

# 「エクソソーム・ワールド：生物界を繋ぐ新規モダリティーの将来像」 目 次

## 巻頭言 落谷孝広

- 1 エクソソームは基礎生物学から医療応用へ
- 2 診断における応用価値
- 3 治療分野におけるエクソソームの期待
- 4 市場成長を牽引する技術的進歩
- 5 進化するガイドラインと製品化
- 6 商業化、産業化の動向
- 7 課題と将来展望

## 第I編 総論と基礎知識

### 第1章 序論

- 第1節 細胞外小胞の基礎 吉岡祐亮
- 1 はじめに
  - 2 EVs とは何か？
  - 3 EVs と生理機能
    - 3.1 免疫系と EVs
    - 3.2 神経系と EVs
    - 3.3 組織修復・再生と EVs
  - 4 細胞外小胞と疾患
    - 4.1 がんと EVs
    - 4.2 神経変性疾患と EVs
    - 4.3 心血管疾患と EVs
  - 5 EV 研究の再現性と ISEV の役割
  - 6 おわりに

### 第2章 規格と診断技術の基礎

- 第1節 エクソソームの規格 寺井織枝, 田浦映恵, 北中淳史
- 1 エクソソームの品質規格をめぐる現状
    - 1.1 はじめに
    - 1.2 EVs の品質規格を考える上で参考になるガイドラインなど
  - 2 特性解析
    - 2.1 粒子径分布及び粒子数
    - 2.2 表面電荷
    - 2.3 表面マーカー
    - 2.4 内包 RNA
    - 2.5 総タンパク質
    - 2.6 力価試験
  - 3 安全性評価
    - 3.1 無菌試験
    - 3.2 マイコプラズマ否定試験
    - 3.3 エンドトキシン試験
    - 3.4 ウイルス否定試験
    - 3.5 製造工程由来不純物
  - 4 規格
  - 5 終わりに

- 第2節 エクソソーム診断に不可欠な技術開発 内山嵩也
- 1 はじめに
  - 2 EVs 診断の実現に向けた採血管の重要性
  - 3 新規専用採血管の開発

### 4 新規専用採血管の EVs 性能評価

- 4.1 試料と方法
- 4.2 結果と考察

### 5 おわりに

### 第3節 光散乱法を用いたエクソソームの粒子径・濃度・ゼータ電位測定法 加藤丈滋

- 1 はじめに
- 2 エクソソームの粒子径、ゼータ電位、粒子濃度測定法
  - 2.1 光散乱法を用いたエクソソームの評価
  - 2.2 粒子径測定法—動的光散乱法 (Dynamic Light Scattering : DLS) —
  - 2.3 ゼータ電位測定原理—電気泳動光散乱法—
- 3 光散乱測定装置—ELSneo—
- 4 エクソソームの評価事例
  - 4.1 希釈条件におけるエクソソーム濃度測定
  - 4.2 由来の異なる間葉系幹細胞由来のエクソソームの測定
  - 4.3 乳がん細胞株由来のエクソソームの測定
  - 4.4 異なる緩衝液中のエクソソームのゼータ電位測定
  - 4.5 エクソソームの保管条件による粒子径の評価
- 5 おわりに

### 第4節 エクソソーム検出抗体の最新事情 園田 光

- 1 はじめに
- 2 sEV 表面抗原とその抗体による sEV 検出
  - 2.1 CD9, CD63, CD81
  - 2.2 EpCAM
  - 2.3 Her2
  - 2.4 PD-L1
- 3 おわりに

### 第3章 解析・計測技術の進展

#### 第1節 NanoSight の進化 入江文子, 東口楽都

- 1 液中ナノ粒子解析
- 2 原理 粒子追跡分析法 Particle Tracking Analysis (PTA) 法
  - 2.1 原理概要
  - 2.2 粒子径の算出
  - 2.3 検出限界
  - 2.4 測定濃度・精度
- 3 細胞外小胞 (EV) への利用
- 4 NanoSight Pro による EV の特性評価
  - 4.1 サンプル、使用機器
  - 4.2 膜標識と測定結果
  - 4.3 テトラスパニン (CD9, CD81, CD63) 標識
  - 4.4 RNA 標識
- 5 まとめ

