

Review

【ホットトピックス】

肺高血圧症の病態と新規治療を カリウムチャネル制御から探る

早瀬 康信

徳島大学大学院医歯薬学研究部小児科

Potassium Channels in Pulmonary Arterial Hypertension

Yasunobu Hayabuchi

Department of Pediatrics, Institute of Biomedical Science, Tokushima University Graduate School, Tokushima, Japan

Potassium channels play diverse roles in regulating the behavior of pulmonary artery smooth muscle cells. In 2013, the discovery of KCNK3 (TASK1) as a new predisposing gene for pulmonary arterial hypertension (PAH) led to an update in the Nice Classification regarding the genetic origin of PAH. Decreased current via KCNA5 (Kv1.5) plays a key role in determining pulmonary arterial tone and vascular remodeling. The transformation of smooth muscle cells causes ion channel switching, such as the loss of BKca (Kca1.1) and the gain of IKca (Kca3.1), in immature proliferative smooth muscle cells and also induces cell migration, proliferation, and apoptosis resistance. Pulmonary smooth muscle cells from PAH patients demonstrate many cellular abnormalities linked to potassium channels. This review summarizes the current knowledge regarding the involvement of potassium channels in the development of PAH and discusses potential treatments to be developed in the near future.

Keywords: potassium channel, pulmonary arterial hypertension, vascular

肺動脈平滑筋細胞に存在するカリウムチャネルは多彩な種類と機能を有し、多くの生理作用ならびに病態に関与している。肺動脈性肺高血圧症（PAH）においても発症と増悪に深く関与していることが明らかになりつつある。2013年にtwo-pore domainカリウムチャネルの1種であるKCNK3（TASK1）の遺伝子変異がPAHの原因遺伝子であると証明され、第5回肺高血圧国際シンポジウム（ニース国際会議）で追加された。また、PAHでは発症原因にかかわらず、電位依存性カリウムチャネル、特にKCNA5（Kv1.5）の発現低下と活性抑制が認められ、肺動脈収縮と血管リモデリングを促進することが示されている。さらに、平滑筋細胞に認められるカルシウム活性化カリウムチャネルは、形質転換によってBKca（Kca1.1）からIKca（Kca3.1）優位に変化し、平滑筋細胞の遊走の促進、増殖能の亢進、アポトーシスの抑制などに影響を与えている。これら肺血管の収縮とリモデリングへのカリウムチャネルの役割を解明することで、新たな治療戦略が見えてくるものと期待される。

はじめに

肺高血圧症は様々な原因により肺動脈圧、肺血管抵抗が持続的に上昇した病態であり、右心不全や呼吸不全が進行性に悪化する予後不良の難治性疾患であ

る。肺動脈性肺高血圧症（pulmonary arterial hypertension: PAH）の病態の主体は肺動脈内腔の狭窄であり、①血管拡張因子と血管収縮因子のアンバランスなどによる直径500 μ m以下の末梢の肺小動脈の異常収縮、②血管内皮細胞および平滑筋細胞などの過剰増

殖とアポトーシス抵抗性による血管リモデリング、③病変部での血栓形成、の3つの要因によって生じる。病初期には異常収縮が大部分を占め、徐々に血管リモデリングの比率が大きくなる。このような病態には肺動脈の内皮細胞および平滑筋細胞の特性が関与している¹⁾。PAHの病変は血管壁の肥厚により内腔が狭窄・閉塞してくる収縮性病変と叢状病変、拡張性病変、血管炎からなる複合病変に大別される。病初期には、孤立性中膜肥厚を示すが、肺高血圧が続くと内膜の肥厚が起こってくる^{2,3)}。主に平滑筋細胞、筋線維芽細胞など細胞成分の増加によるものを細胞性内膜肥厚、膠原線維を主とする線維成分の増生によるものを線維性内膜肥厚と呼ぶ。

本疾患の原因遺伝子として、bone morphogenic protein type II receptor 遺伝子 (BMPR2)、Activin receptor-like kinase-1 (ALK-1) 遺伝子 (ACVRL1)、endoglin 遺伝子 (ENG)、SMAD8/9 (SMAD9) 遺伝子などのTGF- β シグナル関連遺伝子に加えて、細胞内カルシウム調節因子であるCaveolin-1 (CAV1) 遺伝子、そして2013年にはカリウムチャンネルであるKCNK3 (TASK1) 遺伝子の変異が証明され⁴⁾、第5回肺高血圧国際シンポジウム(ニース)で追加された⁵⁾。このカリウムチャンネル遺伝子変異の発見は、TGF- β シグナル伝達に関連しないPAH発症機序に関する新たな知見につながる可能性がある。PAHの発症と増悪におけるカリウムチャンネルの関与については、電位依存性カリウムチャンネルの一つであるKCNK5 (Kv1.5) が取り上げられることが多かった^{6,7)}。Kv1.5電流の低下は静止膜電位を浅くし、肺血管を収縮させるのみでなく、細胞増殖や遊走にも影響を与える。さらに細胞内カリウムイオン濃度の増加によりカスパーゼ活性が抑制され、アポトーシス抵抗性を誘導する作用も有している。また、KCNK3、KCNK5以外にも、多くのカリウムチャンネルは肺小動脈の収縮・弛緩およびリモデリング、そして肺動脈平滑筋細胞の増殖、アポトーシスおよび遊走に関与しており、今後の治療戦略に大きな位置を占める可能性がある。現在、プロスタサイクリン製剤、エンドセリン受容体拮抗薬、ホスホジエステラーゼ-5 (PDE-5) 阻害薬の使用が広く普及し、ランダム化比較対象臨床試験を含む単剤治療および併用療法の成績が集積されてきているが⁸⁻¹⁰⁾、難治性である本疾患の治療成績はいまだ満足できるものではなく、さらなるbreakthroughが必要であろう¹¹⁾。この総説では肺動脈性肺高血圧症におけるカリウムチャンネルの働きと制御に関して概要を述べ、将来的な治療戦略への展望について解説する。

