

リアルタイム細胞アナライザー

xCELLigence RTCA Cardio シリーズ

iPSC 由来心筋細胞を用いたアッセイに



iPSC 由来心筋細胞を用いた 医薬品の心毒性試験や心筋症モデル実験に

ヒトiPS細胞から分化させた心筋細胞は、様々な分野でその有用性が確認されています。

- 医薬品の心毒性評価と予測
- 心筋症の疾患モデル開発
- 心疾患に対する薬剤開発

アジレント・テクノロジー社（旧ACEA Biosciences社）が製造販売するxCELLigence RTCA Cardio シリーズは、心筋細胞の機能的な本質である拍動特性と細胞生存率をラベルフリーで簡便に測定します。

薬剤処理直後の変化から、数日・数週間にわたる変化まで、心筋細胞の健康状態あるいは薬剤の心毒性をリアルタイムに自動で記録します。

測定はCO₂インキュベーターの中で、細胞の生理学的な状態を損なわずに行うことができます。

xCELLigence Cardioシリーズには、機能とスループットの異なる3モデルがラインナップされています。



目的に応じて選ぶ3モデル



	RTCA CardioECR	RTCA Cardio	RTCA ePacer
収縮測定	○	○	○
細胞生存率測定	○	○	○
細胞外電位測定	○		
電気ペーシング	可	不可	可
スループット	48 ウェル 1 枚	96 ウェル 1 枚	96 ウェル 6 枚

シンプルなワークフロー

xCELLigence Cardio シリーズのワークフローはとてもシンプルです。

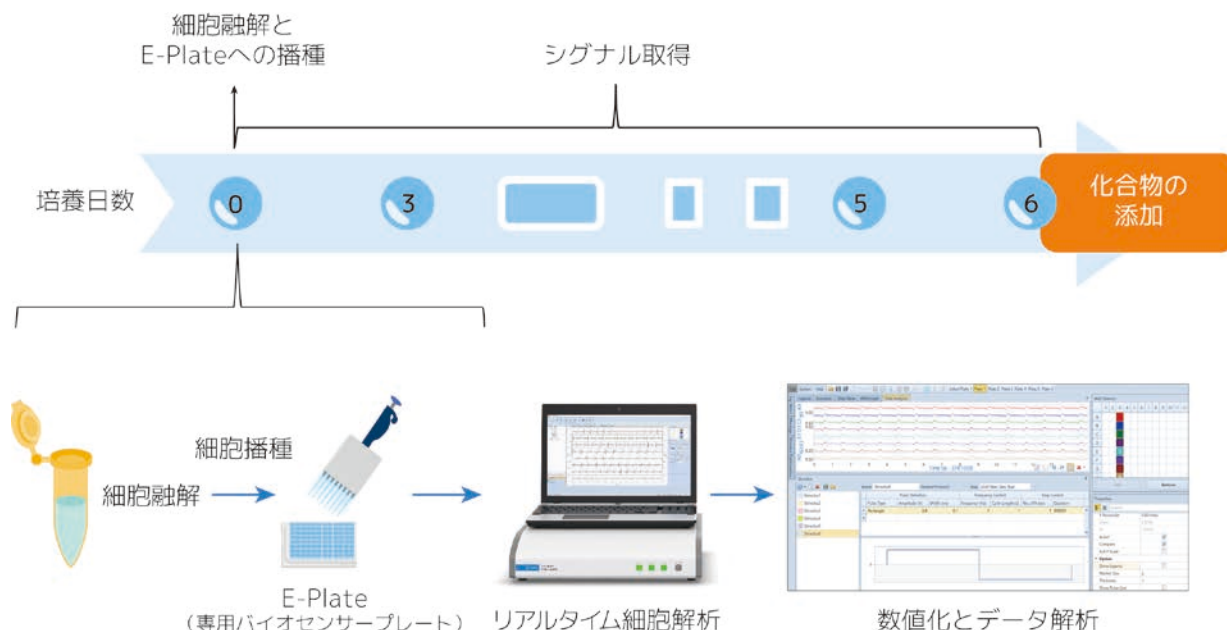
心筋細胞（iPSC 由来心筋細胞）の凍結ストックを融解してセルカウント後に専用プレートに播種し、培地交換しながら細胞を育てます。細胞の状態をソフトウェア上で常にモニタリングできます。

細胞の周期的な安定した拍動が確認できた時点で薬剤処理などを行います。

その後の測定はすべてラベルフリーで行われ、心筋細胞の生存率、収縮特性、あるいは細胞外電位の変化を自動でレコーディングします。

図には示していませんが、測定は CO₂ インキュベーターの中で細胞を生理学的な状態に維持したまま行われます。

FUJIFILM Cellular Dynamics 社の iCell® Cardiomyocytes² など、いくつかの市販 iPSC 心筋細胞については、推奨実験プロトコルをご利用いただけます。