#### 第2節 フローサイトメトリーと細胞外小胞 (EV) 豊島哉子

- 1 背景：シングル EV 解析を行うのはなぜか？
- 2 今までのバルク解析とシングル解析の分析法の限界と課題
  - 2.1 バルク解析の限界と課題

2.2 シングル解析の必要性と課題	
3 ナノフローサイトメトリー概要	
3.1 原理	
3.2 利点	
3.3 MIFlowCyt-EV の推奨事項	
3.4 ナノフローサイトメーター CytoFLEXnano	
4 ナノフローサイトメーターを用いたシングルEV 解析のワークフロー	
4.1 サンプル準備	
4.2 EV回収	
4.3 染色	
4.4 洗浄	
4.5 ナノフローサイトメーターによる測定	
4.6 データ解析	
5 まとめと今後の展望	

第3節 イメージング機能搭載 BD FACSDiscover™ S8 セルソーターによるEV 解析とソーティング	幾尾真理子
1 はじめに	
2 フローサイトメーターで取得可能なEV情報	
2.1 一粒子EV検出における課題	
2.2 微粒子対応フローサイトメーターによるEV解析の進展	
2.3 子サイズ解析	
2.4 粒子濃度	
2.5 膜やEV表面因子の検出	
2.6 フローサイトメーターのイメージング機能とEV検出	
3 イメージングパラメーター測定条件の設定	
3.1 測定時の設定条件	
3.2 設定例	
4 イメージングパラメーターの解析とゲート設定	
4.1 非EVイベントの除去：集団の手動選択	
4.2 非EVイベントの除去 EVゲートの作成	
4.3 自動クラスタリング	
4.4 マルチパラメーター抗体染色EVの解析	
5 EVソーティング	
6 まとめ	

第4節 抵抗パルスセンシング：ナノ粒子の単一粒子解析に用いる新しい電気計測法	Alex kk Ryu
1 要旨	
2 序論	
3 抵抗パルス検出の原理	
4 抵抗パルス検出のタイプ	
5 RPSの優位性と他法との比較	
6 代表的応用シーン	
7 制約と改善方向	
8 結論	

第5節 エクソソームの新しい蛍光標識試薬と精製法の開発	
立中佑希, 石山宗孝	
1 はじめに	
2 従来の蛍光標識法が抱える技術的限界：偽陽性シグナルと物性変化	
3 精密な分子設計によるExoSparklerの開発とそのメカニズム	
4 ExoSparklerの優位性を証明する定量的・機能的データと精製プロセスの重要性	
5 エクソソーム研究を左右する精製技術の進展と新たな手	

法「ExoIsolator」の登場	
6 おわりに	

第6節 迅速かつ高純度なエクソソーム精製キット	根布谷理, 木村秀人
1 背景	
2 EXORPTIONとは	
3 プロトコルと所要時間	
4 キットの構成と運用環境	
5 対応サンプル	
6 性能データ	
7 競合手法・製品との位置づけと差別化	
8 今後の展望	

## 第II編 応用と実践技術

### 第1章 医療・創薬分野への応用

第1節 エクソソーム（細胞外小胞）のDDS技術	下田麻子, 秋吉一成
1 はじめに	
2 EVのDDSキャリアとしての利点	
3 DDSに用いられるEVsの由来	
3.1 間葉系幹細胞由来EVs	
3.2 ミルク由来EVs	
3.3 微生物由来EVs	
3.4 植物由来EVs	
4 EVsエンジニアリング技術	
4.1 EVsへの薬剤内包	
4.2 EVs表面改変技術	
5 EVsの代替となる細胞由来の人工小胞	
6 実用化に向けた技術的・臨床的課題	
6.1 標準化と品質管理	
6.2 製造技術：生産量と安定性	
6.3 規制・安全性の課題	
7 おわりに	