肺動脈平滑筋細胞におけるカリウムチャンネル

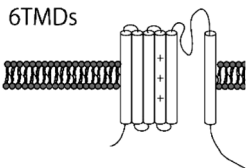
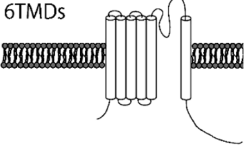
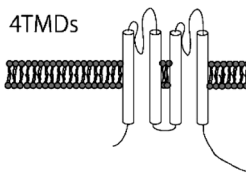
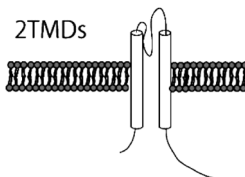
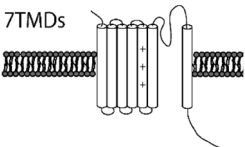
カリウムチャンネルはカリウムイオンを選択的に透過させる細胞膜に存在するイオンチャンネルである。静止膜電位の形成、細胞の興奮性、電気的な細胞応答、活動電位の形成と持続時間、シナプス伝達、細胞分裂、細胞分化、周期性活動、張力など種々の生体の調整や細胞の機能制御に重要な役割を演じている。血管平滑筋細胞に存在するカリウムチャンネルは、電位依存性カリウムチャンネル (voltage-gated K^+ channel; Kv)、カルシウム活性化カリウムチャンネル (Ca^{2+} -activated K^+ channel; Kca)、Two-pore domain カリウムチャンネル (Two-pore domain K^+ channel; K_{2p})、内向き整流性カリウムチャンネル (Inwardly rectifying K^+ channel; K_{IR}) の4つに大きく分類される^{12,13)} (Table 1)。ほとんどのカリウムチャンネルは α サブユニットが四量体を形成し、中央部分にカリウムを通す小孔(ポア)が開くようになっている。電気生理学的特性や α サブユニットの膜貫通領域の構造の違いにより、6回膜貫通型のKv、Kca、2回膜貫通型の K_{IR} 、4回膜貫通型の K_{2p} に大別される。イオン透過経路を構成する α サブユニットと電流特性や膜発現量を制御する β サブユニットをあわせると100種類以上の遺伝子群から構成されており、これら豊富なサブユニット分子種、 α サブユニットのヘテロ四量体形成、さらに β サブユニットとの複合体形成によってカリウムチャンネルの多様性と多彩な機能が発現する。

カリウムチャンネルを介した肺動脈の収縮・拡張・リモデリング

肺動脈は様々な血管作動性物質や環境・ストレス・薬剤によって収縮と拡張を制御されている。これらのなかでも肺血管に特徴的な応答である低酸素による血管収縮について示した (Fig. 1)^{14,15)}。正常酸素分圧下においては血管平滑筋細胞の膜電位は、 $-50 \sim -60$ mVで維持されており、カルシウムイオンの電位依存性カルシウムチャンネル (voltage-dependent Ca^{2+} channel; VDCC) からの流入が抑制されている。

カリウムチャンネルの発現低下や活性の抑制は平滑筋細胞におけるカリウム電流低下を来し、静止膜電位の上昇・脱分極をもたらす。これによってVDCCが活性化し、細胞内カルシウム濃度を上昇させて筋原性張力が発生し、血管平滑筋を収縮させることがシグナル伝達経路として確立している^{16,17)}。このカルシウム増加は筋小胞体 (sarcoplasmic reticulum) からの

Table 1 Potassium channel families

K ⁺ channel Families	Kv channel (42 isoforms; 12 subfamilies)		K _{Ca} channel (8 isoforms; 5 subfamilies)		K _{2P} channel (15 isoforms; 6 subfamilies)		K _{IR} channel (15 isoforms; 7 subfamilies)	
Nomenclature	HGCN	IUPHAR	HGCN	IUPHAR	HGCN	IUPHAR	HGCN	IUPHAR
Isoforms & Subfamilies	<i>KCNA1–A10</i>	Kv1.1–Kv1.10	<i>KCNA1</i>	K _{Ca} 1.1	<i>KCNK1</i>	K _{2P} 1.1	<i>KCNJ1</i>	K _{IR} 1.1
	<i>KCNB1 & B2</i>	Kv2.1 & Kv2.2	<i>KCNN1–3</i>	K _{Ca} 2.1–2.3	<i>KCNK2</i>	K _{2P} 2.1	<i>KCNJ2, 12, 4, 14</i>	K _{IR} 2.1–K _{IR} 2.4
	<i>KCNC1–C4</i>	Kv3.1–Kv3.4	<i>KCNN4</i>	K _{Ca} 3.1	<i>KCNK3</i>	K _{2P} 3.1	<i>KCNJ3, 6, 9, 5</i>	K _{IR} 3.1–K _{IR} 3.4
	<i>KCND1–D3</i>	Kv4.1–Kv4.3	<i>KCNT1 & T2</i>	K _{Ca} 4.1 & 4.2	<i>KCNK4</i>	K _{2P} 4.1	<i>KCNJ10 & 15</i>	K _{IR} 5.1
	<i>KCNF1</i>	Kv5.1	<i>KCNU1</i>	K _{Ca} 5.1	<i>KCNK5</i>	K _{2P} 5.1	<i>KCNJ8 & 11</i>	K _{IR} 6.1 & 6.2
	<i>KCNG1–G4</i>	Kv6.1–Kv6.4			<i>KCNK6</i>	K _{2P} 6.1	<i>KCNJ13</i>	K _{IR} 7.1
	<i>KCNQ1–Q5</i>	Kv7.1–Kv7.5			<i>KCNK7</i>	K _{2P} 7.1		
	<i>KCNV1 & V2</i>	Kv8.1 & Kv8.2			<i>KCNK9</i>	K _{2P} 9.1		
	<i>KCNS1–3</i>	Kv9.1–Kv9.3			<i>KCNK10</i>	K _{2P} 10.1		
	<i>KCNH1 & 5</i>	Kv10.1 & Kv10.2			<i>KCNK12</i>	K _{2P} 12.1		
	<i>KCNH2, H6, H7</i>	Kv11.1–Kv11.3			<i>KCNK13</i>	K _{2P} 13.1		
	<i>KCNH8, H3, H4</i>	Kv12.1–Kv12.3			<i>KCNK15</i>	K _{2P} 15.1		
					<i>KCNK16</i>	K _{2P} 16.1		
					<i>KCNK17</i>	K _{2P} 17.1		
					<i>KCNK18</i>	K _{2P} 18.1		
General characteristic of the K ⁺ channels	Ca ²⁺ -insensitive, voltage-sensitive		K _{Ca} 1.1 (BK _{Ca} , Slo1, or MaxiK): large-conductance, voltage- and Ca ²⁺ -sensitive, outward rectification		Voltage-independent		Single-channel conductance: <30 pS and inward rectification	
	Outward rectification		Single-channel conductance: ≈250 pS		Single-channel conductance: <40 pS, except TREK (≈100 pS)		K _{IR} subfamily: strong inward rectification	
	Single-channel conductance: 5–80 pS		K _{Ca} 2.1–2.3 (SK _{Ca}), K _{Ca} 3.1 (IK _{Ca}): small- and intermediate-conductance, and voltage independent Single-channel conductance: SK _{Ca} 10–14 pS, IK _{Ca} ≈45 pS		TWIK, TREK, TASK, TALK, THINK, TRAAK subfamilies		K _{ATP} subfamily (K _{IR} 6.1 & 6.2): intermediate inward rectification, intracellular ATP sensitive	
α -subunit membrane topology	6TMDs		SK _{Ca} , IK _{Ca} 6TMDs		4TMDs		2TMDs	
								