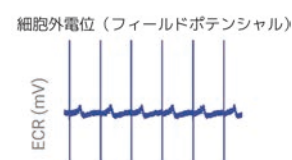
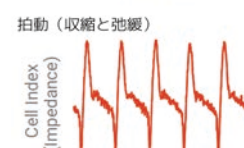
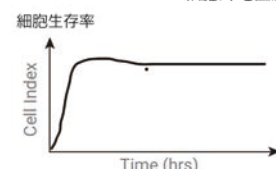
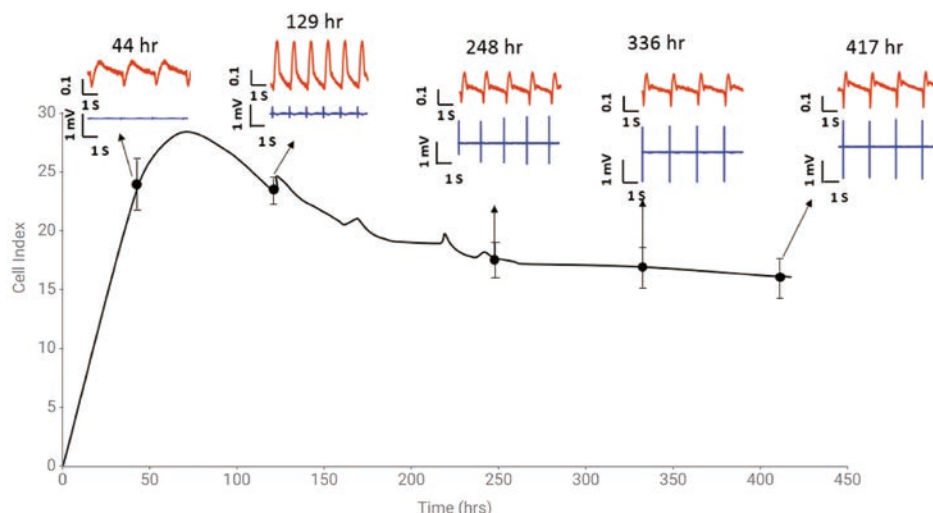
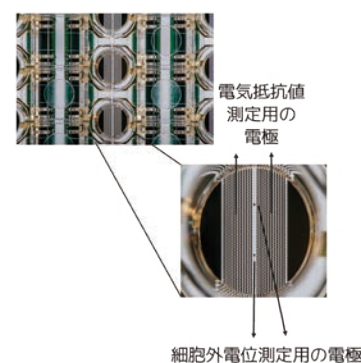
得られるデータ

xCELLigence Cardio シリーズでは、専用のバイオセンサープレート（E-Plate）を用いて測定を行います。

E-Plate のウェル底面は、その 70% 以上がインピーダンス（電気抵抗値）測定用の電極で覆われています。

インピーダンスの長期にわたる全体的な変化は細胞生存率を反映します。秒単位での動きは細胞の拍動（収縮と弛緩）を反映します。

xCELLigence CardioECR 用の E-Plate では、ウェルの中心に細胞外電位測定用の電極があり（右図）、インピーダンスに加えてフィールドポテンシャルの測定も可能です。



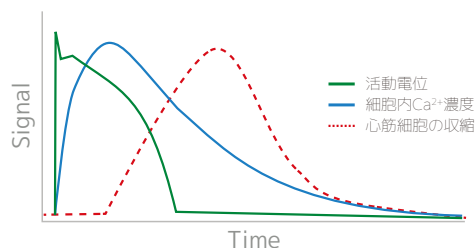
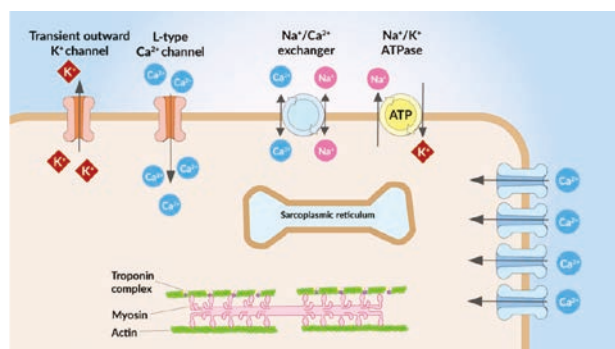
心筋細胞の電氣的興奮と収縮

心臓の機能はポンプとして血液を全身に送り出し、循環させることにあります。この機能は心筋細胞のリズミカルな収縮と弛緩により達成されます。

xCELLigence Cardio シリーズの 3 モデルは、この心筋細胞の収縮特性をラベルフリーでリアルタイムに測定し、収縮力、収縮頻度と速度、収縮の規則性に関わる様々なパラメーターを数値化します。

