

# 神経疾患の治療を目指す新規RNAレプリコンベクター



京都大学 医生物学研究所

教授 朝長 啓造

2026年2月5日

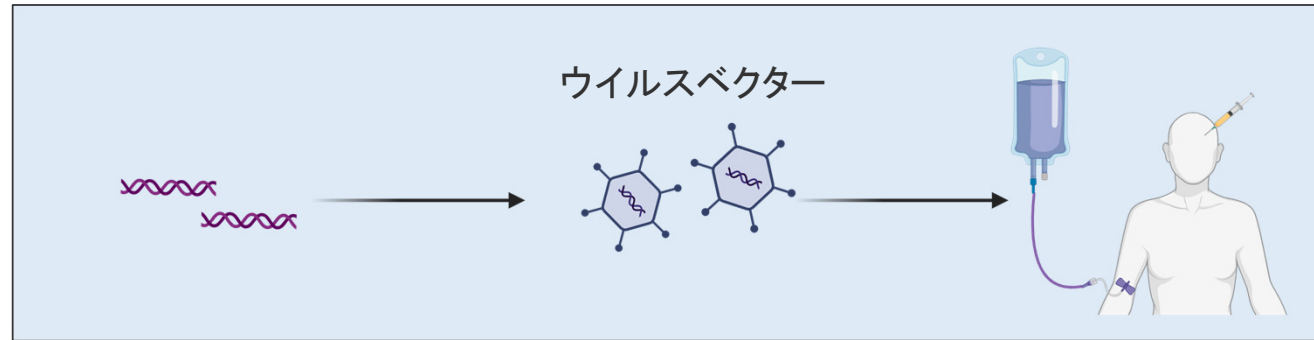


## 技術概要

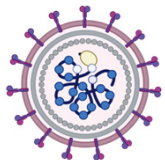
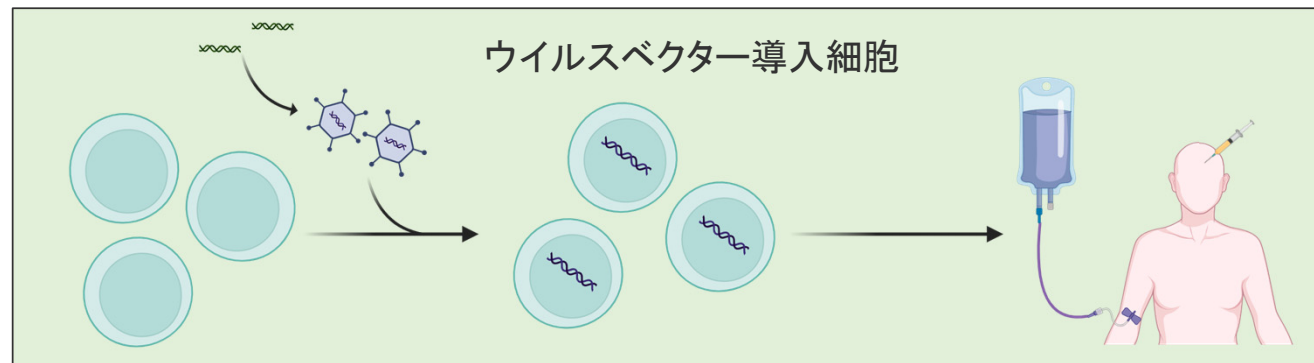
既存のウイルスベクターの弱点と問題点を克服した  
国産RNAウイルス由来ベクターの開発

# ウイルスベクターと遺伝子治療

In vivo遺伝子治療



Ex vivo遺伝子細胞治療



多様な疾患や治療法に最適なウイルスベクターの選択

# ウイルスベクターと遺伝子治療



• レンチウイルス



• アデノ随伴ウイルス



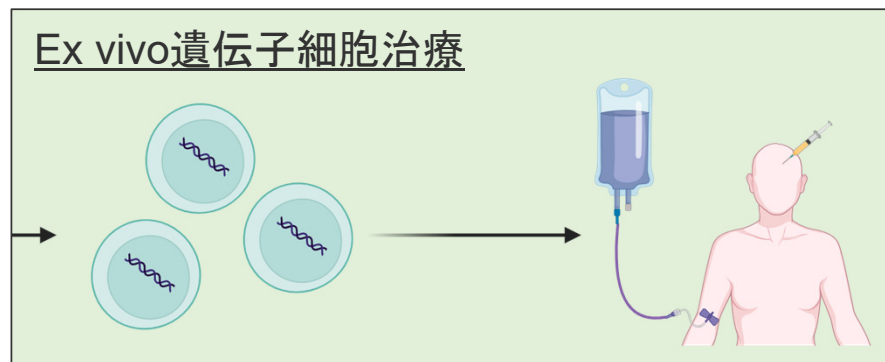
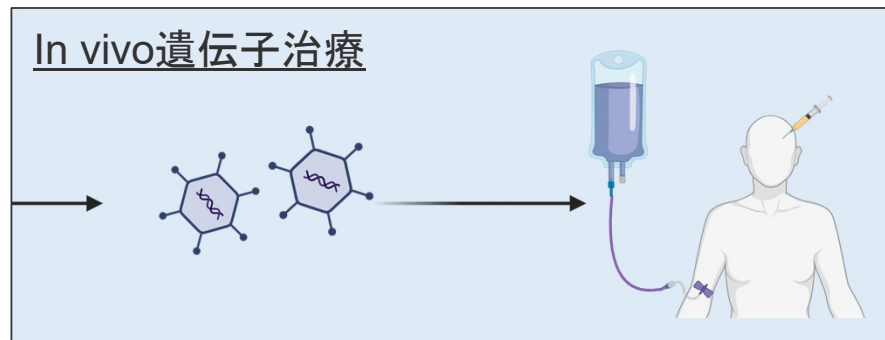
• レトロウイルス



• アデノウイルス



• ヘルペスウイルス



# ウイルスベクターと遺伝子治療



• レンチウイルス



• アデノ随伴ウイルス



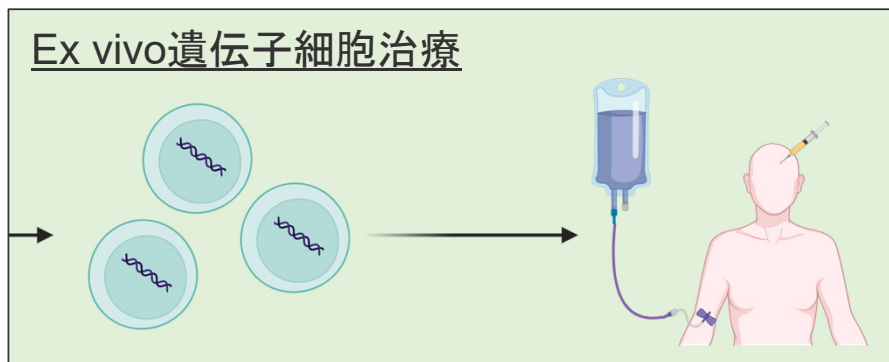
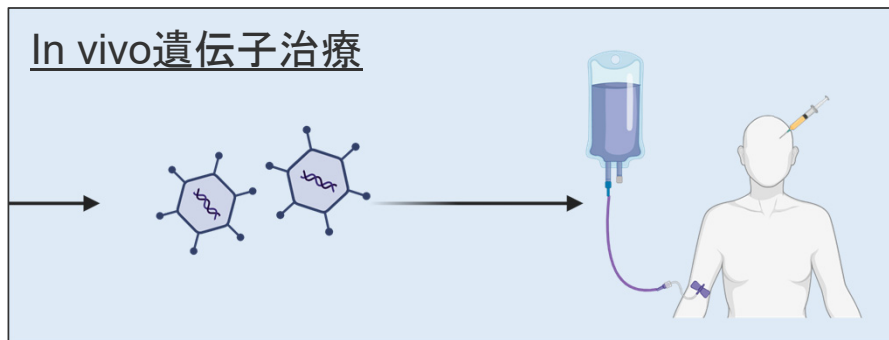
• レトロウイルス



• アデノウイルス



• ヘルペスウイルス



現在、遺伝子治療に使われているウイルスベクターはほぼ**2種類**

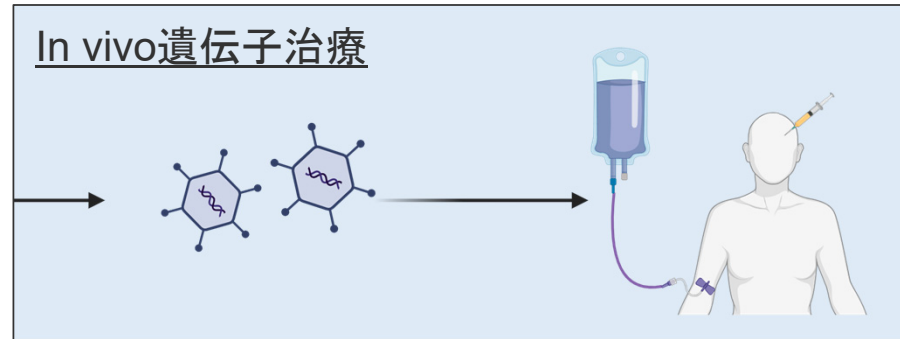
## 既存技術の問題点



- レンチウイルス (LeV)



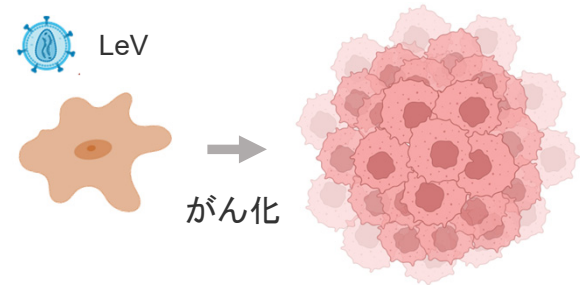
- アデノ随伴ウイルス (AAV)



- ゲノム傷害によるがん化の危険性
- 血液脳関門の不透過性と侵襲的投与の危険性
- 脳実質内での拡散性の低さ
- 副作用発生時の排除困難さ



- 静脈投与に伴う重篤な肝毒性と急性肝不全
- 髄腔内・脳室内投与による炎症反応と神経細胞毒性
- 中和抗体による再投与の不可能性



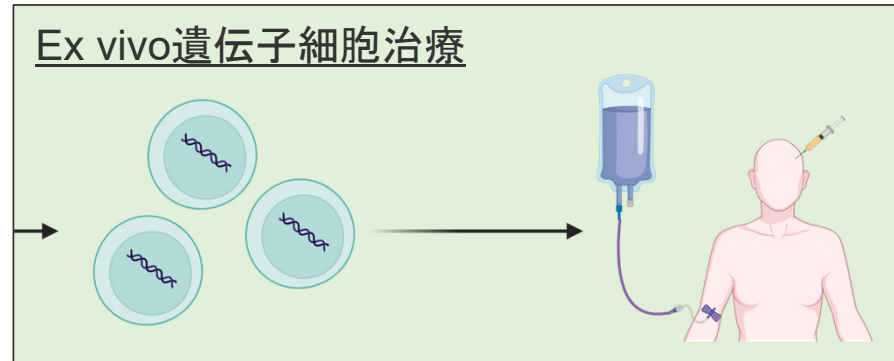
## 既存技術の問題点



- レンチウイルス (LeV)



- アデノ随伴ウイルス (AAV)