			BK _{Ca} 7TMDs					
								

Human potassium channels can be broken down into 4 distinct families by their functional characteristics. Kv, voltage-gated; K_{Ca}, calcium activated; K_{2P}, two pore; K_{IR}, inward rectifying; HGCN, HUGO human genome organization nomenclature; IUPHAR, International Union of Pharmacology nomenclature; TMDs, transmembrane domains; +, voltage sensor.

Ca²⁺放出を促す（カルシウム誘発性カルシウム放出：Calcium-induced calcium release; CICR）作用にもつながる。

膜電位を介した血管平滑筋細胞収縮の調節系においては、BK_{Ca}がフィードバック機構の要である。細胞内カルシウム濃度が上昇するほど、また脱分極するほ

どBK_{Ca}が活性化される特性はフィードバック機構に適している。BK_{Ca}が活性化することによって過分極がもたらされ、VDCCをはじめとする電位依存性チャネルの抑制を促すのである。Kvチャネルも脱分極により開放する性質があるため負のフィードバックに大きく関与している。

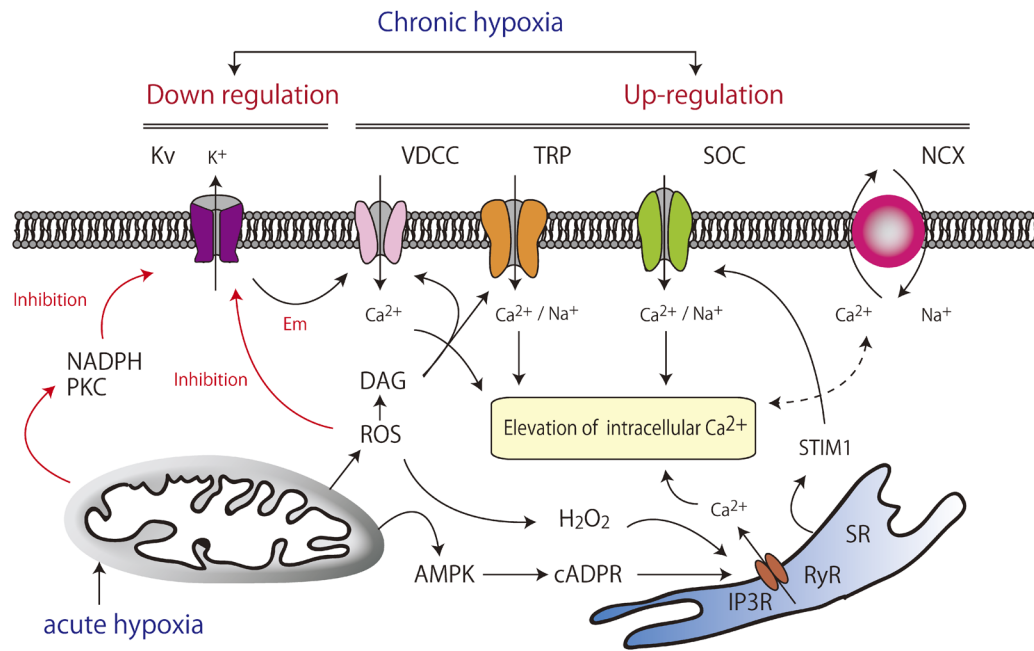


Fig. 1 Diagram of hypoxia-induced pulmonary arterial contraction and voltage-gated K^+ (Kv) channels

Vasoconstriction involves hypoxia-induced elevation of intracellular Ca^{2+} and the related signaling pathways. The inhibition of Kv channels, particularly Kv1.5, plays a key role in the mechanism of vasoconstriction. AMPK, AMP-activated kinase; cADPR, cyclic ADP ribose; DAG, diacylglycerol; Em, membrane potential; IP3R, Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor; Kv, voltage-gated K^+ channels; NCX, Na^+-Ca^{2+} exchanger; PKC, protein kinase C; ROS, reactive oxygen species; RyR, ryanodine receptor; SOC, store-operated channels; SR, sarcoplasmic reticulum; STIM1, stromal-interacting molecule 1; TRP, transient receptor potential channels; VDCC, voltage-dependent Ca^{2+} channels.

細胞膜電位の脱分極や持続する細胞内カルシウム濃度の上昇は、生理的にも病的にも、平滑筋細胞の収縮だけでなく、細胞増殖を刺激する大きな要因である。核内および細胞質のカルシウム濃度の上昇により、calmodulin kinase (CaMK) や mitogen-activated protein kinase (MAPK) などの Ca^{2+} 依存性キナーゼが、さらに nuclear factor of activated T-cells (NFAT) や cAMP response element binding protein (CREB) などの転写因子が活性化され、静止期にある細胞が細胞周期に入り増殖が促される (Fig. 2)¹⁶⁾。この細胞シグナル伝達制御に、Kv などのカリウムチャンネルが関わっている。

Kv チャンネルのなかでも Kv1.5 (KCNA5) は弾性動脈・筋性動脈よりも細小動脈に多く発現しており、急性期には低酸素によって Kv1.5 活性の抑制がもたらされ、カリウム電流低下、細胞膜の脱分極を介して平滑筋の収縮が起こる。低酸素状態により活性酸素 (reactive oxygen species; ROS) 増加、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; NADPH) 増加、スフィンゴミエリナーゼ活性化による Protein kinase C (PKC) の活性化が起こる。これらのシグナルはすべて、急性

期には Kv1.5 活性を抑制する。さらに肺胞低酸素は肺血管収縮を引き起こすのみでなく、慢性的には肺小動脈における Kv1.5 の発現を抑制してリモデリングを促進する¹⁸⁾。Kv1.5 の発現減少は肺高血圧の原因にかかわらず、共通の性質・特性として認められており、病態の増悪には非常に重要と考えられている。この原因は明らかにされていないが、多因子の関与が示唆され、今後の治療のターゲットとなり得る。