この心筋細胞の収縮と弛緩は、細胞内外および筋小胞体と細胞質の間のイオンの出入りの結果として起こります（興奮 - 収縮連関、Excitation-Contraction Coupling; ECC）。

xCELLigence Cardio シリーズの中の xCELLigence CardioECR システムは、心筋細胞の収縮・弛緩と同時に同じウェルから細胞外電位を記録することで、心筋細胞の収縮の基礎となるイオンチャネル活性を同時に知ることが可能になります。



細胞膜上の電位依存性 Na チャネルの開口により、細胞外 Na イオンが細胞内に流入して脱分極します（Na スパイク、あるいは活動電位）。

脱分極によって細胞外 Ca イオンが細胞内に流入すると、それが引き金となって筋小胞体のカルシウム依存性 Ca チャネルが開き、筋小胞体の Ca イオンが細胞質に放出されて細胞質の Ca^{2+} 濃度が急激に上昇します。Ca イオンがサルコメアの筋収縮タンパク質（アクチン、ミオシン）に結合し、筋収縮が起こります。

遅延整流性 K チャネル（hERG チャネル）により K イオンが細胞外に放出されて再分極すると心筋細胞の弛緩が起こります。

xCELLigence CardioECR システムは、心筋細胞の電気生理学的変化と収縮性の変化を同一ウェルから同時に測定します。

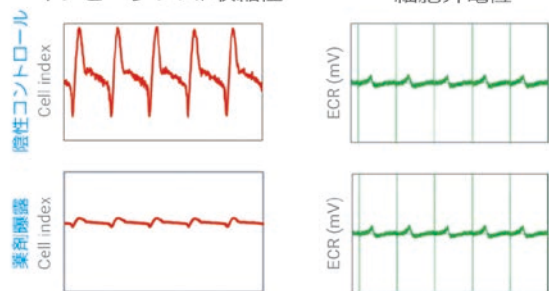
左図の例では、ミオシン阻害剤である Blebbistatin に iPSC 心筋細胞を曝露し、インピーダンス（電気抵抗値）と細胞外電位の変化を測定しました。

Blebbistatin 曝露により、イオンチャネル活性は影響を受けないのに対し、心筋細胞の機械的収縮が損なわれていることがわかります。

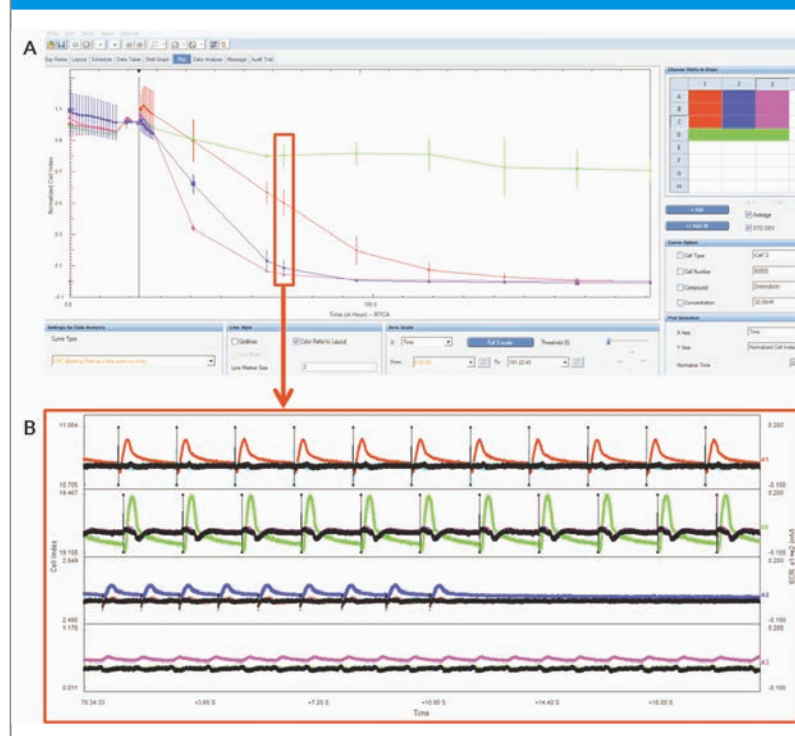
心筋細胞の電気興奮 - 収縮連関を知ること、開発中の薬剤の心筋細胞に対する影響をポンプ機能とメカニズムの両面から包括的に評価することが可能になります。

インピーダンス/収縮性

細胞外電位



ソフトウェア解析



xCELLigence Cardio シリーズには、それぞれのモデルに応じて、データ取得から解析までをカバーする先進のソフトウェアが標準付属します。

数値解析とレポート作成

電気抵抗値データから、心筋細胞の収縮性に関する様々な定量データ（Beating Amplitude、Beating Rate、Beating Period、Beating Rhythm Irregularity など）を算出できます。CardioECR ソフトウェアでは、細胞外電位データから、Field Potential Duration (FPD) や Corrected FPD (FPDc)、あるいは発火回数や発火規則性などのデータを算出できます。

