

## Revisión

# Calcio, canales, señalización intracelular y autoinmunidad

Jorge-Hernán Izquierdo, Fabio Bonilla-Abadía, Carlos A. Cañas y Gabriel J. Tobón \*

Departamento de Medicina Interna, Unidad de Reumatología, Fundación Valle del Lili, Facultad de Medicina Universidad ICESI, Cali, Colombia

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 31 de marzo de 2013

Aceptado el 8 de mayo de 2013

On-line el 1 de septiembre de 2013

#### Palabras clave:

Calcio

Linfocito T

Linfocito B

Store-operated calcium entry

Calcium-release-activated calcium

Stromal interaction molecule

Orai1

Enfermedades autoinmunes

### R E S U M E N

El calcio (Ca<sup>2+</sup>) es un catión con capacidad multifuncional como segundo mensajero en diferentes grupos celulares del sistema inmunitario que incluyen los linfocitos T y B, los macrófagos, los mastocitos, entre otras. Los recientes descubrimientos en relación con la entrada de Ca<sup>2+</sup> dependiente de depósito (SOCE por su sigla en inglés, *store operated calcium entry*) han abierto nuevos caminos en la investigación de cómo este catión dirige el destino celular, en especial en los linfocitos T y B. La SOCE actúa a través de canales CRAC (del inglés *Ca<sup>2+</sup> release-activated Ca<sup>2+</sup> channels*) y su mecanismo de activación depende de la interacción de dos moléculas reguladoras: un sensor del Ca<sup>2+</sup> del retículo endoplásmico o molécula de interacción estromal (STIM-1, del inglés *stromal interaction molecule*) y una subunidad poro del canal CRAC (Orai1).

Esta revisión se centra principalmente en las funciones del Ca<sup>2+</sup> en los linfocitos B y T, así como las alteraciones de estas vías implicadas en el desarrollo de enfermedades autoinmunes.

© 2013 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Calcium, channels, intracellular signaling and autoimmunity

### A B S T R A C T

Calcium (Ca<sup>2+</sup>) is an important cation able to function as a second messenger in different cells of the immune system, particularly in B and T lymphocytes, macrophages and mastocytes, among others. Recent discoveries related to the entry of Ca<sup>2+</sup> through the store-operated calcium entry (SOCE) has opened a new investigation area about the cell destiny regulated by Ca<sup>2+</sup> especially in B and T lymphocytes. SOCE acts through calcium-release-activated calcium (CRAC) channels. The function of CRAC depends of two recently discovered regulators: the Ca<sup>2+</sup> sensor in the endoplasmic reticulum or stromal interaction molecule (STIM-1) and one subunit of CRAC channels called Orai1.

This review focuses on the role of Ca<sup>2+</sup> signals in B and T lymphocytes functions, the signalling pathways leading to Ca<sup>2+</sup> influx, and the relationship between Ca<sup>2+</sup> signals and autoimmune diseases.

© 2013 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

### Generalidades

El calcio (Ca<sup>2+</sup>) es un catión con capacidad multifuncional como segundo mensajero en diferentes grupos celulares del sistema inmunitario que incluyen linfocitos T y B, macrófagos, mastocitos, etc.<sup>1-3</sup>. Su distribución en los espacios intra y extracelular hace que para su utilización y movilización se requiera de bombas y canales especializados, y la influencia del estado de despolarización o repolarización celular. Además, la cantidad y la duración del flujo de Ca<sup>2+</sup> van a determinar el tipo y la duración de sus efectos en la señalización intracelular. Los recientes descubrimientos en relación

con la entrada de Ca<sup>2+</sup> dependiente de depósito (SOCE por su sigla en inglés, *store operated calcium entry*) han abierto nuevos caminos en la investigación de cómo este catión dirige el destino celular, en especial en los linfocitos T y B. Esta revisión se centra principalmente en las funciones del Ca<sup>2+</sup> en estos 2 últimos grupos celulares y su implicación en autoinmunidad.

