

EVを用いた研究・開発にご興味がある方、ご一読ください！

細胞外小胞（EV）を利用した治療用製剤開発とmiRNA解析

PMDA科学委員会は、2023年1月17日に「**エクソソームを含む細胞外小胞（EV）を利用した治療用製剤に関する報告書**」を取りまとめ、報告されました。この報告書はPMDAにおける新しい医薬品の審査業務のための情報として今後利用されると同時に、EV治療用製剤を開発しようとしている民間研究者、企業にも貴重な示唆となります。この報告書は全文がPMDAのWEBサイトで公開されており、また報告書を取りまとめるまでの議論の経緯を示す、専門委員会議事録も同サイトで公開されています。

報告書：<https://www.pmda.go.jp/files/000249829.pdf>

専門委員会：<https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/subcommittees/0017.html>

EVと治療用製剤

細胞外小胞（EV）は、細胞から分泌される脂質二重膜を有する小胞で、細胞間コミュニケーションツールとして様々な生命現象や疾患に関与しています。産生経路やサイズによって表1の3種類に分類され、構成分子はタンパク質やmRNA **miRNA**等の核酸を含み、これらはマーカーとしてEVであることの証明やEVの品質評価に使用されます。EVは細胞に取り込まれやすいため**治療用製剤として研究開発されており、細胞由来EVを体内に投与する製剤は表2のように2種類の製剤があります。**

表1 EVsの種類

Exosome	エンドソーム由来直径約100 nm
Microvesicles	細胞膜由来マイクロサイズ
Apoptotic body	死細胞膜に由来の小胞・小体

表2 EV治療用製剤の種類

天然型EV 主にMSC由来	・EV自体の治療効果を利用した製剤 ・細胞培養上清等から回収し、使用
改変型EV 主にDDS用途	・供給元細胞を改変し、機能付与 ・EV回収後に機能性分子を付与

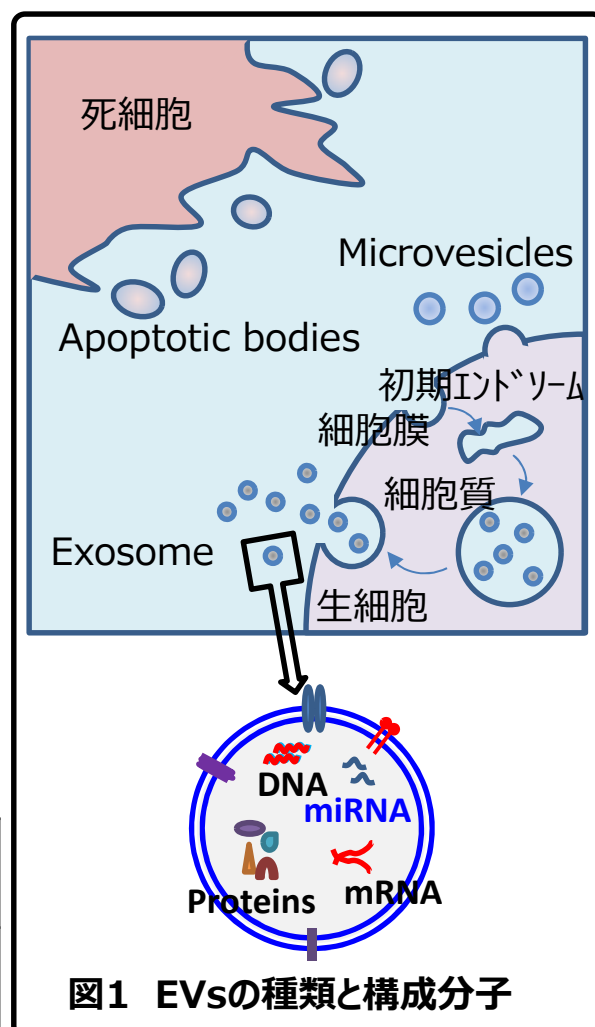


図1 EVsの種類と構成分子

報告書の概要とEV治療薬の開発状況・課題

表2で示した骨髄、脂肪、臍帯由来のMSC（mesenchymal stem cell）の天然型EVが、細胞を用いない次世代治療ツールとして期待され、海外では臨床試験が実施され、国内においても臨床応用を目指した開発が進んでいます。）

