

ガイドライン推奨項目*		対応内容
リスクプロファイリング	<p>リスクと危険因子の特定ならびにこれらの低減策の検討は、EV療法の開発早期から実施すべきである。一般に、EV調製物のリスクは薬機法の下で開発されるバイオ医薬品と大きく変わるところはない。特定のリスクに関与する可能性のある危険因子は様々な段階、例えば、最終製品としてのEV調製物の特性や組成、原料調達、調製工程（製造工程）、輸送、保管、非臨床評価、臨床評価、臨床投与方法、臨床適用現場でのEV調製物の取扱い、などに存在している可能性がある。なお、EVsは複雑で不均質・不均一であるため、認識している品質特性をすべて列挙したとしても、製品の有効性や安全性を阻害する危険因子に関連する重要品質特性（CQA）をすべて特定・管理することが困難なことにも留意しておく必要がある。</p>	当幹細胞上清液では、上清液中の期待する生理活性成分であるタンパク質（サイトカイン、成長因子、EV等）やリスクが懸念される危険因子（炎症性サイトカインやアンモニアなど）の濃度等の測定を行なっており、既報の論文や臨床における前例を踏まえて、特に重要である生理活性や危険因子に関連する重要品質特性について解析し、厳格な基準をクリアしたのみのを使用しております。使用する培養液は細胞増殖用として完全ゼノフリー、上清液回収用としては完全プロテインフリーのものを使用し、有害な重金属等を含まないことを確認しております。原料調達、製造工程、輸送、投与まで一貫した無菌性と保存安定性を担保することに留意しております。
リスクプロファイリング	EV療法のリスクマネジメントでは、有害事象発生時の原因究明のために検体（例えば、臨床利用されたものと同じロットのEV調製物や生物由来原料）および調製（製造）、投与記録を保管することが重要になる。	当幹細胞上清液で使用する細胞含めた全ての原料は、ロットごとにCOA（分析証明書）を保管し、また、製品自体もロットごとにサンプル保管しており、製品、安全性試験の結果、流通先の情報等を保管しております。
調整工程（製造工程）・品質	原料・材料の段階から一貫して、工程中の無菌操作ならびに種々の成分の混入防止策を必要とする。また、製造に用いられる細胞の状態が変化しやすく、その細胞から放出されるEVsの品質・有効性・安全性も調製工程（製造工程）によって大きく影響を受けるため、工程の管理が重要である。	当幹細胞上清液の製造にあたっては、原料・材料の段階から一貫して、厳格な無菌操作および異物混入防止策を講じております。クラス10,000の清浄度を有するクリーンブース内のクラス100安全キヤビネットで製造を行っており、再生医療等製品の製造に推奨される環境基準に準じております。また、SOPで定められた製造を実施・記録し、厳密な製造工程管理を実施している。
調整工程（製造工程）・品質	EV調製物の品質・有効性・安全性確保のためには、再生医療等安全性確保法下の再生医療等提供基準及び医薬品医療機器等法（薬機法）下の再生医療等製品（細胞加工製品）の品質管理・製造管理基準に準じた品質管理・調製管理（製造管理）を実施するべきである。	当幹細胞上清液の製造は、"再生医療等安全性確保法下の再生医療等提供基準及び医薬品医療機器等法（薬機法）下の再生医療等製品（細胞加工製品）の品質管理・製造管理基準に準じた品質管理・調製管理（製造管理）"を指導、管理、運営をしております。ドナーと培養細胞におけるウイルス否定試験、上清液における各種無菌試験、エンドトキシン試験、マイコプラズマ試験を実施しております。生理活性を有するサイトカイン類のELISA試験を実施しております。
EV調製物のチェック項目並びに効果検証	(1) EVsとしての形状・サイズを有する粒子が存在すること、(2) EVマーカー分子が存在することの証明の2つが必要である。	ナノサイト解析によりEVsに相当する数百nmの粒子が存在することを確認しております。EVマーカーであるCD81、CD9/CD63融合タンパクを上清液中のELISA試験により確認しております。
EV調製物のチェック項目並びに効果検証	動物由来成分を含まないXeno-Freeの培地を使うべきである。人工合成した血清代替物（Knock Out Serum Replacement）等の使用などの可能性も検討すべきである。	当幹細胞上清液の製造では、使用する培養液は細胞増殖用として完全ゼノフリー、上清液回収用としては完全プロテインフリーのものを使用し、有害な重金属等を含まないことを確認しております。また、培養液以外の培養資材においても、血清やその他の異種動物由来成分を一切含まないものを採用しております。
EV調製物のチェック項目並びに効果検証	安全性または対象疾患に対する有効性と関連があると推定されるEV調製物の品質特性（例えばEVsの含有タンパク質やmiRNA等）を重要品質特性（CQA; Critical Quality Attribute）と設定して調製工程（製造工程）構築時もしくは調製（製造）時の適切な段階で解析を実施すべきである。	当幹細胞上清液では、全製造ロットにおいて、再生医療等安全性確保法で求められる無菌試験、マイコプラズマ試験、エンドトキシン試験を実施しております。加えて、使用細胞のウイルス否定試験（HIV、肝炎ウイルス、HTLV等）、炎症性サイトカインやアンモニア等の危険因子の測定を行い、厳格な安全性基準を設定しております。また、有効性の指標として最も信頼性の高い成長因子等の量を測定し、既報の文献や他社公表値を上回ることを確認しております。上清液のEV等濃縮は行っておらず、高濃度のEVsは含まれていないものとなります。
EV調製物のチェック項目並びに効果検証	対象疾患に対する有効性への外挿性が推定されるin vitro力価評価系または非臨床in vivo評価系を確立すべきである。	当幹細胞上清液の評価システムとして、in vitroではヒト由来の各種細胞および多能性幹細胞を用いた毒性評価試験系を確立しております。非臨床in vivo評価については、提携する動物病院や動物実験施設において、イヌやマウス等を用いた目的に応じた動物試験を実施可能な体制を整えております。
EV調製物のチェック項目並びに効果検証	モデル動物において、投与されたEVsのうち、投与状況に応じて一定の割合以上が標的となる細胞、組織または臓器へ届くことが証明されていることが好ましい。	提携動物病院の協力のもと、イヌ眼球への局所投与において濃度依存的な薬効を確認しております。また、目的に応じてマウス等の小動物試験も実施可能であり、投与EVsの体内動態や標的組織への到達を評価できる体制を整えております。
EV調製物のチェック項目並びに効果検証	in vitro, in vivoでの評価系で、EV調製物の投与量と安全性・効果の関係は十分検証されるべきである。	細胞増殖試験やイヌをはじめとする動物試験において、投与濃度依存的な効果を確認しております。また、安全性に影響を及ぼす可能性のある因子（IL-6等）の種類や量を特定し、これらを安全性試験の基準として採用しております。これにより、投与量と安全性・有効性の関係を総合的に評価しております。

*細胞外小胞等の臨床応用に関するガイドライン第1版 から抜粋