

钾离子通道在特发性视神经炎发病中的作用研究进展

刘 珏 综述 李平华 审校

Research advance in the effect of potassium channel on pathogenesis of idiopathic optic neuritis

Liu Jue, Li Pinghua. Department of Ophthalmology, Affiliated First Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract Idiopathic optic neuritis (ION) is a common disorder in neuro-ophthalmology. It harms vision function seriously. However, there are a lots of controversy and confusion about its etiology, etiopathogenesis and outcome of treatments. Recently, potassium channel, such as stichodactyla helianthus peptide (ShK) and TRAM-34, was found to be involved in the immunopathogenesis of ION, and regulation of potassium channel provide a novel immunomodulatory therapy for ION. This paper reviewed the research advance of potassium channel in ION. It is expected to further clarify the pathogenesis and search for effective treatment.

Key words idiopathic optic neuritis; potassium channel; potassium channel blockers

摘要 特发性视神经炎 (ION) 是一种神经眼科的常见疾病, 严重威胁视力。因其病因及发病机制不明, 治疗方法众多, 疗效不一。目前研究发现钾离子通道如 Stichodactyla helianthus peptide (ShK) 和 TRAM-34 参与了 ION 的免疫发病过程。控制炎性细胞上钾离子通道为 ION 的治疗提供了新的途径。就 ION 自身免疫性炎性细胞上钾离子通道的研究进展进行综述, 以期进一步明确其病因, 寻求更有效的治疗方法。

关键词 特发性视神经炎; 钾离子通道; 钾离子通道阻滞剂

分类号 R 774.6 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)11-1054-03

视神经炎 (optic neuritis, ON) 泛指所有视神经的炎症性病变。临床上不明原因的 ON, 多数为多发性硬化 (multiple sclerosis, MS), 少数为视神经脊髓炎 (Devic 病), 故称为特发性视神经炎 (idiopathic optic neuritis, ION)。ION 是临床最为常见的类型^[1-4]。除脱髓鞘和轴突变性外, 离子通道表达的调节紊乱与 ION 关系密切。目前已发现了许多离子通道病 (channelopathy), 有研究认为 ION 的离子通道改变可能是一种后天致病因素导致的获得性自身免疫性离子通道病 (autoimmune ionic channelopathy, AICP)^[5-6]。近年来国外研究发现 T 淋巴细胞钾离子通道 Kv1.3 (voltage-gated potassium channel) 和 IKCa1 (intermediate-conductance calcium activated potassium channel 1, 也称 KCa 3.1) 对于启动和维持免疫反应至关重要, 两者都可能成为 ION 免疫抑制的潜在靶点。

1 T 细胞分化与钾离子通道表达

根据细胞表面表达趋化因子受体 CCR7 及磷酸化酶 CD45RA 的不同, 人体外周血 T 细胞可分为初始 T 细胞 (native T cell, 细胞表面标记为 CCR7⁺ CD45RA⁺)、中央记忆 T 细胞 (central memory T cell, T_{CM}, 细胞表面标记为 CCR7⁺ CD45RA⁻) 及效应记忆 T 细胞 (effector memory T cell, T_{EM}, 细胞表面标记为 CCR7⁻ CD45RA⁻)。研究显示, T 细胞依线性分化途径分化, 即初始 T 细胞 → 效应 T 细胞 → T_{EM} → T_{CM}。当病原微生物感染机体后, 抗原特异性 T 细胞发生克隆性增生并分化为效应 T 细胞; 当病原体被清除后, 大多数效应 T 细胞死亡, 只有少数细胞存活并分化成长寿命的记忆 T 细胞。初始 T 细胞及 T_{CM} 主要存在于淋巴结、脾脏和血液, 而不存在于非淋巴组织, 当机体受到抗原刺激后细胞因子的产生和对靶细胞的杀伤功能较慢。T_{EM} (包括 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞) 主要存在于血液、脾脏和非淋巴组织, 当机体受到抗原刺激后可不经

作者单位: 400016 重庆医科大学附属第一医院眼科
通讯作者: 李平华 (Email: eyliapinghua@163.com)

