T リンパ球活性制御におけるカリウムチャネルの役割と病態

大矢 進

Physiological Role of K⁺ Channels in the Regulation of T Cell Function

Susumu Ohya

Department of Pharmacology, Kyoto Pharmaceutical University;
5 Misasagi-Nakauchi-cho, Yamashina-ku, Kyoto 607-8414, Japan.

(Received September 4, 2015)

Potassium ion (K⁺) channels play an important role in the modulation of calcium ion (Ca²⁺) signaling *via* control of the membrane potential. In T-lymphocytes, the voltage-gated K⁺ channel, K_v1.3, and the intermediate-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel, K_{Ca}3.1, predominantly contribute to K⁺ conductance, and are responsible for cell proliferation, differentiation, apoptosis and infiltration. Inflammatory bowel disease (IBD), including ulcerative colitis and Crohn's disease, afflicts more than 0.1% of the population worldwide. In the chemically-induced IBD model mouse, an increase in K_{Ca}3.1 activity was observed in mesenteric lymph node CD4⁺ T-lymphocytes, concomitant with an upregulation of K_{Ca}3.1 and a positive K_{Ca}3.1 regulator, NDPK-B. Pharmacological blockade of the K_{Ca}3.1 K⁺ channel by TRAM-34 and/or ICA17043 elicited 1) a significant decrease in IBD severity, as assessed by diarrhea, visible fecal blood, inflammation and crypt damage of the colon; and 2) restoration of the expression levels of K_{Ca}3.1 and Th1 cytokines in CD4⁺ T-lymphocytes in the IBD model. Recent studies have indicated the impact of K_{2p}5.1 upregulation in T lymphocytes on the pathogenesis of autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis and multiple sclerosis. The K_{2p}5.1 K⁺ channel is therefore highlighted as a potent therapeutic target in managing the pathogenesis of autoimmune diseases. Alternatively, pre-mRNA splicing of ion channels is associated with the development and progression of various diseases, including autoimmune diseases. Therefore, mRNA-splicing mechanisms underlying the transcriptional regulation of K_{2p}5.1 K⁺ channels may be a new strategic therapeutic target for autoimmune and inflammatory diseases.

Key words—K⁺ channel; K_{Ca}3.1; K_{2p}5.1; Ca²⁺ signaling; T lymphocyte; inflammatory bowel disease

1. はじめに

T細胞受容体刺激による持続的な細胞内カルシウム濃度上昇は、カルシウム依存性転写因子 nuclear factor of activated T-cells (NFAT)などを活性化し、Tリンパ球の細胞増殖、分化、アポトーシス、サイトカイン産生等を誘導する。カリウムチャネル活性化による細胞膜の過分極は、カルシウム遊離活性化カルシウムチャネルを介したストア作動性カルシウム流入を促進し、Tリンパ球のカルシウムシグナル制御に重要な役割を果たしている。Tリンパ球に機能発現するカリウムチャネルとして、電位依存性カリウムチャネル K_v1.3、カルシウム活性化カリウム

チャネル K_{Ca}3.1 が知られており、自己免疫疾患、アレルギー性疾患及び炎症性疾患の創薬標的分子として期待されている。¹⁾ また最近では、CD4陽性T細胞における炎症性サイトカインの産生や自己免疫疾患の発症に two-pore 型カリウムチャネルが関与することが報告され、自己免疫疾患の創薬標的分子として期待されている。

本稿では、炎症性腸疾患モデルにおけるカルシウム活性化カリウムチャネル K_{Ca}3.1 の病態生理学的意義について概説するとともに、Tリンパ球における two-pore 型カリウムチャネル研究に関する最近の動向について紹介する。

2. カルシウム活性化カリウムチャネル K_{Ca}3.1

自己免疫疾患に携わるエフェクター T細胞では、電位依存性カリウムチャネル K_v1.3 の発現及び活性がダイナミックに変動し、K_v1.3 阻害剤が自己免疫疾患モデル動物の症状を改善したため、カリ