薬剤投与前の細胞 QC

プレートに播種後に細胞の状態を常に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定常状態にあるかどうかを確認できます。

データの視覚化

算出した数値データはソフトウェア上でグラフとしてすぐに表示してエクスポートできます。CardioECR ソフトウェアでは、電気抵抗値による収縮波形と細胞外電位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、薬剤曝露の影響を視覚的に容易に比較できます。

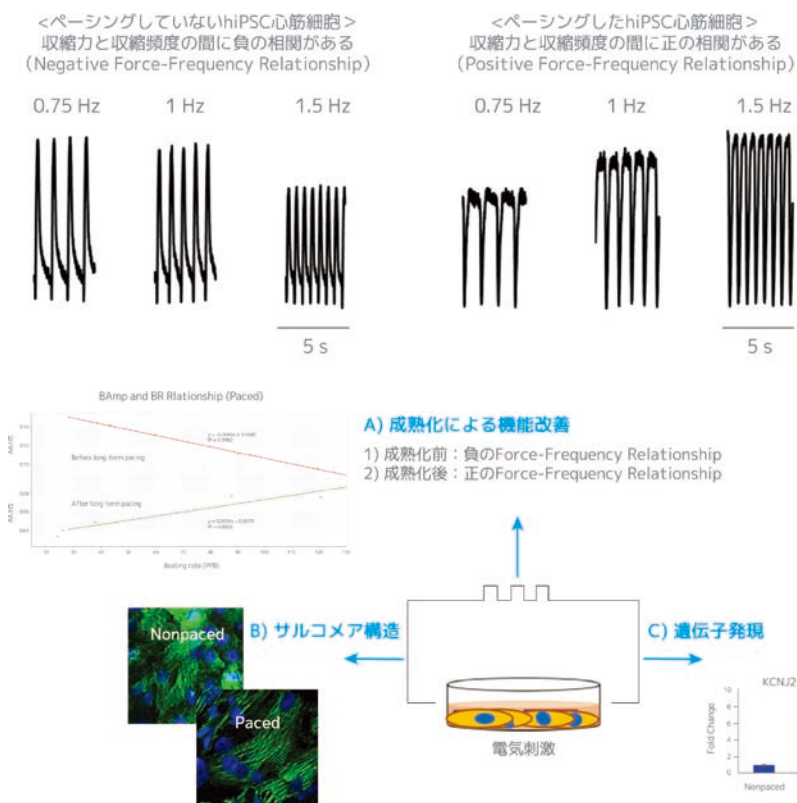
その iPSC 由来心筋細胞、成熟していますか？

iPS 細胞からの様々な細胞への分化法が既に確立され、様々なタイプの iPSC 由来細胞が市販されています。

しかし iPSC 由来細胞は成熟度に課題があることが多いことも同時に知られています。iPSC 由来心筋細胞もその 1 つです。

xCELLigence CardioECR システムと ePacer システムには電気ペーシング機能が備えられており、その機能を利用して電気刺激による心筋細胞の成熟化が可能であることが既に論文で示されています。

成熟化させた細胞は、そのまま xCELLigence CardioECR システムあるいは ePacer システムで薬剤曝露実験などを行うほかに、カルシウムイメージング装置やハイコンテンツイメージング装置での解析に供することもできます。



心筋細胞の成熟度の最も簡便かつ信頼性の高い指標に Force-Frequency Relationship (FFR) があります。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未成熟な心筋細胞では、収縮の強さと収縮頻度の間に負の関係があるのに対して、成熟した心筋細胞では正の関係があることが知られています。

xCELLigence CardioECR および ePacer では、電気ペーシングによる心筋細胞成熟化に伴う FFR の変化を測定することで、心筋細胞の成熟度をラベルフリーで簡単に評価できます。

電気ペーシング（電気刺激）によって iPSC 心筋細胞の成熟化を行い、Force-Frequency Relationship (A)、サルコメア構造 (B)、Kir2.1 (内向き整流カリウムチャネル) の遺伝子発現 (C) を調べた。

A) 2 週間の成熟化プロトコルを行うことで、Force-Frequency Relationship が負の相関から正の相関に転換した。

B) 成熟化により明瞭で整列したサルコメア構造となった（心筋トロポニン T の蛍光免疫染色）。

C) 成熟化に関連するイオンチャネル遺伝子の発現が亢進した。

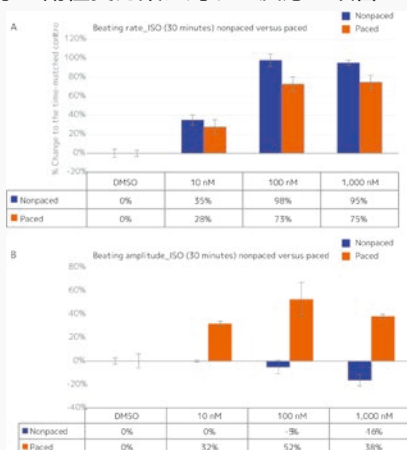
心筋細胞の成熟性と化合物の変力作用

未成熟な iPSC 由来心筋細胞は、変力薬（収縮力を変化させる薬剤）に対する反応性に課題があることが知られています。

陰性変力薬（Negative Inotrope）に対しては予想された反応（収縮力の低下）を示しますが、陽性変力薬（Positive Inotrope）に対しては逆の反応を示す、あるいは変化しないことがわかっています。