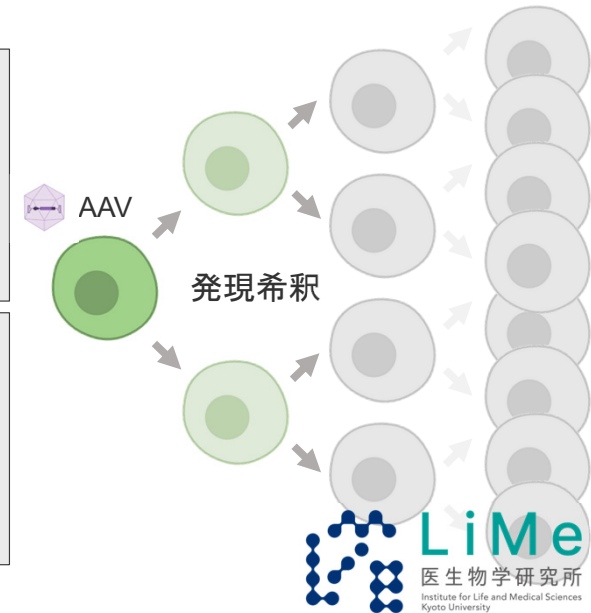


- ゲノム傷害による導入細胞のがん化の危険性
- 副作用発生時の排除困難さ
- サイレンシングによる発現低下 (発現持続性)



- 幹細胞への導入効率の低さ
- 分化・増殖細胞で発現が希釈される (発現低下)

「遺伝子細胞治療には適用されていない」



## 既存技術の問題点



- レンチウイルス (LeV)

▶ 既に実用化されているものの、患者体内での遺伝子発現において安全性と安定性に関する重大な弱点が存在している



- アデノ随伴ウイルス (AAV)

In vivo遺伝子治療

脳内への**非侵襲的かつ安全、持続的**な遺伝子導入

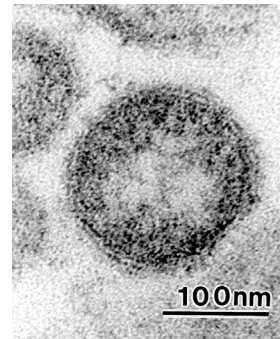
Ex vivo遺伝子細胞治療

幹細胞への**安全かつ安定**した遺伝子導入

## 革新的技術

# REVec

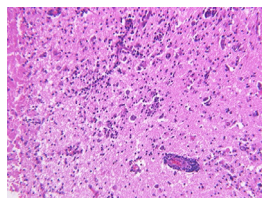
(RNA virus-based episomal vector)



ユニークな性状をもつRNAウイルス(ボルナ病ウイルス)に由来

## 技術概要 (ボルナ病ウイルス)

- ボルナ病ウイルス1型



### ウマ・ヒツジの非化膿性脳脊髄炎(ボルナ病)

Taniyama et al., Vet Rec. 2001 ;  
<http://www.vetscite.org/publish/articles/000106/index>

- ヒトへの病原性



### 致死性脳炎

(ドイツで年間5-6名の発症例／不顕性感染も多い)

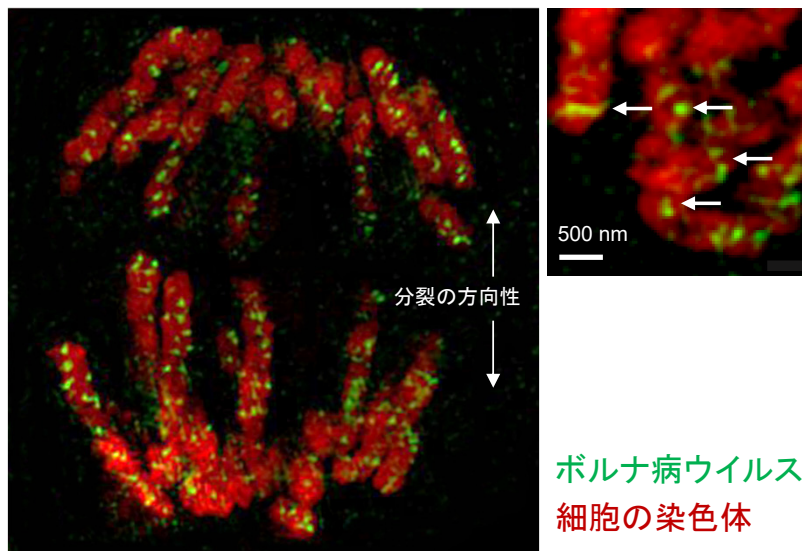
# 技術概要 (ボルナ病ウイルス)

- 細胞の核内で複製
- 半永続的に持続感染



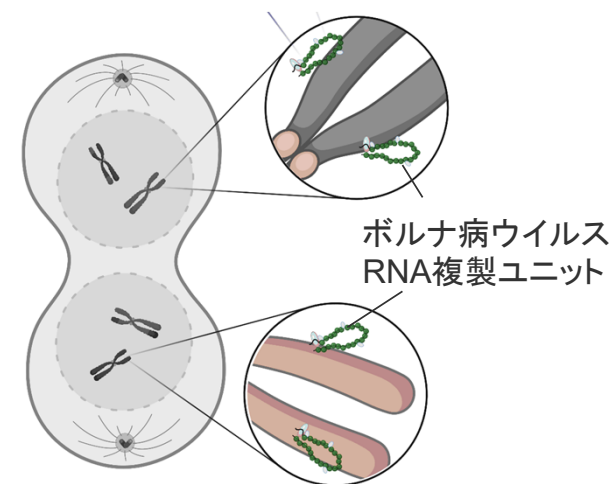
ボルナ病ウイルス感染細胞

細胞を破壊せずに核内で遺伝子発現している(緑)。



ボルナ病ウイルスが感染した細胞の分裂像

ウイルスのゲノムRNAを含む複製ユニット(緑)が、分裂染色体(赤)の表面に接合して2つの細胞へと安定的に分配される。

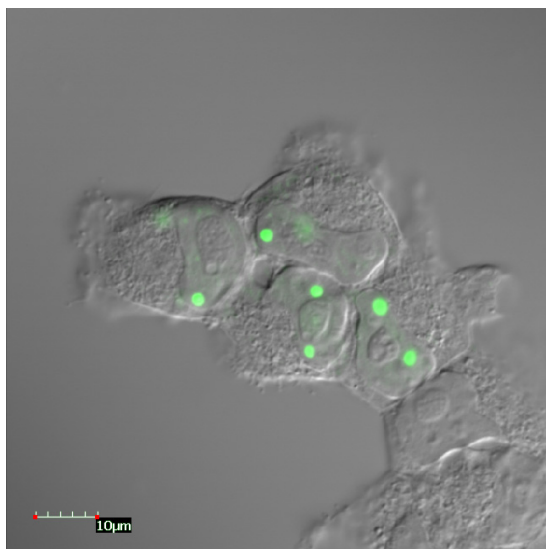


模式図

ボルナ病ウイルスのRNA複製ユニットは細胞分裂期を通じて染色体上にある

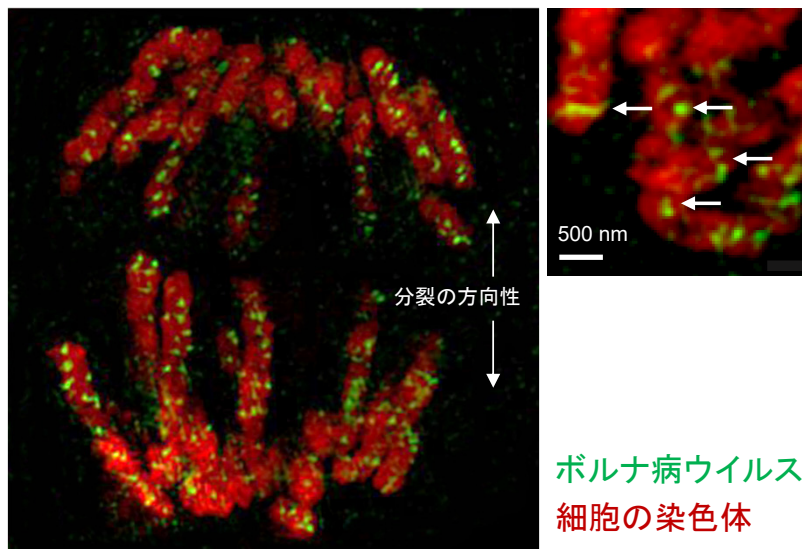
## 技術概要 (ボルナ病ウイルス)