第2節 エクソソームを用いた検査・診断	荒木甫, 横井暁
---------------------	----------

1 はじめに	
2 リキッドバイオプシーにおけるEV診断の可能性	
2.1 背景：組織診からリキッドバイオプシーへ	
2.2 ctDNA解析技術とその限界	
2.3 EVが注目される理由と近年の動向	
2.4 EVの課題：分離・精製	
3 EV内包分子を標的とした診断アプローチ	
3.1 マルチオミクス解析の新たな情報源としてのEV	
3.2 EV-RNA	
3.3 EV-タンパク質	
3.4 EV-DNA	
3.5 統合アプリケーション	
4 臨床試験のEV診断	
5 産業としてのEV診断	
5.1 EV診断の産業化と市場動向	
5.2 国内企業の動向	
5.3 国外企業の動向	
6 今後の展望	

第3節 エクソソームを用いた創薬応用に関する動向	
--------------------------	--

川尻寿季, 藤田雄

- 1 はじめに
- 2 エクソソームの疾患治療への期待
- 3 國際的なエクソソーム臨床試験の動向
- 4 上流工程 (Upstream) : 親細胞の培養からエクソソームの生成・回収まで
  - 4.1 親細胞の選定と培養設計
  - 4.2 内因性ロード技術 (Endogenous loading)
  - 4.3 エクソソームの回収と初期精製
- 5 下流工程 (Downstream) : エクソソームの精製・品質評価・保存
  - 5.1 高度精製と汚染物質の除去
  - 5.2 品質管理 (Quality Control:QC)
  - 5.3 保存および製剤化戦略
- 6 安全性設計とプロセスのリスク軽減
- 7 呼吸器疾患に関するエクソソーム創薬開発
- 8 課題と今後の展望

第4節 エクソソーム医薬品の臨床研究の現状  
彦, 井筒瑠奈

- 1 はじめに
- 2 エクソソーム医薬品とその科学的意義
  - 2.1 エクソソーム医薬品とは
  - 2.2 医薬品としての科学的ポテンシャル
  - 2.3 エクソソームを用いた創薬
- 3 エクソソーム医薬品の臨床応用に向けた取り組み
  - 3.1 臨床研究開発の増加
  - 3.2 主要な対象疾患領域と治験事例
- 4 エクソソーム医薬品開発における科学的および技術的課題
- 5 おわりに

第5節 エクソソームと再生医療  
田中孝一, 水野祐介, 倉田隼人

- 1 はじめに
- 2 間葉系幹細胞と再生医療における位置づけ
  - 2.1 MSC の定義と同定基準
  - 2.2 多様な組織由来 MSC の特徴と倫理的優位性
  - 2.3 再生医療等製品としての MSC 治療薬の承認例と開発動向
- 3 MSC-EV の生物学的特徴と作用機序
  - 3.1 MSC パラクライン作用における EV の役割
  - 3.2 含有成分と標的細胞への作用
  - 3.3 主な生物活性
- 4 MSC-EV 開発の疾患モデル別応用事例
  - 4.1 循環器・神経疾患モデルにおける MSC-EV の有効性
  - 4.2 運動器・肝疾患モデルにおける応用可能性
  - 4.3 眼科・呼吸器・生殖医療分野での新展開
- 5 MSC-EV の臨床試験の現状と傾向
  - 5.1 臨床試験の登録状況と対象疾患の広がり
  - 5.2 投与量規格化と今後の展望
- 6 製造・品質管理戦略
  - 6.1 アップストリーム工程とダウンストリーム工程
  - 6.2 スケールアップと製造課題
  - 6.3 Quality by Design (QbD) アプローチと重要品質特性 (CQA) の設定
- 7 まとめと展望