京都薬科大学病態薬科学系薬理学分野 (〒607-8414 京都市山科区御陵中内町 5)

e-mail: sohya@mb.kyoto-phu.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 135 年会シンポジウム S31 で発表した内容を中心に記述したものである。

K_{Ca}3.1 の正の機能制御分子としてタンパクリン酸化酵素 class II phosphoinositide-3-kinase, β polypeptide (PI3K-C2B) 及び nucleoside diphosphate kinase B (NDPK-B) が同定され、これらのノックダウンにより CD4 陽性 T 細胞の機能が減弱することが報告されている。一方、K_{Ca}3.1 の負の機能制御分子としてタンパク脱リン酸化酵素 phosphohistidine phosphatase 1 (PHPT-1) 及び myotubularin related protein 6 (MTMR-6) が同定されている。筆者らは、IBD モデルマウスの CD4 陽性 T 細胞における NDPK-B 発現亢進が K_{Ca}3.1 活性亢進に関与することを見出し、NDPK-B 阻害剤の IBD における有効性を示唆した (Fig. 1).⁵⁾

K_{Ca}3.1 の転写促進因子として activator protein-1 (AP-1, Fos/Jun 複合体)、転写抑制因子として repressor element-1 silencing transcription factor (REST) が同定されている。^{6,7)} 一方、エピジェネティック制御が関与する様々な疾患が発見され、関連疾患の創薬において DNA メチル化やヒストン修飾が注目されている。IBD の発症にヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase; HDAC) が関与することが報告されており、HDAC 阻害剤が自己免疫疾患や炎症性疾患の治療薬として期待されている。^{8,9)} イオンチャネルのエピジェネティック制御に関しては、Ouadid-Ahidouch らの最新の総説を参考して頂きたい。¹⁰⁾ 転写活性の高い発がん遺伝子では DNA が低メチル化状態であり、DNA 低メチル化による K_{Ca}3.1 転写活性亢進が大腸がん細胞において報告されている。¹¹⁾ IBD モデルにおける T リンパ球 K_{Ca}3.1 亢進に関与する転写制御機構の解明には今後更なる検討が必要である。

3. two-pore 型カリウムチャネル K_{2p}5.1

two-pore 型カリウムチャネル (16 サブタイプ) は、常時開口している「背景カリウムチャネル」として静止膜電位の形成及びカルシウムシグナル制御に関与している。^{12,13)} 最近、多発性硬化症及び関節リウマチ患者の病態の重症度と末梢血 CD4 陽性 T 細胞における K_{2p}5.1 発現が正相関することが報告され、^{14,15)} 活性化 T リンパ球のカルシウムシグナル制御分子として K_{2p}5.1 が注目されている。非選択的 K_{2p}5.1 阻害剤や K_{2p}5.1 siRNA 過剰発現により、多発性硬化症患者から単離した活性化 T リンパ球の細胞増殖や IFN- γ 産生が抑制されることから、

自己免疫疾患における K_{2p}5.1 阻害剤の有効性が期待されている。しかし、選択的な K_{2p}5.1 阻害剤が開発されていないため、強力かつ選択的な K_{2p}5.1 阻害剤を開発し、病態モデル動物においてその有効性を実証することが今後の課題である。

pre-mRNA スプライシング異常は様々な疾患の発症に関与するため、pre-mRNA スプライシング阻害剤が開発された。^{16,17)} pre-mRNA スプライシング異常は、イオンチャネル機能破綻にも関与している。筆者らは、ヒトリンパ組織から K_{Ca}3.1 機能不全体を単離し、これが T リンパ球におけるサイトカイン転写及び産生を阻害することを報告した。¹⁸⁾ また、K_{2p}5.1 のスプライシングアイソフォームの単離にも成功している。¹⁹⁾ pre-mRNA スプライシング阻害剤やヒストン修飾モジュレーターによるカリウムチャネル発現制御が、免疫系疾患の新規創薬戦略として利用できるかもしれない。K_{2p}5.1 以外にも two-pore 型カリウムチャネルの K_{2p}3.1 及び K_{2p}18.1 が T リンパ球機能異常に関与することが報告されており、K_{2p}3.1 や K_{2p}18.1 の直接的又は間接的阻害剤が、多発性硬化症を始めとする免疫系疾患の新規治療標的として期待されている。^{20,21)}