2013 年に PAH 原因遺伝子として報告された KCNK3 (TASK1) は、Two-pore domain カリウムチャンネル (K_{2p}) の 1 種である。 K_{2p} は 2 回膜貫通領域と一つの P 領域が 2 個直列につながったサブユニット構造をしており、低酸素や pH を感知して活性化される。電気生理学的特性や薬理学的な特性から 6 つのサブファミリー (TWIK, TREK, TASK, TALK, THINK, TRAAK) に分類されている。この報告では 6 つのヘテロ接合性ミスセンスバリエーションが独立に同定された⁴⁾。KCNK3 は電位依存性チャンネルではなく静止膜電位付近でも活性を示すため、このチャンネル異常は膜電位維持を阻害することで肺血管収縮とリモデリングを促進すると考えられる。

一方では、多くの臓器において低酸素や虚血などで

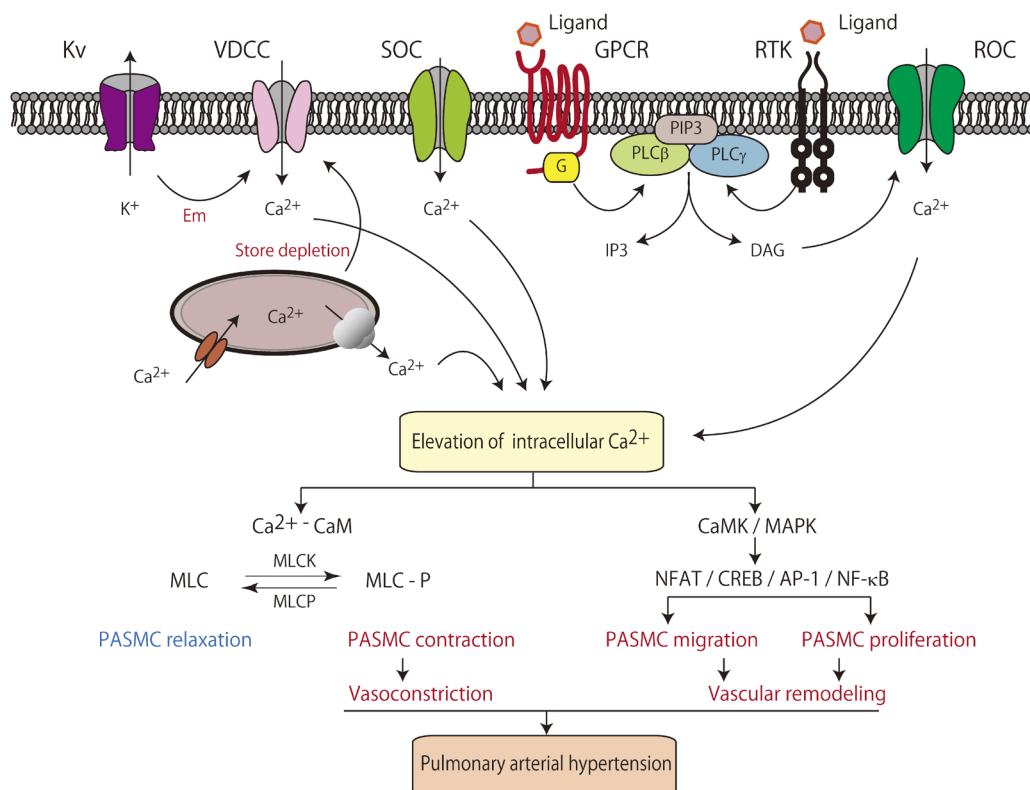


Fig. 2 Diagram of the pulmonary arterial contraction and vascular remodeling mechanism

A rise in cytosolic Ca²⁺ can be created by opening voltage-dependent Ca²⁺ channels (V_{DCC}) through decreased voltage-gated K⁺ (K_v) channel current and membrane depolarization (Em). Activation of receptors, such as G protein-coupled receptors (GPCR) and receptor tyrosine kinases (RTK), induces diacylglycerol (DAG) and inositol 1,4,5-trisphosphate (IP₃) production. In addition, these receptors increase the cytosolic Ca²⁺ concentration by opening receptor-operated Ca²⁺ channels (ROC) and inducing Ca²⁺ mobilization from the sarcoplasmic reticulum (SR). IP₃ also directly or indirectly opens store-operated Ca²⁺ channels (SOC) by store depletion to further increase Ca²⁺. The Ca²⁺/calmodulin (CaM) complex binds to and activates myosin light chain kinase (MLCK), which phosphorylates the myosin light chain (MLC). MLC stimulates the activity of myosin adenosine triphosphatase (ATPase), which hydrolyzes ATP to generate energy for cycling of myosin cross-bridges with actin filaments. Formation of these cross-bridges underlies pulmonary artery smooth muscle cell (PASMC) contraction, prompting vasoconstriction. Furthermore, an elevation in the intracellular Ca²⁺ concentration induces quiescent cells to undergo mitosis. Increased intracellular Ca²⁺ also activates CaM kinase (CaMK) and mitogen-activated protein kinase (MAPK), as well as transcription factors, including nuclear factor of activated T cells (NFAT), cAMP response element binding protein (CREB), activator protein-1 (AP-1), and NF-κB, to stimulate proliferation by inducing Ca²⁺-sensitive steps during cell cycle progression. Chronic and sustained elevation of pulmonary vascular resistance and arterial pressure resulted from vasoconstriction and vascular remodeling.