- 細胞の核内で複製
- 半永続的に持続感染



ボルナ病ウイルス感染細胞

細胞を破壊せずに核内で遺伝子発現している(緑)。

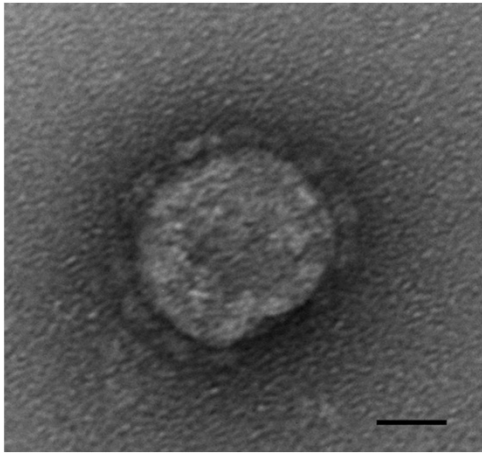


ボルナ病ウイルスが感染した細胞の分裂像

ウイルスのゲノムRNAを含む複製ユニット(緑)が、分裂染色体(赤)の表面に接合して2つの細胞へと安定的に分配される。

- 細胞のゲノムDNAを傷害しない
- 分裂・増殖する細胞でも遺伝子発現を維持する

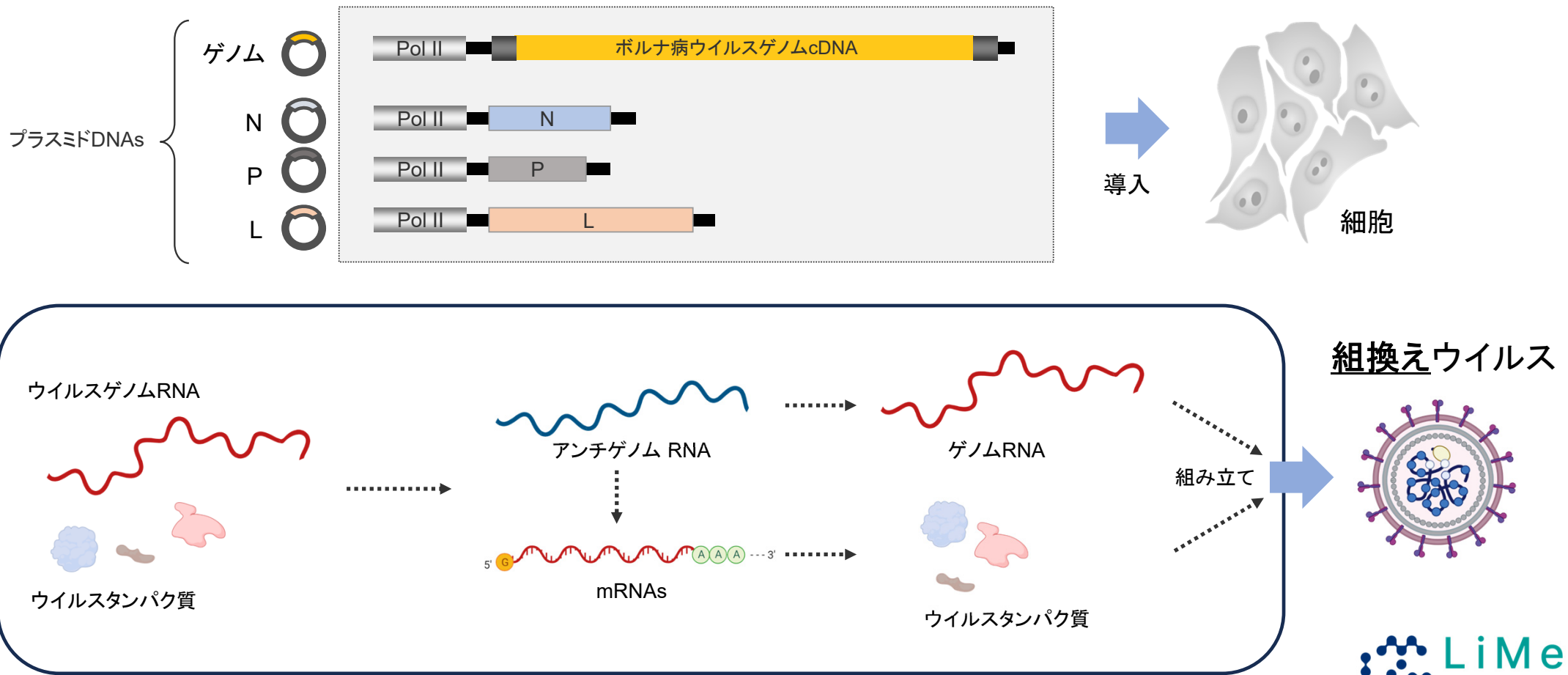
RNAウイルスの中で  
**唯一無二**の特徴



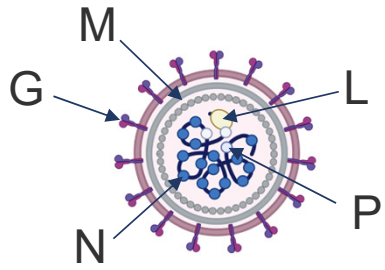
唯一無二の特徴

ウイルスベクター技術に応用

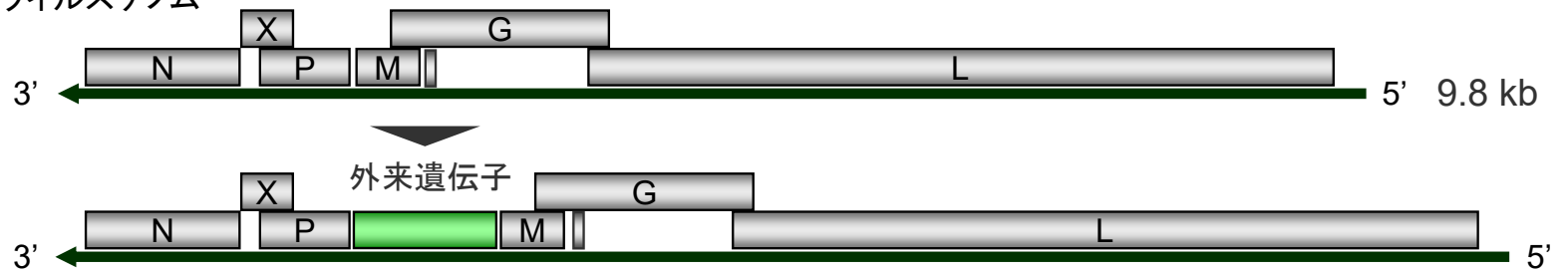
# 技術概要（逆遺伝学技術）



# 技術概要 (組換えボルナ病ウイルス)

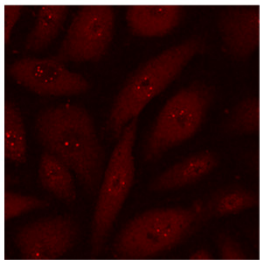


ボルナ病ウイルスゲノム

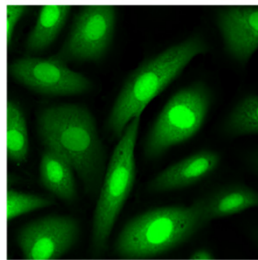


培養細胞導入

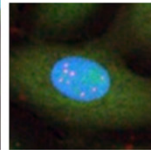
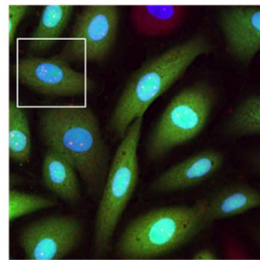
ウイルスN



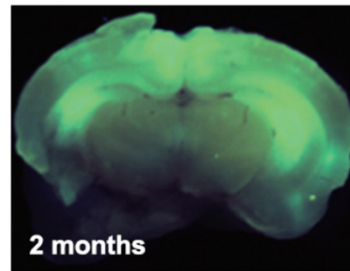
GFP



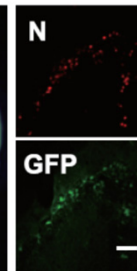
Merged



生体投与

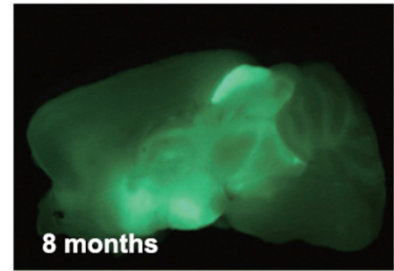


2 months

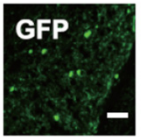


N

GFP



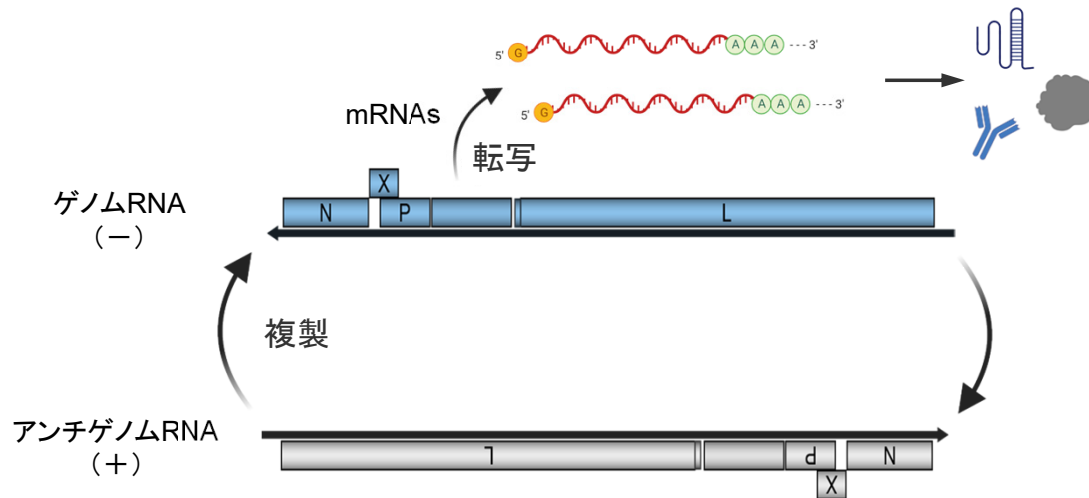
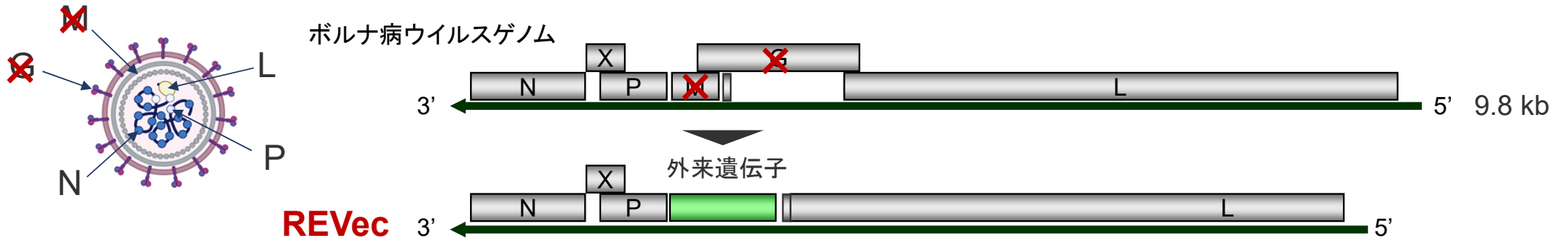
8 months



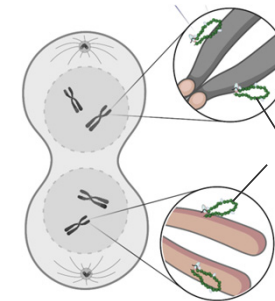
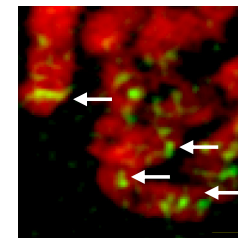
GFP

Daito et al., J Virol (2011)

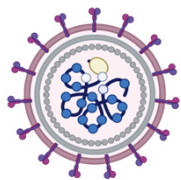
# 技術概要 (REVec)



## 染色体結合型 エピソーマル RNAレプリコン

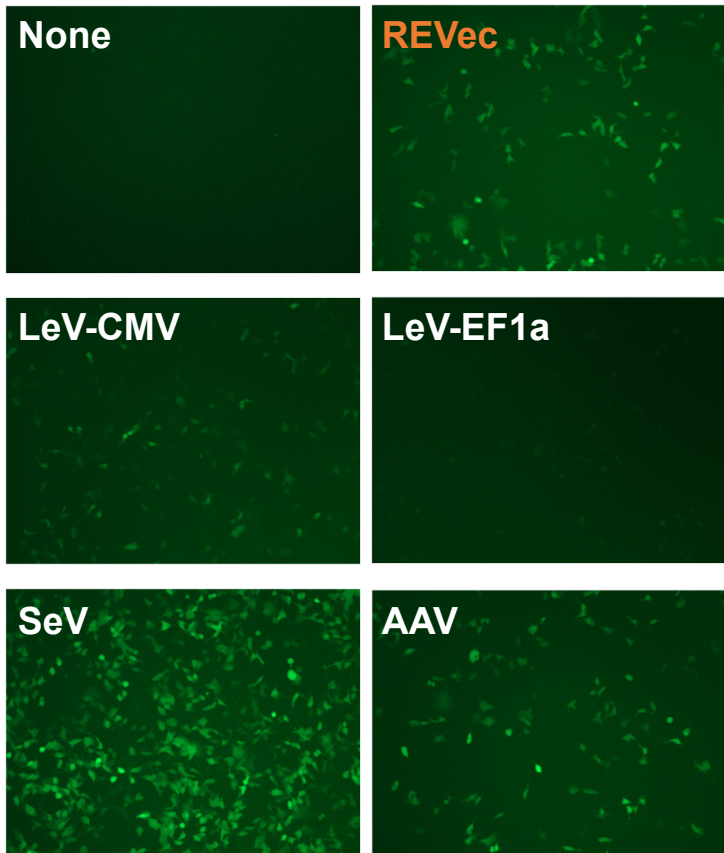


	REVec	LeV	AAV	AdV
ゲノム	ssRNA	ssRNA-RT	ssDNA	dsDNA
細胞内形態	クロマチン結合型 エピソーマルRNA	インテグレートDNA	エピソーマルDNA	エピクロモソーマル DNA
遺伝子発現	安定/持続的	一過性/安定	一過性	一過性
ゲノム挿入	なし	必須	なし/稀	なし/稀
分裂細胞で希釈	なし	なし	あり	あり
搭載サイズ	5 kb	8 kb	5 kb	30 kb
免疫原性	低い	低い	低い	高い
細胞傷害性	なし	なし	なし	あり

