

# 細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則

## 千呼萬喚始出來

113年5月17日，財團法人醫藥品查驗中心(CDE)發佈了“細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則\_第一版”，該指導原則分為適用範圍、製造與管制考量、參考文獻三大部分。內容定義了何謂細胞外囊泡製劑及其適用範圍，並描述了以申請臨床試驗為目的之建議分析項目與檢測標準。以下為岑祥技術部依據指導原則內容所整理的摘要表格，供參：

細胞外囊泡製劑之製造管制研發策略指導原則			
<b>1. 適用範圍</b>			
細胞外囊泡製劑定義：藉由分離和純化活細胞分泌物而製得的具有雙脂層結構的囊泡。未經分離或純化的細胞培養液或細胞裂解物，以及經由人為操作破壞細胞而產生的囊泡，均不屬於本指導原則中細胞外囊泡製劑的定義。 本指導原則適用於使用人源細胞製得的細胞外囊泡製劑。			
<b>2. 製造與管制考量</b>			
原物料	<b>2.1.1 起始物</b> 自體或同種異體之組織或細胞 為維持製造品質之一致性，故建立細胞庫系統有其必要性（「人類細胞治療劑臨床試驗申請作業及審查基準」、ICH Q5A、ICH Q5D） <b>2.1.2 其他原料、試劑與賦形劑</b>		
2.2 製備、分離和純化	細胞製備與培養 → 分離及純化 → 後續步驟（無菌過濾、調劑、充填等）		
2.3 特性分析	針對產品特性分析以確認關鍵製程參數(CQA)，如： Profile analysis：如細胞外囊泡組成、數量等 功能活性(Functional activity)之定量分析：應能反應與適應症之有效關聯性		
2.4 品質控管	2.4.1 外觀檢測 2.4.2 細胞外囊泡之數量 2.4.3 細胞外囊泡之尺寸	2.4.4 黴菌菌檢測 2.4.5 無菌試驗 2.4.6 內毒素檢測 2.4.7 外源性病毒檢測	2.4.8 鑑別試驗 2.4.9 純度及不純物測試 2.4.10 效價分析
安定性分析	2.5 細胞外囊泡製劑的安定性 儲存條件評估：溫度與時間(ICH Q5C)		
3. 參考文獻	CDE審查經驗、MISEV 2023、US FDA、Japan PMDA、Korea MFDS、ICH等		

資料來源：財團法人醫藥品查驗中心(113.5.17 第一版)

整理：岑祥技術部

圖一、摘要：細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則。  
圖中標示數字為指導原則對應章節。

# 裡面說了什麼？

## 用於生產的細胞細胞外囊泡

(Extracellular Vesicles, EVs，或稱胞外體)的相關研究與產業應用在近年蓬勃發展，而更廣為人知的則是EV的其中一種類別：Exosome(外泌體)。EV和Exosome在很多情境下會被混用，或是由於偵測方式、實驗原理的限制，在研究或應用上，有時並沒有被界定清楚。而在「細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則」(以下簡稱「本指導原則」)中的第一個重點，即給出了「細胞外囊泡製劑」(以下簡稱「EV製劑」)的定義與適用範圍：須是**人源活細胞**分泌出來的、具備**雙層脂質膜(Lipid bilayer)結構**，並且經過分離與純化的囊泡才屬於適用範圍。也就是說，沒有經過分離和純化的培養液樣品、不是人源細胞分泌的EV(例如植物、動物細胞來源的EV)、不是細胞分泌出來的分泌物(例如是將細胞震破而得的囊泡)、以及細胞分泌出來的蛋白質(不具有脂雙層結構)等，上述細胞產物或囊泡，皆不適用此原則。值得注意的是，適用範圍中還提到了使用EV作為載體搭載藥物的部分，若是作為**藥物載體**的EV部分亦具有**療效**，則同樣適用；反之，若是EV部分不具有療效，則不適用此原則。