電気ペーシング（電気刺激）で細胞を成熟化することで、陽性変力薬に対しても予想された反応（収縮力の増強）を得ることが可能になります（J Pharmacol Toxicol Methods. 2023 Sep-Oct;123:107282）。

左下図は Isoproterenol (アドレナリン $\beta 1$ 受容体アゴニスト) の例です。Beating Rate (1 分間の拍動回数) と Beating Amplitude (収縮の強さ) を成熟化させた心筋細胞 (Paced) と未成熟な心筋細胞 (Nonpaced) で比較しています。右下表は、細胞成熟化による様々な作用機序の陽性変力薬に対する反応の改善をまとめたものです。



	ISO (100 nM)	Bay K8644 (67 nM)	Pimobendan (10 μ M)	Milrinone (30 μ M)	OM (600 nM)	Digoxin (100 nM)	Isradipine (10 nM)
MOA	β adrenergic receptor agonist	L-type Ca^{2+} ion channel activator	Ca^{2+} sensitizer	phosphodiesterase type-3 inhibitor	Myosin activator	Na ⁺ /K ⁺ ATP exchanger inhibitor	L-type Ca^{2+} ion channel inhibitor
Inotropic effect	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative
Impedance waveforms							
% change to the baseline (BAmp)	52 $\pm$ 14%	32 $\pm$ 5%	31 $\pm$ 6%	30 $\pm$ 9%	58 $\pm$ 15%	175 $\pm$ 35%	-47 $\pm$ 7%
% change to the baseline (BR)	73 $\pm$ 7%	-23 $\pm$ 2%	3 $\pm$ 2%	14 $\pm$ 3%	-3 $\pm$ 4%	-49 $\pm$ 30%	20 $\pm$ 2%

医薬品の心毒性試験

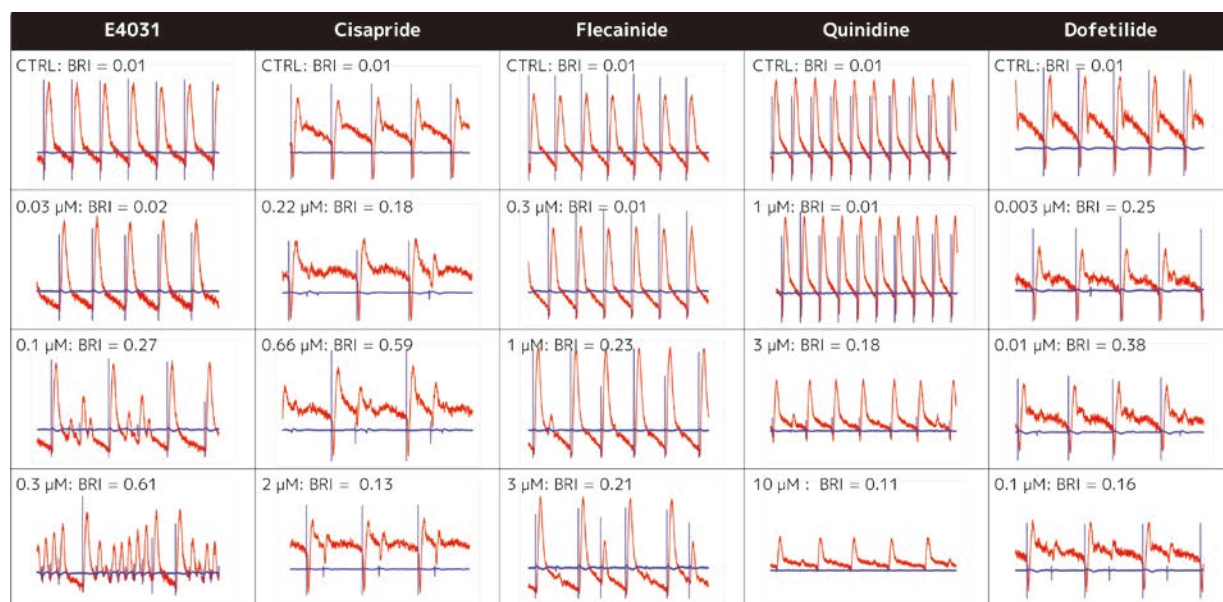
心毒性は、医薬品の開発中止あるいは市場撤退の要因の上位となっています。

心毒性の発現メカニズムには様々なものがありますが、心筋活動電位の再分極遅延による QT 間隔延長は、多形性心室頻脈（Torsades de Pointes; TdP）と呼ばれる致死性の不整脈を誘発することがあり特に重要です。

