

# 医薬品の心毒性アッセイ

xCELLigence RTCA CardioECR システム

xCELLigence RTCA Cardio システム



iPS 由来心筋細胞を用いた

医薬品心毒圧試験 / 病態モデル実験に

# 心筋細胞の研究を推進する 2 モデル

Agilent Technologies社は、医薬品の安全性評価、循環器疾患の薬理研究と薬剤スクリーニング、心筋症モデル細胞の評価等に最適な 2 種類の優れた装置を提供しています。

- xCELLigence RTCA Cardio システム (p 1~2) :  
➔ 心筋細胞の拍動 (収縮) と生存活性の測定
- xCELLigence RTCA Cardio ECR システム (p 3~5) :  
➔ 心筋細胞の拍動 (収縮)、イオンチャネル活性、生存活性の測定および iPS 由来心筋細胞の成熟化

## xCELLigence RTCA Cardio システム

xCELLigence RTCA Cardioシステムは、独自の微小バイオセンサー技術 (特許取得) を用いて、ウェルの電気抵抗値をラベルフリーでリアルタイムに測定します。電気抵抗値の変化から、心筋細胞の収縮特性の変化 (違い) と細胞生存活性をご評価いただけます。医薬品の心毒性評価と心筋症モデル細胞の評価のどちらにも優れたシステムです。

### 高速測定 :

電気抵抗値の取得時間間隔は 12.9 ミリ秒です。

心機能の本質である心筋細胞の収縮 (ポンプ機能) を確実にモニタリングします。

### ラベルフリー :

アーチファクトを生じる可能性のある電位感受性蛍光色素を使用せずに非標識で測定します。

また、細胞をプレートに播種して薬剤等を加えるだけのシンプルな実験作業での測定を可能にします。

### 短期から長期まで :

短期の毒性から、長期 (数日あるいは数週間) の毒性まで同一ウェルから連続的に測定できます。

### ハイスループット :

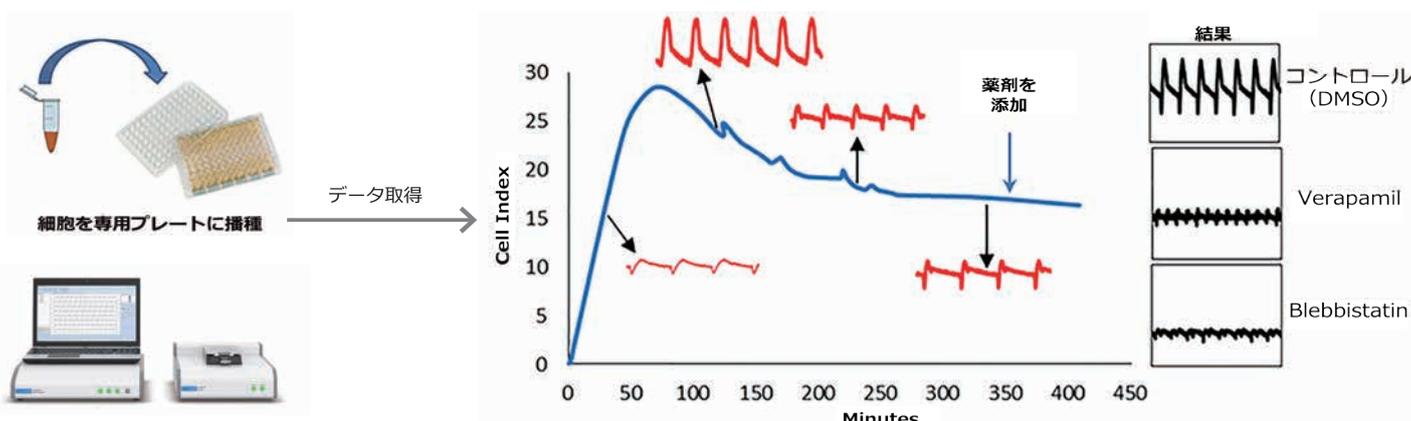
96 ウェルを同時に測定できるため、多くの薬剤や多くの iPS 由来心筋細胞を同時に評価可能です。

