

2 型リアノジン受容体を分子標的とした自己免疫疾患の新規治療開発

名和田隆司

山口大学大学院医学系研究科 器官病態内科学

【研究の背景】

4 量体から成る Ca^{2+} 放出チャネルである 2 型リアノジン受容体 (RyR2) は、生体内の様々な細胞内の小胞体 (ER) や筋小胞体 (SR) 上に存在し、細胞内 Ca^{2+} 濃度の調整に重要な役割を果たしている。遺伝子異常やストレスによって、カルモジュリン (CaM) が RyR2 から解離することで RyR2 の 4 量体構造が不安定化してしまうと、RyR2 を介しての ER・SR 内からの Ca^{2+} 漏出/細胞質内 Ca^{2+} 濃度上昇が生じる。RyR2 の構造不安定化が致死性不整脈・アルツハイマー型認知症・脂肪肝などの様々な疾患に関与していることがこれまでに報告されているが¹⁾、RyR2 を介した免疫細胞内の Ca^{2+} 動態変化が、自己免疫疾患の発症・進行にも寄与している可能性が近年、示されており^{2,3)}、我々は、「①. RyR2 構造安定化作用を有する薬剤であるダントロレンがコラーゲン誘発性関節炎モデルマウス (collagen induced arthritis mouse: CIA マウス) における異常抗体産生と関節炎発症を抑制すること」・「②. ①で示したダントロレンの効果が、ダントロレンが RyR2 以外の何かに作用したことによるオフターゲット効果ではなく、ダントロレンが RyR2 に作用したこと (=ダントロレンが RyR2 の構造を安定化したこと) に起因していると考えられること」をこれまでに報告している⁴⁻⁶⁾。これらの知見を踏まえると、「(1) 免疫細胞の RyR2 の構造不安定化が免疫異常の発症に寄与する、(2) この RyR2 の構造不安定化を是正することで、免疫異常が改善する」という仮説が想定される。

しかしながら、RyR2 と自己免疫疾患の関係については依然として不明点が多く、上記仮説の真偽を検証するために、さらなる研究知見の蓄積が望まれている。

【目 的】

RyR2 への CAM の結合親和性を高めることで、RyR2 の 4 量体構造を遺伝的に安定化させた「RyR2-V3599K ノックイン (KI) マウス⁷⁾」を用いて、RyR2 を分子標的とした自己免疫疾患の治療開発のための基盤構築を行うことを目的に、本研究を行った。

【方 法】

RyR2-V3599K KI マウスを用いて、デキストラン硫酸ナトリウム (DSS) 誘発性大腸炎モデルマウスと自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) モデルマウスを作成し、RyR2 の構造安定化による DSS 誘発性大腸炎と EAE の抑制効果を検証した。

(DSS 誘発性大腸炎)

DSS の発症には腸内細菌叢が大きく関与することから、DSS 投与開始の 2 週間前から野生型マウス群と RyR2-V3599K KI マウス群の 2 群間で糞便移植を行い、両群の腸内細菌叢を一定化させた。糞便移植終了後に 2.0% DSS を含む飲料水を 7 日間自由飲水させることで腸炎を誘発させ、体重変化・糞便性状・下血の有無をもとに臨床スコアを日次評価した。DSS 投与開始 7 日目にマウスを安楽死させ、結腸の長さ・腸管の組織学的障害度・腸管ミクロペルオキシダーゼ (MPO) 活性を測定した。

(EAE)

MOG35-55 ペプチド・アジュバントの皮下注射と百日咳菌毒素の腹腔内投与を 2 回行うことで、野生型マウスと RyR2-

V3599K KI マウスに EAE を誘発させ、臨床スコアを日次評価した。EAE 誘発開始 6 週後にマウスを安楽死させ、脳脊髄組織の組織学的評価を行った。

【結 果】

(DSS 誘発性大腸炎)