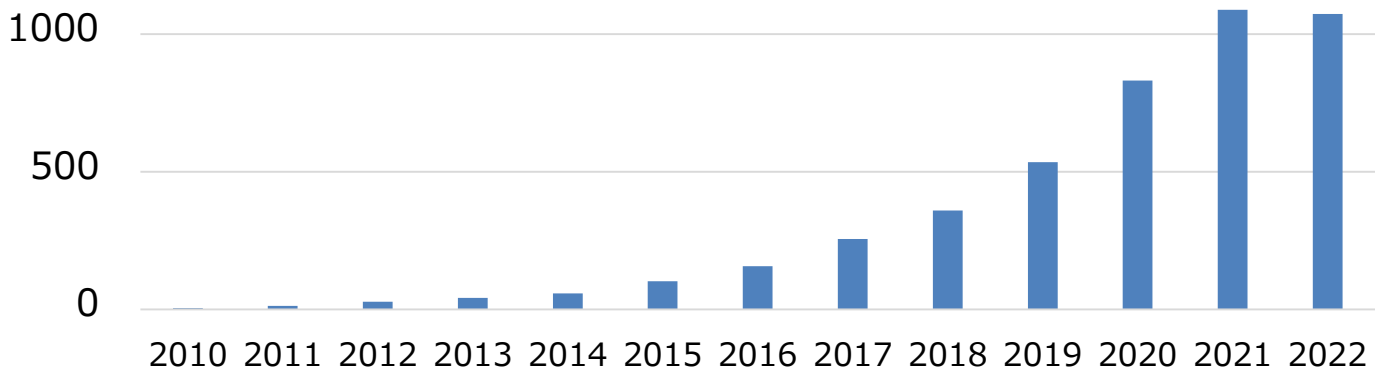


図2：PubMedにおけるMSCのEV関連論文数の推移

EVを利用した治療用製剤（EV治療薬）は図3に示すような製造工程で製造されますが、レギュラトリーサイエンスに基づく知見は乏しく、各工程には表3のような品質・安全性の課題を有します。このため、PMDAや厚生労働省が発行する生物薬品やバイオテクノロジー応用医薬品、遺伝子治療用製品、核酸医薬品などの既存のガイドラインを参考に開発を進めることとなります。