### Calcio como elemento de señalización intracelular

Para el normal funcionamiento celular, en especial en el sistema inmunitario, se debe partir de un principio básico consistente en la presencia de los siguientes elementos:

- Una señal externa.
- Un receptor.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [gton1@yahoo.com](mailto:gton1@yahoo.com) (G.J. Tobón).

- Una señal interna, la cual depende a su vez de las modificaciones experimentadas por el receptor en contacto con la señal externa y de los cofactores que amplifican la señal recibida.
- Un factor de transcripción que se desplaza al núcleo.
- Transcripción del ácido ribonucleico (ARN) y traducción para generar la(s) proteína(s) inducida(s) por la señal externa.

Los estudios en biología molecular y las recientes descripciones de nuevas proteínas<sup>4</sup> han permitido avanzar en el entendimiento de cómo funcionan estos componentes de la señalización celular. Las señales externas están constituidas por diferentes proteínas o derivados peptídicos (citocinas, quimiocinas, péptidos asociados a patógenos, etc.), que son captados por un receptor ubicado en la membrana celular. En el caso del linfocito T y B, estos receptores requieren del concurso de otros elementos o co-receptores, que permiten una sinapsis adecuada con la señal extracelular y así poder activar la cascada de señalización intracelular. La señal interna (o segundo mensajero) es generada por múltiples mecanismos (generalmente fosforilación y desfosforilación), a través de diferentes vías, como la JAK-STAT, la vía de la MAP-cinasa, la vía de la proteína G, etc.<sup>5</sup>.

El Ca<sup>2+</sup> actúa como segundo mensajero y su importancia cada vez es más conocida gracias a los últimos hallazgos en relación con la SOCE y sus implicaciones en la durabilidad de las respuestas celulares al flujo de Ca<sup>2+</sup>. Las señales inducidas por Ca<sup>2+</sup> ya se conocían desde hace varias décadas, gracias a su importancia en la síntesis de ARN y en la división celular de los leucocitos y timocitos<sup>6,7</sup>. Actualmente, se conocen diversas funciones dependientes de la cantidad de Ca<sup>2+</sup> presente a nivel intracelular. Cuando los niveles de Ca<sup>2+</sup> aumentan durante un corto período, pueden reducir la movilidad del linfocito, favoreciendo así la sinapsis inmunológica. En el caso de otros grupos celulares, estos altos niveles de Ca<sup>2+</sup> de corta duración dan lugar a otros fenómenos como citotoxicidad mediada por linfocitos T, liberación de gránulos líticos y/o reconocimiento celular en procesos de apoptosis. En contraste, cuando los niveles de Ca<sup>2+</sup> aumentan en forma prolongada, pueden regular respuestas transcripcionales que van a marcar el destino celular de los linfocitos T y B (p. ej., producción de citocinas, diferenciación celular, funciones efectoras, estados de no respuesta, etc.)<sup>8</sup>. Estos niveles de Ca<sup>2+</sup> son regulados en los linfocitos en forma dinámica por diferentes canales, entre los cuales tenemos<sup>9</sup>:

- Canales receptores intracelulares, como el receptor del inositol-1,4,5-trifosfato (IP3) ubicado en el retículo sarcoplásmico.
- Canales de membrana plasmática, incluyendo canales de Ca<sup>2+</sup> activados por liberación de Ca<sup>2+</sup> (CRAC, del inglés *Ca<sup>2+</sup> release-activated Ca<sup>2+</sup> channels*).
- Canales de potasio activados por Ca<sup>2+</sup> dependientes de voltaje.
- Canales transportadores dependientes de energía.
- Canales de cationes no selectivos (en inglés *non-selective cation channels*).
- Las bombas *sarco-endoplasmic reticulum adenosine triphosphatase* (SERCA) y *plasma membrane Ca<sup>2+</sup> ATPase* (PMCA).

Además de estos canales, la misma concentración de Ca<sup>2+</sup> intracelular ayuda a regular la entrada del ión vía canales CRAC e IP3, al igual que el estado de repolarización de la membrana celular. Una vez se incrementen los niveles intracelulares de Ca<sup>2+</sup>, se activan otras cascadas de señalización que definen el destino celular de los linfocitos como se revisa más adelante.