結腸の長さに関しては、野生型マウスと RyR2-V3599K KI マウスの 2 群間に有意な差を認めなかったが、腸炎の臨床スコア ($p < 0.05$)・腸管の組織障害度 ($p < 0.001$)・腸管 MPO 活性 ($p < 0.05$) は、野生型マウス群と比較して RyR2-V3599K KI マウス群で有意に低値であった。

(EAE)

最終評価時点での EAE の臨床スコアは、野生型マウス群と RyR2-V3599K KI マウス群で差は認めなかったが、EAE の発症タイミングは RyR2-V3599K KI マウス群で遅延していた。

【考 察】

本研究によって、生体内の RyR2 の構造を安定化することによって、大腸と脳脊髄という異なる臓器における免疫異常が改善し得ることが示された。今後、「どの免疫細胞の RyR2 の構造安定化が免疫異常是正に重要なのか？」を解明することができれば、RyR2 を分子標的とした新規の自己免疫疾患治療の開発に繋がることが期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

我々は、RyR2 の構造安定化薬であるダントロレンが、全ての免疫細胞に作用する免疫抑制剤ではなく、異常な免疫細胞に選択的に作用する「免疫調節薬」の候補薬であることを過去に報告している⁹⁾。免疫調節薬は、易感染性を呈しにくいという特長を有しており、本研究の結果を踏まえて研究を継続することによって、免疫細胞での RyR2 の構造安定化がどのようなメカニズムによって免疫異常を是正するのかを明らかにすることができれば、易感染性の乏しい新規の自己免疫疾患治療に繋がることが期待され、臨床的意義・臨床への貢献度は極めて大きいと考えられる。

【参考・引用文献】

- 1) Uchinoumi H, Nakamura Y, Suetomi T, Nawata T, Fujinaka M, Kobayashi S, Yamamoto T, Yano M, Sano M. Structural instability of ryanodine receptor 2 causes endoplasmic reticulum (ER) dysfunction as well as sarcoplasmic reticulum (SR) dysfunction. *J Cardiol.* 2025;85:450-457.
- 2) Wang X, Geng S, Meng J, Kang N, Liu X, Xu Y, Lyu H, Xu Y, Xu X, Song X, Zhang B, Wang X, Nuerbulati N, Zhang Z, Zhai D, Mao X, Sun R, Wang X, Wang R, Guo J, Chen SRW, Zhou X, Xia T, Qi H, Hu X, Shi Y. Foxp3-mediated blockage of ryanodine receptor 2 underlies contact-based suppression by regulatory T cells. *J Clin Invest.* 2023;133:e163470.
- 3) Zhai D, Zheng M, Huang C, Wang X, Shi Y. RyR2-mediated calcium signaling regulates T-cell activation and Th1 differentiation. *The Journal of Immunology.* 2025;214:1247-1260.
- 4) Nawata T, Sakai H, Honda T, Otsuka M, Fujita H, Uchinoumi H, Kobayashi S, Yamamoto T, Asagiri M, Yano M. Dantrolene, a stabilizer of the ryanodine receptor, prevents collagen-induced arthritis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2022;624:141-145.
- 5) Nawata T, Honda T, Sakai H, Tsuji S, Otsuka M, Uchinoumi H, Kobayashi S, Yamamoto T, Asagiri M, Yano M. Dantrolene, a ryanodine receptor stabilizer, is a candidate immunomodulator for treating rheumatic disease. *Scand J Rheumatol.* 2024;53:217-219.
- 6) Nawata T, Honda T, Sakamoto A, Uchinoumi H, Suetomi T, Nakamura Y, Tsuji S, Sakai H, Kobayashi S, Yamamoto T,

- Asagiri M, Sano M, Yano M. Role of type 2 ryanodine receptor stabilisation in autoimmune cell modulation. *Adv Rheumatol*. 2024;64:86.
- 7) Nakamura Y, Yamamoto T, Kobayashi S, Tamitani M, Hamada Y, Fukui G, Xu X, Nishimura S, Kato T, Uchinoumi H, Oda T, Okuda S, Yano M. Ryanodine receptor-bound calmodulin is essential to protect against catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *JCI Insight*. 2019;4:e126112.