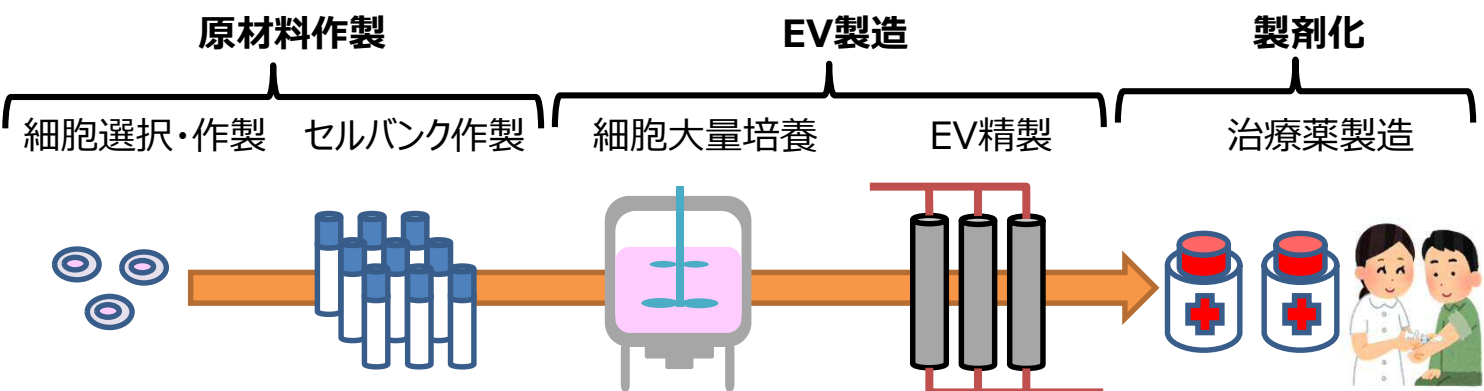


図3 EVを利用した治療用製剤の製造工程

表3 治療用製剤製造工程の課題

工程	技術課題	品質・安全性課題	ガイドライン
原材料作製	・目的活性EVをもつ細胞取得 ・培養法確立と品質管理	・原料となる細胞の品質管理	ICH-Q5など
EV製造	・大量培養・精製法確立 ・活性成分の明確化と分離	・品質・安全性・外部因子混入管理 ・スケールアップの同等・同質性確保	ICHQ6, MISEV18など
製剤化	・有効成分評価系確立 ・作用機序解明	・有効性・安全性の担保（非臨床・臨床試験）	ICH-Q,S,E,M など＊

＊ <https://www.pmda.go.jp/int-activities/int-harmony/ich/0014.html>

報告書では、EV研究に基づいた治療用製剤の品質及び安全性に関する考え方を整理しており、レギュラトリーサイエンスの観点から、ウイルス等の感染因子に対する安全性評価、活性成分の品質特性の理解、製造における恒常性確保、生産工程管理、非臨床試験の評価戦略、臨床試験上の留意事項を記載しています。

記載の製品・サービスは、すべて試験・研究用途です。それ以外の目的(例えば、医療機器や医療用品・食品の製造・検査)には使用しないでください。

EV治療薬の研究・開発におけるmiRNA活用のご提案

miRNAはEV 内に内包された構成分子の一種としてEVの作用機序の一翼を担っていることから、EV治療薬の研究・開発へ利用すると表4のような特性・メリットがあります。また、EV治療薬の研究・開発に際し、表5のような用途への活用が考えられます。**特に3D-Geneを使用した実験系**では少量のサンプルから感度、正確性、再現性の高い結果が得られますので、少量の細胞や細胞培養液を使用することができ、miRNA用量に関して正確性の高いデータを得ることができます。

表4 EV治療薬の研究・開発にmiRNAを利用するメリット

miRNAの特性	メリット
種類が限定される（2500種程度）	解析が簡単で、網羅解析でも測定対象が少ない。
配列が短いため、種間の相動性が高い	非臨床から臨床試験に移行しやすい。 （非臨床試験の治験が生かせる）
定量測定ができる	用量反応性評価に使用しやすい。
血液・培養上清から測定できる	バイオマーカー、モデル系として利用できる。
1つのmiRNAで複数のmRNA （タンパク・機能）を制御する	測定対象の分子が限定できる。 機能の上流を抑えることができる。

表5 miRNA測定を活用できると考えられる研究・開発工程とその用途

研究・開発工程	miRNA測定の用途
EVの研究	・ 治療薬の有効性評価バイオマーカー研究 ・ 治療薬活性の作用機序、活性機能としての研究 ・ 疾患関連タンパク質の制御因子としての研究 ・ EVのサブタイプ（多様性）の評価
EVの品質評価	・ EVであることやEVの種類の証明 ・ EV治療薬の有効成分として、定量測定用のマーカーとして利用
EVの薬理試験	・ 活性成分として、EV活性の単位（投与単位）として利用
EVの安全性試験	・ 活性成分として免疫惹起機能やオフターゲット作用の評価対象（核酸医薬品と同様に評価）

EV治療薬の研究・開発における品質保証や安全性の評価にご興味がある方は以下の3D-Geneサイトからお問い合わせください。
上記報告書のポイントの説明やmiRNA活用の詳しい内容についてご提案させていただきます。

<https://www.3d-gene.com/>