

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

所属 : 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

心筋梗塞や脳梗塞等の血栓症の原因となる血栓は血液中の血小板、赤血球、フィブリン等で構成されている。動脈中では、血管内での血小板血栓の形成が血液の凝固系を活性化し、血栓の形成が進行する。血小板血栓の形成初期過程は、血小板の血管壁への吸着であり、これを血小板一次凝集と言う。この一次凝集は血小板表面に存在する膜糖タンパク GPIba (glycoprotein Iba) と血管内皮細胞が損傷し、コラーゲンが曝露している部分に存在している vWF (von Willebrand Factor) の A1 domain と呼ばれる部位との結合によって為される。2~4 μm の円盤形をしている血小板表面には 1 万 5 千から 2 万个程度の GPIba が存在しており、血管内壁との吸着面では複数の GPIba-vWF 結合が形成、切断を繰り返している。本研究ではこの血小板一次凝集について、GPIba-vWF 相互作用のタンパク質スケールから、血小板一次凝集の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を念頭に置き、血小板/血管壁吸着モデルの構築を行っている。我々はこれまで GPIba-vWF 結合をバネで近似したモデルを用いた解析を行ってきており、現在、よりタンパク質の力学特性に近いエントロピー弾性モデルを用いた解析、及び分子動力学法を用いて結合のモデル化を試みている。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/血管壁接触面について、Fig. 1 に示した相互作用モデルを考えた。GPIba は血小板細胞膜上を拡散しているとし、vWF は血管壁に固定されており、vWF と結合を形成している GPIba については、拡散せず、膜上を移動しないとした。また、vWF 近くの GPIba は k_f の rate で vWF との結合を形成し、GPIba-vWF 結合は k_r の rate で切断されるとした。一辺 1500nm の周期境界条件を適用した正方形の計算領域を考え、その中央部に 300nm 四方の GPIba 局在領域を設定した。この局在領域は GPIba の蛍光観察でその存在が確認されており、血小板/血管壁間の相互作用に大きな影響を与えている可能性が指摘されているものである。計算領域において 2nm 間隔の格子を考え、GPIba はその格子点上を移動するとした。計算領域中には vWF との結合を形成できる格子点を 3600 カ所均等に配置し、4000 個の GPIba を考え、kinetic Monte Carlo 法を用いて解析を行った。なお、ここではタンパク質結合のモデル k_f 及び k_r として従来よく用いられる線形バネモデルと、タンパク質の力学特性をよく再現できるエントロピー弾性を考慮したモデルである Worm-like Chain (WLC) モデルを用いて構築したモデルを比較した。

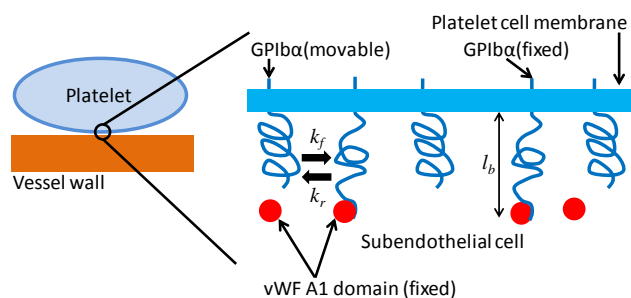


Fig. 1 Schematic illustration of platelet/vessel wall interface.

3. 結果

血小板の吸着力の静的な応答を調べるために、血小板-血管壁間の距離 l_b を固定し、GPIIb/IIIa の分布及び結合の数が平衡状態になるまで計算を行い、結合数と個々のタンパク質結合の力から吸着力の時間平均を求めた。 $l_b=0$ から 50nm まで 1nm 間隔で計算を行い Fig.2 に示す吸着力のプロファイルを得た。ここでは GPIIb/IIIa 局在領域の密度が通常領域の 5 倍かつ平衡定数が 1×10^3 の場合について示す。青線は線形バネモデル、赤線は WLC モデルを用いた場合で、実線は計算領域中の局在域 ($0.09 \mu\text{m}^2$) での吸着力であり、点線は $0.09 \mu\text{m}^2$ に相当する非局在域での平均の吸着力である。血小板-血管壁間の距離が大きくなるに従って、結合の本数が維持されたまま GPIIb/IIIa-vWF の 1 本 1 本の吸着力が大きくなるため、始めは全体の吸着力が大きくなる。しかしながら、 k_r は小さく、 k_t は大きくなるため、ある時点から結合の数が減少していき、全体の吸着力は急激に小さくなった。WLC モデルを用いた場合、線形バネモデルを用いた場合よりも、吸着力の最大値は小さくなったが、より離れた距離まで結合が維持された。光ピンセットや AFM を用いた引っ張り試験の結果から、タンパク質の力学特性は WLC モデルでよく表現できることが知られている。線形バネモデルはタンパク質の結合部分に重点を置いたモデルであるため、WLC モデルよりも硬く切れやすいモデルとなっていることが分かる。

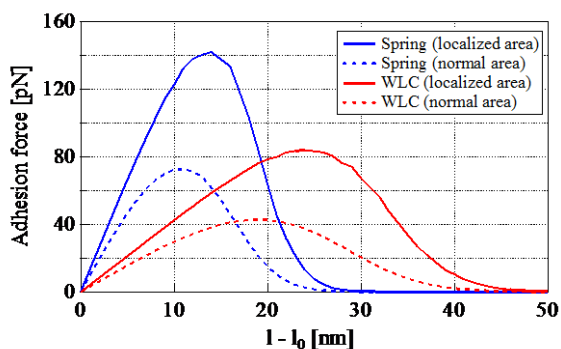


Fig.2 Profile of the adhesion force between a platelet and vessel wall.

4. まとめ

タンパク質結合のエントロピー弾性を考慮した結合・切断モデルを提案し、動的モンテカルロ法を用いた解析によって血小板と血管壁との間のタンパク質結合の本数を統計的に評価し、その吸着力を求め、線形バネモデルとの比較を行った。

5. 今後の計画・展望

現在、タンパク質間相互作用について分子動力学法を用いた解析を行っており、今後、Potential of Mean Force を用いて GPIIb/IIIa-vWF 結合モデルを構築していく予定である。

平成 24 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】

S. Shiozaki and S. Takagi, "Kinetic Monte Carlo Simulation of Platelet Adhesion on a Vessel Wall", 10th World Congress on Computational Mechanics, July 2013, Sao Paulo.

塩崎聖治, 高木周, "分子論的アプローチによる血小板-血管壁間相互作用の解析", 日本機械学会 2012 年度年次大会, 2013 年 9 月, 金沢.