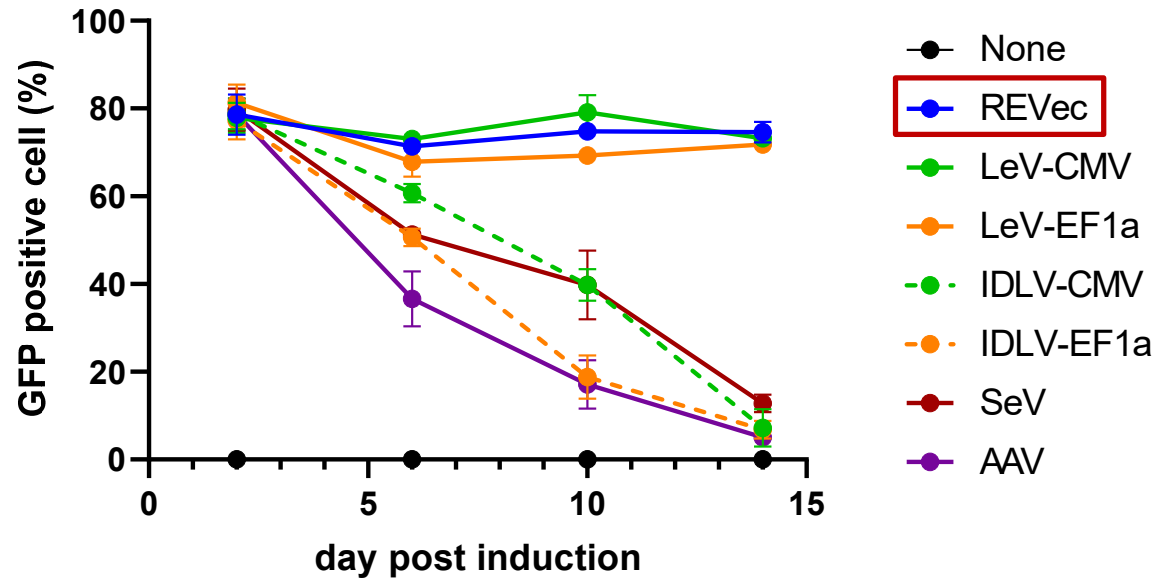


既存のウイルスベクターの**弱点を克服**できる  
革新的なRNAウイルスベクター

# REVec技術：発現持続性



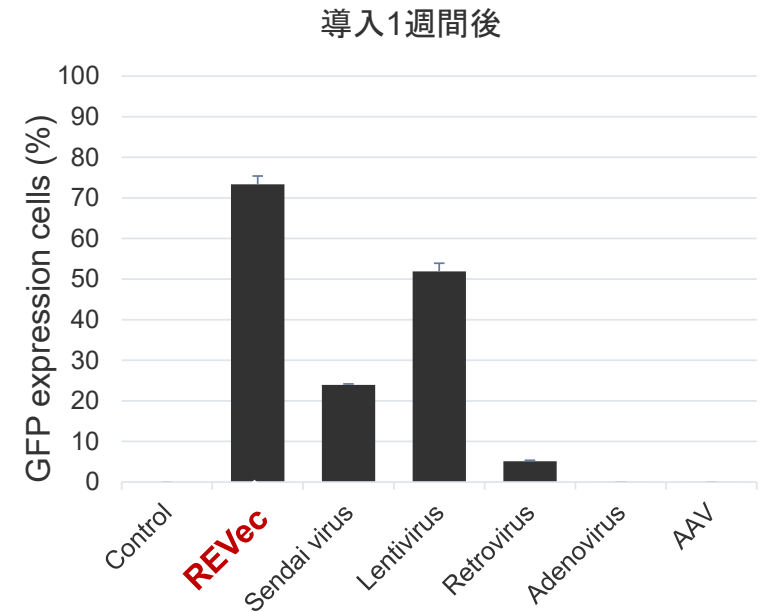
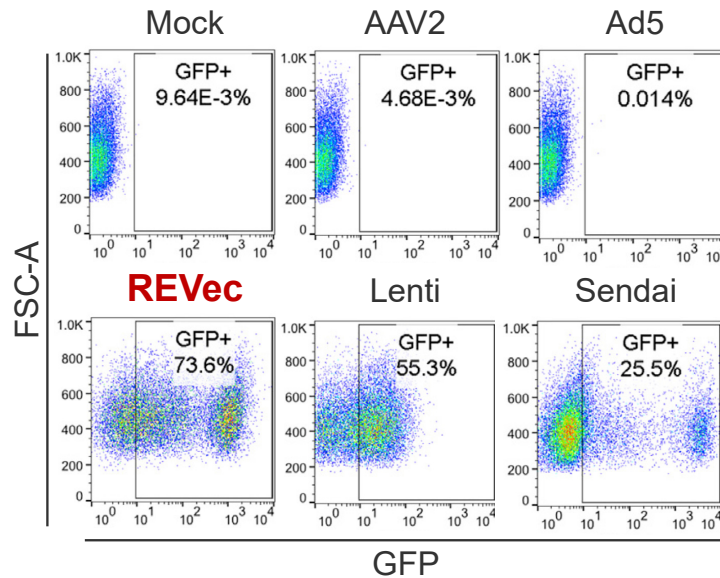
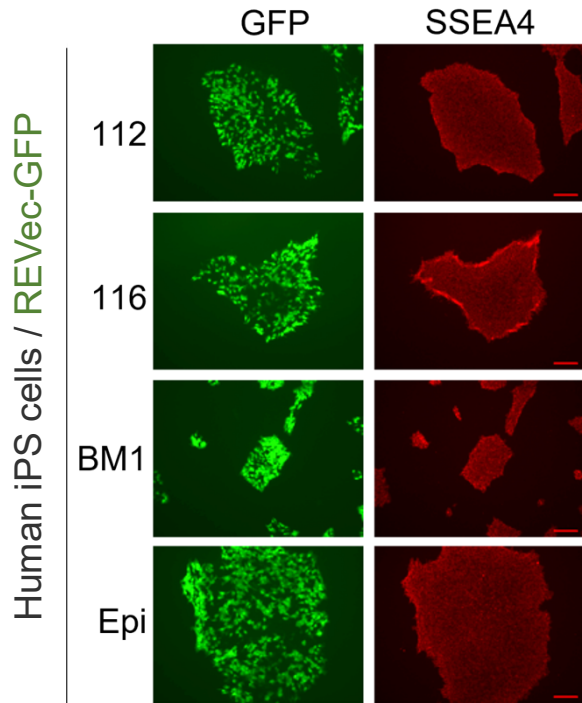
HEK293細胞へ導入後48時間



REVecはゲノムへの挿入なしに、増殖細胞においてもLeVベクターと同等の遺伝子発現維持を示す

Komorizono R et al. (unpublished)

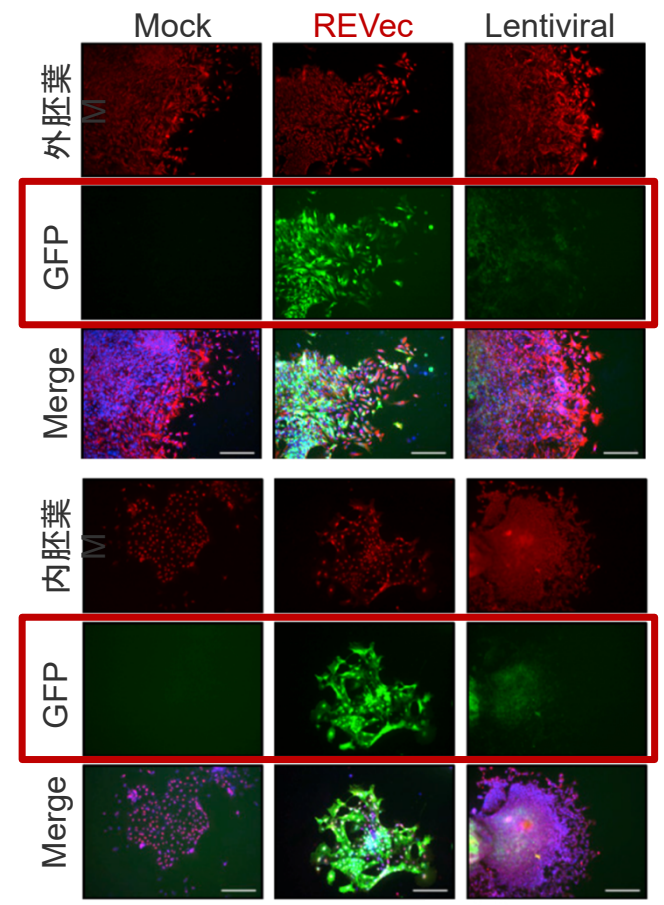
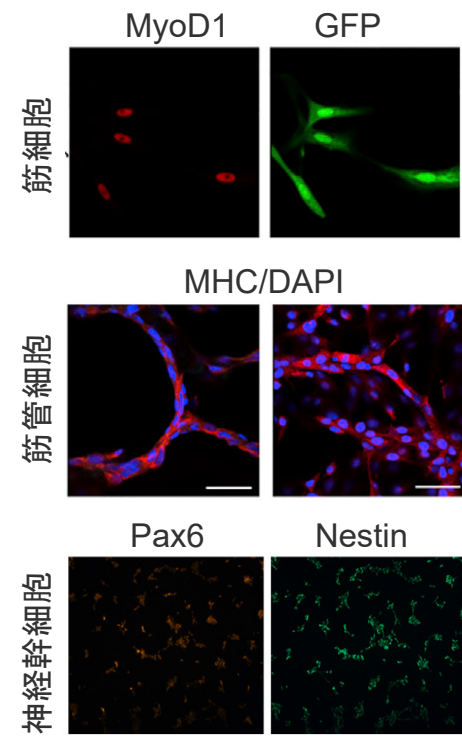
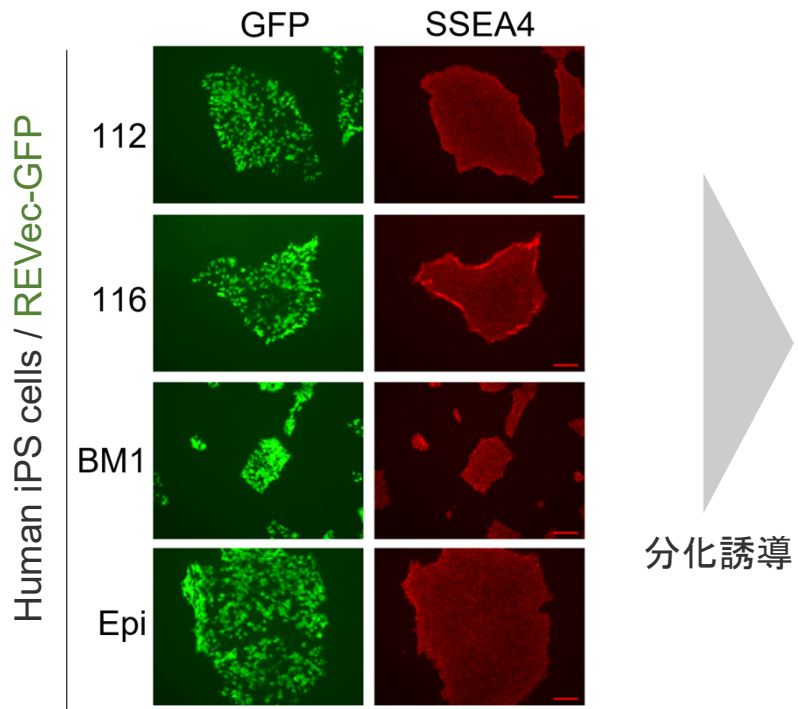
# REVec技術：iPS細胞への遺伝子導入



既存ベクターと比較して、最高レベルの遺伝子導入効率と発現維持能力を示す

Ikeda Y et al., *Gene Ther* (2016); Komatsu et al., *Mol Ther Methods Clin Dev* (2019); Komatsu et al., *Sci Rep* (2020); Sakai et al., *J Virol* (2021)