従来まで医薬品の不整脈リスクの in vitro 予測はパッチクランプ法による hERG 試験により行われていましたが、hERG チャンネル以外が原因で起こる QT 間隔延長あるいは不整脈もあるなど、臨床予測性が低いことが問題でした。

そこで、ICH S7B ガイドラインにおいて非臨床試験における QT 延長の統合的リスク評価がまとめられ、2022 年 2 月採択の Q&A の中で iPSC 由来心筋細胞による試験がフォローアップ試験の 1 つとして記載されました。

xCELLigence CardioECR システムは、FDA や HESI などにより組織された国際コンソーシアムであり ICH S7B ガイドライン改訂を主導した CiPA（Comprehensive In Vitro Proarrhythmia Assay）イニシエティブ Phase I および Phase II バリデーションテストの主要評価装置としても使用され、データ集積に貢献しました。



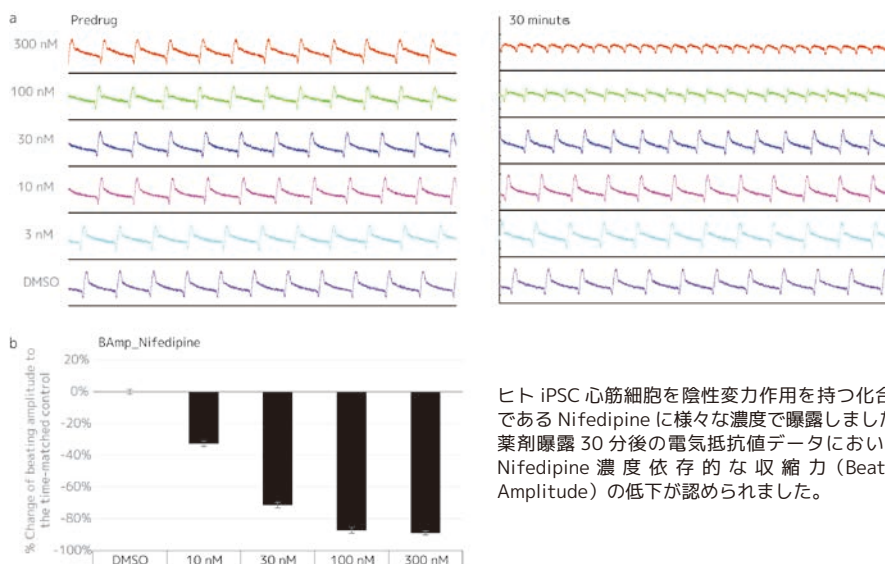
ヒト iPSC 心筋細胞を不整脈テスト化合物に曝露し、xCELLigence CardioECR システムで電気抵抗値（赤）と細胞外電位（青）の変化を記録しました。hERG チャンネルブロッカー（E4031、Cisapride、Dofetilide）および Na チャンネル/hERG チャンネルマルチブロッカー（Flecainide、Quinidine）のどちらでも、不規則な不整脈様の拍動がみられ、それと同時に EAD（Early Afterdepolarization, 早期後脱分極）様の異常な細胞外電位波形が記録されました。Flecainide と Quinidine では Na⁺ スパイクの低下と消失もみられました。また、ここには示していませんが、Na チャンネルブロッカーや Ca ブロッカーの細胞外電位データでは、FPD および FPDc の有意な延長が認められました。

医薬品による心毒性の発現機序は、QT 間隔延長だけではありません。

心筋細胞の収縮力変化（変力作用）、イオンチャネルのトラフィック障害、器質障害による細胞死など様々なメカニズムが知られています。

xCELLigence Cardio シリーズは、薬剤曝露に伴う心筋細胞の収縮性と細胞生存率の変化を測定することで、様々な機序で生じる心毒性を広く捉えることができることが多くの文献発表で示されています。

CO₂ インキュベーターの中に細胞を維持したまま、短期で起こる毒性（急性毒性）から長期の毒性（慢性毒性）まで評価可能です。

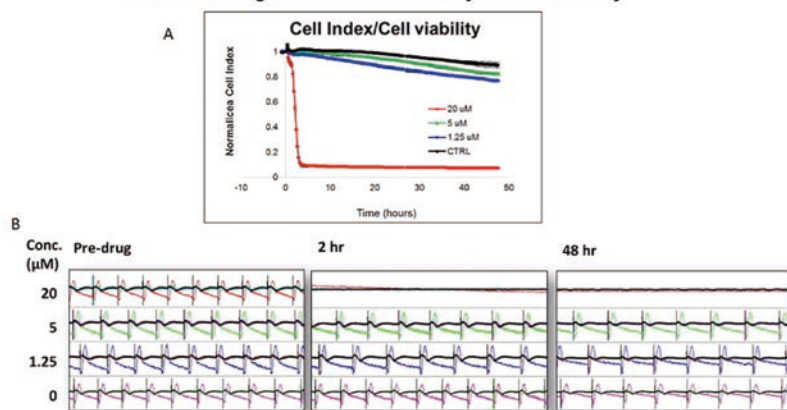


ヒト iPSC 心筋細胞を陰性変力作用を持つ化合物である Nifedipine に様々な濃度で曝露しました。薬剤曝露 30 分後の電気抵抗値データにおいて、Nifedipine 濃度依存的な収縮力（Beating Amplitude）の低下が認められました。