活性化される ATP-sensitive K⁺ channel (K_{ATP})^{19, 20)} については肺動脈における収縮とリモデリングやフィードバックへの関与の報告は少ない²¹⁾。特に細胞膜 K_{ATP} channel は病態への関与において重要性に乏しいと考えられる。ミトコンドリア K_{ATP} channel に関しては肺動脈収縮やリモデリングへの影響を示唆する報告も散見されるが²¹⁾、病態増悪における役割はいまだ明確には示されていない。

血管平滑筋細胞の可塑性とチャネル・スイッチング

一般に終末分化した細胞（骨格筋細胞・神経細胞・血球系細胞など）は、その分化形質を細胞死に至るまで維持し、脱分化や細胞分裂などを示さない、いわゆる最終分化（terminal differentiation）を示す。一方、平滑筋細胞は、病的あるいは特殊な条件下（肺高血圧・動脈硬化・病的血管・培養など）において容易に分化型形質から脱分化型形質へと変化する。また、分化型形質を維持したまま細胞増殖性も認めるなど、特有の可塑性を示している。

血管平滑筋細胞の形質転換（脱分化）が起点となり，脱分化型血管平滑筋細胞の増殖・遊走によって血管内中膜肥厚などが引き起こされ，血管壁リモデリングが増悪する．近年，血管平滑筋細胞の形質転換には種々のイオンチャネルの発現増加・減少が密接にかかわっていることが明らかにされつつある^{22, 23)}．平滑筋細胞が増殖停止し分化した状態では，興奮収縮連関に関与する VDCC や BKCa の発現が優位である．これらのチャネルは，前述のように細胞膜電位に依存して平滑筋細胞のカルシウム流入の重要な制御因子として働く²⁴⁾．これに対して血管平滑筋細胞に増殖刺激などが加わると，VDCC や BKCa の発現が急速に減少する²⁵⁾．代わって，transient receptor potential channel (TRP) や Intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel (IKCa; KCa3.1) の発現が増加することが明らかにされた (Fig. 3)^{23, 25)}．分化型平滑筋細胞に発現している VDCC および BKCa は膜電位に強く依存して活性化されるのに対して，TRP や IKCa は膜電位にほとんど影響されずに静止膜電位付近でも活性化して開口する特性を持っている．したがっ

て増殖型刺激が加わり脱分化型（増殖型）に転じた血管平滑筋細胞では，IKCa の活性化による過分極作用によって細胞膜電位が過分極され，電位非依存的経路である TRP を介した恒常的なカルシウム流入を駆動するための電位差が大きく保たれることとなるのである^{22, 23)}．TRP を介した細胞内カルシウム濃度の上昇はさらに IKCa を活性化させ，ポジティブ・フィードバックを示す．このような状態は，前述した NFAT/CREB/AP-1/NF- κB などの細胞内カルシウム濃度依存性転写因子の活性化を起こすのに好都合である．NFAT や NF- κB には，TRP や IKCa の発現を増加させる作用も認められ，さらにポジティブ・フィードバックを受けて拍車がかかることになる²⁵⁾．

Fig. 4 は，幼若な増殖型平滑筋細胞における IKCa の発現増加を，patch-clamp 法 (whole-cell configuration および inside-out patch) を用いて証明した記録である．増殖型平滑筋細胞の whole-cell configuration におけるカリウム電流は，BKCa 選択的阻害薬である Iberitoxin (IbTX) 投与では軽度 (14%) しか抑制されなかった．その後に追加した BKCa および IKCa

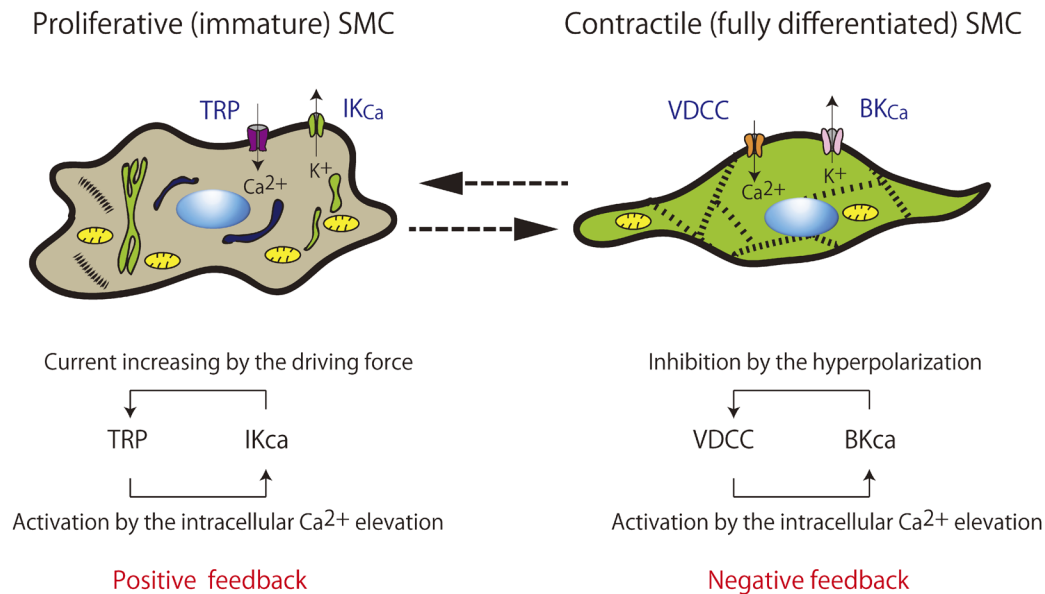


Fig. 3 Diagrams depicting phenotypic switching of vascular smooth muscle cells and ion channel expression. Vascular smooth muscle cells (SMCs) can have one of the two phenotypes: immature proliferative SMCs and differentiated contractile SMCs. Vascular SMCs change phenotype in response to the surrounding environment. Immature proliferative SMCs proliferate, migrate, and synthesize proteins. In contrast, fully differentiated contractile SMCs adhere to each other and are contractile in nature. Switching to different ion transport systems is also shown. This phenotypic shift in the Ca^{2+} -activated K^+ channel (KCa) expression pattern produces dramatic alterations in the electrical properties of the cell and has functional consequences, in part because of the effect on Ca^{2+} influx. Activation of IKCa enhances Ca^{2+} influx by increasing the transmembrane electrical gradient. This increase in Ca^{2+} influx stimulates distinct cellular processes associated with smooth muscle growth and proliferation. BKCa, large conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel; IKCa, intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel; SMC, smooth muscle cell; TRP, transient receptor potential channels; VDCC, voltage-dependent Ca^{2+} channels.