由於EV是由細胞分泌出來的產物，即EV製劑的起始物是細胞本身，因此在原物料管控部分，**起始物細胞**也是審查的一大重點。起始物指的是用於生產EV的**自體或同種異體之組織或細胞**，由於會有不同細胞提供者(不同人)，或是同一提供者但不同次提供細胞(同一人、不同次)的差異，**為了維持製造品質一致性，因此需要建立細胞庫系統**。需要特別注意的是，由於病毒的大小(通常為10-300nm)可能與EV類似，且在製程中較難去除、去活化，故若起始物細胞有病毒感染，則在後續分離、純化EV的過程中，病毒很可能會一併被濃縮，進而造成人體危害，因此需參照ICH Q5A進行**病毒安全性檢測**。此外，到達**LIVAC** (Limit of in vitro cell age, 最長體外培養細胞年齡)的生產細胞，也需進行**特性分析與病毒相關試驗**，以確認整個生產培養期間均維持所要求的細胞特性。

## 生產過程中使用到的原物料

在生產細胞培養的過程中，可能會使用到生物性來源原料，這部分可參考「製程中使用生物性原料之研發策略指導原則」，且須包含外來病原安全性之評估資料。而中心特別強調的是，在細胞培養過程中，經常使用到**血清(Fetal Bovine Serum, FBS)**或是**血小板裂解液(Human Platelet Lysate, hPL)**，可能的話請避免使用此種添加物，主要原因之一是FBS或hPL本身就含有細胞外囊泡，可能造成生產出來的EV製劑中，大部分其實是FBS或hPL這些培養添加物中的EV，而非細胞本身生產出來的EV，進而影響EV製劑的品質特性。

然而，為了支持細胞在體外培養過程中的營養環境與生長所需，FBS或hPL往往是培養過程中的必須添加物；改用無血清培養系統或許是一個選項，但仍會因此衍伸出影響細胞生長、細胞特性改變與EV產率等議題。

~深入了解：關於Exosome生產時，血清與細胞培養系統的  
議題與選用~

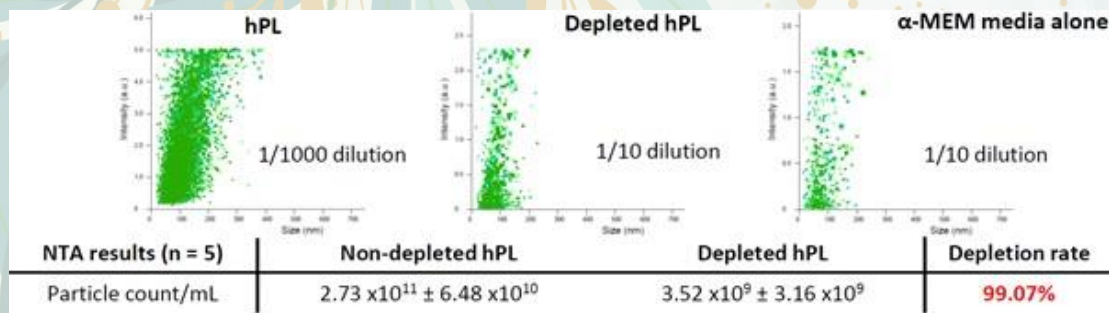
[Exosome 生產第一步——如何培養好細胞，以及... \(20230912，  
岑祥技術部\)](#)

[Exosome 生產知多少——選對血清培養系統的重要，原  
來...\(20230919，岑祥技術部\)](#)

[Exosome 生產與收集——一次到位的高效系統，除此之  
外...\(20230926，岑祥技術部\)](#)

## 如果難以避免，如何有效解決？

既然FBS或hPL常是培養過程中的必須添加物，因此若無法避免使用該原物料時，中心則建議在特性分析(如數量、鑑別、純度、效價等)時，納入**模擬細胞外囊泡(Mock extracellular vesicle)**對照組(以下簡稱「Mock EV」)。Mock EV指的是包含該試劑，但未進行細胞培養的分離、純化。舉例來說，若生產過程中使用到hPL，則可將hPL本身拿去進行分離、純化，作為Mock EV對照組，再與EV製劑組別比較，進行特性分析。



圖二、AventaCell Exosome-Depleted UltraGRO™-PURE GI 的奈米顆粒高去除率(Depletion rate: 奈米顆粒去除的程度)