さらに近年、Doxorubicin などアントラサイクリン系の殺細胞性抗がん剤だけでなく、キナーゼ阻害薬などの分子標的治療薬においても心毒性評価の重要性が再認識され、腫瘍循環器学が進展しています。

抗がん剤の心毒性を予測するには長期曝露による評価が求められますが、xCELLigence Cardio シリーズは、細胞を生理学的条件下に維持したまま、iPSC 心筋細胞の収縮性（収縮力や収縮頻度）の変化と細胞生存率をラベルフリーで簡便にかつ客観的にモニタリングできます。

Sorafenib: long-term tox in cell viability and contractility



マルチキナーゼ阻害剤の1つであるSorafenibは心筋梗塞/心虚血のリスクを高めることが知られています。ヒトiPSC心筋細胞をSorafenibに曝露し、xCELLigence CardioECR システムで電気抵抗値と細胞外電位の変化を記録しました。48時間にわたる電気抵抗値モニタリングの結果、Sorafenib濃度依存のおよび曝露時間依存の細胞死がみられました（A）。また、収縮力（Beating Amplitude）にも、わずかながら違いが認められました（B）。20 μMの高濃度曝露では、完全な心停止と細胞死を引き起こしました（AおよびB）。その他にも心毒性リスクがあることがわかっている多くのキナーゼ阻害剤でxCELLigence Cardio によるテストが行われたデータがあります。

アプリケーション

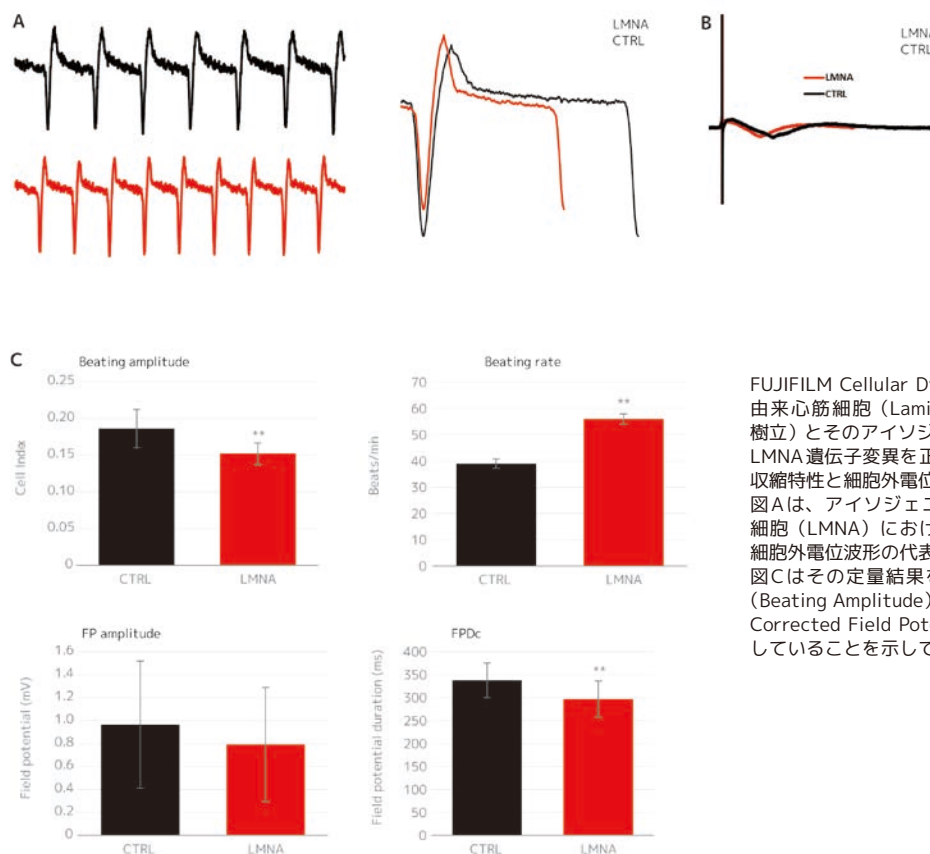
心疾患モデルの開発と薬効評価

心疾患はがんが続いて多い死因とされます。心筋梗塞などの虚血性心疾患が多くの割合を占めますが、拡張型心筋症（DCM）、肥大型心筋症（HCM）、拘束型心筋症（RCM）などの心筋症や、突然死の原因である心室細動（VF）を含む不整脈も心疾患の代表です。

iPS 細胞研究の発展は、これらの心疾患を in vitro で試験するための病態モデル細胞の開発を強く促進しています。先天性心疾患患者から得た iPS 細胞を分化させるだけでなく、健康者由来の iPS 細胞と CRISPR-Cas9 等の遺伝子編集技術を組み合わせて心疾患モデル細胞を作製する試みが行われています。