リード化合物のスクリーニングやリード最適化にもお使いいただけます。

### コンパクト :

標準サイズの CO<sub>2</sub>/ マルチガス インキュベーターに入れたまま生理的な条件下で測定できます。

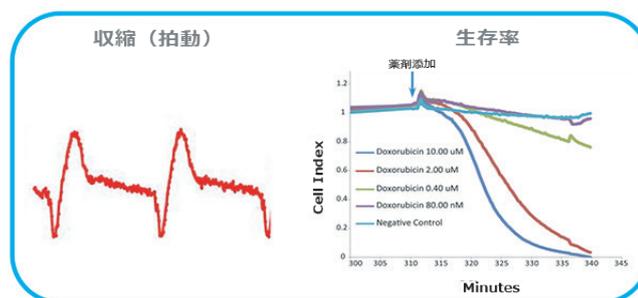
## 簡単ワークフロー : 細胞をプレートに播くだけ ! 手放しで測定できます

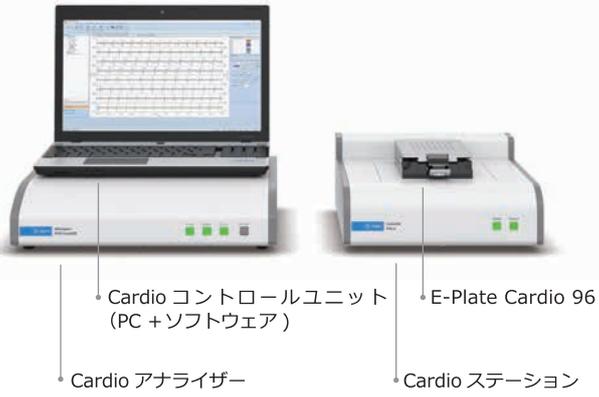


- 心筋細胞の収縮 (拍動) : ミリ秒単位の変化

- 心筋細胞の生存率 : 数日単位の変化

を同一ウェルから同時に評価

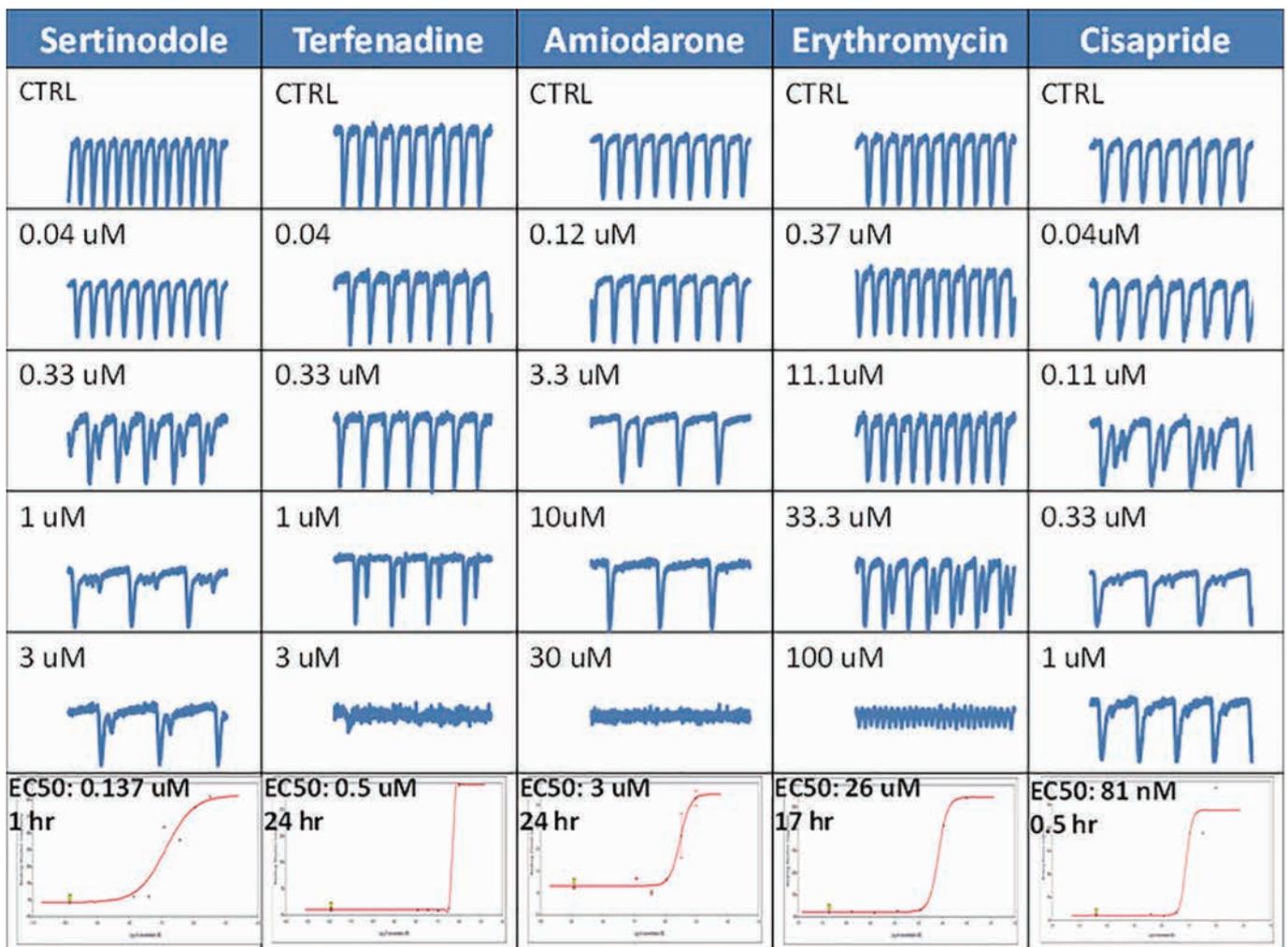




Cardio 温度コントロールツール  
 専用プレート (E-Plate Cardio 96) を  
 ステーションから外してクリーンベンチ  
 内で細胞を播種したり薬剤を加える間も  
 温度を 37℃ に保つことができます。

## 催不整脈などの毒性を高いPredictivityで予測します

xCELLigence RTCA Cardio システムを用いると、開発中の化合物の心毒性を簡単な操作で効率的にスクリーニングしていただけます。高速電気抵抗値測定により拍動の変化を経時的に評価することで催不整脈や収縮力変化などの毒性を見落とさずに検出できることが既に多くの論文で報告されています。



5種類のイオンチャネル・モジュレーター毒性をxCELLigence RTCA Cardio システムで評価しました。ヒトiPS由来心筋細胞を濃度の異なる各テスト化合物で処理し、30分から24時間後の電気抵抗波形からEC<sub>50</sub>を算出しました。  
 ※上記の化合物以外にも多くのテスト化合物で測定の実例があります。

## xCELLigence RTCA CardioECR システム

xCELLigence RTCA CardioECR システムでは、電気抵抗値の測定に加えて細胞外電位の測定が可能です。電気抵抗値と細胞外電位は同一ウェルから同時に取得することができます。細胞外電位を測定することで、収縮変化の裏にある電気生理学的メカニズムに直結するデータを得ることができるだけでなく、QT間隔やEADなどの評価が可能になります。また、ペーシング機能を活用してiPS由来心筋細胞の成熟化を図ることができます。

### マルチパラメーター測定：

xCELLigence RTCA CardioECR システムは、心筋細胞のイオンチャネル活性、収縮力変化、生体活性を同一ウェルから同時にモニターできる唯一の装置です。