### Calcio y señalización en linfocitos

Una vez el linfocito T o B es activado por su receptor y por el proceso de coestimulación, se produce el reclutamiento y una

activación de un grupo de proteínas tirosincinasas, unidas a otras proteínas adaptadoras que llevan a la fosforilación y activación de la fosfolipasa C- $\gamma$  (PLC $\gamma$ 1 en linfocitos T y PLC $\gamma$ 2 en linfocitos B). Esta enzima, a su vez, hidroliza el fosfatidilinositol-3,4-bisfosfato (PIP2) de la membrana celular a 2 segundos mensajeros:

- IP3.
- Diacilglicerol (DAG).

El IP3 se desplaza entonces y se une a su receptor ubicado en la membrana del retículo endoplásmico (RE), causando la salida del Ca<sup>2+</sup> almacenado en su interior y la activación de otras señales intracelulares (figs. 1 y 2). Sin embargo, el agotamiento rápido del Ca<sup>2+</sup> en el RE llevaría a una respuesta a este ión de corta duración. Para facilitar la prolongación de las respuestas celulares, se debe activar otra vía de entrada del Ca<sup>2+</sup>, denominada SOCE, la cual fue recientemente descubierta por búsquedas a gran escala de ARN de interferencia. La SOCE actúa a través de canales CRAC y su mecanismo de activación depende de la interacción de 2 moléculas reguladoras<sup>10</sup>:

- Un sensor del Ca<sup>2+</sup> en el RE o molécula de interacción estromal (STIM-1, del inglés *stromal interaction molecule*).
- Una subunidad poro del canal CRAC (Orai1).

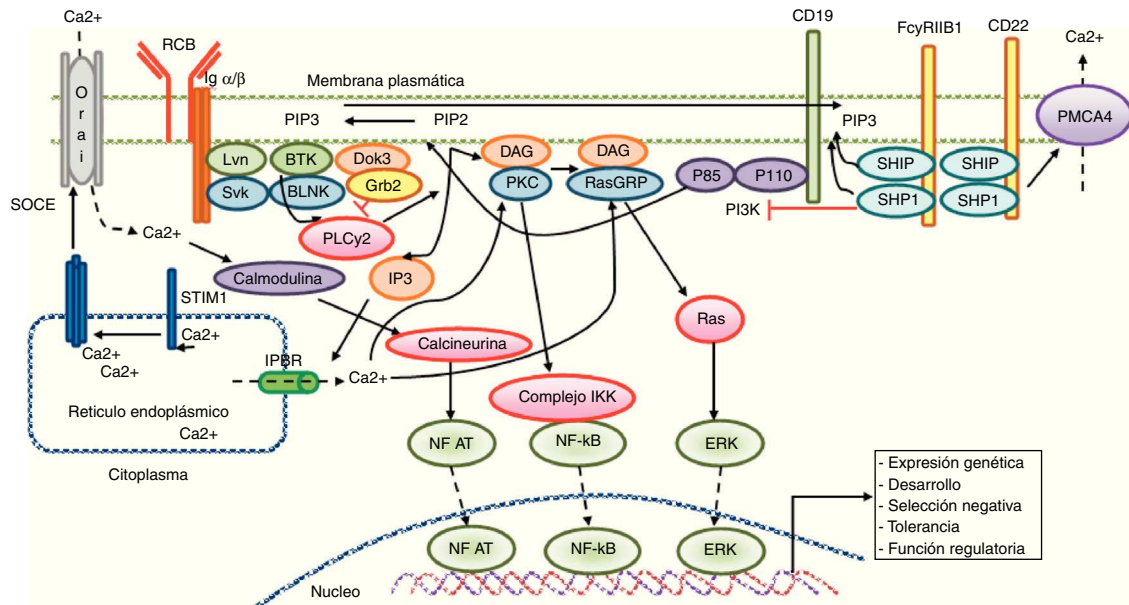
El funcionamiento de este mecanismo se ha descrito así: una vez el sensor de Ca<sup>2+</sup> STIM detecta la disminución de la concentración del Ca<sup>2+</sup> al interior en el RE, experimenta un cambio conformacional (por oligomerización y agregación) en forma de «punta», en yuxtaposición al canal CRAC ubicado transmembrana. Esta conformación hace que entre en contacto con la subunidad poro Orai1 del canal, permitiendo la apertura del canal y la entrada del Ca<sup>2+</sup>. Esto aumenta los niveles intracelulares del ión y permiten perpetuar las respuestas generadas por la activación de los linfocitos y sus respectivos receptores. Se han descrito otros mecanismos de regulación de la actividad de los canales CRAC, que incluyen la actividad de otros canales permeables de Ca<sup>2+</sup> como los miembros de la familia TRPC, pero este mecanismo no está totalmente claro. También se han postulado otros mecanismos reguladores de la unión STIM-Orai1, donde el citoesqueleto y la carga negativa de los fosfolípidos de membrana pueden influir<sup>11</sup>.