あるいはより安定的に利用可能な市販の iPSC 由来心疾患モデル心筋細胞も利用できるようになってきています。

xCELLigence Cardio シリーズは、これらの心疾患モデル開発とそれを利用した薬剤開発研究にご使用いただけます。



FUJIFILM Cellular Dynamics社から購入した拡張型心筋症モデルiPSC由来心筋細胞（Lamin A/C LMNA 遺伝子変異を有するDCM患者から樹立）とそのアイソジェニックコントロール心筋細胞（遺伝子編集技術でLMNA遺伝子変異を正常化した細胞）をE-Plate CardioECRに播種して、収縮特性と細胞外電位を比較しました。図Aは、アイソジェニックコントロール心筋細胞（CTRL）とDCM心筋細胞（LMNA）におけるインピーダンス拍動波形とその代表例、図Bは細胞外電位波形の代表例を示す。図Cはその定量結果を示す。LMNA細胞は、CTRL細胞に対して収縮力（Beating Amplitude）が低く、収縮頻度（Beating Rate）が高い。一方でCorrected Field Potential Duration（FPDc）が短く、QT間隔が短縮していることを示している。

機種と対応プレート

製品番号	品名	対応プレートと枚数		
		E-Plate Cardio 96	E-Plate Cardio VIEW 96	E-Plate Cardio ECR
380601060	xCELLigence RTCA Cardio システム	1 枚	1 枚	-
380601210	xCELLigence RTCA Cardio ECR システム	-	-	1 枚
380601630	xCELLigence RTCA ePacer システム (6 Cardio クレードル)	6 枚	6 枚	-
380601640	xCELLigence RTCA ePacer システム (6 Cardio ECR クレードル)	-	-	6 枚
380601660	xCELLigence RTCA ePacer システム (カスタム構成)	カスタム	カスタム	カスタム

製品仕様

	Cardio	ePacer	Cardio ECR
インキュベーター内での測定	○	○	○
リードアウト			
インピーダンス (電気抵抗値)	○	○	○
細胞外電位			○
アプリケーション			
細胞増殖・細胞生存率	○	○	○
細胞収縮性	○	○	○
細胞外電位 (イオンチャネル活性)			○
細胞成熟化とペーシング		○	○
データ取得			
インピーダンス測定間隔	12.9 ms	4 ms	2 ms
細胞外電位測定頻度	-	-	10 kHz
測定様式	96 ウェル同時測定 (インピーダンス)	列毎測定 (インピーダンス)	48 ウェル同時測定 (インピーダンス + 細胞外電位)
電気ペーシング (電気刺激)			
電圧レンジ	-	-2.5 V to +2.5 V	-2.5 V to +2.5 V
ペーシング様式	-	全ウェル同時 / 指定列同時	全ウェル同時 / 指定列同時
装置サイズと重量			
ステーション	幅 28.0 x 奥行 34.0 x 高さ 16.0 cm < 10.0 kg	幅 42.5 x 奥行 42.5 x 高さ 27.5 cm < 22.0 kg	幅 30.0 x 奥行 37.5 x 高さ 14.0 cm < 10.0 kg
アナライザー	幅 40.0 x 奥行 40.0 x 高さ 9.2 cm < 8.0 kg	幅 40.0 x 奥行 40.0 x 高さ 9.3 cm < 8.2 kg	幅 42.0 x 奥行 42.0 x 高さ 10.0 cm < 8.2 kg
設置環境			
ステーション	温度 15~40℃、相対湿度 <98%	温度 15~40℃、相対湿度 <98%	温度 15~40℃、相対湿度 <98%
アナライザー	温度 15 ~ 32℃、相対湿度 <80%	温度 15 ~ 32℃、相対湿度 <80%	温度 15 ~ 32℃、相対湿度 <80%
電源仕様	100-250 V、最大 25 W、50/60 Hz	100-250 V、最大 25 W、50/60 Hz	100-250 V、最大 25 W、50/60 Hz
コントローラー			
コンピューター	ラップトップコンピューター	ラップトップコンピューター	ラップトップコンピューター
ソフトウェア	RTCA Cardio ソフトウェア	RTCA ePacer ソフトウェア	RTCA Cardio ECR ソフトウェア



<https://www.agilent.com/en/product/cell-analysis/real-time-cell-analysis>

※ 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

輸入元



世界の価値ある技術をあなたの元に

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 AG20250704