

## 再生医療等製品中に混入するがん化した細胞の 超高感度検出技術の国内独占実施について

国衛研が発明したデジタル軟寒天コロニー形成試験技術の  
国内独占実施権をHS財団から許諾

2018年7月18日

株式会社LSIメディエンス

株式会社LSIメディエンス（本社：東京都千代田区，社長：伊藤昭夫，以下「LSIメディエンス」）は，再生医療等製品の安全性や品質管理への利用が期待されているデジタル軟寒天コロニー形成試験を行う技術「特願2014-176861（発明の名称：悪性形質転換細胞の検出方法）」について，公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団（以下「HS財団」）と国内独占的通常実施許諾契約（再実施権付与権付き）を締結しました。本技術は，細胞集団の中に混在しているがん化した細胞の検出に関して既存法に比べて大幅に感度を向上させ，再生医療等製品の安全性評価に大きく貢献する技術として国内外から注目されています。LSIメディエンス 創業支援事業本部では，デジタル軟寒天コロニー形成試験の受託試験サービスを2018年度より開始しています。

デジタル軟寒天コロニー形成試験は，軟寒天ゲルの中で細胞を一定期間培養し，足場があることで増殖するがん化した細胞を検出する方法です（図1）。

図1. デジタル軟寒天コロニー形成試験法概要



96穴ウェルプレートの各ウェルに濃度の異なる2層の軟寒天層（Bottom及びSoft-agar layer）を積層して培養液で満たし，②のSoft-agar layerで細胞を培養する。4週間程度の培養から，②のSoft-agar layerで増殖するがん化した細胞を検出する。

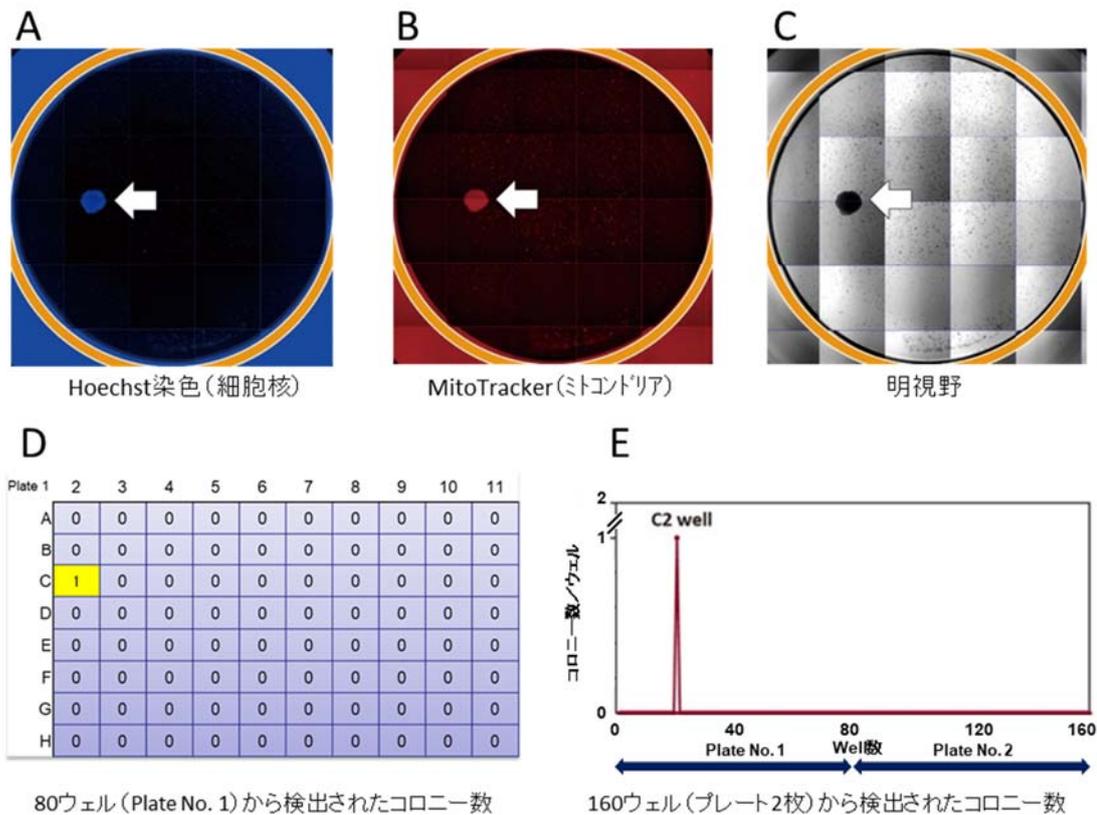
国立医薬品食品衛生研究所（以下「国衛研」）再生・細胞医療製品部長 佐藤陽治博士，同部主任研究官 草川森士博士らは，1,000万個のヒト初代間葉系幹細胞（hMSC）を培養した後，1個のHela細胞（子宮頸がん由来のがん細胞株）を混入させた細胞集団を図1のように準備した160の培養ウェルに30日間培養した後，1個の細胞コロニーを検出することに6回の試行のうち4回成功しました。この成果はHS財団から出願され，2015年に論文発表されました（Kusakawa S., et al. Sci. Rep. 2015）。この論文は，現在薬事申請に用いられている軟寒天コロニー形成試験と比較して，1万倍程度の感度の向上を報告したもので

