。図 4 は、20 個のミオシン頭部のうち、1, 5, 10, 15, 20 番めのミオシン頭部の収縮運動中の相対位置の変化を示す。図 4 (b) の場合は、各ミオシン頭部の相対位置の変動が (a), (c) の場合に比べて大きいことがわかる。これは、無負荷の場合(a)および等尺性収縮状態の場合(c)の中間状態である(b)では、弾性ばね要素の力と ATP 加水分解による誘起力が拮抗する状態にあるためにミオシン頭部の揺動が顕著になると考えられる。

無次元化した張力と収縮速度の関係を図 5 に示す。ここで、収縮速度は、時間 $t=0 \sim 1.0 \text{ s}$ の各ミオシン頭部の滑り速度の平均値とした。収縮速度 v の無次元化は無負荷状態($P=0$)のときの収縮速度 v_0 によって行う。図 5 に示すように双曲線形の張力-収縮速度関係が得られた。実験観察結果を基にして決定された骨格筋の張力-収縮速度関係式では Hill の提案したものが良く知られている⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾。そこでは、骨格筋の動特性を示す張力 P と収縮速度 v の関係(P - v 曲線)を次に示すような双曲線形の式(a, b は定数)で与えている。

$$(P+a)(v+b) = \text{const.} \dots\dots\dots (8)$$

図 5 で得られた経験的分子ポテンシャル理論に基づく

図 3 半サルコメアの等張性収縮の解析結果

解析結果は、この実験観察結果と一致するものであると考えられる。

次に、等張性収縮における仕事率 W を次のようにして求める。

$$W = P \cdot v \quad \dots\dots\dots (9)$$

図6に示す無次元化張力と仕事率の関係より、 P/P_0 が0.3の場合に最高効率で仕事を行うという結果が得られた。この結果は、文献(1)に示した4個のミオシン頭部で計算を行った場合が0.5であったのに比べて、小さな張力の領域でより滑らかな収縮運動を生じているためと考えられる。

3・2 等尺性収縮 筋線維の長さを一定に保ち、電気刺激を与え続けると張力が発生する。このような収縮(強縮状態)を等尺性収縮(isometric contraction)

という。等尺性収縮では筋は外界に対して仕事はしないが、繰返し起こるアクチン・ミオシンの収縮反応によって一定張力が保持される。ここでは、半サルコメア長を変化させ、強縮状態のATP加水分解を発生させた場合に、M端に生じる張力を求める。半サルコメアの長さによって、アクチンフィラメントと相互作用するミオシン頭部の個数が図7(a)のモデルのように変化し、また、半サルコメア長がミオシンフィラメントの長さ $1\mu\text{m}$ より短くなる場合には図7(a)の(5)のようにミオシンフィラメントが折り畳まれて反力を生じるものとする。等尺性収縮中に半サルコメアのM端に発生する張力 P は各ミオシン頭部に働く弾性ばね要素による力 F_e の総和として次式で求められる。

$$P = - \sum_{j=1}^{mn} F_{e_j} \quad \dots\dots\dots (10)$$

半サルコメアの長さを(1) $1.75\mu\text{m}$ 、(2) $1.4\mu\text{m}$ 、(3) $1.0\mu\text{m}$ 、(4) $0.79\mu\text{m}$ 、(5) $0.6\mu\text{m}$ とし、各場合について等尺性収縮の解析を行い、その半サルコメア長に対する張力変化(長さ-張力関係)の解析結果を図

図4 等張性収縮におけるミオシン頭部の滑り運動の時系列表示

図5 半サルコメアの張力-収縮速度関係

図6 半サルコメアの張力-仕事率関係

図 7 等尺性収縮の解析モデルと数値解析結果

図 8 半サルコメアの長さ-張力関係

8に示す。ここで、破線はカエルの脚の骨格筋を用いた Gordon らの実験結果⁽¹¹⁾であり、解析が実験とよく一致した傾向を示していると考えられる。半サルコメアの模式図である図 7(a)の(1), (2), (3), (4), (5)は、図 8中に示した(1), (2), (3), (4), (5)に対応している。また、図 7(b), (c)には、ひとつおきのミオシン頭部の座標の時間変化、および張力の時間変化を示す。弾性ばね要素の弾性係数についてはさらに検討が必要と考えるが、本モデルによって骨

図 9 クイックリリースの実験結果の模式図

格筋の等長収縮運動特性が説明できると考える。

3.3 クイックリリース 筋線維の長さを一定に保つ等尺性収縮運動中に、急速に筋長を変化させたときの張力変化を測定する実験をクイックリリース実験という。この実験観察結果は図 9のように、長さのステップ変化に対して、張力は急激な変化の後、元のレベルに回復するという粘弾性応答を示す⁽¹²⁾。ここでは、等尺性張力が生じる強縮状態への時間遅れ(移行過程)を任意に設定し解析を行う。つまり、ATP加水分解を起こすことができるミオシン頭部の総数 mn_{ATP} が、