### 電氣的興奮と収縮をリンク：

薬剤によるイオンチャネル活性の変化と、その下流にある収縮の変化（ポンプ機能の変化）を、時間差なしで同時にモニタリングできます。

### ペーシング機能：

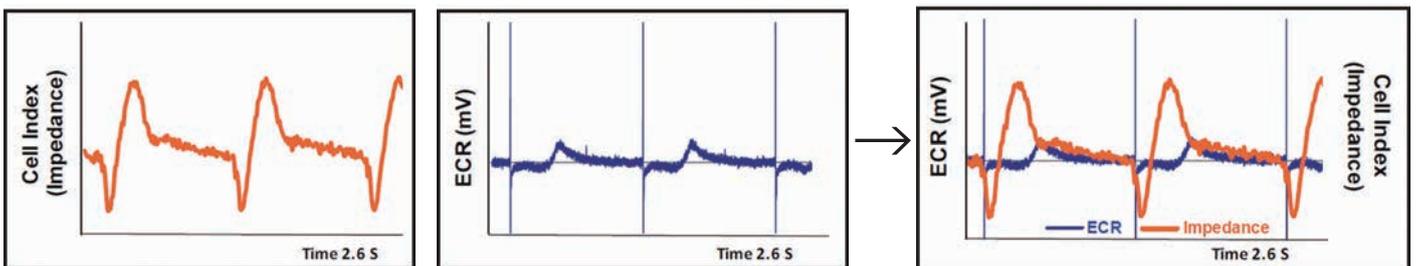
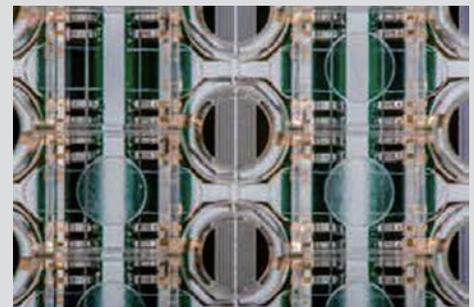
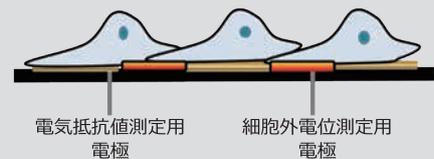
- 電気刺激ペーシング機能を使用することで、胎児期に近い性質をもつ iPS 由来心筋細胞を成熟化させることができます。収縮力に影響を与える変力作用薬剤の毒性評価に極めて有効な機能です。
- ペーシングによりウェル間での拍動のタイミングのズレや拍動数のバラつきがなく、安定した結果を得ることができます。

## テクノロジー

xCELLigence RTCA CardioECR システムでは、専用の電極付48ウェルプレート(CE-Plate CardioECR 48)を用いて、電気抵抗値と細胞外電位(フィールドポテンシャル)を同時に測定します。

