

課題名 (タイトル) :

血小板凝集のマルチスケール解析

利用者氏名 : 塩崎 聖治

理研での所属研究室名 :

社会知創成事業 次世代計算科学研究開発プログラム

次世代生命体統合シミュレーション研究推進グループ 臓器全身スケール研究開発チーム

1. 本課題の研究の背景、目的、関係するプロジェクトとの関係

心筋梗塞, 脳梗塞等の原因となる血栓形成の初期過程では, 血液中に存在する血小板の血管内壁への凝集が起きる. 1 個の血小板表面には膜糖タンパク GPIb α (glycoprotein Ib α) が 1 万 5 千から 2 万个存在している. この GPIb α は血管内壁の損傷部位に吸着している vWF (von Willebrand Factor) と結合することによって血小板を血管壁へと吸着させる. この GPIb α と vWF による血管壁への血小板の吸着は一次凝集と呼ばれる可逆的なプロセスである. 本課題ではこの血小板の一次凝集について分子論的アプローチによる解析から, 血小板-血管壁吸着モデルを構築する. そして, 臓器全身スケール研究開発チーム及び細胞スケール研究開発チームが中心となって開発を進めている血栓シミュレーターで行っている血流のシミュレーションへと繋ぐマルチスケールシミュレーションを行い, 血栓症の診断や創薬への応用を試みる.

2. 具体的な利用内容、計算方法

血小板表面の二次元格子モデルを構築し, 血小板表面に存在する GPIb α の挙動について, 動的モンテカルロ法(kinetic Monte Carlo; kMC) による解析を行った. kMC を用いる事によって血小板表面に存在する GPIb α の細胞膜上での拡散, vWF との結合の形成, 及び切断の現象を統計的に取り扱うことが可能となり, GPIb α -vWF 結合数の時間発展を求めることができる. 平均的な血小板の表面積の 1/5 に相当する 1500nm \times 1500nm の領域を考え, その中心部に拡散速度を制御することによって 300nm \times 300nm の GPIb α 局在領域を設定した (図 1). 計算領域中に 4000 個の GPIb α 及び 3600 個の vWF を配置した. GPIb α -vWF 結合モ

デルとして, 結合をバネ定数 k のバネで表現し, その結合力 $f_b=k(l-l_0)$ と書けると仮定する Dembo らのモデル(M. Dembo et al., 1988)を採用し, 結合形成の rate, k_f , 及び切断の rate, k_r として以下の式を用いた.

$$k_f = k_f^0 \exp\left\{-k_{ts}(l-l_0)^2/2k_bT\right\}$$

$$k_r = k_r^0 \exp\left\{(k-k_{ts})(l-l_0)^2/2k_bT\right\}$$

ここで l , l_0 , k_f^0 , k_r^0 , k_{ts} , k_b , T はそれぞれ, 血小板表面-血管壁間の距離, 釣合い位置での距離バネの釣合い位置での結合の形成, 切断の rate, 遷移状態におけるバネ定数, ボルツマン定数, 温度である. k_r^0 , k_{ts} , k については Kim らの実験結果(J. Kim et al., 2010) から値を決定し, k_f^0 については実験, 計算による値の決定が困難であるため, 平衡定数 $K_{eq} = k_f^0/k_r^0$ をパラメータとして計算を行った.

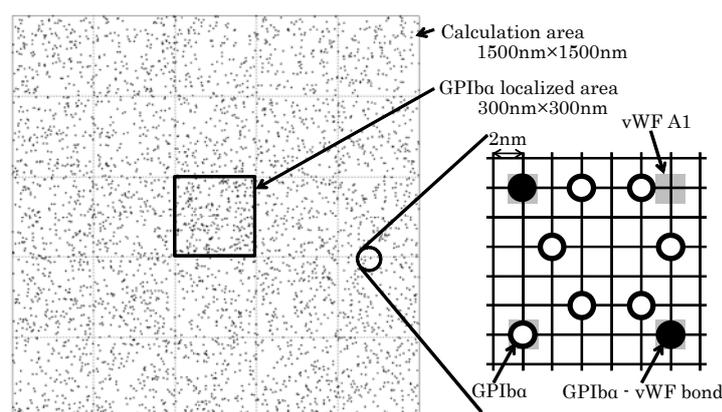
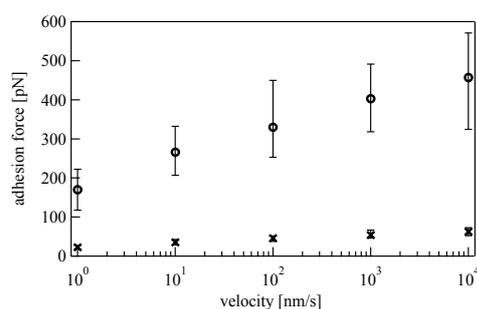