激活直接进入炎症区域产生大量的促炎因子^[7]。

运用膜片钳技术发现的电压门控钾通道 Kv1.3 和钙激活依赖的钾通道 IKCa1 是 T 淋巴细胞上主要表达的钾通道类型,但表达的数量取决于细胞的分化状态及激活状态。静息状态下,初始 T 细胞、 T_{CM} 及 T_{EM} 表达的 Kv1.3 (250 个/细胞)明显高于 IKCa1 (5 个/细胞);受抗原或丝裂原激活后,初始 T 细胞及 T_{CM} 表达类似数量的 Kv1.3 (300 个/细胞)和 IKCa1 (500 个/细胞),而 T_{EM} 表达的 Kv1.3 (1 500 个/细胞)显著高于 IKCa1 (50 个/细胞)^[8]。因此,钾离子通道变化是 T 细胞分化与激活状态改变的结果,这种变化不仅可以发生在 ION,也可发生在 1 型糖尿病、类风湿性关节炎、银屑病等其他自身免疫性疾病^[9]。Kv1.3 和 IKCa1 通过控制膜电位来调节钙离子信号事件,胞内钙离子浓度升高导致膜去极化,并进而导致 Kv1.3 通道开放,同时胞内钙离子浓度升高导致 IKCa1 通道开放,二者均引起膜超极化(钾离子外流),从而进一步导致胞外钙离子通过钙离子释放活化的钙离子通道 (calcium release-activated calcium channel, CRAC) 内流。选择性阻滞钾通道将导致膜去极化,从而抑制钙内流,也进一步抑制细胞因子的产生及细胞增生。

2 Kv1.3 与 ION

ION 是由直接针对髓鞘的抗原产生的免疫反应所介导的,当 T 淋巴细胞进入神经系统后导致细胞黏附分子、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 和促炎症细胞因子等表达增加。电压门控钾通道 Kv1.3 是 EAE 活化 T_{EM} 和 ION 外周血中髓鞘特异性 T 细胞的功能标志物^[10]。Wulff 等^[8] 早期研究发现,ION 患者外周血髓鞘反应性 T 细胞主要为 T_{EM} ,在体外培养接受髓鞘抗原刺激后其 Kv1.3 表达显著增加;相反对其他抗原特异性的 T 细胞或来自正常人的外周血髓鞘反应性 T 细胞主要是初始 T 细胞或 T_{CM} ,在体外接受抗原刺激后其 Kv1.3 表达仅轻度增加。正常人髓鞘反应性 T 细胞为初始 T 细胞或 T_{CM} ,在体外接受髓鞘抗原反复刺激后能转化为 T_{EM} ,这表明 T_{EM} 的出现是疾病过程中体内髓鞘抗原反复刺激的结果;同时,ION 患者外周血非髓鞘反应性 T 细胞或外周血髓鞘反应性 T 细胞在接受其他丝裂原刺激时均不能出现 T_{EM} Kv1.3 表达的改变。Beeton 等^[11-12] 研究表明,被动转移高表达 Kv1.3 的 T 细胞可诱发 EAE,通过被动转移诱发的 EAE 鼠外周血 T 细胞 Kv1.3 表达明显上调,但如果在被动转移之前将此类 T 细胞与 Kv1.3 通道阻滞剂 Stichodactyla helianthus peptide (ShK) 共同培养之

后再进行转移,则诱发的 EAE 病情减轻;同样,鼠被诱发 EAE 后再使用 ShK 可减轻其临床症状,且未观察到明显的不良反应。Beeton 等^[13-14] 进一步合成了荧光素标记的化合物 ShK-F6CA。ShK-F6CA 可高选择性地与 T 细胞表面 Kv1.3 通道结合,通过流式细胞仪便能快速定量检测高表达 Kv1.3 通道的 T 细胞数量及 T 细胞表面 Kv1.3 通道的分布情况。该实验流式细胞检测结果与膜片钳检测结果基本一致。由于流式细胞检测较膜片钳检测更快,且可检测大量样本,因此可用于自身免疫性疾病中高表达 Kv1.3 的 T_{EM} 细胞筛选。

进一步研究发现,ShK (L5) 可抑制人和鼠 T_{EM} 的增生及 IL-2 的生成^[12]。通过每日 1 次的皮下注射 (10 μ g/kg) 即可达到血药浓度约 300 pmol/L 的稳态,该剂量无心脏毒性反应且不引起临床化学和血液参数的改变。ShK-186 有抑制 T_{EM} 活性和迁移的作用,从而改善 EAE 的症状^[15]。与 ShK 不同,D-Allo-ShK (ShK 的右旋非对映异构体) 与 Kv1.3 通道结合不紧密,不会被蛋白酶解且无抗原性,这对钾离子通道的研究大有益处^[14]。其他化合物如 5-(4-phenylbutoxy) psoralen (Psora-4) 也被证明对治疗 EAE 有效,其半数有效剂量为 3 nmol/L,经过皮下注射 33 mg/kg 的药物 5 d 后未出现急性中毒反应^[16]。上述研究结果提示钾离子通道有望成为 ION 早期的诊断指标。