### Activación de vías de señalización posterior al influjo de calcio

Una vez se logra incrementar el nivel del Ca<sup>2+</sup> intracitoplasmático, se activan otras vías de señalización y factores de transcripción que finalmente se unen al ADN y dan lugar a la producción de todas las proteínas, citocinas, etc., relacionadas con la cascada inflamatoria. Dentro de estas vías tenemos<sup>12-14</sup>:

- La vía de la calmodulina —calcineurina, con activación final del factor nuclear de células T activadas (NFAT, del inglés *nuclear factor of activated T cells*).
- La vía de la cinasa dependiente de Ca<sup>2+</sup> —calmodulina (CaMK), que tiene como factores de transcripción la proteína unida al elemento de respuesta al monofosfato de adenosina cíclico (CREB, del inglés *cyclic-adenosine monophosphate-responsive element binding protein*) y el factor aumentador del miocito 2 (en inglés, *myocyte enhancer factor 2*).
- La vía del factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)

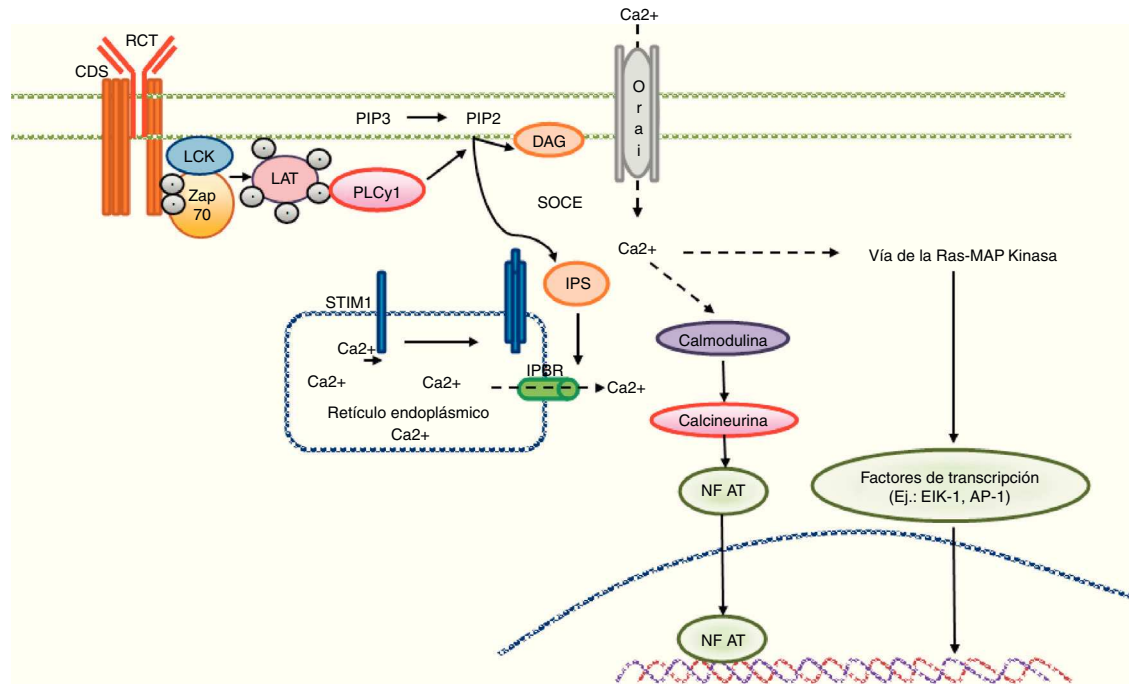
Al momento de la hidrólisis del PIP2, también se obtiene DAG, el cual a su vez puede activar 2 vías adicionales de señalización:



**Figura 1.** Señalización cálcica en el linfocito B. El reconocimiento antigénico por el receptor de linfocito B activa diferentes proteínas cinasas, como Lyn, Syk y BLNK, llevando a la activación de la PLC $\gamma$ 2, la cual hidroliza el PIP2 unido a la membrana en pequeñas cantidades de DAG e IP3. El IP3 se une a su receptor IP3R, ubicado en la membrana del retículo endoplásmico, favoreciendo la liberación del calcio almacenado. Posteriormente, la disminución del calcio a nivel luminal en el retículo endoplásmico genera la translocación de STIM1, la cual lleva a la apertura del canal cálcico Orai1 para inducir la entrada de calcio dependiente de depósito (SOCE). El receptor CD19 facilita la activación de la subunidad p110 de la PI3K. Esta enzima fosforila el PIP2 para producir PIP3. El receptor Fc para IgG de baja afinidad (Fc $\gamma$ RIIB1) y el CD22 son ambos reguladores negativos de la señalización cálcica durante la estimulación del receptor de Linfocito B. La función negativa de estos receptores está mediada por SHIP y SHP1. Adicionalmente, el CD22 inhibe la señalización cálcica por medio de un eflujo cálcico mediado por la proteína PMCA4. La entrada de calcio genera activación de factores de transcripción responsables de la inducción de nuevas proteínas encargadas de las funciones de proliferación, diferenciación y respuesta inmunitaria.

- La vía de la proteína cinasa (PKC, del inglés *protein kinase C*) activada por mitógeno Ras (en inglés, *Ras-mitogen-activated protein kinase*).
- La vía de la PKC, *protein kinase C*.

Estas vías finalmente activan factores de transcripción, como el AP-2 (complejo transcripcional formado por c-Fos y c-Jun) y el NF- $\kappa$ B. Los diferentes elementos y vías relacionadas con el flujo de Ca $^{2+}$  se resumen en la [tabla 1](#).



**Figura 2.** Señalización cálcica en el linfocito T. El reconocimiento antigénico por parte del receptor de linfocito T genera la activación de tirosincinasas en el interior del linfocito T tales como LCK y ZAP70, lo cual resulta en la fosforilación y la activación de la proteína PLC $\gamma$ 1. Esta última hidroliza el PIP2 en IP3 y DAG. El IP3 abre los receptores IP3R ubicados en el retículo endoplásmico y permite la salida de calcio desde los depósitos del retículo. Los sensores cálcicos STIM1 y STIM2 detectan la reducción de los depósitos cálcicos por medio de la región N-terminal de la luz del retículo. Las proteínas STIM se agregan en pequeños grupos en la membrana del retículo endoplásmico y generan la entrada de calcio extracelular por medio del canal CRAC, el Orai1. La concentración de calcio intracelular activa la vía de la calcineurina-NFAT, así como la vía Ras-MAP cinasa.