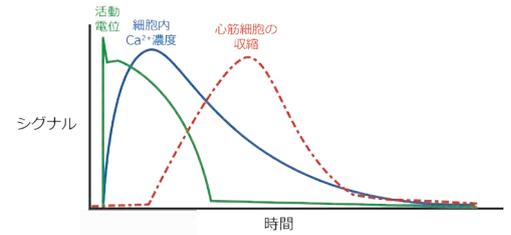
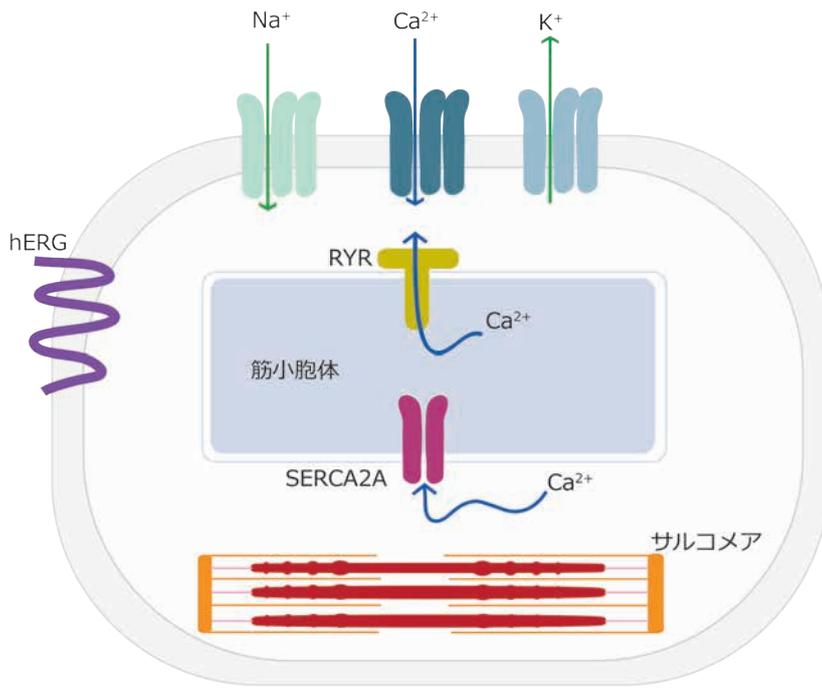
E-Plate CardioECR 48には、各ウェルの底面に2種類の電極、電気抵抗値測定用電極と細胞外電位測定用電極が配されています。細胞を播種したプレートをCO<sub>2</sub>インキュベーター内に設置したステーション・モジュールに載せて測定を開始すると、各ウェルの電気抵抗値と細胞外電位が自動的に記録され、コントロールPCのソフトウェア画面にその波形がリアルタイムに表示されます。測定間隔はわずか2ミリ秒(24ウェルまでなら1ミリ秒)なので、心筋細胞の収縮やイオンの流入出のような高速で起こる現象を見逃さずに確実に捉えることができます。

ミリ秒スケールの電気抵抗値の波形変化から心筋細胞の収縮の変化、同じくミリ秒スケールの細胞外電位の変化からイオンチャネル活性の変化、数日にわたる電気抵抗値の変化から細胞生存率の変化を読み取り、定量化します。



xCELLigence RTCA CardioECR システムのCardioECR ソフトウェアを用いることで、電気抵抗値のデータと細胞外電位のデータを重ね合わせるすることができます。収縮の動きと電気生理学的な活性を関連付けて解析することで、薬剤投与等による影響を表現型（拍動変化）とメカニズム（イオンチャネル活性の変化）の両面から考察することが可能です。