あり、1億個以上の細胞を人体に投与することが想定される再生医療の安全性評価に必要とされる検出感度を達成する方法を初めて報告したものです(表1)。

表1. デジタル軟寒天コロニー形成試験と既存法(軟寒天コロニー形成試験)との比較

試験方法	軟寒天コロニー形成試験(既存法)	デジタル軟寒天コロニー形成試験
検出限界または検出力	hMSCに $1/10^3$ (0.1%)の割合で混入するHeLa細胞を検出できる	hMSCに $1/10^7$ (0.00001%)の割合で混入するHeLa細胞を検出できる
所要時間	3~4週間	
利点	がん化した細胞を生きのまま単離でき、詳細な解析を行うことができる	
欠点・注意点	(血液がん等)検出が困難ながん化細胞がある可能性	
出典	Kusakawa <i>et al.</i> , Reagen Ther 2015	Kusakawa <i>et al.</i> , Sci Rep 2015

図2. LSIメディエンスにて再現されたデジタル軟寒天コロニー形成試験



$1 \times 10^7$ 個のヒト初代間葉系幹細胞に1個のHela細胞を混入した細胞集団を、図1のように軟寒天を重層した96穴プレート2枚(160ウェル)に培養した。3週間培養した後、Hoechst染色陽性(A)、ミトコンドリア染色陽性(B)の細胞コロニー(形態(C))が検出されたウェルの像。培養を行ったプレート1枚(D)、2枚(E)それぞれのウェルから、(A~C)の基準を満たす細胞コロニー数を解析した。

LSIメディエンスはHS財団が維持していた当該技術の有用性に着目し、国衛研およびHS財団と本発明の実施に向けた協議を2016年から開始し、1年半の試用期間を経て論文の再現性に成功しました(図2)。統計学的には、デジタル軟寒天コロニー形成試験を7回試行し、各回にて $10^7$ 個の細胞製品から1個もコロニーが検出されなかった場合、Hela

細胞相当のがん細胞が1千万分の1の割合で混入していないことを示す結果となります(偽陰性のリスクを1%とした場合).

LSIメディエンスは、現在進んでいるデジタル軟寒天コロニー形成試験を含めた再生医療等製品の安全性試験の標準化を目指した官民プロジェクトにも参画しており、日本が生んだこの技術が再生医療等製品の開発に広く活用されていくことに貢献して参ります。

以上

<LSIメディエンス概要>

商号 : 株式会社LSIメディエンス

本社 : 東京都千代田区内神田 1-13-4 THE KAITEKI ビル

資本金 : 30 億円

代表者 : 代表取締役社長 伊藤昭夫

事業内容 : 臨床検査, 診断薬, 創薬支援, ドーピング検査 (検体分析) など

【プレスリリースに関するお問い合わせ先】

株式会社LSIメディエンス 総務・法務・知財部 広報担当

〒101-8517 東京都千代田区内神田 1-13-4 THE KAITEKI ビル

TEL : 03-6896-8926

MAIL : NPA-LSIM-PR@nm.medience.co.jp

【受託試験サービスに関するお問い合わせ先】

株式会社LSIメディエンス 創薬支援事業本部 営業統括部 第1営業部

(東京) 〒101-8517 東京都千代田区内神田 1-13-4 THE KAITEKI ビル

TEL : 03-5577-0807

(大阪) 〒541-0044 大阪府大阪市中央区伏見町 4-1-1

TEL : 06-6204-8411