**Tabla 1**  
Calcio y función celular en linfocitos B y T

Molécula	Señal de calcio	Biología celular
BTK	Induce salida de Ca <sup>2+</sup> del RE	Desarrollo temprano de linfocito B, respuesta inmunitaria, inmunodeficiencia por pérdida de función
BLNK (SLP-65)	Induce salida de Ca <sup>2+</sup> del RE	Desarrollo temprano de linfocito B, respuesta inmunitaria, inmunodeficiencia por pérdida de función
PLCγ2	Induce salida de Ca <sup>2+</sup> del RE	Desarrollo temprano de linfocito B, respuesta inmunitaria, autoinmunidad por ganancia de función
PLCγ1	Induce salida de Ca <sup>2+</sup> del RE	Desarrollo de linfocito T, respuesta inmunitaria, inmunodeficiencia por pérdida de función
CD19	Aumenta salida de Ca <sup>2+</sup> del RE	Desarrollo de linfocito B, respuesta inmunitaria, inmunodeficiencia por pérdida de función
SHP1	Inhibe incremento de Ca <sup>2+</sup>	Autoinmunidad por pérdida de función
SHIP	Inhibe incremento de Ca <sup>2+</sup>	Desarrollo de linfocito B
CD22	Inhibe incremento de Ca <sup>2+</sup>	Autoinmunidad por pérdida de función
FcγRIIB	Inhibe incremento de Ca <sup>2+</sup>	Autoinmunidad por pérdida de función
Itpkb	Inhibe SOCE	Desarrollo de linfocito T, respuesta inmunitaria
Grb2	Inhibe (IgM linfocitos B) o aumenta (Ig G linfocitos B) salida de Ca <sup>2+</sup>	Desarrollo de linfocito B, respuesta inmunitaria, producción de autoanticuerpos por pérdida de función
STIM-1/2	Incrementa SOCE	Supresión de inflamación autoinmune
Zap70	Induce salida de Ca <sup>2+</sup> del RE	Activación linfocito T, expresión genética
LCK	Induce salida de Ca <sup>2+</sup> del RE	Activación linfocito T, expresión genética

## Calcio y autoinmunidad

La señalización del Ca<sup>2+</sup> a nivel intracelular se ha visto implicada en la patogénesis de enfermedades autoinmunes e inmunodeficiencias congénitas. Enfermedades como el lupus eritematoso sistémico (LES), la artritis reumatoide (AR), la esclerosis múltiple (EM) y la diabetes mellitus tipo 1 están relacionadas en su fisiopatología con la presencia de células T y B autorreactivas, que contribuyen en forma indiscutible en la generación del proceso inflamatorio. En el LES, las células T autorreactivas reemplazan el CD3-ζ por la cadena común FcR-γ, dando lugar a una señalización intracelular vía Syk (tirosinasa esplénica) y no vía ZAP-70, como es lo usual. Esto, asociado a la agrupación de balsas lipídicas en la membrana citoplasmática de la célula T, incrementa el Ca<sup>2+</sup> intracelular como respuesta a la activación del receptor de célula T (RCT) por un autoantígeno. Se activa la vía de la PKC iv dependiente de calmodulina (CaMK4), que se une al CREB y aumenta la producción de interleucina 17 (IL-17) en detrimento de la producción de la IL-2<sup>15</sup>. Este fenómeno también se ha descrito en enfermedades como la AR y la EM. Sin embargo, en estas afecciones la hipótesis planteada es que la autorreactividad de las células T obedece a mutaciones de la cinasa ZAP-70, las cuales reducen marcadamente la señalización dependiente del RCT, incluyendo las señales de Ca<sup>2+</sup>, permitiendo que los RCT autorreactivos «escapen» del proceso de selección negativa en el timo pero se conviertan en artritogénicos en los tejidos periféricos. Se plantea entonces que la señalización del Ca<sup>2+</sup> participa en el proceso de selección tímica de las células T<sup>16</sup>. En las células B, la ausencia o la falta de respuesta a SHP1, CD22 o FcγRIIB1 genera respuestas aumentadas al influjo de Ca<sup>2+</sup> y, como consecuencia,

hiperreactividad de los linfocitos B y autoinmunidad. En el LES, los defectos del FcγRIIB1 están relacionados con mayor respuesta al Ca<sup>2+</sup> en linfocitos B<sup>17</sup>. Aunque estas enfermedades como el LES se caracterizan por un componente sistémico, las alteraciones de la señalización cálcica han sido descritas en los linfocitos T y B, y aún no se han relacionado con susceptibilidad a presentar manifestaciones específicas de la enfermedad (p. ej., mayor riesgo de nefritis). Sin embargo, derivado del modelo murino *Orai1<sup>K1/K1</sup>* (expuesto posteriormente), la falta de señalización cálcica en las células del sistema inmunitario protegen del desarrollo de colitis en el modelo de transferencia de enfermedad inflamatoria intestinal.