## ■ 心筋細胞の電氣的興奮と収縮を同時に測定



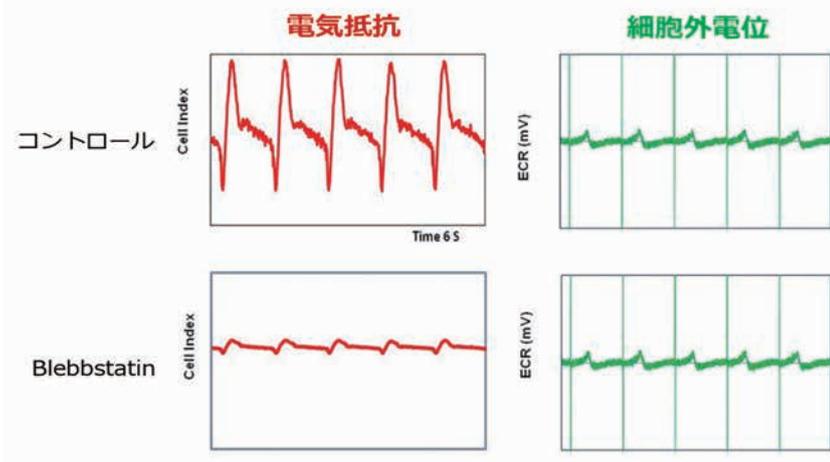
### 心筋活動電位と心筋細胞の収縮・弛緩

電位依存性 Na チャネルの開口により細胞外ナトリウムイオンが細胞内に流入して脱分極します (Na スパイク)。それに続いて細胞外カルシウムイオンが細胞内に流入すると、筋小胞体の Ca 依存性 Ca チャネルが開き、小胞体のカルシウムイオンが細胞質に放出されて細胞質のカルシウムイオン濃度が上昇します。その結果としてサルコメアが短縮し収縮が起こります。遅延整流性 K チャネル (hERG チャネル) によりカリウムイオンが細胞外に放出されて再分極すると弛緩が起こります。

xCELLigence RTCA CardioECR システムは、電気抵抗値と細胞外電位を同時測定することで、このExcitation-Contraction Coupling (興奮収縮連関) を測定することができます。

左図では、Blebbistatin (ミオシン阻害剤) に曝露した iPS由来心筋細胞の電気抵抗波形と細胞外電位波形をコントロールと比較しています。Blebbistatinへの曝露により、細胞外電位、つまりイオンチャネル活性は変わらずに収縮の阻害だけが起きていることが捉えられています。

このように、xCELLigence RTCA CardioECR システムは細胞外電位の測定だけでは捕まえない毒性を捉え、そのメカニズムに迫ることを可能にします。



## xCELLigence RTCA CardioECR ソフトウェア

xCELLigence RTCA CardioECRのための専用ソフトウェアです。心毒性評価、薬剤スクリーニング、病態モデル細胞の評価などのすべてのアプリケーションにお使いいただける包括的な解析ツールです。

### 定量化とレポート作成

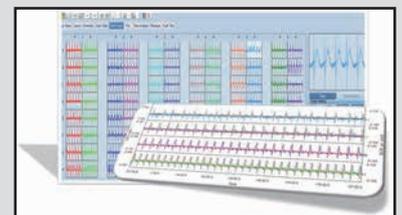
電気抵抗波形 (収縮波形) とフィールドポテンシャル波形から細胞の収縮 (拍動) とイオンチャネル活性に関する様々な定量的パラメータを算出し、自動でレポートを作成できます。

### 細胞のクオリティコントロール (QC)

プレートに播種した細胞の状態をモニタリングすることで、エラーウェルを容易に見つけ出すことができます。また、細胞が薬剤添加に適した状態かどうかを確認していただくことができます。

### 処理間 (細胞間) での視覚的な比較を容易に

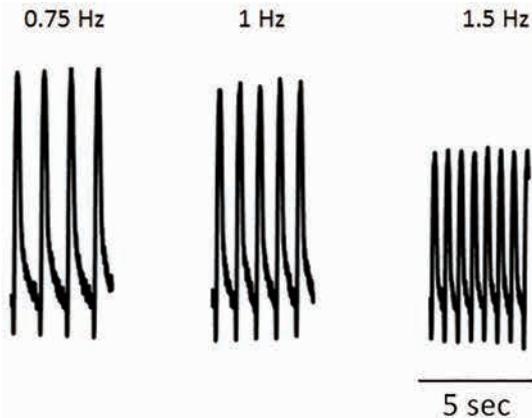
電気抵抗波形 (収縮波形) とフィールドポテンシャル波形を自動で重ね合わせて、ウェル間や実験群間のデータを並べて表示することで、薬剤曝露の影響や細胞株間の違いを視覚的に容易に比較していただくことができます。