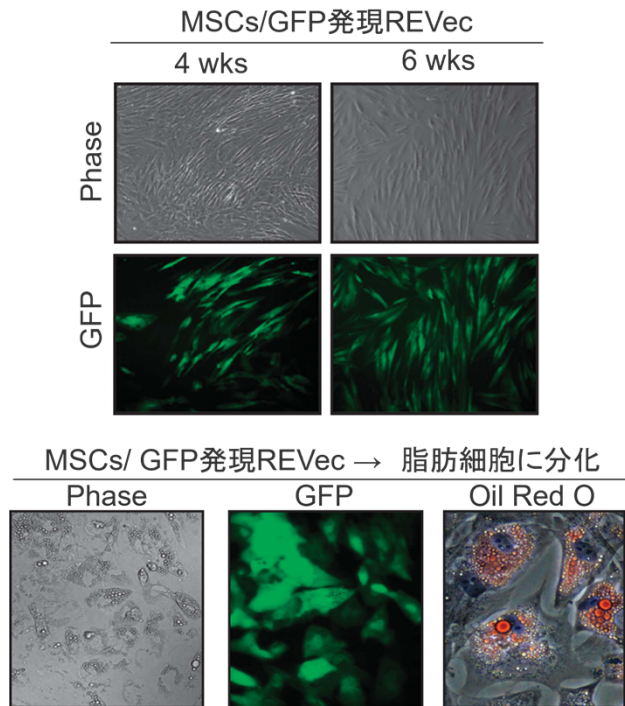
# REVec技術：iPS細胞への遺伝子導入



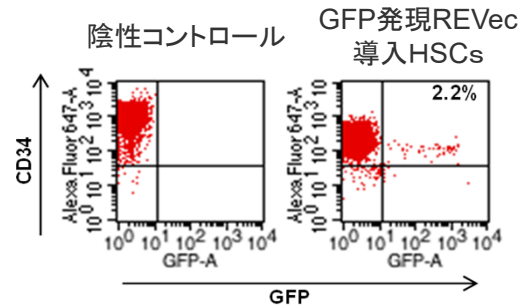
発現を維持したまま分化を誘導できる  
iPS細胞の多能性を阻害しない

# REVec技術：幹細胞への遺伝子導入

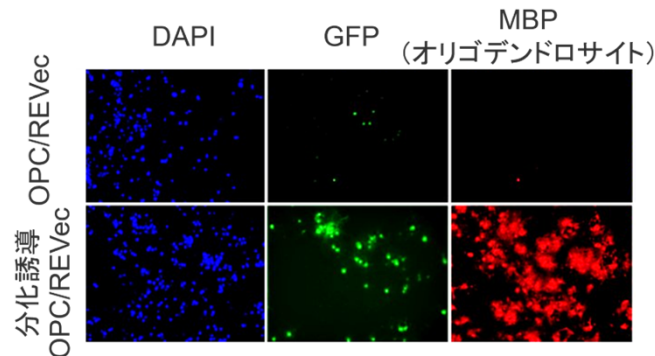
## 間葉系間質細胞 (MSCs)



## 造血幹細胞 (HSCs)

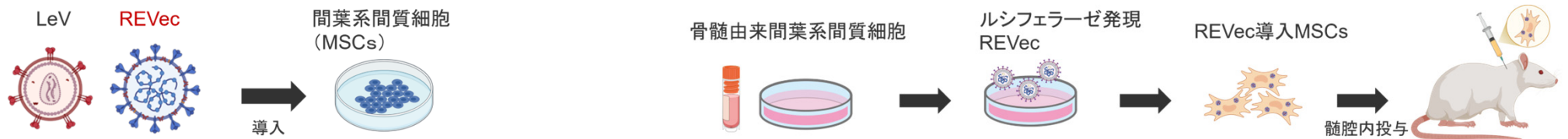


## オリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPCs)

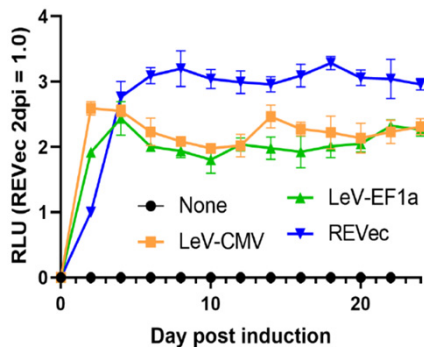


様々な幹細胞への  
安定導入と持続発現  
が可能である

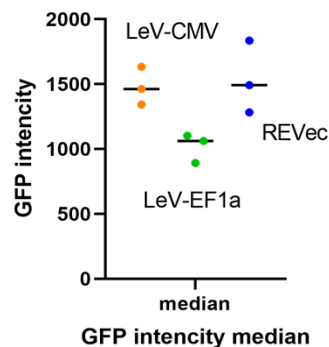
# REVec技術：間葉系間質細胞への遺伝子導入



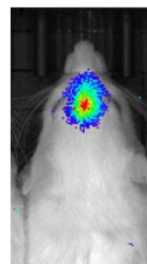
発現持続性



発現レベル

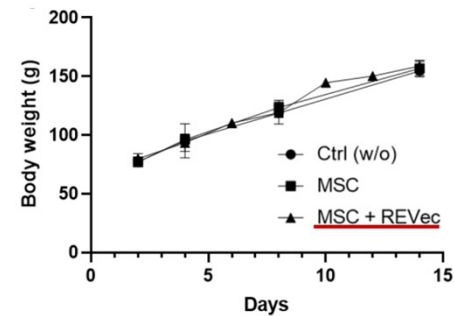


*In vivo* イメージング

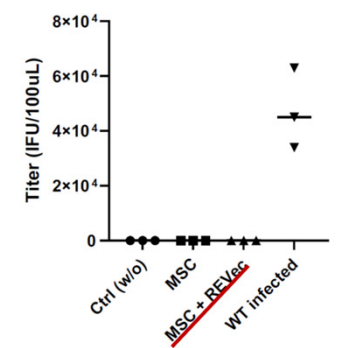


投与後7日

体重変化



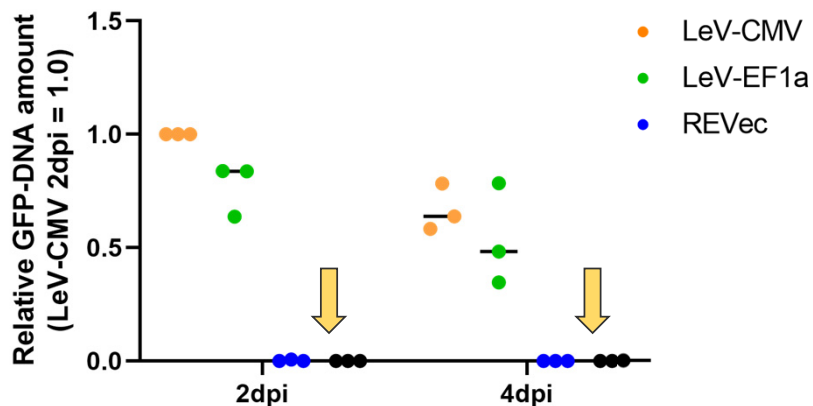
ウイルスカ価



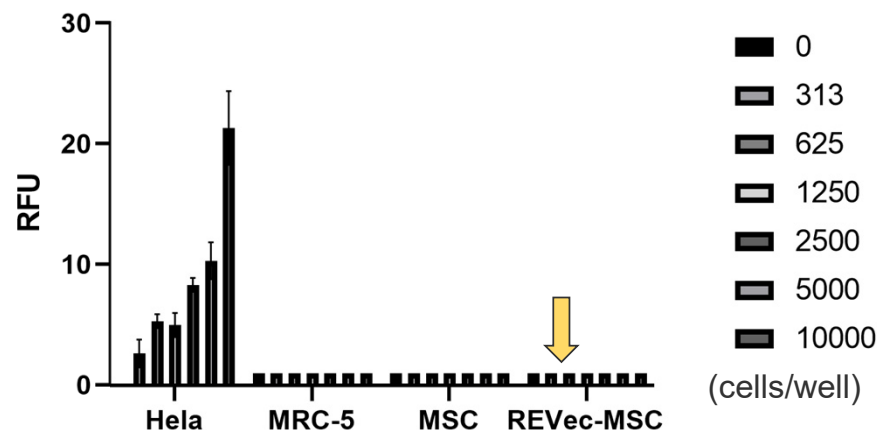
間葉系間質細胞 (MSCs) において長期の**発現維持**が可能である  
REVec導入MSCsの移植による**毒性は観察されない**

# REVec技術：間葉系間質細胞への遺伝子導入

ベクター由来DNAの定量



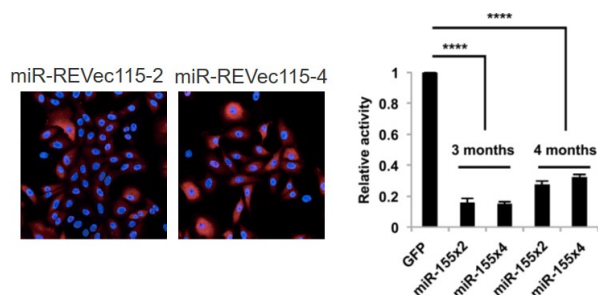
MSCにおけるIn vitro造腫瘍試験



REVecを導入した間葉系間質細胞では**ベクター由来DNA**が検出されない

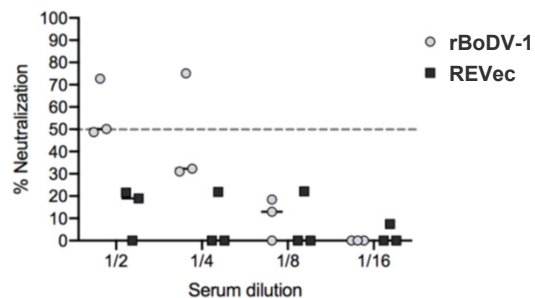
REVec導入細胞では**造腫瘍作用**が認められない

## ▶ 機能性RNAを発現



Honda et al. *Sci Rep* (2016); Komatsu et al., *Sci Rep* (2020)

## ▶ 低い中和抗体の誘導

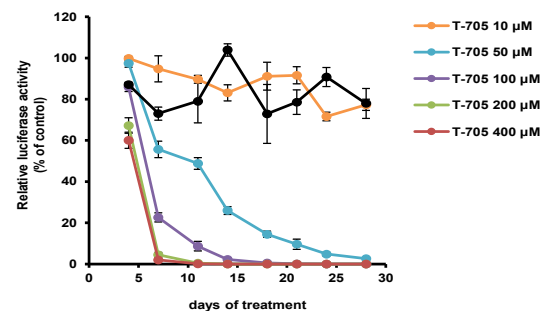


Komatsu et al., *Sci Rep* (2020)

- RNA創薬への応用
- 適用疾患の拡張

- 反復投与の可能性
- 安全性の確保

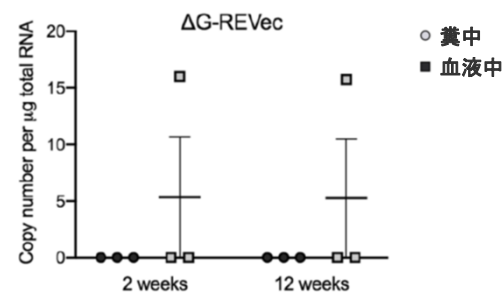
## ▶ 導入細胞からの完全排除が可能



Tokunaga T et al., *Antiviral Res.* (2017); Tang et al., *Front Microbiol* (2019); Komatsu et al., *Mol Ther Methods Clin Dev* (2019)