第6節 ウィルス感染とエクソソーム

幸谷 愛

- 1 はじめに
- 2 サイトカインストーム症候群と脂質メディエーター
- 3 細胞外小胞の構造と脂質二重膜
- 4 由来細胞による細胞外小胞の違いと肝細胞由来細胞外小胞の特異性
- 5 細胞外小胞と分泌型ホスホリパーゼ A2
- 6 SPLEVs に由来する脂質メディエーターは腫瘍周囲の環境を変化させる
- 7 免疫機能の調節に関わる SPLEVs
- 8 炎症制御における膜流動性変化と“リピドカウンターストーム”
- 9 リピドカウンターストームの効果は脂質因子 SREBP1 に依存する
- 10 hep-SPLEVs による抗炎症作用の鍵はリゾホスファチジルグリセロール (LPG) である
- 11 様々な炎症モデルにおける hep-SPLEVs の抗炎症効果
- 12 まとめ

第7節 腸脳相関とエクソソーム  
片倉喜範

- 1 はじめに
- 2 食品によるエクソソームを介した腸脳相関活性化
  - 2.1 カルノシン
  - 2.2 GABA
  - 2.3 ウロリチン A
- 3 まとめ
- 4 今後の課題
  - 4.1 ヒトにおける検証
  - 4.2 食品因子間の比較と統合データベースの構築
  - 4.3 応用展開と疾患予防戦略

第8節 ナノソーマリノテカン: エクソソームモデルからの肺がん治療用ナノ医薬の創出  
西村紳一郎

- 1 はじめに: エクソソームモデルとしてのナノソーム
- 2 がん細胞が分泌するエクソソームの「糖衣」はがんの未来転移組織や臓器を決定する?
- 3 ナノソームを新しい創薬プラットホームとして肺がん細胞表面の NEU1 を標的とする画期的なアクティブターゲッティング型ナノ治療薬を開発

## 第2章 美容・化粧品分野への応用

第1節 美容医療とエクソソーム  
谷 祐子

- 1 美容医療における自由診療の発展とその社会的背景
  - 1.1 美容医療における自由診療の現状と利点
  - 1.2 美容医療の社会的課題と厚生労働省の動向
  - 1.3 美容医療は本来、どうあるべきか?
- 2 美容医療における再生医療への応用とドラッグデリバリーシステムについて
  - 2.1 美容医療における再生医療の応用
  - 2.2 DDS (Drug Delivery System) の概念と美容医療への応用
- 3 美容医療におけるエクソソーム治療
  - 3.1 基礎と臨床応用の実際
  - 3.2 現状と課題、そして標準化に向けた展望
  - 3.3 エクソソーム製剤の臨床～メソセラピー治療を用いて～
  - 3.4 バイオテンセグリティ理論とメソセラピーの力学的意義
  - 3.5 エクソソーム含有間葉系幹細胞培養上清を用いたメ