## ■ お使いのiPS由来心筋細胞は成熟していますか？

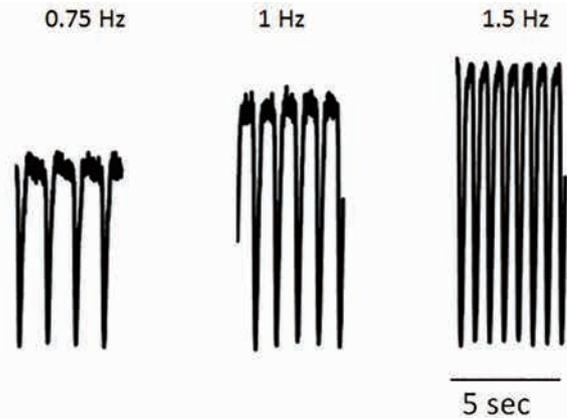
### <ペーシングしていない iPS 由来心筋細胞>

収縮力（収縮の強さ）と Frequency の間に負の相関がある  
(Negative Force-Frequency Relationship)



### <ペーシングした iPS 由来心筋細胞>

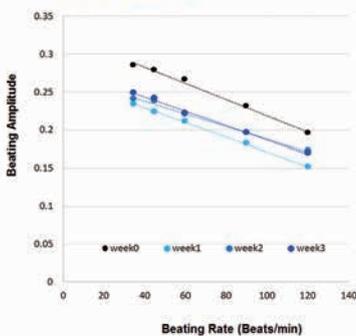
収縮力（収縮の強さ）と Frequency の間に正の相関がある  
(Positive Force-Frequency Relationship)



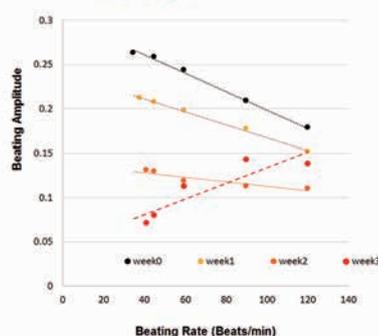
- iPS由来心筋細胞は胎児期の心筋細胞の性質を持つことが多く、このことが医薬品の心毒性予測での使用、特に変力作用薬剤の毒性予測を困難にしています。
- 上図左のように、細胞骨格やカルシウム・ハンドリング機構が十分に発達していないiPS由来心筋細胞では、収縮力とfrequencyの間に負の相関があります(negativeforce-frequency relationship)。
- xCELLigence RTCA CardioECR システムを用いて長期の電気ペーシングを行うことで、iPS由来心筋細胞の成熟度を高め、機能を改善することができます。上図右のように、適切にペーシングを行った細胞は成熟心筋細胞の特性であるpositiveforce-frequency relationshipを示します。

### Beating AmplitudeとBeating Rateの関係

ペーシングしていないiPS由来心筋細胞

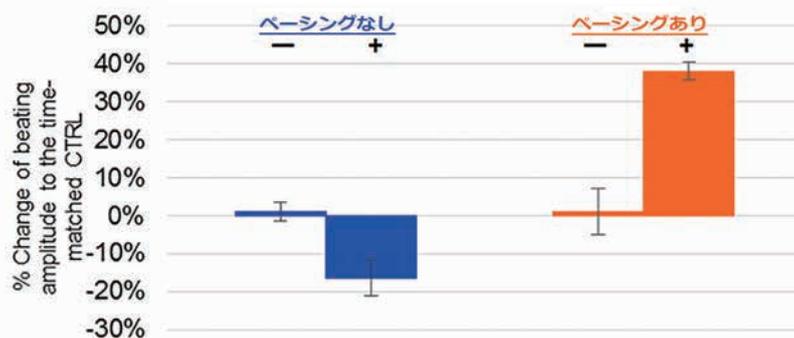


ペーシングしたiPS由来心筋細胞



xCELLigence RTCA CardioECR システムを用いて電気抵抗値をリアルタイムにモニタリングし、iPS由来心筋細胞におけるBeatingAmplitudeとBeatingRateの関係を長期にわたり追跡しました。右が電気ペーシングをかけた細胞におけるデータです。培養前とペーシング開始2週間後までは負の相関を示しますが、ペーシング開始3週間で関係が逆転し正の相関を示しました。左のコントロール条件下(ペーシングなし)では、すべての培養期間にわたって負の相関が維持されました。