- 発現の制御
- 安全性の確保

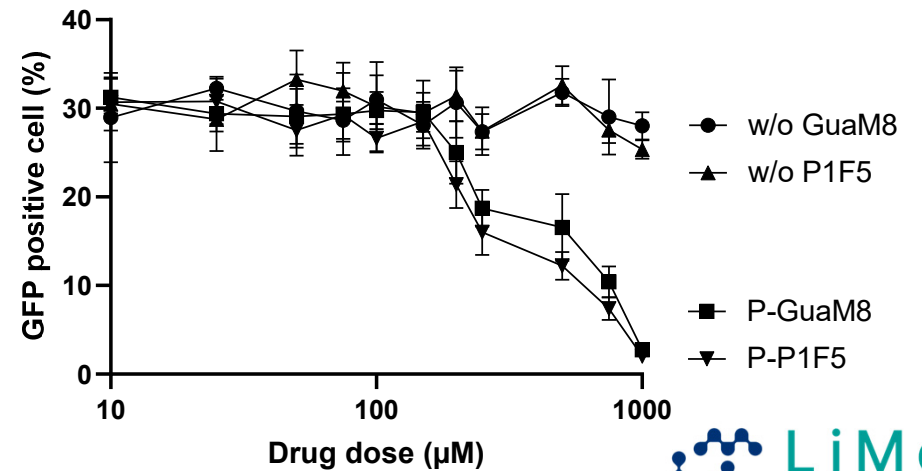
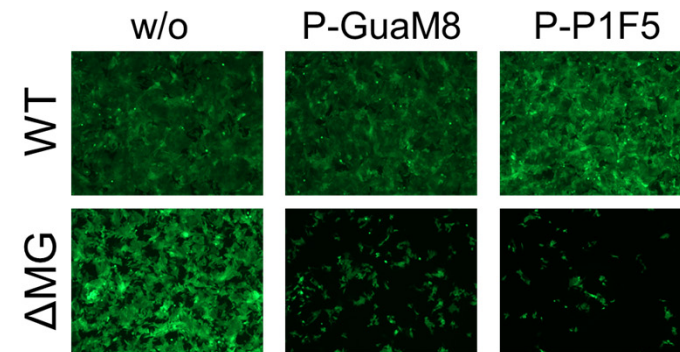
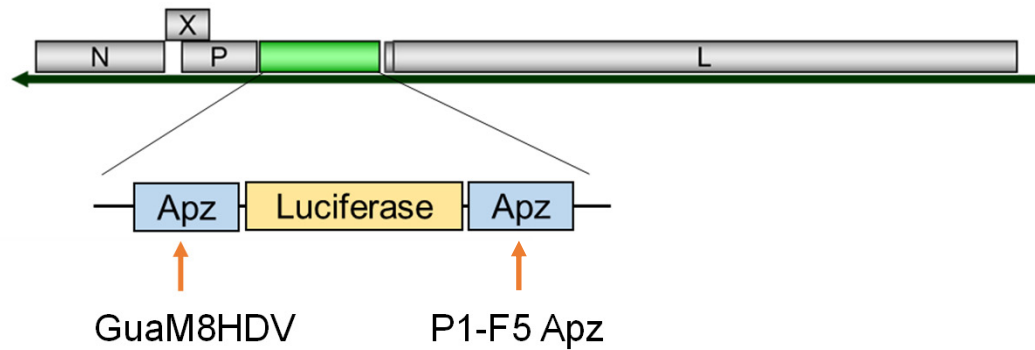
## ▶ 検出限界以下のシェディング



Komatsu et al., *Sci Rep* (2020)

- オフターゲット回避
- 安全性の確保

# REVec技術：アプタザイムによるオフ・スイッチ



アプタザイムによる遺伝子発現の制御が可能

# REVec: ベクター溶液の品質確保

## ● ウイルスベクター溶液調製法の設計と固定化

ベクター製造フロー: ラボスケール

ヘルパープラスミド5種類 (N・P・L・M・G)  
ベクタープラスミド (pREVecΔMG)

ベクター産生細胞 MG・HEK293  
プラスミド導入 (TransIT-293 reagent)

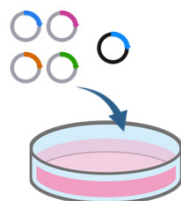
- 免疫抑制剤 (C-176, NATE™, K4 Multiplier)
- 無血清 BalanCD 培地

培養4日

超音波細胞破碎  
Bioruptor II

遠心分離  
4°C, 2,500xg, 25分間

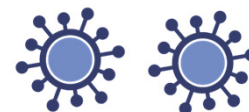
フィルターろ過  
0.22μm membrane



Benzonase処理  
24°C, 50U/mL, 1.5時間

超遠心分離  
4°C, 80,000 x g, 1時間

アフィニティクロマトグラフィー精製  
Mini-Column Cellufine MAX DexS-VirS

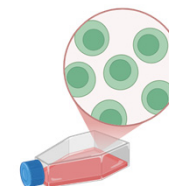


間接免疫染色法による力価測定  
ウサギ抗BoDV-1N抗体

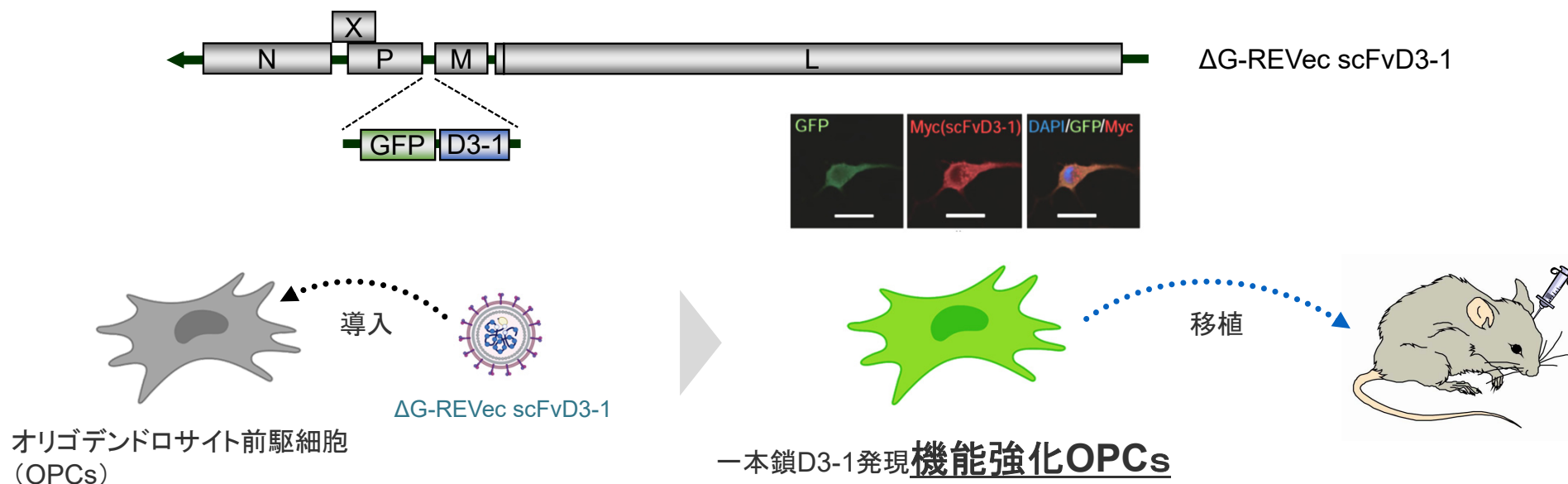
qPCR法によるウイルスゲノム量測定

## 溶液調製法の指標

- エンドキシン測定
- ベクター力価
- 中空粒子の評価



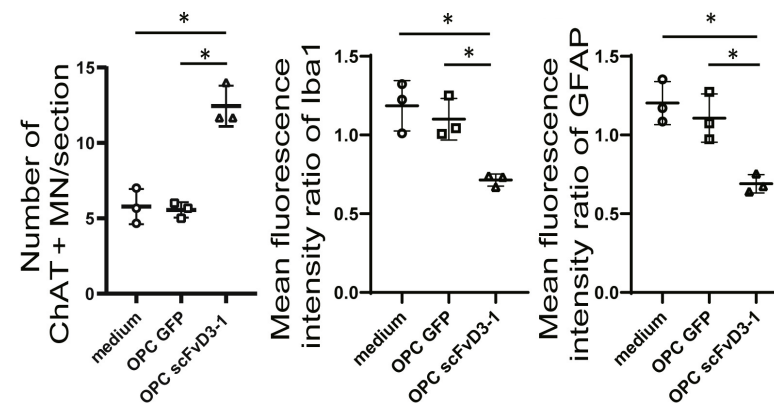
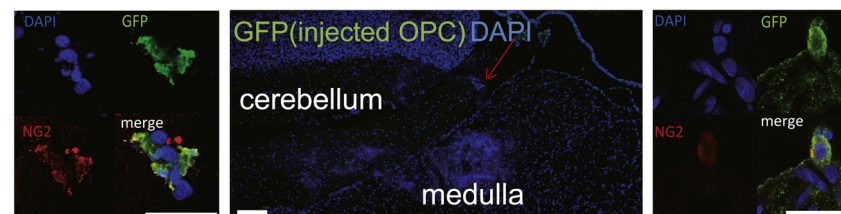
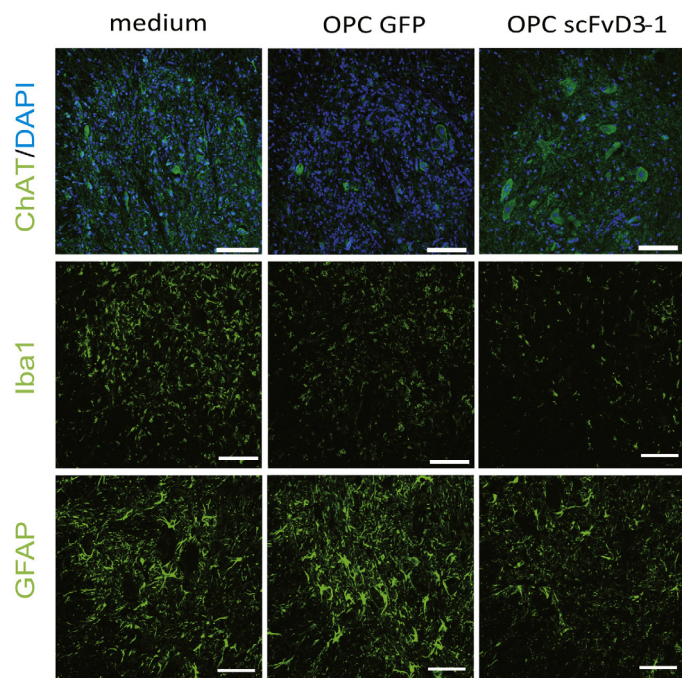
# REVec: ALSモデルにおける非臨床PoC