3 IKCa1 与 ION

IKCa1 在初始 T 细胞或 T_{CM} 表达约 20 个/细胞,激活后可在 48 h 内增加至 500 个/细胞,因此初始 T 细胞及 T_{CM} 激活后 IKCa1 表达上调并取代 Kv1.3 成为细胞膜上主要的钾离子通道。由此推测 IKCa1 可能主要在初始 T 细胞及 T_{CM} 介导的免疫反应中起作用。

Reich 等^[17] 研究发现,IKCa1 选择性阻滞剂 TRAM-34 可减少 MOC₃₅₋₅₅ 诱发的 EAE 鼠脊髓中细胞因子如 TNF- α 、IFN- γ 的分泌,同时可减轻 EAE 鼠的临床症状。该研究同时发现,经 TRAM-34 治疗后并未减少 EAE 鼠脊髓中炎性细胞的浸润,但减少了 TNF- α 和 IFN- γ 的分泌,表明 IKCa1 可能参与细胞因子的分泌,而与细胞的增生及浸润无关。组氨酸磷酸酶蛋白 1 (protein histidine phosphatase 1, PHPT-1) 通过使 IKCa1 通道 358 位的组氨酸去磷酸化,抑制 IKCa1 通道,从而对 CD4 T 细胞起负调节作用^[18]。提示 IKCa1 选择性阻滞剂可能成为新的免疫抑制剂。

4 钾离子通道与 ION 的治疗

糖皮质激素是目前治疗 ION 的主要方法,但研究

发现,单独口服强的松治疗不仅无益,而且复发率高于对照组 2 倍。干扰素^[19]、免疫抑制剂治疗(甲氨喋呤、环磷酰胺、环孢素 A 等)、抗原特异性免疫治疗^[20](glatiramer acetate, GA)、活性维生素 D、采用静脉内注射免疫球蛋白治疗 ON^[21]、血浆交换^[22]、高压氧、体外反搏、中药、基因治疗^[23]等,与上述治疗相比,以 Kv1.3 为靶点同时针对 ION 患者 CD4⁺ 及 CD8⁺ T_{EM} 的治疗优势在于初始 T 细胞及 T_{CM} 以 IKCa1 表达为主而逃避免疫抑制,且 Kv1.3 通道在其他组织器官表达有限,被抑制后引起的不良反应小^[24]。根据对 Kv1.3 通道结构的研究已经合成了一种高选择性 Kv1.3 阻滞剂—ShK-DAP^[25]。该化合物对 Kv1.3 有高亲和性,对其他离子通道的亲和性不及 1%。从植物芸香中也获得一种新的小分子 Kv1.3 阻滞剂 5-甲氧基补骨脂素(5-methoxypsoralen, 5-MOP)。5-MOP 在临床用于治疗银屑病,也有报道认为可改善 ION 的症状^[26]。其他化合物如 PAP-1 也被证明对治疗 EAE 有效^[27]。因此, Kv1.3 选择性阻滞剂对 ION 及其他 T 细胞介导的自身免疫性疾病具有广阔的治疗前景。

5 展望

目前 K⁺ 通道阻滞剂对于实验性 ION 的疗效已得到肯定。实验性变应性脑脊髓炎动物模型的建立为特发性视神经炎病因学及治疗学的研究提供了可行性。目前的研究多局限于动物模型,缺少临床试验依据, K⁺ 通道阻滞剂临床应用及具体的给药时机、方式、剂量、药物疗效、疗程及不良反应等尚需进一步研究。

