

共同研究開発事業報告書

1 事業名称

血管幹細胞と光応答スイッチを用いた安全な iPS 細胞由来膵島移植法の開発

2 実施期間

交付決定日 から 令和 9 年 3 月 31 日

3 実施場所

リバスキュラーバイオ社(吹田市山田丘 3-1)
大阪大学大学院医学系研究科(吹田市山田丘 2-2)

4 連携した大学、研究機関等の名称（産学連携の場合）又は団体の構成員の名称（企業間連携の場合）

リバスキュラーバイオ株式会社
大阪大学大学院医学系研究科
東京大学大学院総合文化研究科

5 事業の経過及び内容

1. 光応答スイッチヒト iPS 細胞の作製、2. 光応答スイッチ iPS 細胞の β 細胞分化誘導、3. 血管幹細胞由来血管シートの作製、4. マウス移植実験、という 4 段階の実験計画を経て、安全かつ効率的な iPS 細胞由来膵島移植法の開発に取り組んでいる。

1. 光応答スイッチヒト iPS 細胞の作製

- 光応答スイッチおよびその評価を目的としたレポータープラスミドをコンピテントセルにてそれぞれ増幅させ、その後シークエンスを行うことでプラスミドが目的の塩基配列を有することを確認した。
- ヒト iPS 細胞に対して CRISPR ゲノム編集（1 回目のゲノム編集）を行い、光に反応して Cre を発現するヒト iPS 細胞（Split-Cre iPS 細胞）を作製した。その際、未分化細胞のみを除去かつ β 細胞を残存させ得るよう細胞を最適化するため、光応答性に Cre 発現量が異なる 2 種類の細胞を作製した。

2. iPS 細胞の β 細胞分化誘導

- 野生型の（光応答スイッチを有しない）iPS 細胞の膵島への分化誘導は継続的に確立できている。

3. 血管幹細胞由来血管シートの作製

- 血管網を効率的に構築できる血管内皮幹細胞の培養法を探索し、ヒト脂肪組織から血管内皮幹細胞を分離培養する方法の確立に成功した。さらに、同細胞をシート状に配列し剥離する方法、および単離した血管内皮幹細胞を浮遊細胞として採取する方法をそれぞれ確立し、ヒト iPS 細胞との混合移植に向けて複数の剤型の構築に成功した。

6 事業の成果

2か年計画であるため、令和8年度の成果について述べる。

iPS細胞由来膵島の安全性を担保するため不要な未分化細胞を除去することのできる光応答スイッチヒトiPS細胞作製のための、第1段階のゲノム編集を行うことができた。現在、同細胞の光応答性の効率を評価中であり、これが完了すると、世界初の光応答性に遺伝子発現をオン・オフ可能なヒトiPS細胞を確立できる。

ヒトiPS細胞の膵島への分化誘導は確立済みかつ継続できており、光応答スイッチヒトiPS細胞完成後にすぐ適用可能である。

血管内皮幹細胞とiPS細胞由来膵島の同時移植の方法を最適化するため、上記に並行して、野生型の（光応答スイッチを有しない）iPS細胞由来膵島と血管幹細胞との同時移植実験を行った。その結果、移植後のマウス皮下組織において、インスリン陽性細胞を含むiPS細胞由来膵島とCD31陽性ヒト血管内皮細胞が混在していることが確認され、今後、マウス皮下における移植片生着率評価が可能となった。

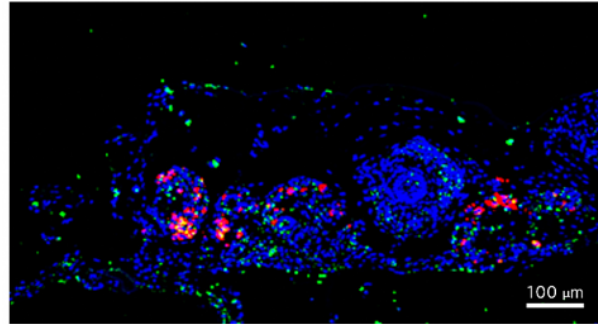


図1. 移植後のマウス皮下組織
インスリン陽性細胞(赤)を含むiPS細胞由来膵島と
CD31陽性ヒト血管内皮細胞(緑)が混在している。

7 今後の展望

実験1, 2および3を並行して進め、4の動物実験にて安全かつ効率的なiPS細胞由来膵島移植法の検証を行う。

1. 光応答スイッチヒトiPS細胞の作製 (続き)

- ・ 上記 Split-Cre iPS細胞をもとに CRISPR ゲノム編集による Split-Cre; Nanog-STOP-Casp9 iPS細胞 (光応答スイッチヒトiPS細胞) を作製 (2回目のゲノム編集) (R8年1月~3月)
- ・ 光応答スイッチヒトiPS細胞のゲノム編集後品質評価 (R8年3月~4月)

2. 光応答スイッチiPS細胞のβ細胞分化誘導

- ・ β細胞分化誘導効率の評価 (遺伝子解析、フローサイトメトリー、免疫染色、*in vitro* インスリン分泌実験) (R8年4月~6月)
- ・ *in vitro* での光応答性の未分化細胞除去実験 (R8年1月~3月)

3. 血管幹細胞由来血管シートの作製

- ・ ヒト脂肪組織中の血管幹細胞由来血管シート培養法の確立 (R7年7月~R8年6月)

4. マウス移植実験

- ・ 糖尿病モデルマウスに対する光応答スイッチiPS細胞由来膵島および血管シートの同時移植実験 (血糖・体重・移植片評価) (R8年6月~12月)

8 今後、産学連携や企業間連携により事業を実施する事業者への助言等

企業とアカデミアの連携に際しては、緊密かつ率直なコミュニケーションが非常に重要であると認識している。取得すべきデータに関しても、企業とアカデミアでは背景として有するデータの質や再現性等への認識が異なるケースも多く、これらのすり合わせは産学連携の成功に直結する要素であると認識している。この達成には、バックグラウンドや研究目的、必要なデータ、スケジュール等を双方が理解・共有する姿勢を持ち、頻回かつ率直にコミュニケーション

をとることが重要であることを改めて認識した。弊社の場合、社内にアカデミア経験者、事業会社としてアカデミアと共同研究を経験したものが在籍しており、本ポイントを踏まえたうえで産学連携を進められている。