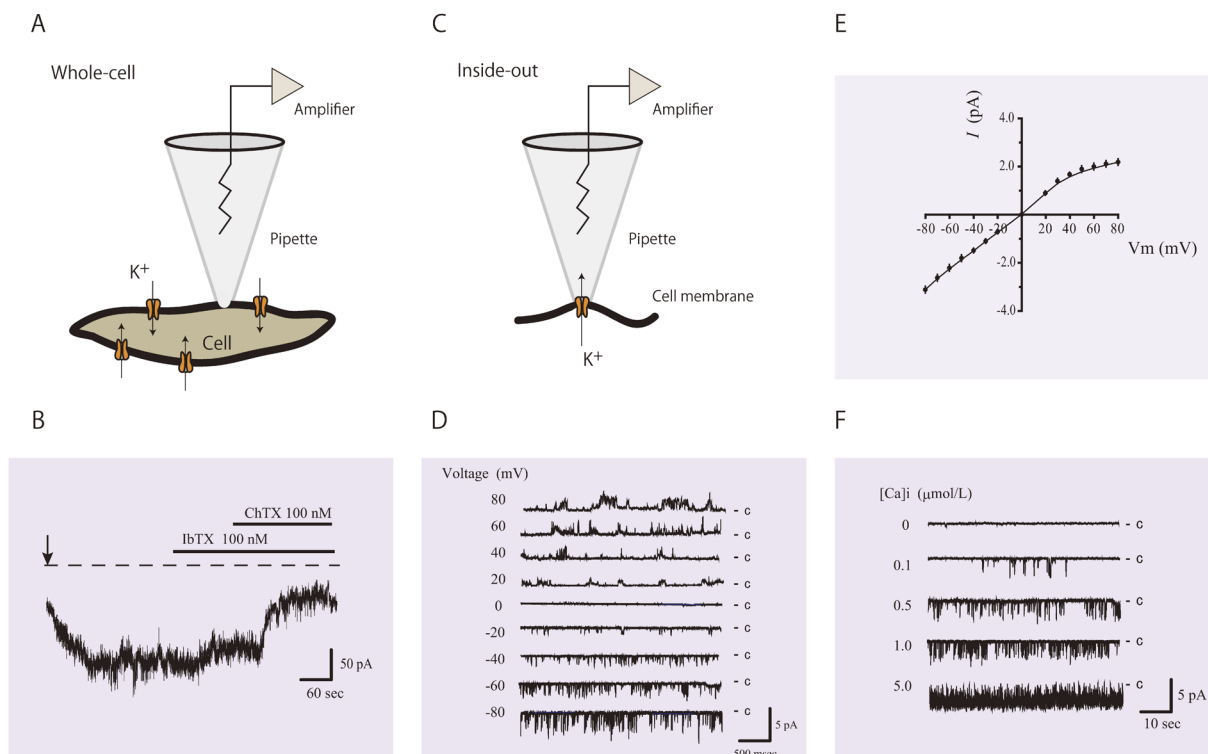


Fig. 4 Predominant expression of IKCa in proliferative smooth muscle cells (SMCs)

IKCa current is observed using the patch-clamp technique. (A) Schematic of the whole-cell configuration. (B) Representative recording of whole-cell current from an immature SMC held at -60 mV. The current shows iberitoxin (IbTX)-insensitive and charybdotoxin (ChTX)-sensitive K⁺ currents. Establishment of the whole-cell configuration is shown by the vertical arrow. The zero current level is shown by the dashed line. IbTX inhibited the ChTX-sensitive currents by 14% in this cell. (C) Schematic of an inside-out patch. (D) IKCa single-channel currents from an inside-out patch. The membrane potential was stepped from -80 to +80 mV in 10-mV increments. (E) Single-channel current-voltage (I-V) curve obtained in symmetrical K⁺ solutions, depicting a channel conductance of 37 pS. (F) Intracellular Ca²⁺ activation of IKCa current. Representative traces show single-channel activity of inside-out patches exposed to 0, 0.1, 0.5, 1.0, and 5.0 μmol/L free Ca²⁺. These recordings are from our experimental data (reference 23).

阻害薬である charybdotoxin (ChTX) によって、カリウム電流が強く抑制された (Fig. 4B). 分化型平滑筋細胞では IKCa はほとんど発現しておらず、IKCa を介した電流もごくわずかであるとされているが、増殖型平滑筋細胞では IKCa 電流が著しく増加していることを示している。さらに、Inside-out patch を用いた single channel recording では、チャンネルコンダクタンス、電位非依存性およびカルシウム依存性チャンネル活性などの電気生理学的性質から細胞膜に存在するチャンネルが IKCa であることが同定された (Fig. 4D-F). これらの結果から、増殖型平滑筋細胞のカルシウム依存性カリウム電流の大部分が IKCa を介した電流であり、IKCa の発現が増加していることが確認された。Transient receptor potential (TRP) チャンネルは 6 回膜貫通型の 4 量体チャンネルで、ナトリウム、カリウム、カルシウムなどを透過する非選択的陽イオンチャンネルである。膜電位センサー様の構造を持つが、膜電

位感受性は非常に弱いと認められず、生体内外からの様々な環境刺激や細胞内外のシグナル、リガンドで活性化される。心肥大や冠動脈のリモデリングへの関与で注目される TRPC1 よりも、TRPC6 によるストア作動性カルシウム流入チャンネル活性増加が肺動脈平滑筋細胞の増殖や異常に関わると考えられている。PAH の患者から採取した平滑筋細胞では、TRPC6 の発現増加に伴うストア作動性カルシウムチャンネル活性増加と増殖能亢進がみられる。これらの増殖性変化は、*in vitro* では siRNA による発現抑制によって阻害されることが証明されている²⁶⁾。