幹細胞移植による細胞治療 × 一本鎖抗体による抗体医薬

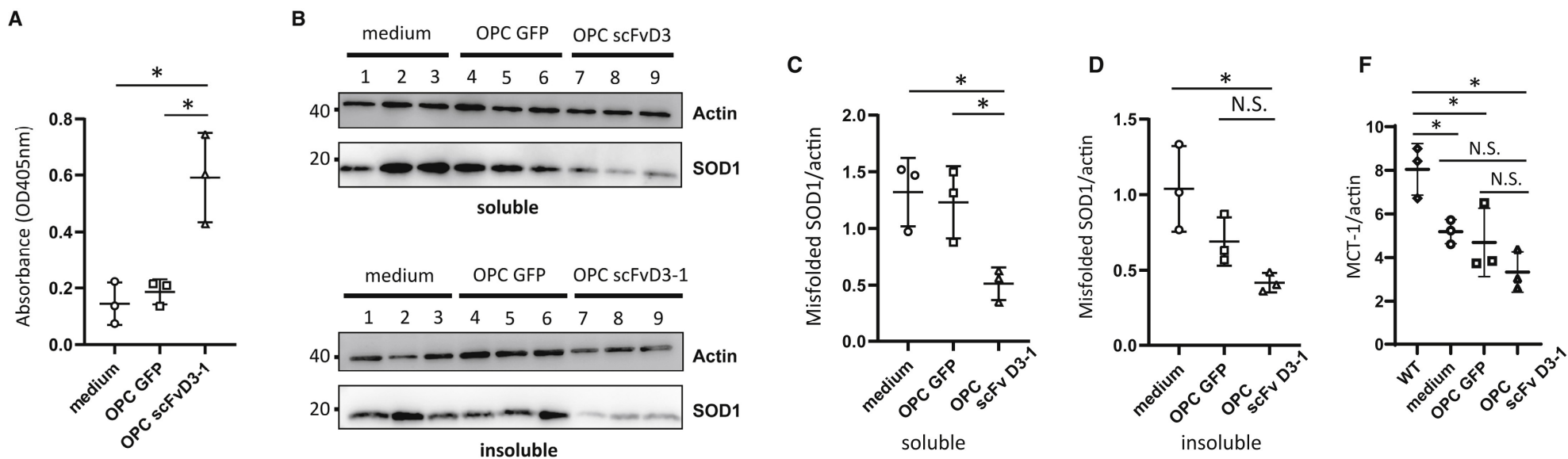
相乗効果による革新的ex vivo遺伝子治療

# REVec: ALSモデルにおける非臨床PoC



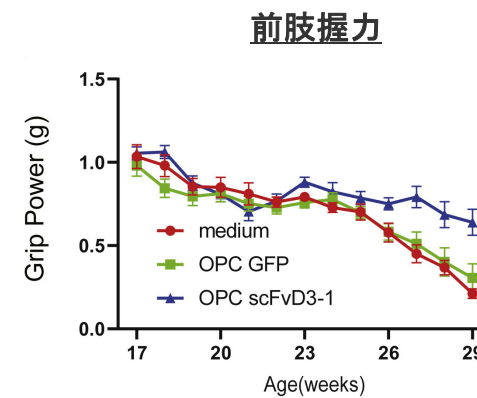
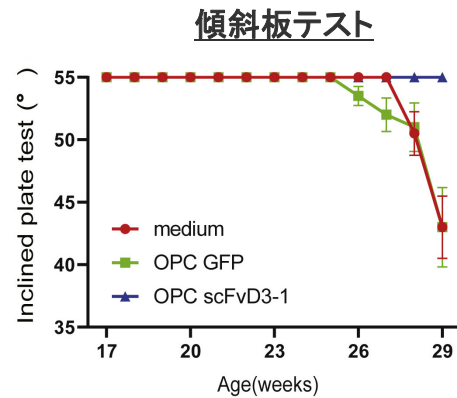
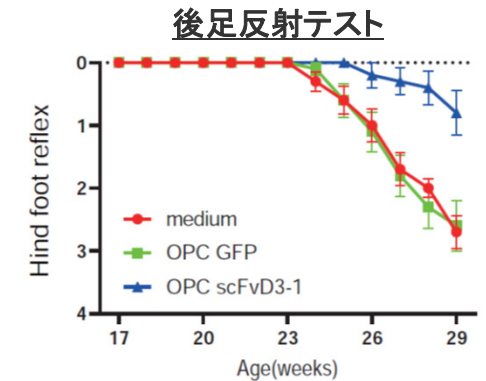
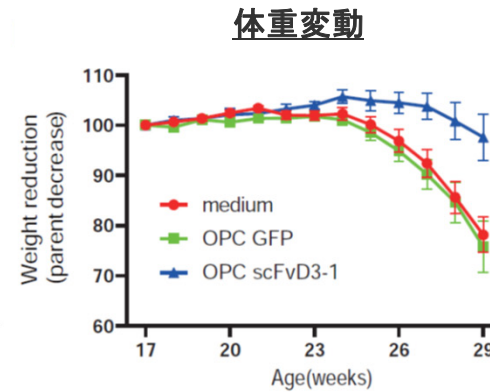
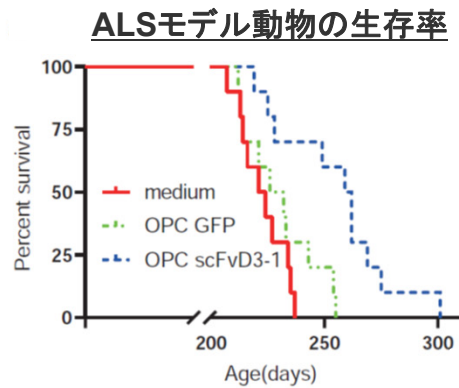
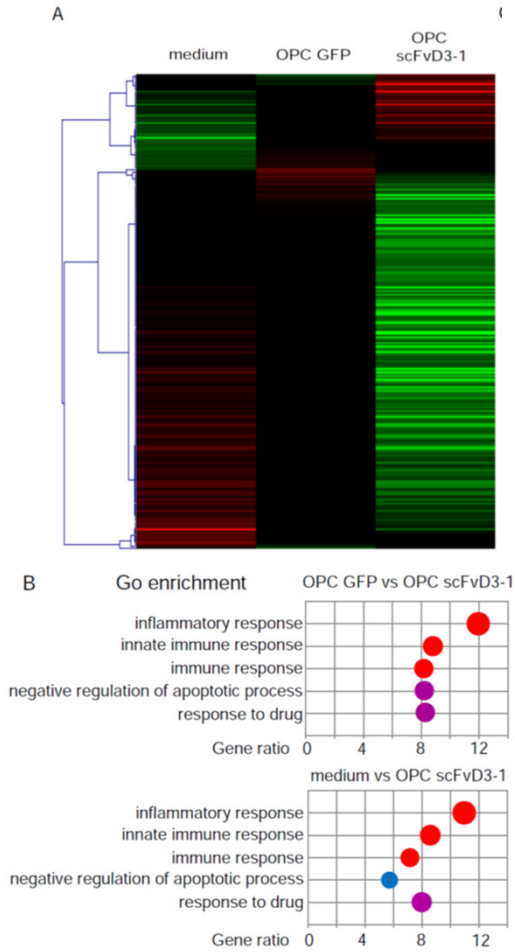
髄腔内移植後4週間後も移植したOPCsが生着している  
脳内のグリオシスと脱神経を抑制した

# REVec: ALSモデルにおける非臨床PoC



脳内では高い抗SOD-1抗体力価と変異型SOD-1減少を誘導する

# REVec: ALSモデルにおける非臨床PoC

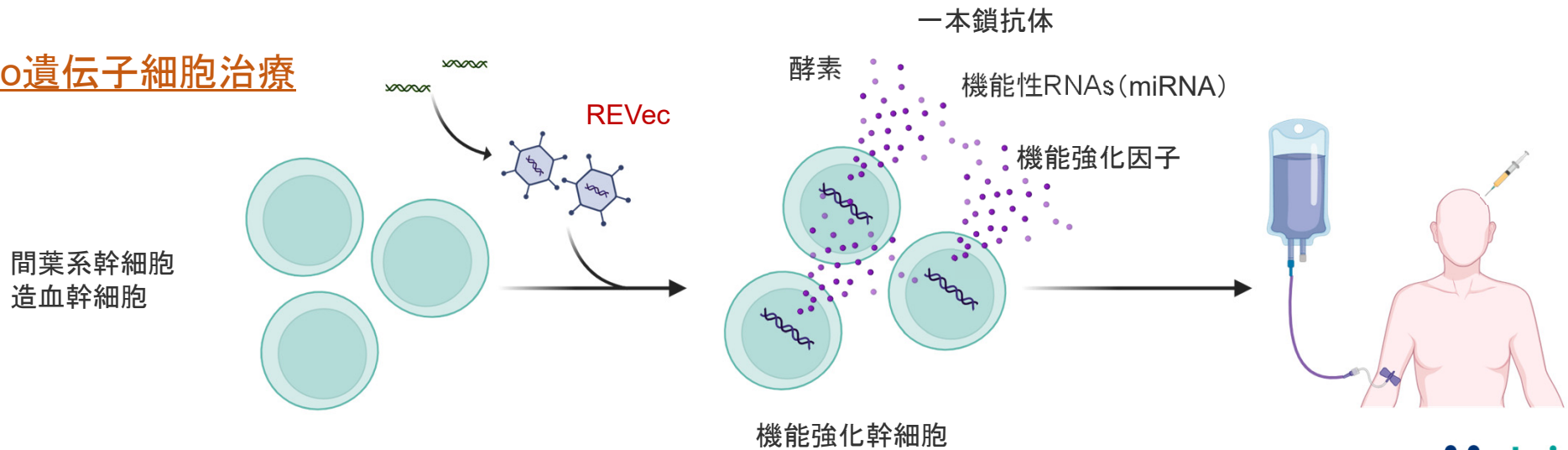


モデルラットの**生存率**と**病態**を改善

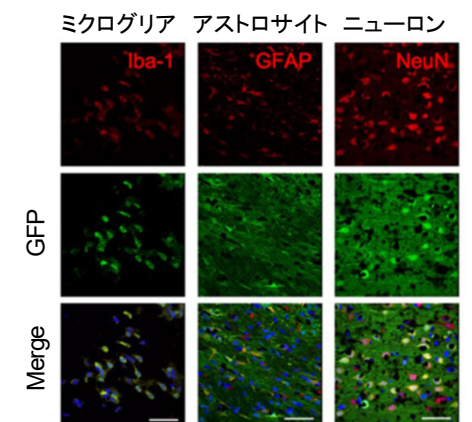
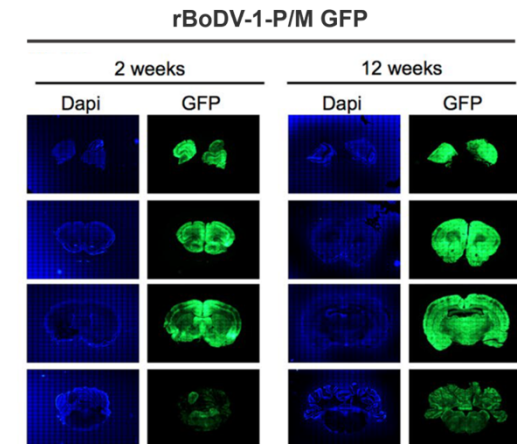
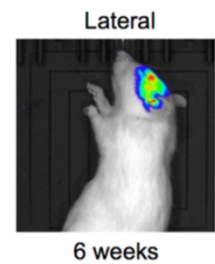
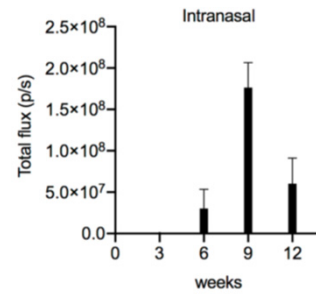
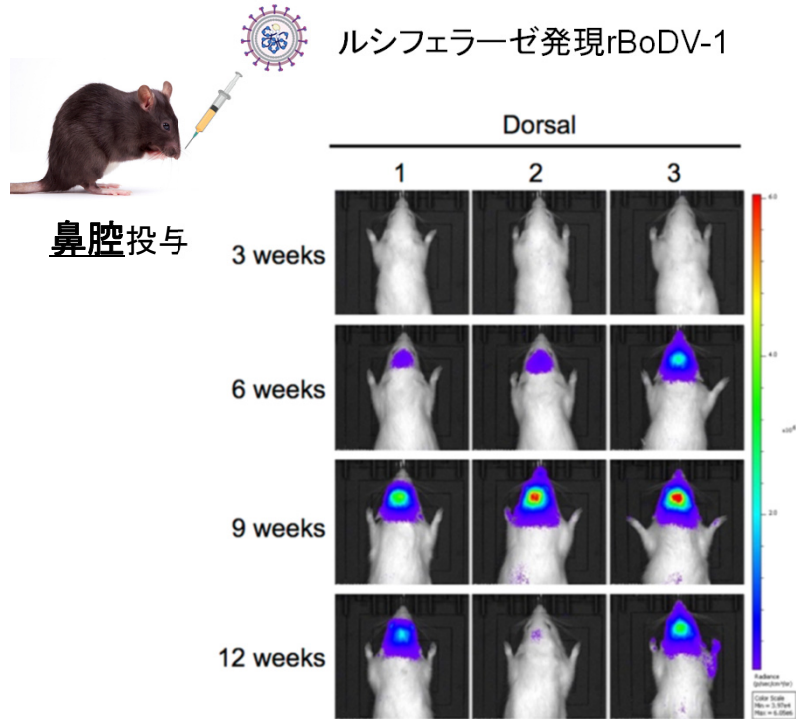
# REVec