Como se ha mencionado previamente, en los linfocitos T, la entrada de Ca<sup>2+</sup> luego de la estimulación antigénica es fundamental para la activación del factor de transcripción NFAT. Se ha demostrado que un grupo de pacientes presentan mutaciones, bien sea de STIM 1 u *Orai1*, que afectan a la función proteica o la expresión, derivando en un defecto del influjo de Ca<sup>2+</sup> almacenado y la función del canal CRAC, resultando en disminución de la activación del linfocito T. Estos mecanismos llevan a la presentación de una forma hereditaria de inmunodeficiencia combinada severa, demostrando la importancia de estos canales en la función normal de los linfocitos T en humanos. Igualmente, el defecto en la señalización cálcica puede conllevar a linfocitos T autorreactivos a un estado de activación que puede derivar en la aparición de enfermedades autoinmunes. Teniendo en cuenta el papel de la activación cálcica en fenómenos de autoinmunidad, Lin et al. han publicado recientemente la creación de anticuerpos monoclonales humanizados de alta afinidad dirigidos contra *Orai1* humana. Estos anticuerpos mostraron disminución de la entrada de Ca<sup>2+</sup>, la transcripción de NFAT y liberación de citocinas, pudiendo representar un nuevo blanco terapéutico en el tratamiento de enfermedades autoinmunes<sup>18</sup>. Esta aproximación es de reciente descripción y los efectos sobre los diferentes tejidos que involucran señalización cálcica, diferentes del sistema inmunitario, deben ser bien estudiados.

En un modelo animal desarrollado por McCarl et al., el papel de *Orai1* en la autoinmunidad fue descrito. En este estudio, los linfocitos T y B derivados del modelo murino *Orai1<sup>K1/K1</sup>* expresan una proteína *Orai1* mutada y no funcional. Estas células mostraron una severa disminución de la entrada de Ca<sup>2+</sup> y la función del canal CRAC, resultando en la disminución de la expresión de varias citocinas, incluyendo la IL-1, IL-4, IL-17, interferón gamma y el factor de necrosis tumoral alfa en los linfocitos T CD4 y CD8. Este modelo mostró mayor tolerancia a injertos de piel comparada con el animal sin la mutación y fallaron en desarrollar fenómenos autoinmunes tipo colitis. Estos hallazgos confirman la importancia de estos canales y el influjo de Ca<sup>2+</sup> en la activación de las células del sistema inmunitario adaptativo<sup>19</sup>.

El Ca<sup>2+</sup> también se encuentra relacionado con el desarrollo de inmunodeficiencias congénitas. En la inmunodeficiencia común severa, por ejemplo, existe una mutación en el linfocito T, más específicamente en el dominio transmembrana de *Orai1* en el CRAC, que no permite la entrada de Ca<sup>2+</sup> vía SOCE, dando lugar a linfocitos T con poca capacidad de proliferación y producción de citocinas. Este defecto en el SOCE también puede afectar a células B y fibroblastos en esta enfermedad<sup>20</sup>. En la agammaglobulinemia ligada a X hay un déficit hereditario en las células B, que se caracteriza por mutaciones de la tirosinasa de Bruton, enzima encargada de la activación de PLCγ2, teniendo como consecuencia la disminución de la entrada de Ca<sup>2+</sup> vía SOCE, por baja generación de IP3<sup>21</sup>. Finalmente, la inmunodeficiencia común variable presenta también alteraciones en el funcionamiento de los linfocitos B, especialmente por mutaciones a nivel de CD19, lo cual disminuye el influjo de Ca<sup>2+</sup> al interior de esta célula, comprometiendo la respuesta frente a antígenos y reduciendo la generación de células B de memoria CD27 positivas<sup>22</sup>.