平滑筋細胞の遊走とカリウムチャンネル

血管リモデリングの進展には、平滑筋細胞の増殖とともに遊走も大きな要因となる²⁷⁾。細胞遊走の基本は、細胞の前方が伸展・突出し、後方が収縮・短縮す

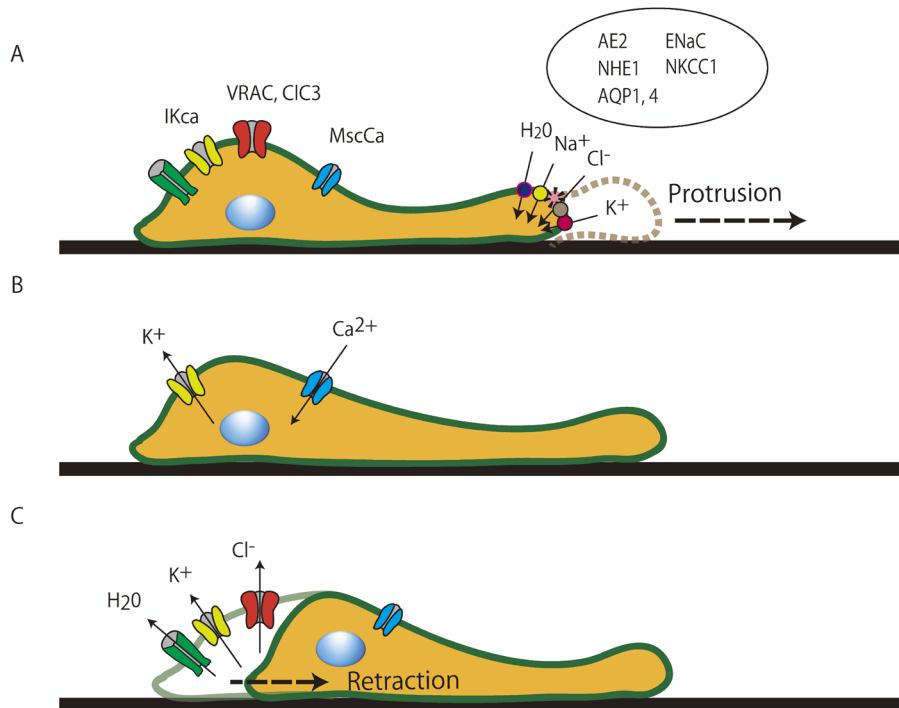


Fig. 5 Schematic of the mechanism underlying changes in the cell volume during cell migration

As shown in the schematic, cell migration is a continuous cycle of protrusion of the cell front followed by the retraction of the trailing end. This process can be represented as a cycle of isosmotic volume increases at the cell front and isosmotic volume decreases at the rear end. Extension of the lamellipodium results from salt and osmotically obliged water uptake mediated by the parallel operation of Na^+/H^+ and $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchange as well as $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransport at the front of migrating cells. Increases in volume and membrane tension eventually produce an increase in the intracellular Ca^{2+} concentration via activation of Ca^{2+} -permeable stretch-activated cation channels. The rise in intracellular Ca^{2+} concentration induces retraction of the rear portion of the migrating cell, which is paralleled by massive K^+ efflux and shrinkage of the cell pole. AE2, $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger isoform 2; AQP 1, 4, aquaporin 1, 4; CIC3, CIC3 chloride channel; ENaC, epithelial Na^+ channel; IKCa, intermediate conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel; MScCa, mechanosensitive cation channel; NHE1, Na^+/H^+ exchanger isoform 1; NKCC1, $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ cotransporter isoform 1; VRAC, volume-regulated anion channels.

ることの繰り返しであり、細胞前方の容積増加と後方の容積減少が必要である。細胞容積の増減は特にカリウムチャネルなどのイオンチャネルやトランスポーターによって制御されており、さらに細胞骨格・アクチンフィラメントなどとも協同的に形成されている。まず細胞内前方の $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchanger (AE2), Na^+/H^+ exchanger (NHE) などが活性化され、塩類移動と浸透圧変化に伴う水分の細胞内流入が細胞容積膨張を惹起させる。細胞容積が膨らむことで細胞膜が伸展し、機械受容（伸展活性化）チャネルが活性化され、細胞内にカルシウムが流入する^{28, 29)}。この細胞内カルシウム濃度の上昇が細胞後方に存在する IKCa を活性化し、カリウムが細胞外へ流出することに伴い、細胞後方が縮小することとなる (Fig. 5)²⁷⁾。この繰り返しによって遊走が成立し、この作用においても脱分化した平滑筋細胞に多く発現する IKCa が重要な

役割を果たしている。

平滑筋細胞のアポトーシスとカリウムチャネル

細胞増殖とアポトーシスは、正常組織を維持するための相反する制御である。アポトーシスでは、形態的、生化学的变化による細胞容積縮小が最初に認められる。これは、 K^+ , Cl^- , H_2O が細胞外へ流出することによって生じる。この後、核凝縮と DNA 断片化が起こる。カリウムチャネル活性化に伴うカリウムの細胞外流出は、細胞容積縮小に対して重要なだけでなく、カスパーゼ活性化や DNA 断片化にも大きな役割を担っているとされている。肺高血圧症における平滑筋細胞のアポトーシス抵抗性には、Kv1.5, mitochondrial K_{ATP} , mitochondrial BKCa の関与が示唆されている³⁰⁾。

カリウムチャネルを介した治療の可能性と展望

現在まで PAH の治療は、プロスタサイクリン製剤、エンドセリン受容体拮抗薬、ホスホジエステラーゼ-5 (PDE-5) 阻害薬などの肺動脈収縮と拡張に関するシグナル伝達経路に焦点が当てられている。これらの治療薬は確かに PAH の治療成績を飛躍的に向上させたが、限界もあり、肺動脈壁のリモデリング制御の研究が注目されつつある。肺動脈平滑筋細胞のカリウムチャネルは、治療標的の一つとして有力な候補と考えられる。たとえば、近年、遺伝性 PAH の新たな原因遺伝子として特定された KCNK3 の報告⁴⁾においては、KCNK3 の電気生理学的検討により同遺伝子のミスセンスバリエーションはすべて機能喪失をもたらすことが示された。この KCNK3 電流の減少はホスホリパーゼ阻害薬 (ONO-RS-082) の投与により改善されたと報告されている。本論文においては原因遺伝子特定以上に特異的な治療薬の同定の意義も非常に大きく、薬理学的操作で改善を認めていることは重要である。また、低酸素暴露による肺高血圧ラットに対して Survivin 阻害薬である YM155 を投与することによって Kv チャネルの発現増加と活性化が認められるとの報告がある³¹⁾。Kv channel の抑制は PAH 症例の原因疾患にかかわらず認められるものであり、応用されれば幅広い症例に効果が得られる可能性がある。さらに、遊走、増殖、形質転換の際に中心的な役割を担う IKCa の阻害薬である TRAM-34 は、血管リモデリング抑制に関するデータが認められており³²⁾、将来的な臨床応用が期待される。

上記に示したような薬理学的な手法だけではなく、PAH では発現が低下してしまっている KCNK3 や KCNA5 を肺動脈平滑筋細胞に遺伝子導入することなどは将来的な治療方法となる可能性がある。今後、カリウムチャネル制御の解明は PAH 治療において大きなインパクトとなると考えられる。

まとめ

本総説ではカリウムチャネルが様々な場面において肺高血圧症に関与していることを示した。肺血管収縮およびリモデリングへのカリウムチャネルの役割を解明することで肺動脈性肺高血圧症に対する新たな治療戦略が確立されるものと期待される。