圖二是AventaCell艾瑞生醫生生產的Exosome-Depleted UltraGRO™-PURE GI (ED UGP GI)產品之NTA (Nanoparticle Tracking Analysis, 奈米粒子追蹤技術)數據。AventaCell的ED UGP GI產品，是以UltraGRO™-PURE GI(UGP GI)為基底，確保已去除95%以上奈米粒子的商業化**Exosome-depleted hPL**產品。由圖二NTA數據可知，Depleted hPL組別與Non-depleted hPL組別相比，每mL的particle含量已由 $10^{11}$ 下降到 $10^9$ 等級，接近Basal media的程度(alpha-MEM media alone組別)，且5次實驗結果的Depletion rate平均達99.07%。Depletion rate  $\approx 99\%$ 也是一般實驗室自行去除血清添加物中EV的基準。製程中血清添加物EV的去除，可確保收集到的囊泡產物，是來自目標細胞(Cell-derived EV)，而非來自血清添加物(Serum-derived EV)干擾，進而確保EV製劑的效價、純度等特性。此外，指導原則中特別強調了EV製劑的**病毒檢測**，包含**原物料**(2.1.1 起始物與2.1.2 其他原料、試劑與賦形劑)以及製劑品管(2.4 品質控管之2.4.7外源性病毒檢測)兩部分都有提及，顯示監管單位相當重視EV製劑的外來病原體安全性評估。

ED UGP GI是由UGP GI為基底製成，因此保留了UGP GI的各個特色，包含無異種來源(Xeno-free)特性，同樣也是病毒滅活型(Viral inactivated)產品：UGP GI經過伽瑪輻射線(Gamma Irradiation, GI)之病原體滅活處理(Pathogen reduction treatment, PRT)，並依據ICH/EMA guidelines，使用四種模式病毒(BVDV, Reo3, HSV1, MMV)驗證其GI效力，確保達到4 log<sub>10</sub>(一萬倍)以上病毒滅活效果([Ref : AventaCell ISCT Gamma Poster](#))，加上具有美國FDA DMF、日本PMDA、歐盟EP 5.2.12.4 Compliance，因此UGP GI搭配ED UGP GI，作為EV製劑培養生產細胞之原物料，是目前市場上，既能符合多重監管需求、優化製程，並降低成本與使用者負擔的hPL產品。

## 小結

本篇目前只討論了生產細胞培養、原物料部分，但實際上指導原則中還描述了包含**製備/分離/純化、特性分析、品管、安定性檢測**等原則，供研究人員參照。這部分，亦可參考[MISEV2023](#)的更新內容。誠如中心在觀點分享講座中所述，EV研究與產業發展快速，因此本指導原則主要是針對科學性想法與各方先進之經驗提出實驗建議，並非訂下法規規定，故未來可能會再修改，與時俱進。

期待下次再與大家分享EV研究與產業應用更新的時刻。

## 參考資料

1. [細胞外囊泡製劑製造與管制之研發策略指導原則\\_第一版，中華民國113年05月17日\(財團法人醫藥品查驗中心\)](#)
2. [113年創新生物藥開發與先進技術製造法規指導原則制訂觀點分享\(財團法人醫藥品查驗中心113.3.20\)](#)
3. [2024年度創新生物藥開發與先進技術製造法規指導原則 制訂觀點分享\(1\)\(含影片與簡報\)\(CDE\)](#)
4. [Minimal information for studies of extracellular vesicles \(MISEV2023\): From basic to advanced approaches. J Extracell Vesicles. 2024 Feb;13\(2\):e12404. doi: 10.1002/jev2.12404.](#)
5. [韓國食品藥物安全評估研究所發布《細胞外囊泡製劑品質、非臨床及臨床評估》指引\(環球生技月刊2023-10-24\)](#)
6. [ICH Q5A「人類或動物細胞株衍生之生物技術產品的病毒安全性評估」指引草案\(當代醫藥法規月刊147期\)](#)
7. [ICH Q5D：生物技術/生物製劑所需生產用細胞受質之取得與特性分析指引\(衛生福利部食品藥物管理署中華民國 111 年 11 月\)](#)
8. [製程中使用生物性原料之研發策略指導原則\(CDE\)](#)