## Conclusiones

La señalización del Ca<sup>2+</sup> a nivel intracelular es un componente más de las cascadas de señales que se generan en las diferentes células luego de la exposición de sus receptores a un estímulo específico. En el caso de los linfocitos T y B, estas señales dan lugar a múltiples cambios intracelulares y en la expresión de ADN, con la consecuente producción de diferentes marcadores inflamatorios. Las diferentes investigaciones en este campo también han permitido establecer la importancia de las vías de Ca<sup>2+</sup> en el desarrollo de enfermedades autoinmunes, tanto por sobreproducción como por inactividad. En la medida en que se avance en el estudio de todos estos conceptos, se podría considerar la intervención sobre estas vías y receptores con fines terapéuticos.

## Responsabilidades éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

**Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

**Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Oh-hora M, Rao A. Calcium signaling in lymphocytes. *Curr Opin Immunol.* 2008;20:250–8.
- Putney Jr JW. A model for receptor-regulated calcium entry. *Cell Calcium.* 1986;7:1–12.
- Parekh AB, Putney Jr JW. Store-operated calcium channels. *Physiol Rev.* 2005;85:757–810.
- ENCODE, Project consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature.* 2012;489:57–74.
- Feske S, Skolnik EY, Prakriya M. Ion channels and transporters in lymphocyte function and immunity. *Nat Rev Immunol.* 2012;12:532–47.
- Asherson GL, Davey MJ, Goodford PJ. Increased uptake of calcium by human lymphocytes treated with phytohaemagglutinin. *J Physiol.* 1970;206:32P–3P.
- Whitfield JF, Perris AD, Youdale T. The role of calcium in the mitotic stimulation of rat thymocytes by detergents, agmatine and poly-L-lysine. *Exp Cell Res.* 1968;53:155–65.
- Feske S. Calcium signalling in lymphocyte activation and disease. *Nature.* 2007;7:690–702.
- King LB, Freedman BD. B-lymphocyte calcium influx. *Immunol Rev.* 2009;231:265–77.
- Berna-Erro A, Woodard GE, Rosado JA. Orais and STIMs: Physiological mechanisms and disease. *J Cell Mol Med.* 2012;16:407–24.
- Luik RM, Wu MM, Buchanan J, Lewis RS. The elementary unit of store-operated Ca<sup>2+</sup> entry: Local activation of CRAC channels by STIM1 at ER-plasma membrane junctions. *J Cell Biol.* 2006;174:815–25.
- Shulze-Luehrmann J, Ghosh S. Antigen-receptor signaling to nuclear factor kappa B. *Immunity.* 2006;25:701–15.
- Macian F. NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function. *Nat Rev Immunol.* 2005;5:472–84.
- Cullen PJ, Lockyer PJ. Integration of calcium and Ras signaling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2002;3:339–48.
- Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2011;365:2110–21.
- Sakaguchi N, Takahashi T, Hata H, Nomura T, Tagami T, Yamazaki S, et al. Altered thymic T-cell selection due to a mutation of the ZAP-70 gene causes autoimmune arthritis in mice. *Nature.* 2003;426:454–60.
- Nitschke L. The role of CD22 and other inhibitory co-receptors in B-cell activation. *Curr Opin Immunol.* 2005;17:290–7.
- Lin FF, Elliott R, Colombero A, Gaida K, Kelley L, Moksa A, et al. Generation and characterization of fully human monoclonal antibodies against human orai1 for autoimmune disease. *J Pharmacol Exp Ther.* 2013;345:225–38.
- McCarl CA, Khalil S, Ma J, Oh-hora M, Yamashita M, Roether J, et al. Store-operated Ca<sup>2+</sup> entry through ORAI1 is critical for T cell-mediated autoimmunity and allograft rejection. *J Immunol.* 2010;185:5845–58.
- Feske S, Gwack Y, Prakriya M, Srikanth S, Puppel SH, Tanasa B, et al. A mutation in Orai1 causes immune deficiency by abrogating CRAC channel function. *Nature.* 2006;441:179–85.
- Rawlings DJ. Bruton's tyrosine kinase controls a sustained calcium signal essential for B lineage development and function. *Clin Immunol.* 1999;91:243–53.
- Van Zelm MC, Reisli I, van der Burg M, Castaño D, van Noesel CJ, van Tol MJ, et al. An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. *N Engl J Med.* 2006;354:1901–12.