- 幹細胞に最適化した安全かつ安定したウイルスベクター
- ex vivo遺伝子細胞治療のプラットフォーム技術

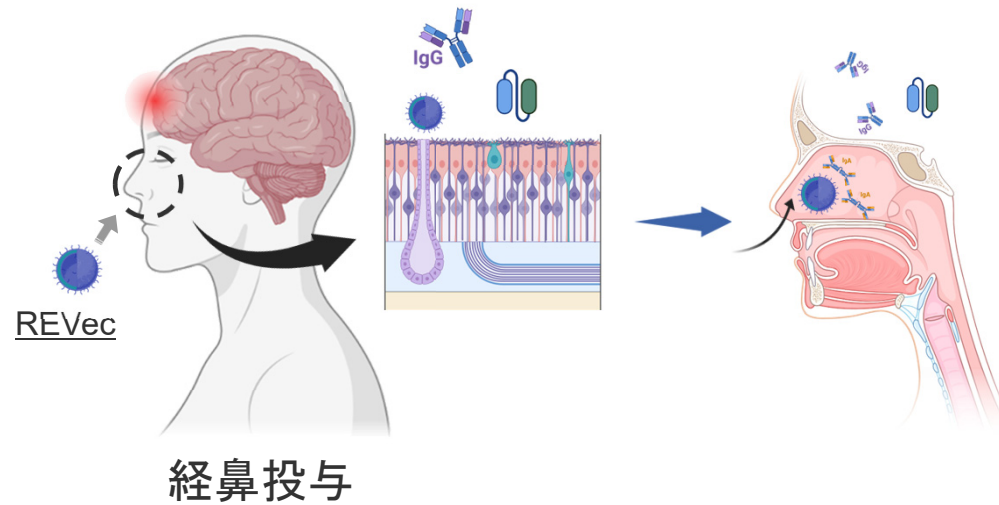
## Ex vivo遺伝子細胞治療



# REVec: 効率的なNose-to-Brain移行

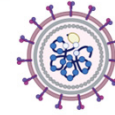


# REVec: 効率的なNose-to-Brain移行



- 脳内への治療因子の非侵襲的送達
- 安全性の確保
- 反復投与の可能性

# REVec技術の優位性



**REVec**

**LeV**



- ゲノム傷害による**がん化**の危険性
- 血液脳関門の不透過性と**侵襲的投与**の危険性
- 脳実質内での**拡散性**の低さ
- 副作用発生時の**排除困難**さ
- サイレンシングによる**発現低下** (発現持続性)



**克服**  
**克服**  
**検討課題**  
**克服**  
**克服**

**AAV**



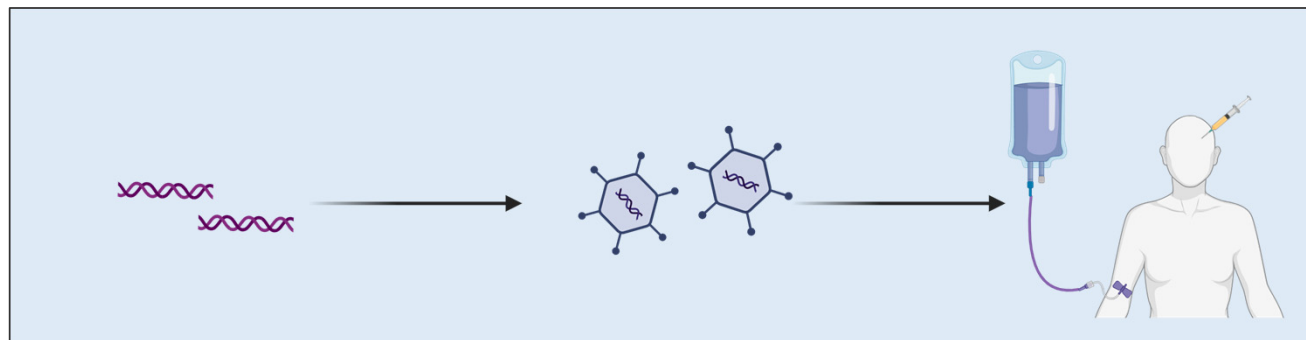
- 静脈投与に伴う重篤な**肝毒性**と急性肝不全
- 髄腔内・脳室内投与による炎症反応と**神経細胞毒性**
- 中和抗体**による再投与の不可能性
- 幹細胞への**導入効率**の低さ
- 分化・増殖細胞で**発現が希釈**される (発現低下)



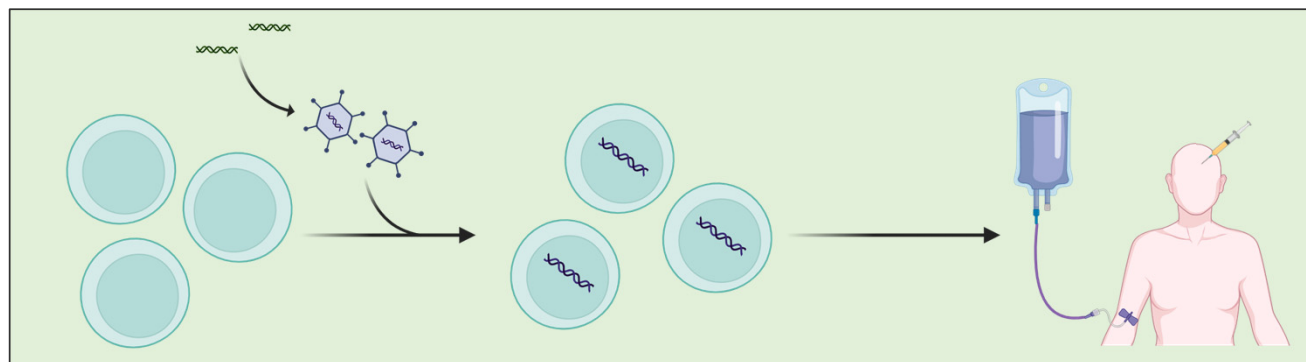
**克服**  
**検討課題**  
**克服**  
**克服**  
**克服**

# REVec技術の想定される用途

In vivo遺伝子治療



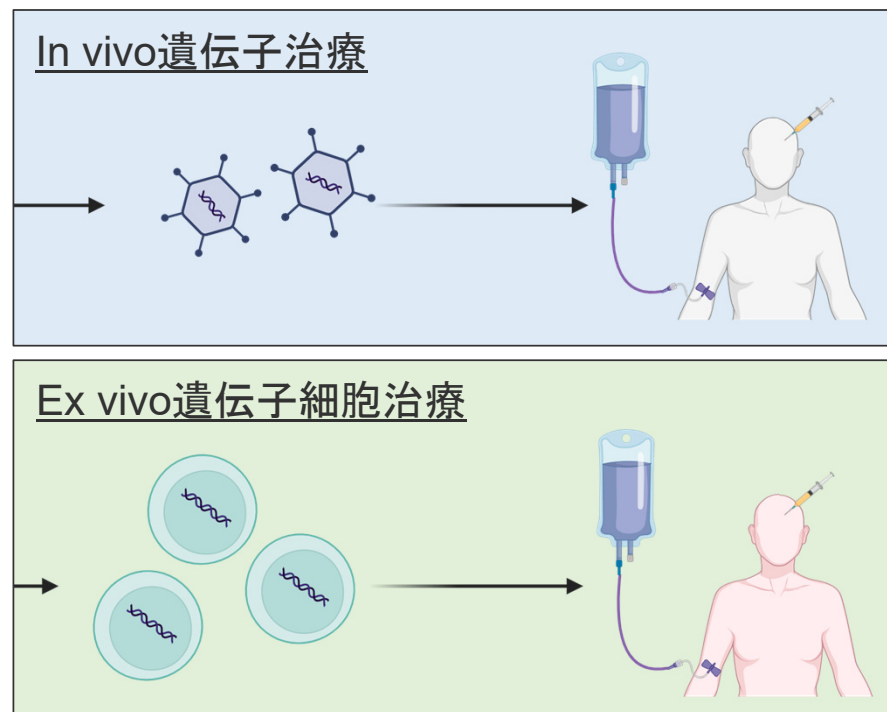
Ex vivo遺伝子細胞治療



LeVおよびAAVベクターにかわる次世代の国産遺伝子治療プラットフォーム

## REVec技術の想定される用途

- 低侵襲性遺伝子治療製剤（脳、眼）
- グリア細胞標的遺伝子改変
- レプリコンワクチン
- 機能付加幹細胞治療製剤  
（間葉系間質細胞、造血幹細胞、iPS細胞）
- デザイナーエクソソーム
- CAR細胞



LeVおよびAAVベクターにかわる次世代の国産遺伝子治療プラットフォーム

## REVec技術の実用化に向けた課題

- REVecベクター力価の向上: 治療応用に必要な十分なベクター量を確保するため、REVecの力価(生産収率)を向上させる。
- 経鼻投与による脳内送達効率の向上: 非侵襲的に脳へ遺伝子を届ける「Nose-to-Brain」経路の効率改善を行う。
- In vivo導入効率・発現持続性の実証: 標的組織への遺伝子導入効率および長期的な発現維持能力を検証する。
- 安全性の評価: 霊長類モデルにおける全身および局所毒性を詳細に評価し、安全性を確認する
- GLP/GMP対応の製造プロセス確立: 臨床利用に向けたベクター製造プロセス(品質管理・保証体制)の構築
- 規制対応および社会実装に向けた課題: 遺伝子治療製品として実用化するための法規制対応や社会的課題にも取り組む

## 企業への期待、企業への貢献

- 幹細胞の供給とベクター導入に関するノウハウを持つ企業との連携: REVecを用いた ex vivo 遺伝子細胞治療薬の開発に受けて共同研究・共同開発を希望する。
- 技術シナジーを持つ企業との連携: REVec技術の発展に向けてベクターの大規模製造技術や投与デバイス技術を有する企業との共同研究を希望する。
- 関連分野企業への有効性: また、難治性疾患の遺伝子治療を開発中の企業や、Nose-to-Brain技術を用いた中枢神経領域への事業展開を検討している企業には、本技術の導入が有効と考える。
- 遺伝子治療・細胞治療への応用: 本技術は広い遺伝子治療と細胞治療のための遺伝子導入プラットフォームを提供するものであり、これを活用して細胞治療製品に遺伝子機能を付化することで治療技術開発に貢献できる。
- 技術のサポート提供: REVec導入に際しては、ウイルスベクター作製に関する技術指導の提供や共同研究を実施することができる。

## REVec技術に関する知的財産権

発明の名称: ボルナ病ウイルスを利用するベクター及びその利用

特許出願番号: 特願2009-87608・WO 2010/113647 A1:

特許番号: 特許5299879

特許出願日: 2009年3月31日

権利者: 京都大学

発明者: 朝長啓造, 大東卓史, 本田知之

発明の名称: ボルナウイルスベクターを利用した医薬組成物

特許出願番号: 特願2021-143184・WO 2023/033050 A1

特許出願日: 2021年9月2日

出願人: 京都大学、滋賀医科大学

発明者: 朝長啓造, 牧野晶子, 酒井まどか, 小森園亮, 漆谷真, 守村敏史, 南山素三雄

発明の名称: ボルナウイルスベクターを利用した細胞の遺伝子改変と当該細胞を用いた細胞治療薬

特許出願番号: 特願2024-045885・WO2025/197981 A1

特許出願日: 2024年3月22日

出願人: 京都大学

発明者: 朝長啓造, 小森園亮

## REVec技術に関する産学連携の経歴

- 2019年度: 田辺三菱製薬と共同研究と共同研究実施
- 2019-2021年度: 第一三共と共同研究と共同研究実施
- 2021年度: JST START事業に採択
- 2023年度: J-TEC, 帝人と秘密保持契約を締結

## REVec技術に関するお問い合わせ先

京都大学

成長戦略本部イノベーション領域

e-mail: [ip-med@saci.kyoto-u.ac.jp](mailto:ip-med@saci.kyoto-u.ac.jp)

「医学領域」産学連携推進機構(KUMBL)

TEL: 075-366-7430

e-mail: [license@contracts.med.kyoto-u.ac.jp](mailto:license@contracts.med.kyoto-u.ac.jp)