引用文献

- 1) 早瀬康信：肺高血圧症：主に肺動脈性肺高血圧症について。小児内科 46 巻増刊号小児疾患診療のための病態生理 1 改訂 5 版。東京医学社, 2014, pp 347-352
- 2) Tudor RM, Abman SH, Braun T, et al: Development and pathology of pulmonary hypertension. J Am Coll Cardiol 2009; **30** Suppl: S3-S9
- 3) 早瀬康信, 阪田美穂, 小野朱美, ほか：光干渉断層像 (Optical Coherence Tomography) で肺血管病変を観察した特発性肺動脈性肺高血圧症。日小児循環器会誌 2014; **30**: 365-370
- 4) Ma L, Roman-Campos D, Austin ED, et al: A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension. N Engl J Med 2013; **369**: 351-361
- 5) Simonneau G, Gatzoulis MA, Adatia I, et al: Updated clinical classification of pulmonary hypertension. J Am Coll Cardiol 2013; **62** Suppl: D34-D41
- 6) Archer SL, Wu XC, Thébaud B, et al: Preferential expression and function of voltage-gated, O₂-sensitive K⁺ channels in resistance pulmonary arteries explains regional heterogeneity in hypoxic pulmonary vasoconstriction: Ionic diversity in smooth muscle cells. Circ Res 2004; **95**: 308-318
- 7) Wang J, Juhaszova M, Rubin LJ, et al: Hypoxia inhibits gene expression of voltage-gated K⁺ channel α -subunits in pulmonary artery smooth muscle cells. J Clin Invest 1997; **100**: 2347-2353
- 8) Macchia A, Marchioli R, Tognoni G, et al: Systematic review of trials using vasodilators in pulmonary arterial hypertension: Why a new approach is needed. Am Heart J 2010; **159**: 245-257
- 9) Galiè N, Palazzini M, Manes A: Pulmonary arterial hypertension: From the kingdom of the near-dead to multiple clinical trial meta-analyses. Eur Heart J 2010; **31**: 2080-2086
- 10) Fox BD, Shimony A, Langleben D: Meta-analysis of monotherapy versus combination therapy for pulmonary arterial hypertension. Am J Cardiol 2011; **108**: 1177-1182
- 11) 早瀬康信：一酸化窒素吸入療法と Phosphodiesterase-5 阻害薬による肺高血圧および心不全治療の可能性。日小児循環器会誌 2014; **30**: 36-38
- 12) Bonnet S, Archer SL: Potassium channel diversity in the pulmonary arteries and pulmonary veins: Implications for regulation of the pulmonary vasculature in health and during pulmonary hypertension. Pharmacol Ther 2007; **115**: 56-69
- 13) González C, Baez-Nieto D, Valencia I, et al: K(+) channels: Function-structural overview. Compr Physiol 2012; **2**: 2087-2149
- 14) Ward JP, McMurtry IF: Mechanisms of hypoxic pulmonary vasoconstriction and their roles in pulmonary hypertension: New findings for an old problem. Curr Opin Pharmacol 2009; **9**: 287-296
- 15) Stenmark KR, Fagan KA, Frid MG: Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: Cellular and molecular mechanisms. Circ Res 2006; **99**: 675-691
- 16) Kuhr FK, Smith KA, Song MY, et al: New mechanisms of pulmonary arterial hypertension: Role of Ca²⁺ signaling. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2012; **302**: H1546-H1562
- 17) Hayabuchi Y, Standen NB, Davies NW: Angiotensin II inhibits and alters kinetics of voltage-gated K(+) chan-

- nels of rat arterial smooth muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; **281**: H2480–H2489
- 18) Burg ED, Remillard CV, Yuan JX: Potassium channels in the regulation of pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and apoptosis: Pharmacotherapeutic implications. *Br J Pharmacol* 2008; **153** Suppl 1: S99–S111
 - 19) Hayabuchi Y, Willars GB, Standen NB, et al: Insulin-like growth factor-I inhibits rat arterial K(ATP) channels through pI 3-kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; **374**: 742–746
 - 20) Hayabuchi Y, Dart C, Standen NB: Evidence for involvement of A-kinase anchoring protein in activation of rat arterial K(ATP) channels by protein kinase A. *J Physiol* 2001; **536**: 421–427
 - 21) Sahara M, Sata M, Morita T, et al: Nicorandil attenuates monocrotaline-induced vascular endothelial damage and pulmonary arterial hypertension. *PLoS ONE* 2012; **7**: e33367
 - 22) Landsberg JW, Yuan JX: Calcium and TRP channels in pulmonary vascular smooth muscle cell proliferation. *News Physiol Sci* 2004; **19**: 44–50
 - 23) Hayabuchi Y, Nakaya Y, Yasui S, et al: Angiotensin II activates intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels in arterial smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol* 2006; **41**: 972–979
 - 24) Hayabuchi Y, Nakaya Y, Matsuoka S, et al: Endothelium-derived hyperpolarizing factor activates Ca^{2+} -activated K^{+} channels in porcine coronary artery smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; **32**: 642–649
 - 25) Beech DJ: Ion channel switching and activation in smooth-muscle cells of occlusive vascular diseases. *Biochem Soc Trans* 2007; **35**: 890–894
 - 26) Yu Y, Sweeney M, Zhang S, et al: PDGF stimulates pulmonary vascular smooth muscle cell proliferation by upregulating TRPC6 expression. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; **284**: C316–C330
 - 27) Schwab A, Fabian A, Hanley PJ, et al: Role of ion channels and transporters in cell migration. *Physiol Rev* 2012; **92**: 1865–1913
 - 28) Hayabuchi Y, Sakata M, Ohnishi T, et al: Mechanical stretch and Intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels in arterial smooth muscle cells, in Kamkin A, Lozinsky I (eds): *Mechanosensitivity in Cells and Tissues*, Vol. 6. Mechanically gated channels and their regulation, 2012
 - 29) Hayabuchi Y, Nakaya Y, Mawatari K, et al: Cell membrane stretch activates intermediate-conductance Ca^{2+} -activated K^{+} channels in arterial smooth muscle cells. *Heart Vessels* 2011; **26**: 91–100
 - 30) Remillard CV, Yuan JX: Activation of K^{+} channels: An essential pathway in programmed cell death. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; **286**: L49–L67
 - 31) Fan Z, Liu B, Zhang S, et al: YM155, a selective survivin inhibitor, reverses chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats via upregulating voltage-gated potassium channels. *Clin Exp Hypertens* 2015; **37**: 381–387
 - 32) Wulff H, Castle NA: Therapeutic potential of $\text{KCa}3.1$ blockers: Recent advances and promising trends. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2010; **3**: 385–396