

機関番号：37116

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790953

研究課題名（和文）全身性エリテマトーデスにおける Jak3 を標的とした治療戦略の確立

研究課題名（英文）Therapeutic strategy targeting Jak3 for systemic lupus erythematosus

研究代表者

平田 信太郎 (HIRATA SHINTARO)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：90525461

研究成果の概要（和文）：全身性エリテマトーデス(SLE)に対する Jak 阻害療法の可能性を検討するため、Jak3 阻害薬 CP690, 660 のリンパ球に対する作用を検討した。その結果、CP690, 550 は抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体 (CD3+28) 刺激による CD4 陽性 T 細胞の増殖を濃度依存性に抑制した。また、CD3 + CD28 刺激により誘導される IFN- $\gamma$  と IL-17 を濃度依存性に抑制した。一方、BCR + sCD40L 刺激した B 細胞では、CP690, 550 は増殖能に影響を与えなかった。IFN- $\gamma$  mRNA と IL-17mRNA は、CP690, 550 により何れも発現が抑制され、CP690, 550 によるアポトーシスの誘導はみられなかった。以上から CP690, 550 の主たる標的細胞は CD4+T 細胞と考えられ、CP690, 550 によるサイトカイン産生抑制の一機序として転写抑制の機序が考えられた。SLE 患者で IFN- $\gamma$ 、IL-17 の産生亢進が報告され、Jak3 阻害療法は、これらのサイトカインの産生を抑制することにより SLE に対する治療法となりうる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：To investigate the effectiveness of Jak inhibition on systemic lupus erythematosus (SLE), CP690, 550, a Jak3 specific inhibitor was utilized. CP690, 550 strongly suppressed CD4+ T cell proliferation and production of IFN- $\gamma$  and IL-17, induced by CD3 and CD28 stimuli, in a dose dependent manner. However, CP690, 550 did not affect B cell proliferation, induced by BCR and sCD40L stimuli. Moreover, CP690, 550 also suppressed mRNA expression of IFN- $\gamma$  and IL-17 in a dose dependent manner, but did not induced CD4+ T cell apoptosis. Because previous reports have pointed out the enhanced production of IFN- $\gamma$  and IL-17 in SLE patient, our results indicate the possible effectiveness of Jak3 inhibition on SLE.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・膠原病・アレルギー内科学

キーワード：膠原病学

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 全身性エリテマトーデス (SLE) は、自己抗体により特徴づけられ、B 細胞が大きく関与している事を示している。

(2) われわれは難治性 SLE に対して B 細胞を標的とした抗体療法の有効性を示してきた。一方、follicular helper T cell (Tfh cell) は IL-21 を介して B 細胞の活性化ならびに high affinity antibody の産生に関ることが報告されている。

(3) IL-21 受容体には common  $\gamma$  chain と呼ばれるサブユニットを有し、細胞内ドメインに Jak3 が存在し Jak-STAT 系細胞内シグナルに作用する。したがって、この経路の阻害療法が SLE の治療法として期待される。

(4) 抗 IL-21 抗体が MRL/lpr マウスの疾患制御に有用であったと報告され、IL-21 阻害療法が SLE に対して有効である可能性が示唆された。

(5) 抗体療法は高価であり、低分子化合物による治療法の確立が望まれているが、Jak3 阻害薬 CP690, 550 の関節リウマチに対する臨床試験において高い有効性と安全性が報告されている。

(6) よって Jak3 阻害療法の SLE に対する有用性および安全性は未だ明らかでないが、上記の理由から IL-21 シグナルの阻害を介し有用性が強く期待されるのみならず、高い安全性を有することが見込まれる。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究では、Jak に注目し、全身性エリテマトーデスの病態形成、とくに自己反応性 B リンパ球の分化増殖および自己抗体形成における common  $\gamma$  cytokine (IL-2, 4, 7, 9, 15, 21) のなかで、とくに IL-21 とそのレセプター、さらにその下流の Jak-STAT 系に至るシグナル伝達に注目してその意義を解明し、さらに全身性エリテマトーデスに対する Jak3 阻害療法の妥当性を探索・検証することを目的とする。

(2) また全身性エリテマトーデスにおける Jak3 を標的とした治療戦略確立の可能性を探索する。特に低分子化合物による治療法の可能性を中心に検討する。

## 3. 研究の方法

(1) ヒト末梢血 CD4 陽性 T リンパ球を磁気ビーズ法にて分離し、Jak3 阻害薬 CP690, 550 存在下での細胞増殖への影響を [3H]thymidine 取込で、サイトカイン分泌への影響を、ELISA 法、Cytometric Beads Array 法、細胞表面抗原を Flow Cytometry にて評価した。

(2) T 細胞に対する刺激として抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体 (CD3 + CD28) を用いた。

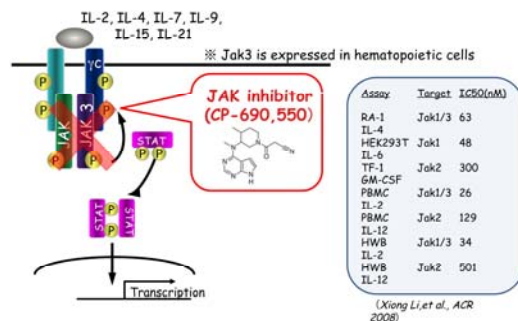
(3) 抗 BCR 抗体と抗 sCD40L 抗体 (BCR+sCD40L) を用いて B 細胞刺激を行った。