### Beating Amplitudeの%変化



Isoproterenol（陽性変力作用薬剤）への曝露が Beating amplitude にもたらす変化を、ペーシングしていない iPS 由来心筋細胞とペーシングした iPS 由来心筋細胞と比較しました。

ペーシングを行わないと Isoproterenol 曝露により Beating Amplitude が減少しましたが、ペーシングを行った細胞では Beating Amplitude が増加し、Isoproterenol の本来の反応をみることができました。

(+) Isoproterenol 添加あり  
(-) Isoproterenol 添加なし

## Cardio と CardioECRの比較

	Cardio	CardioECR	
インキュベーター内での測定	✓	✓	
<b>システム</b>			
電気抵抗値の測定	✓	✓	
細胞外電位測定		✓	
電気刺激ペーシング		✓	
<b>デバイス</b>			
対応プレート	96 ウェル (E-plate Cardio 96)	48 ウェル (E-plate CardioECR 48)	
<b>アプリケーション</b>			
細胞接着と細胞増殖 (生存活性) の測定	✓	✓	
収縮 (拍動) の測定	✓	✓	
細胞外電位 (イオンチャネル活性) の測定		✓	
急性毒性の測定 (seconds to minutes)	✓	✓	
長期毒性の測定 (hours to days)	✓	✓	
<b>データ取得</b>	データ取得間隔	12.9 ミリ秒毎 (96 ウェル)	1 ミリ秒毎 (24 ウェルまで) 2 ミリ秒毎 (48 ウェル)
	細胞外電位サンプリングレート	-	10 kHz
	取得できるデータの種類の	電気抵抗値	電気抵抗値と細胞外電位 (同時測定)
<b>電気刺激</b>	刺激電圧の範囲	-	-2.5 V to +2.5 V
	フォーマット	-	48 ウェル同時刺激



## xCELLigence RTCA CardioECR

製品番号	品名
380601210	xCELLigence RTCA CardioECR システム RTCA CardioECR アナライザー1台 RTCA CardioECR ステーション1台 RTCA CardioECR コントロールユニット (ラップトップPC+ソフトウェア) 1式 アクセサリ1式
300601110	E-Plate CardioECR 48 (1×6プレート)
300601120	E-Plate CardioECR 48 (6×6プレート)

## xCELLigence RTCA Cardio

製品番号	品名
380601060	xCELLigence RTCA Cardio システム RTCA Cardio アナライザー1台 RTCA Cardio ステーション1台 RTCA Cardio コントロールユニット (ラップトップPC+ソフトウェア) 1式 アクセサリ1式
300601050	E-Plate Cardio 96 (1×6プレート)
300601060	E-Plate Cardio 96 (6×6プレート)
300601080	E-Plate Cardio VIEW 96 (1×6プレート)
300601090	E-Plate Cardio VIEW 96 (6×6プレート)



xCELLigence RTCA Cardioシステム



xCELLigence RTCA CardioECRシステム



※ 本製品は試験研究用です。医療や診断目的にはご使用いただけません。  
※ 価格、外観、仕様などは、予告なしに変更することがあります。  
※ それぞれの商標や登録商標、製品名は各社の所有する名称です。

代理店

国内販売元



株式会社 スクラム

本社 〒135-0014 東京都江東区石島 2-14  
Imas Riverside 4F  
Tel. (03)6458-6696 Fax. (03)-6458-6697  
西日本営業所 〒532-0003  
大阪市淀川区宮原5-1-3 NLC新大阪アースビル403  
Tel. (06)6394-1300 Fax. (06)6394-8851  
Web Site : [www.scrum-net.co.jp](http://www.scrum-net.co.jp)

AG20220112E