参考文献

- Optic Neuritis Study Group. The clinical profile of optic neuritis. Experience of the optic neuritis treatment trial [J]. Arch Ophthalmol, 1991, 109(12): 1673 - 1678
- Optic Neuritis Study Group. The 5-year risk of MS after optic neuritis. Experience of the optic neuritis treatment trial [J]. Neurology, 1997, 49(5): 1404 - 1413
- Beck RW, Trobe JD, Moke PS, et al. High- and low-risk profiles for the development of multiple sclerosis within 10 years after optic neuritis: experience of the optic neuritis treatment trial [J]. Arch Ophthalmol, 2003, 121(7): 944 - 949
- Smith CH. Optic neuritis. // Miller NR, Newman NJ, Biousse V, et al. eds. Walsh and Hoyt Clinical Neuro-ophthalmology [M]. 6th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2005: 293 - 326
- Waxman SG. Acquired channelopathies in nerve injury and MS [J]. Neurology, 2001, 56(12): 1621 - 1627
- Masson C. Ion channel abnormalities ("channelopathies") in neurologic diseases [J]. Press Med, 2002, 31(6): 244 - 248
- Sallusto F, Geginat J, Lanzavecchia A. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance [J]. Annu Rev Immunol, 2004, 22: 745 - 763
- Wulff H, Calabresi P, Allie R, et al. The voltage-gated Kv1.3 K⁺ channel in effector memory T cells as new target for MS [J]. J Clin Invest, 2003, 111(11): 1703 - 1713
- Wulff H, Beeton C, Chandy KG. Potassium channels as therapeutic targets for autoimmune disorders [J]. Curr Opin Drug Discov Devel, 2003, 6(5): 640 - 647
- Rus H, Pardo CA, Hu L, et al. The voltage-gated potassium channel Kv1.3 is highly expressed on inflammatory infiltrates in multiple sclerosis brain [J]. PNAS, 2005, 102(31): 11094 - 11099
- Beeton C, Barbaria J, Giraud P, et al. Selective blocking of voltage-gated K⁺ channels improves experimental autoimmune encephalomyelitis and inhibits T cell activation [J]. J Immunol, 2001, 166(2): 936 - 944
- Beeton C, Pennington MW, Wulff H, et al. Targeting effector memory T cells with a selective peptide inhibitor of Kv1.3 channels for therapy of autoimmune diseases [J]. Mol Pharmacol, 2005, 67(4): 1369 - 1381
- Beeton C, Wulff H, Singh S, et al. A novel fluorescent toxin to detect and investigate Kv1.3 channel up-regulation in chronically activated T lymphocytes [J]. J Biol Chem, 2003, 278(11): 9928 - 9937
- Beeton C, Smith BJ, Sabo JK, et al. The D-diastereomer of ShK toxin selectively blocks voltage-gated K⁺ channels and inhibits T lymphocyte proliferation [J]. Prot Struct Fold, 2008, 283(1): 988 - 997
- Beeton C, Matheu MP, Uemura M, et al. Live imaging of effector memory T cells at a site of inflammation—a Kv1.3 blocker suppresses T cell motility [J]. FASEB J, 2007, 21: 770
- Vennekamp J, Wulff H, Beeton C, et al. Kv1.3-blocking 5-phenylalkoxy-psoralens: A new class of immunomodulators [J]. Mol Pharmacol, 2004, 65: 1364 - 1374
- Reich EP, Cui L, Yang L, et al. Blocking ion channel KCNN4 alleviates the symptoms of experimental autoimmune encephalomyelitis in mice [J]. Eur J Immunol, 2005, 35(4): 1027 - 1036
- Srivastava S, Zhdanova O, Di L, et al. Protein histidine phosphatase 1 negatively regulates CD4 T cells by inhibiting the K⁺ channel KCa3.1 [J]. PNAS, 2008, 105: 14442 - 14446
- Beck RW, Gal RL. Treatment of acute optic neuritis: A summary of findings from the optic neuritis treatment trial [J]. Arch Ophthalmol, 2008, 126(7): 994 - 995
- Burger D, Molnarfi N, Martin S, et al. Glatiramer acetate increases IL-1 receptor antagonist but decreases T cell-induced IL-1β in human monocytes and multiple sclerosis [J]. PNAS, 2009, 106(3): 4355 - 4359
- Gray OM, McDonnell GV, Forbes RB. Intravenous immunoglobulins for multiple sclerosis. // The Cochrane Library, Issue 2, Chichester [M]. UK: John Wiley & Sons Ltd, 2005
- Ruprecht BK, Klinker E, Dintelmann T, et al. Plasma exchange for severe optic neuritis: treatment of 10 patients [J]. Neurology, 2004, 63(6): 1081 - 1083
- Guy J, Qi X, Wang H, et al. Adenoviral gene therapy with catalase suppresses experimental optic neuritis [J]. Arch Ophthalmol, 1999, 117(11): 1533 - 1539
- Chandy KG, Wulff H, Beeton C, et al. K⁺ channels as targets for specific immunomodulation [J]. Trends Pharmacol Sci, 2004, 25(5): 280 - 289
- Kalman K, Pennington MW, Lanigan MD, et al. ShK-Dap22, a potent Kv1.3-specific immunosuppressive polypeptide [J]. J Biol Chem, 1998, 273(49): 32697 - 32707
- Wulff H, Sankaranarayanan A, Schmitz A, et al. PAP-1, a selective small molecule Kv1.3 blocker [J]. FASEB J, 2006, 20: A326
- Schmitz A, Sankaranarayanan A, Azam P, et al. Design of PAP-1, a selective small molecule Kv1.3 blocker, for the suppression of effector memory T cells in autoimmune diseases [J]. Mol Pharmacol, 2005, 68(5): 1254 - 1270

(收稿: 2008-11-05 修回: 2009-09-17)

(本文编辑: 尹卫靖)