

細胞外小胞（EV）の品質評価 ～日本細胞外小胞学会推奨の評価技術を中心に～

大阪ラボラトリー 田浦 映恵

1 はじめに

当社は、2015年から細胞外小胞（EV：Extracellular Vesicles）の単離・精製や粒子数・粒子径分布など品質評価技術の開発に着手し、アカデミアや製薬企業などのお客様に多様な研究支援サービスを提供してきました。

2026年3月に日本細胞外小胞学会（JSEV）より、当社が実施するEV品質評価手法のうち下記の項目が学術的合理性を有する品質評価手法の一つであるとして推奨いただきました。本稿では、これらの手法を中心にEVの品質評価について紹介します。

- ・粒子数測定および粒子径分布測定
- ・細胞外小胞（EV）の表面マーカー（CD9、CD63）解析

2 EVの利用動向と現状

EVはあらゆる細胞から分泌される小胞であり、脂質二重膜構造にタンパク質や核酸などの生体分子を内包し、生体内で細胞間コミュニケーションツールとして機能するとされています（図1）。細胞からEVが産生される経路は複数存在し、その経路により一部のEVはエクソソーム、マイクロベシクル等と称されます。EVの産業利用として、医薬品分野ではがんや中枢神経系疾患などのバイオマーカーとして研究開発が進められているほか、近年、特定の細胞が産生するEVによる治療が注目を集めています。さらに、医療分野だけではなく、化粧品、食品など様々な分野での利用が急速に伸展しています。

3 EVを利用した医薬品の品質確保に関する当社の評価サービス

EVの産業利用が注目されているなか、日本国内ではEVを利用した医薬品（EV製剤）開発のために、2026年3月に「ヒト細胞由来天然型細胞外小胞（EV）を利用した医薬品の品質確保

表1 当社で受託可能なEVの品質評価項目

試験項目	分析技術
含量（粒子数）	ナノ粒子トラッキング解析（NTA法）
粒子径分布	ナノ粒子トラッキング解析（NTA法）
表面マーカー	ウエスタンブロッティング法
表面電荷（ゼータ電位）	電気泳動光散乱法
内包miRNA	PCR, ddPCR
内包タンパク質	ウエスタンブロッティング法
力価試験	ELISA, PCR, 細胞アッセイ
不純物	ELISA, PCR, LC/MS等
総タンパク量	BCA
無菌試験	直接法, メンブランフィルター法
無菌試験迅速測定法	NAT法, バクテアラート法, マイクロコロニー法
マイコプラズマ否定試験	A法, C法
エンドトキシン試験	ゲル化法, 比濁法, 比色法

に関するガイドライン（案）」が作成されました¹⁾。EV製剤の有効性・安全性確保のためには、その製造工程と製品の特性の理解に基づき、適切な品質管理戦略を構築する必要があります。本ガイドライン案では、そのためのEV原薬や製剤の特性解析、品質管理手法などについても詳細に述べられています。

当社では、表1で示すEV品質評価が可能です。評価項目のうち、JSEVから推奨いただいた「含量（粒子数）および粒子径分布」、「表面マーカー」の事例を紹介します。

3.1 含量（粒子数）および粒子径分布

粒子数はガイドライン案において含量（particles/vial）の代表的な指標に挙げられるほか、タンパク質量あたりの粒子数を評価する純度試験など、粒子数以外の測定項目と組み合わせた利用も想定されています。粒子径は意図したEVであることを確認する確認試験のほか、保存中に変動が予想される場合は