収縮開始時刻 $t=0$ [s] で $mn_{\text{ATP}}=0$ 個であったものが時間とともに、 $t=0.01$ s (4 個), $t=0.075$ s (8 個), $t=0.125$ s (16 個), $t=0.25$ s (20 個) のように指数関数的に増加するものとした。この変化は著者らが行った強縮実験の場合の張力の時間変化を参考にして決定した。この移行過程は、筋小胞体への刺激からカルシウムイオン濃度の増加、さらに ATP 加水分解の発生というプロセスの時間経過、およびアクチン・ミオシンの相対揺動運動に対する粘性効果に対応しており、今後さらにマイクロレベルの実験観察が進むと定量的な決定ができるものとする。

Quick Release at Time = 0.5 [sec], ΔL : Length Step

図 10 クイックリリースにおける発生張力応答の解析結果

本解析では、自然長とした半サルコメア長 $1.0 \mu\text{m}$ の初期状態から ATP 加水分解発生開始の 0.5 s 後に、半サルコメア長を ΔL ステップ変化させ、時間 $t=1.0$ s までの半サルコメアにかかる張力 P の時間変化の解析を試みる。これまでの解析と同様に、ミオシン頭部の ATP 加水分解の発生はランダムとし、その平均発生周期は $1/30$ s⁽⁸⁾ とした。半サルコメアに対するクイックリリースの解析を行った結果を図 10 に示す。4 種類の長さ変化 ΔL に対して、それぞれ急激な張力変化が観察され、その後 ATP 加水分解活性化率の漸増もあって張力の回復が示された。長さ変化 ΔL が負の場合は、クイックリリースに伴って張力が急激に減少し、その後、回復するという図 9 と同様な傾向が得られた。一方、長さ変化 ΔL が正の場合は、クイックリリースに伴い、張力が急増し、その後、クイックリリース前とほぼ等しいレベルに回復するという実験観察結果に類似な運動特性が得られた。

4. 結 言

アクトミオシン系の現象論的分子ポテンシャル理論に基づく解析モデルにより、筋収縮の基本運動単位であるサルコメアの収縮運動特性を数値解析した。骨格筋の収縮運動特性実験として広く採用されている等張性収縮、等尺性収縮およびクイックリリース運動を解析し、それぞれ実験結果と比較した。これにより、著者らが提案する数値解析モデルはサルコメアの収縮運動をシミュレートすることがわかった。しかし、これらの比較で得られた結果はあくまでも定性的な一致である。定量的な一致のためには、(1) ATP 加水分解発生の空間的および時間的な関数モデル、(2) ミオシン頭部の弾性ばね要素のばね定数、(3) ATP 加水分解の活性化率の時間関数をそれぞれ決定するために、可能な限り小さなサイズでの実験観察が必要である。さらに、実際の生体内骨格筋の収縮・弛緩を解析するためには、興奮収縮連関という収縮制御機構、およびサルコメア単位の収縮運動の素過程を巧妙に組合せたマクロな骨格筋線維の収縮運動モデルの構築が必要であると考えられる。

本研究の一部は平成 5 年度文部省科学研究費補助金 [重点領域研究 (2): No. 05221223] の支援を受けたものであり、ここに感謝の意を表する。

文 献

- (1) 仲町・廣川・田村, 機論, 58-551, A(1992), 91-97.
- (2) Huxley, A. F., Muscle structure and theories of contraction, *Prog. Biophys. Biophys. Chem.*, 7(1957), 255-318.

- (3) 酒井・遠藤・杉田編, 筋の構造と機能, (1977), 249-333, 医学書院.
- (4) Holmes, K. C., Popp, D., Gebhard, W. and Kabsch, W., *Nature*, **347**(1990), 44-49.
- (5) Rayment, I., ほか 8 名, *Science*, **261** (1993), 50.
- (6) 鈴木, 機誌, **97-902**(1994), 48.
- (7) Mitsui, T. and Oshima, H., *J. Musc. Res. Cell Motility*, **9**(1988), 52-62.
- (8) Yanagida, T., Arata, T. and Osawa, F., *Nature*, **316** (1985), 366-369.
- (9) Hill, A. V., *Proc. R. Soc., B*, **126**(1938), 136-195.
- (10) Oiwa, K., Chaen, S., Kamitsubo, E., Shimmen, T. and Sugi, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **87**(1990), 7893-7897.
- (11) Gordon, A. M., Huxley, A. F. and Julian, F. J., *J. Physiol.*, **184**(1966), 170-192.
- (12) Huxley, A. F. and Simmons, R. M., *Nature*, **233**(1971), 533-538.
-