## ソセラピー治療の実際

### 第2節 エクソソーム化粧品 水島 淳

#### 1 化粧品成分としてのエクソソーム

##### 1.1 エクソソーム化粧品が訴求し得る領域

#### 2 具体的なエクソソームの例

##### 2.1 ヒト細胞由来エクソソーム

##### 2.2 動物由来エクソソーム

##### 2.3 植物由来エクソソーム

##### 2.4 ドラゴンフルーツ由来エクソソームの細胞活性

##### 2.5 植物カルス

##### 2.6 その他のエクソソーム

#### 3 最後に

## 第3章 製造技術と品質管理

### 第1節 EVs 製品製造技術 (產生) 吉田茉由

#### 1 EVs 製造における課題

#### 2 接着細胞の大量培養方法

##### 2.1 プラスチック製培養容器

##### 2.2 マイクロキャリアを用いる攪拌層型バイオリアクターによる接着細胞の培養手法

##### 2.3 固定床バイオリアクター

#### 3 scale-X シリーズ

##### 3.1 scale-X シリーズの使用例～間葉系幹細胞の平面培養からの移管～

##### 3.2 scale-X シリーズの使用例～scale-Xhydro バイオリアクターにおける EVs 產生～

#### 4 総括

### 第2節 ダウンストリームプロセスの現状と課題 内村誠一

#### 1 はじめに

#### 2 アップストリームプロセス変動要因

#### 3 ダウンストリームの要素技術とプロセス設計

##### 3.1 要素技術と設計指針

##### 3.2 直交設計の要点

##### 3.3 プロセス設計の比較—標準的フローと負荷平準化フロー—

#### 4 潜在的不純物リスク

#### 5 ダウンストリームプロセスの課題：類似粒子の除去とプロテインコロナ

##### 5.1 類似粒子の混入リスクと抑制戦略

##### 5.2 プロテインコロナ

#### 6 おわりに

### 第3節 エクソソーム製品製造技術 (精製) Alex kk Ryu

#### 1 超音波ナノ濾過 (EXODUS) の方法論と原理

#### 2 EVs 主な精製法の概説

#### 3 新規技術が解決する課題の詳細

##### 3.1 人由来臨床試料の EV 解析と疾患診断

##### 3.2 細胞培養上清由来 EV の分離

##### 3.3 植物試料由来 EV の分離

##### 3.4 微生物 (細菌・寄生虫等) 由来 EV の分離

#### 4 産業化—MISEV と規制要件への適合

#### 5 将来の発展方向と展望

##### 5.1 起源別に特化した専用膜材料の開発と適用範囲の拡張

### 5.2 スケールアップ能力の構築と臨床・産業転換の加速

## 第III編 多様な起源と文化的応用

### 第1章 起源別エクソソームの特徴

#### 第1節 植物由来の細胞外小胞 大塚蔵嵩

#### 1 はじめに

#### 2 植物の EVs の概要と特徴

##### 2.1 植物の EVs の分泌経路

##### 2.2 植物の EVs のカーゴ：sRNA

#### 3 植物の EVs と植物由来 EV ミメティック

##### 3.1 PD-EVMs の生理活性について

##### 3.2 植物のエクソソームと EVs について

#### 4 課題と今後の展望

#### 5 結語

#### 第2節 微生物の多様な細胞外膜小胞 豊福雅典

#### 1 はじめに

#### 2 細菌由来の細胞外膜小胞の名称

#### 3 細菌の構造

#### 4 グラム陰性菌における BEVs 形成機構

#### 5 グラム陽性菌における BEVs 形成機構

#### 6 ミコール酸含有細菌における BEVs 形成機構

#### 7 BEVs を介した物質の輸送—quantal secretion—

#### 8 BEVs の細胞指向性

#### 9 BEVs の機能

#### 10 BEVs を介した宿主への作用

#### 11 BEVs を用いた応用の動向

#### 12 最後に

### 第3節 植物由来小胞を担体とした DDS の新展開 梅津知宏、黒田雅彦

#### 1 植物由来小胞研究の進展と DDS への期待

##### 1.1 DDS の変遷と課題

##### 1.2 植物由来小胞の発見と生物学的背景

##### 1.3 DDS キャリアとしての植物由来小胞の特性

#### 2 DDS キャリアとしての多様な応用展開

##### 2.1 植物由来小胞の薬剤搭載技術の概念

##### 2.2 核酸医薬の送達における植物由来小胞の応用

##### 2.3 植物由来小胞の応用とハイブリッド DDS への展開

#### 3 臨床応用と実用化に向けた展望

##### 3.1 経口 DDS としての意義と臨床的利点

##### 3.2 品質管理と GMP 製造への課題

##### 3.3 安全性評価と免疫応答

##### 3.4 今後の展望とパラダイムシフト

## 第2章 文化・伝統との融合

### 第1節 漢方医学とエクソソーム 渡辺賢治、落谷孝広

#### 1 はじめに

#### 2 植物エクソソーム研究

#### 3 漢方薬と生薬

#### 4 複雜系である漢方薬研究の課題

#### 5 生薬エクソソーム研究のアプローチ

#### 6 生薬エクソソームに関する合意声明

#### 7 生薬エクソソームの抽出

#### 8 生薬エクソソームの分離と精製

#### 9 生薬エクソソームの特性

- 9.1 サイズ分布, ゼータ電位
- 9.2 生化学的特性評価
- 9.3 核酸
- 9.4 二次代謝産物
- 10 生薬エクソソームの生物活性
- 11 抗腫瘍効果
- 12 抗炎症効果
- 13 生薬エクソソームの投与経路
- 14 まとめ