Fig. 1 kMC lattice model of a platelet surface

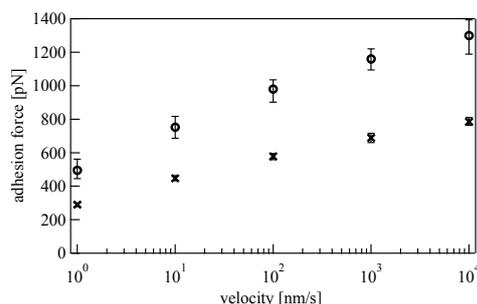
3. 結果

局在域, 非局在域の GPIb α 密度比が 10 で K_{eq} が 10 及び 1000 とした場合, $l=l_0$ の位置から 1~10000 nm/s の速さで血管壁と血小板を離していった際に両者の間に働く力の最大値を図 2 に示す. K_{eq}

が 10 の場合、局在域の吸着力は非局在域の 7 倍程度であるのに対して、 $K_{eq}=1000$ の場合は 1.7 倍程度となっている。 K_{eq} が小さい場合、即ち結合形成の rate が小さな場合は GPIb α と vWF が結合を形成しうる範囲に存在する頻度の違いが吸着力の差に大きく影響していると考えられる。この結果から局在密度比が 10 程度ある場合、血小板の血管壁への吸着には血小板表面の GPIb α の局在化が重要な役割を果たす可能性があると考えられる。



$K_{eq} = 10$



$K_{eq} = 1000$

Fig. 2 Platelet/vessel wall adhesion force

○: localized area, ×: nonlocalized area (per 0.09 μm^2)

4. まとめ

血小板表面格子モデルを構築し、GPIb α の挙動について動的モンテカルロ法を用いた解析を行い、タンパク質スケールから血流スケールまでを繋ぐマルチスケールシミュレーションの枠組みを作成した。また、実験によって得られたパラメータを用いた解析から、血小板の吸着力を見積もり、血小板細胞膜上での GPIb α の局在化が血小板-血管壁間相互作用に有意な影響を与えている可能性があることを示した。

5. 今後の計画・展望

現在は線形バネモデルを用いてタンパク質結合

(GPIb α -vWF 結合)を表現しているが、より現実の結合に近いと考えられるタンパク質のエントロピー弾性を考慮した力学モデルを適用し、分子動力学シミュレーションを用いた GPIb α -vWF 結合のモデル化を行っていく予定である。

- RICC の継続利用を希望の場合は、これまで利用した状況（どの程度研究が進んだか、研究においてどこまで計算出来て、何が出来ていないか）や、継続して利用する際に行う具体的な内容
これまで、タンパク質結合を線形バネでモデル化し、kMC シミュレーションを行うことによって、血小板/血管壁間の相互作用を解析してきた。今後、分子動力学法を用いて GPIb α -vWF 相互作用の Potential of Mean Force を計算し、GPIb α -vWF 結合のモデル化を行い、kMC シミュレーションへと適用する予定である。

平成 23 年度 RICC 利用研究成果リスト

【国際会議、学会などでの口頭発表】

塩崎聖治, 高木周, 血小板血栓形成のマルチスケールシミュレーション, 流体力学会年会 2011, 東京, 2011 年 9 月

塩崎聖治, 伊井仁志, 杉山和靖, 高木周, 動的モンテカルロ法による血小板-血管壁相互作用の解析, 第 25 回分子シミュレーション討論会, 東京, 2011 年 11 月

塩崎聖治, 伊井仁志, 杉山和靖, 高木周, 松本洋一郎, 分子論的アプローチによる血小板一次凝集の解析, 第 25 回数値流体力学シンポジウム, 大阪, 2011 年 12 月