(4) IFN $\gamma$  mRNA と IL-17 mRNA を Taqman PCR にて検討した。

(5) アポトーシス: annexinV と propidium iodide を用い Flow cytometry にて検討した。

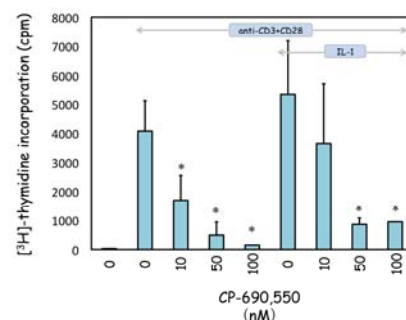
## 4. 研究成果

### Janus kinase (Jak) 3



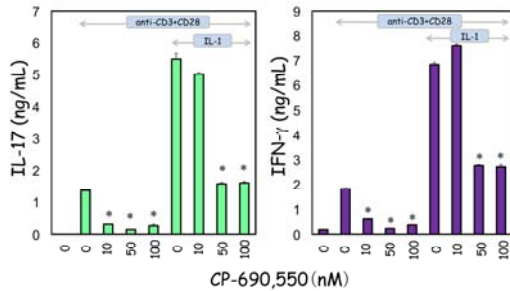
(1) 抗 CD3 抗体と抗 CD28 抗体 (CD3+28) 刺激により細胞増殖は誘導され、CP690, 550 により濃度依存性に強く抑制された。

### CP-690,550 inhibited cell proliferation of CD4<sup>+</sup> T cells derived from healthy volunteer



(2) CD3 + CD28 刺激により IFN- $\gamma$  と IL-17 分泌が誘導され、CP690,550 は濃度依存性にこれらの分泌抑制効果を示した。

**CP-690,550 inhibited IL-17 and IFN- $\gamma$  production of CD4<sup>+</sup> T cells derived from healthy volunteer**



(3) 一方、BCR + sCD40L 刺激した B 細胞では、CP690,550 は増殖能に影響を与えなかった。

(4) IFN- $\gamma$  と IL-17 について mRNA 発現を Taqman PCR にて検討し、CP690,550 により何れも発現が抑制された。

(5) CP690,550 によるアポトーシスの誘導はみられなかった。

以上から CP690,550 の主たる標的細胞は CD4<sup>+</sup>T 細胞と考えられた。CP690,550 によるサイトカイン産生抑制の一機序として転写抑制の機序が考えられた。また、SLE 患者では IFN- $\gamma$ 、IL-17 の産生亢進が報告され、これらのサイトカインが病態形成に関与する可能性が示唆されており、CP690,550 は SLE に対する治療法となりうる可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 8 件)

① 平田信太郎, 齋藤和義, 名和田雅夫, 辻村静代, 中野和久, 山岡邦宏, 田中良哉: サイトカインを標的とした病態制御の可能性 関節リウマチにおける完全ヒト抗 TNF  $\alpha$  抗体 Adalimumab の疾患活動性制御に関する背景因子の検討 第 31 回日本炎症・再生医学会, 東京, 2010. 8. 5

② 平田信太郎, 齋藤和義, 久保智史, 辻村静代, 中野和久, 山岡邦宏, 田中良哉: 膠原病合併 IP に対する Tacrolimus の有用性 - Global composite measure による評価の試み - 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 神戸, 2010. 4. 24

③ 平田信太郎, 齋藤和義, 辻村静代, 中野和久, 山岡邦宏, 田中良哉: Adalimumab (ADA) にて 24 週後に低疾患活動性 (LDA) を達成する症例の背景因子の検討 第 54 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 神戸, 2010. 4. 24

④ Hirata S, Saito K, Tsujimura S, Nakano K, Yamaoka K, Tanaka: Analysis of clinical factors for achieving to EULAR low disease activity at 24 weeks with adalimumab in patients with RA. International Workshop, The 54th Annual General Assembly and Scientific Meeting of The Japan College of Rheumatology, Kobe, 2010. 4. 22

⑤ 平田信太郎, 齋藤和義, 久保智史, 辻村静代, 中野和久, 山岡邦宏, 田中良哉: 膠原病合併間質性肺炎に対する composite measure を用いたタクロリムスの有用性の検討 第 39 回九州リウマチ学会, 福岡, 2010. 3. 6

⑥ 平田信太郎, 齋藤和義, 久保智史, 宮川一平, 福與俊介, 花見健太郎, 湯川宗之助, 岩田慈, 名和田雅夫, 辻村静代, 中野和久, 山岡邦宏, 田中良哉: 当科におけるアダリムマブ 24 週投与の解析 アダリムマブの効果予測の可能性 第 38 回九州リウマチ学会, 久留米, 2009. 9. 5

⑦ 平田信太郎, 齋藤和義, 花見健太郎, 岩田慈, 名和田雅夫, 澤向範文, 中野和久, 山岡邦宏, 田中良哉: 関節リウマチに対する adalimumab (ADA) の早期有効性に関する因子の検討 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 東京, 2009. 4. 24

⑧ 平田信太郎, 中野和久, 齋藤和義, 久保智史, 鈴木克典, 名和田雅夫, 澤向範文, 山岡邦宏, 田中良哉: 膠原病に伴う間質性肺炎に対するタクロリムスの有用性の検討 第 53 回日本リウマチ学会総会・学術集会, 東京, 2009. 4. 23

〔図書〕（計1件）

1 田中良哉、迎寛、齋藤和義、平田信太郎：  
実践リウマチ肺障害の診断 -実際の症例に  
基づく胸部X線読影診断のポイント- 永井書  
店. 127頁, 2011

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

平田 信太郎 (HIRATA SHINTARO)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：90525461