4. おわりに

免疫系疾患の治療薬開発においてカリウムチャネル阻害剤が注目されており、臨床試験が準備又は開始されている。カルシウム活性化カリウムチャネル K_{Ca}3.1 は、自己免疫疾患及び炎症性疾患 (Th1 優位疾患) の治療標的分子として注目されている、積極的に新規 K_{Ca}3.1 阻害剤が開発されている。²²⁾ 最近では、K_{Ca}3.1 阻害剤がアレルギー性疾患 (喘息、鼻炎) (Th2 優位疾患) の治療薬としても期待されている。²³⁾ また、NDPK-B 阻害剤であるエラグ酸はベリー類に含まれる天然ポリフェノールであり、エラグ酸含有食品が IBD を始めとする免疫系疾患の予防に有効である可能性がある。最近、カリウムチャネル K_v1.3 阻害剤が制御性 T リンパ球における抗炎症性サイトカインインターロイキン-10 (interleukin-10; IL-10) 産生を促進することが示唆され、IL-10 産生増大にカルシウム依存性の transforming growth factor- β (TGF- β)/Smad シグナル経路が関与することが報告された。²⁴⁾ K_{Ca}3.1 でも TGF- β /Smad シグナル経路を修飾することが報告されており、^{25,26)} カリウムチャネルによるカルシウ

ムシグナル制御が炎症性サイトカイン産生能だけでなく、IL-10などの抗炎症性サイトカインの産生能の制御にも重要な役割を果たしている可能性がある (Fig. 1)。カリウムチャネル阻害効果を利用したIL-10高産生Tリンパ球の*in vitro*での調製法確立と免疫系疾患モデルにおけるその移植による病態改善効果の実証が期待される。