## 第2節 エクソソームの新たな魅力：日本酒と発酵 植月聰也

- 1 はじめに
- 2 日本酒について
  - 2.1 日本酒の分類
  - 2.2 日本酒の製造方法
- 3 日本酒エクソソームの登場
  - 3.1 日本酒の製造過程から見つかったエクソソーム
  - 3.2 麹菌と酵母の持つ力
- 4 日本酒エクソソームの機能性
  - 4.1 酒母におけるエクソソームの含有量
  - 4.2 免疫強化機能
  - 4.3 老化抑制機能
  - 4.4 がんの抑制機能
- 5 エクソソームと日本酒の可能性
  - 5.1 日本酒エクソソームの応用先
  - 5.2 発酵食品のエクソソームとしての可能性
  - 5.3 エクソソームから見直される日本酒の価値
  - 5.4 「酒は百薬の長である」
- 6 さいごに

## 第IV編 社会的展望と未来予測

### 第1章 市場と国際動向

- #### 第1節 エクソソームの市場動向 西川宜秀
- 1 はじめに
  - 2 用途別市場概況
    - 2.1 医薬品
  - 3 創薬研究概況
    - 3.1 臨床試験の実施状況
    - 3.2 バイオテックの開発状況
    - 3.3 社会実装に関する課題
  - 4 食品・化粧品
  - 5 まとめ

#### 第2節 時空間解析とシングルEVs 解析が拓くエクソソーム研究の新展開 西田奈央

- 1 はじめに
- 2 シングルEV解析技術の重要性と発展
  - 2.1 従来手法の限界とシングルEV解析の必要性
  - 2.2 シングルEV解析技術の発展
  - 2.3 単一EV解析から生物学的機能理解へ
- 3 生理的組織環境で解き明かすEVs輸送と標的細胞選択性
  - 3.1 組織環境に依存したEVsの分泌, 受け渡しと取り込み
  - 3.2 EVsを組織環境内で解析するための研究モデル
  - 3.3 EVイメージング技術
- 4 まとめ シングルEV解析と時空間的解析の融合によるEVs研究の未来

### 第2章 課題と未来

- #### 第1節 EV製剤（エクソソーム製剤）の実用化に向けた品質安全性確保の課題 山元智史, 石井明子
- 1 はじめに—細胞外小胞 (Extracellular Vesicles:EVs)を取り巻く現状—
    - 1.1 はじめに
    - 1.2 EV製剤の特性
  - 2 EV製剤の実用化に向けて
    - 2.1 EV製剤の品質管理戦略構築の概要
    - 2.2 EV原薬およびEV製剤の特性解析法
    - 2.3 EV製剤の品質安全性確保
  - 3 EV製剤に関連する倫理的配慮の必要性および規制に関する事項
  - 4 おわりに

#### 第2節 エクソソームにおける今後の研究予測 小林桃愛, 山口勇大, 松崎潤太郎

- 1 はじめに
- 2 エクソソームへのタンパク質の輸送
  - 2.1 ESCRT経路
  - 2.2 ALIX経路 (Syndecan-Syntenin経路)
  - 2.3 セラミドを介した経路
  - 2.4 テトラスパニンを介した経路
- 3 エクソソームへの核酸の輸送
  - 3.1 RNAの輸送
  - 3.2 DNAの輸送
- 4 標的細胞への内在化
  - 4.1 フィロポディアを介した能動的な取り込み
  - 4.2 マクロピノサイトーシスによるクリアランス
  - 4.3 古典的なエンドサイトーシス経路
  - 4.4 細胞膜との直接融合
  - 4.5 エクソソームコロナを介した取り込み
- 5 総括