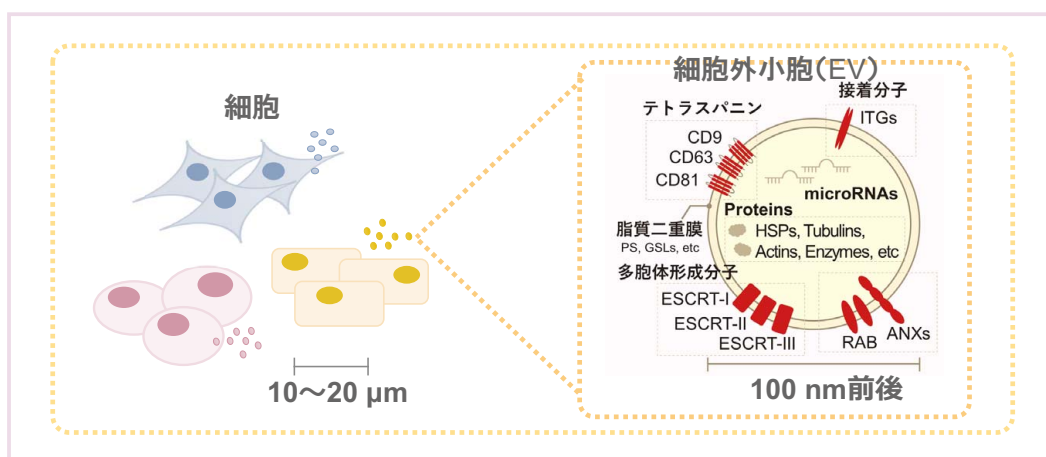


図1 細胞外小胞（EV）

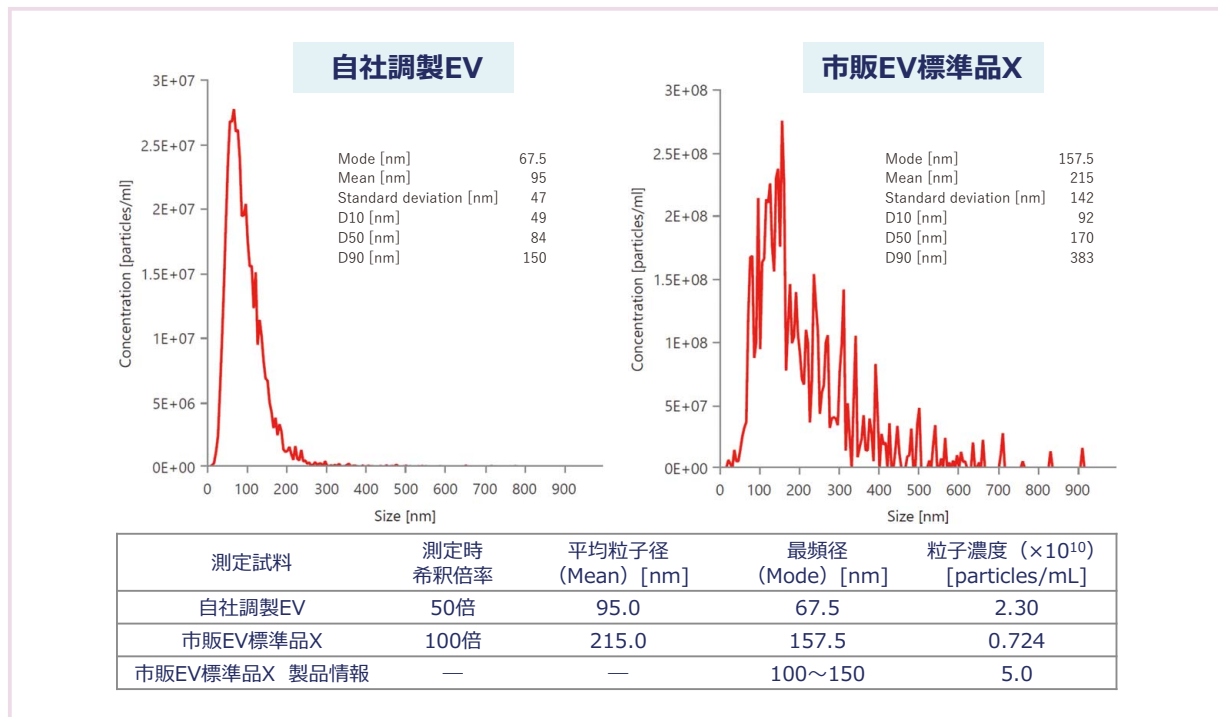


図2 自社調製EVおよび市販EV標準品Xの粒子径分布および粒子数測定結果

安定性試験に用いる場合が考えられます。

当社で培養上清から精製した自社調製EVと研究用試薬である市販EV標準品Xについて、ナノ粒子軌跡解析法（NTA法）により粒子数および粒子径分布を測定しました（図2）。自社調製EVは粒子径100nm前後に分布しましたが、市販EV標準品Xでは幅広い分布が検出されました。市販EV標準品Xの方は製品情報と比較して粒子数と粒子径分布に差異を認めたことから、凝集等が生じている可能性が示唆されました。

3.2 表面マーカー

EVの表面マーカー分子の定性的な評価は、意図したEVであることを確認するために利用できます。

3.1の自社調製EVと市販EV標準品Xについて、ウエスタンブロッティング法により、EV表面マーカーのCD9とCD63を測定しました（図3）。いずれの試料も両マーカーを発現していましたが、CD63は発現パターンが異なっていました。EVを産生する由来細胞によって、このような差異が生じる可能性があります。

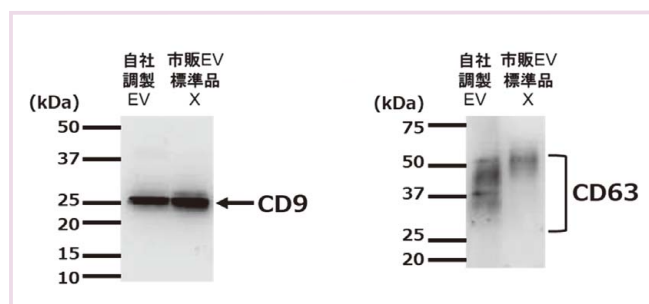


図3 ウエスタンブロッティング法によるEV表面マーカーの測定

ウエスタンブロッティング法では、CD9、CD63のほか、CD81、AlixやTSG101等の測定も可能です。

4 おわりに

当社は長年にわたりバイオ医薬品と再生医療製品の品質評価サービスを提供し、開発段階の試験法開発から品質試験、製品の出荷試験まで、豊富な受託実績を有しています。これらの経験を活かし、本稿に記載したEVの品質評価を第三者試験機関として実施するほか、EV産生細胞の特性解析なども可能です。今後も評価項目等の拡充を行い、EVの産業利用に取り組まれているお客様のお困りごとの解決に取り組んでまいります。

5 謝辞

東京医科大学 落谷孝広先生にはテストサンプルのご提供、測定のご指導とご助言を賜りました。心より感謝申し上げます。

文 献

- 厚生労働省: "ヒト細胞由来天然型細胞外小胞（EV）を利用した医薬品の品質確保に関するガイドライン（案）（令和8年3月17日）", <<https://public-comment.e-gov.go.jp/pcm/download?seqNo=0000309745>>, (accessed 2026-05-13).



田浦 映恵
(たうら あきえ)
大阪ラボトリー