本研究は、京都薬科大学動物実験委員会で審査された後に学長により承認されている。

謝辞 本研究にあたり多大なご支援、ご協力を賜りました共同研究者の先生方、学生諸氏に深謝いたします。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Feske S., Wulff H., Skolnik E. Y., *Annu. Rev. Immunol.*, **33**, 291–353 (2015).
- 2) Ohya S., *Farumashia*, **48**, 509–514 (2012).
- 3) Fang K., Bruce M., Pattillo C. B., Zhang S., Stone R. 2nd, Clifford J., Kevil C. G., *Physiol. Genomics*, **43**, 43–56 (2011).
- 4) Di L., Srivastava S., Zhdanova O., Ding Y., Li Z., Wulff H., Lafaille M., Skolnik E. Y., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 1541–1546 (2010).
- 5) Ohya S., Fukuyo Y., Kito H., Shibaoka R., Matsui M., Niguma H., Maeda Y., Yamamura H., Fujii M., Kimura K., Imaizumi Y., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **306**, G873–G885 (2014).
- 6) Ghanshani S., Wulff H., Miller M. J., Rohm H., Neben A., Gutman G. A., Cahalan M. D., Chandy K. G., *J. Biol. Chem.*, **275**, 37137–37149 (2000).
- 7) Cheong A., Bingham A. J., Li J., Kumar B., Sukumar P., Munsch C., Buckley N. J., Neylon C. B., Porter K. E., Beech D. J., Wood I. C., *Mol. Cell*, **20**, 45–52 (2005).
- 8) Felice C., Lewis A., Armuzzi A., Lindsay J. O., Silver A., *Aliment. Pharmacol. Ther.*, **41**, 26–38 (2015).
- 9) Glauben R., Batra A., Fedke I., Zeitz M., Lehr H. A., Leoni F., Mascagni P., Fantuzzi G., Dinarello C. A., Siegmund B., *J. Immunol.*, **176**, 5015–5022 (2006).
- 10) Ouadid-Ahidouch H., Rodat-Despoix L., Matifat F., Morin G., Ahidouch A., *Biochim. Biophys. Acta*, **1848**, 2621–2628 (2015).
- 11) Bulk E., Ay A. S., Hammadi M., Ouadid-Ahidouch H., Schelhaas S., Hascher A., Rohde C., Thoenissen N. H., Wiewrodt R., Schmidt E., Marra A., Hillejan L., Jacobs A. H., Klein H. U., Dugas M., Berdel W. E., Müller-Tidow C., Schwab A., *Int. J. Cancer*, **137**, 1306–1317 (2015).
- 12) Es-Salah-Lamoureux Z., Steele D. F., Fedida D., *Trends Pharmacol. Sci.*, **31**, 587–595 (2010).
- 13) Cid L. P., Roa-Rojas H. A., Niemeyer M. I., González W., Araki M., Araki K., Sepúlveda F. V., *Front. Physiol.*, **4**, 198 (2013).
- 14) Bittner S., Bobak N., Feuchtenberger M., Herrmann A. M., Göbel K., Kinne R. W., Hansen A. J., Budde T., Kleinschnitz C., Frey O., Tony H. P., Wiendl H., Meuth S. G., *Arthritis Res. Ther.*, **13**, R21 (2011).
- 15) Bittner S., Bobak N., Herrmann A. M., Göbel K., Meuth P., Höhn K. G., Stenner M. P., Budde T., Wiendl H., Meuth S. G., *Ann. Neurol.*, **68**, 58–69 (2010).
- 16) Singh R. K., Cooper T. A., *Trends Mol. Med.*, **18**, 472–482 (2012).
- 17) Spitali P., Aartsma-Rus A., *Cell*, **148**, 1085–1088 (2012).
- 18) Ohya S., Niwa S., Yanagi A., Fukuyo Y., Yamamura H., Imaizumi Y., *J. Biol. Chem.*, **286**, 16940–16952 (2011).
- 19) Endo K., Kurokawa N., Kito H., Nakakura S., Fujii M., Ohya S., *Biochem. Pharmacol.*, **98**, 440–452 (2015).
- 20) Bittner S., Bauer M. A., Ehling P., Bobak N., Breuer J., Herrmann A. M., Golfels M., Wiendl H., Budde T., Meuth S. G., *Exp. Neurol.*, **238**, 149–155 (2012).
- 21) Han J., Kang D., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **390**, 1102–1105 (2009).
- 22) Strøbæk D., Brown D. T., Jenkins D. P., Chen Y. J., Coleman N., Ando Y., Chiu P., Jørgensen S., Demnitz J., Wulff H., Christophersen P., *Br. J. Pharmacol.*, **168**, 432–444 (2013).
- 23) Lin H., Zheng C., Li J., Yang C., Hu L., *Int. Immunopharmacol.*, **23**, 642–648 (2014).

-
- 24) Gocke A. R., Lebson L. A., Grishkan I. V., Hu L., Nguyen H. M., Whartenby K. A., Chandy K. G., Calabresi P. A., *J. Immunol.*, **188**, 5877–5886 (2012).
- 25) Huang C., Shen S., Ma Q., Chen J., Gill A., Pollock C. A., Chen X.-M., *Diabetes*, **62**, 2923–2934 (2013).
- 26) Huang C., Shen S., Ma Q., Gill A., Pollock C. A., Chen X.-M., *Nephrol. Dial. Transplant.*, **29**, 313–324 (2014).