

# シェーグレン症候群新規治療薬としての JAK 阻害薬の可能性

青田桂子、可児耕一

## JAK inhibitors as a potential therapeutic agents for Sjögren's syndrome

Keiko Aota, Koichi Kani

徳島大学大学院医歯薬学研究部 口腔内科学分野  
(主任：青田桂子)

Department of Oral Medicine,  
Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences  
(Chief: Keiko Aota)

### Abstract

Sjögren's syndrome (SS) is a chronic autoimmune disease involving the salivary and lacrimal glands. Expression of interferon (IFN)-related molecules and C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10) is upregulated in labial salivary glands (LSGs) of patients with primary SS (pSS). CXCL10 plays a role in SS pathogenesis via immune-cell accumulation. In various inflammatory diseases, including pSS, the Janus kinase/signal transducer and activator of transcription (JAK/STAT) pathway is activated; moreover, in pSS, the JAK/STAT pathway is associated with CXCL10 production in the LSG tissues. Here, we evaluated potential JAK inhibitor, Baricitinib, as therapeutic agents for pSS by analyzing LSGs of patients with pSS and immortalized normal human salivary gland cell lines, namely NS-SV-DC, and NS-SV-AC. Immunohistochemical analysis revealed strong expression of phosphorylated JAK1 and JAK2 in the ductal epithelial cells of LSGs of patients with pSS. Additionally, phosphorylated JAK2 was observed in several immune cells infiltrating around the ductal epithelium. Baricitinib, a selective JAK1/2 inhibitor, significantly inhibited IFN- $\gamma$ -induced CXCL10 expression as well as CXCL10 protein levels in an immortalized normal human salivary gland ductal cell (NS-SV-DC) line. Additionally, western blotting showed that baricitinib suppressed the IFN- $\gamma$ -induced phosphorylation of STAT1 and STAT3. In this review, based on these

aforementioned findings, we discussed the potential of JAK inhibitors as new therapeutic agents for pSS. JAK inhibitors may be useful in the treatment of patients with pSS.

**Key words:** JAK inhibitor (JAK 阻害薬), Sjögren's syndrome (シェーグレン症候群), JAK/STAT pathway (JAK/STAT 経路), C-X-C motif chemokine 10 (CXCL10), interferon-gamma (IFN- $\gamma$ )

## 緒言

シェーグレン症候群 (Sjögren's syndrome: SS) は、涙腺や唾液腺などの外分泌腺が特異的に障害を受ける自己免疫疾患である。SS は遺伝因子や加齢、性ホルモン、感染症などを背景に標的臓器とさまざまな免疫細胞、そしてこれらが産生するサイトカイン、ケモカインとの複雑なクロストークにより病態が形成されると考えられている。病理組織学的には、涙腺や唾液腺において導管周囲の著明なリンパ球浸潤、腺房の萎縮や消失、小葉内および小葉間間質の線維化、脂肪変性など多彩な組織像を呈する。浸潤リンパ球は、病期の初期は CD4 陽性 T 細胞が優位で、病期の進展に伴い CD8 陽性 T 細胞や B 細胞が優位となり、さらに形質細胞やマクロファージ、樹状細胞などさまざまな免疫細胞が集簇するようになる。SS の治療は現時点では対症療法のみで、有効な治療法は確立されていない。生物学的製剤 (分子標的薬) は、関節リウマチ (Rheumatoid arthritis: RA) において炎症の鎮静化と関節破壊の抑制をもたらし、治療のパラダイムシフトを起こしたが、SS では腺外症状の一部改善を認めても腺症状 (乾燥症状) の有意な改善効果は得られなかった<sup>1-5)</sup>。

近年の SS 患者唾液腺の網羅的遺伝子解析では、インターフェロン (Interferon: IFN) 関連分子の過剰発現と CXCL10 ケモカインである CXCL10 (別名: IFN- $\gamma$ -induced protein 10, IP-10) の過剰発現が明らかとなっている<sup>6)</sup>。CXCL10 は 2002 年に SS 唾液腺の導管で産生され、T 細胞遊走に関与すると報告<sup>7)</sup>されていたが、詳細な分子メカニズムについては解明されていなかった。筆者らは、SS 患者口唇腺ならびに不死化正常ヒト唾液腺細胞株<sup>8)</sup>を用いた解析を行い、IFN- $\gamma$  の刺激を受けた唾液腺導管細胞が Janus kinase (JAK)/signal transducers and activator of transcription (STAT) シグナル経路を介して CXCL10 を著明に分泌し、CXCR3<sup>+</sup>免疫細胞をリクルートさせることを報告した<sup>9,10)</sup>。これらの結果から、CXCL10 産生における重要な細胞内シグナル分子 JAK が SS 唾液腺炎症病変の治療の標的になるのではないかと考えた。本総説では、SS 新規治療薬としての JAK 阻害薬の可能性について著者らが行ってきた *in vitro* での研究を中心に述べたい。

## シェーグレン症候群と CXCL10

著者らが行った一次性 SS (primary SS: pSS) 患者口唇腺を用いた病理組織学的解析では、これまでの報告<sup>7)</sup>と同様に CXCL10 は導管細胞に強く発現していた<sup>9)</sup>。CXCL10 レセプターである CXCR3 は CD3<sup>+</sup>T 細胞と CD163<sup>+</sup>M2 マクロファージに発現していることが判明した<sup>9)</sup>。次に、著者らは、pSS 唾液腺で CXCL10 mRNA が過剰発現となる分子メカニズムを不死化正常ヒト唾液腺細胞株を用いて解析した。SS の発症は未だ解明できていないが、SS 病態形成には免疫細胞由来の IFN- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  などのサイトカインの関与が報告されている<sup>11-14)</sup>。そこで、正常ヒト唾液腺腺房細胞株 (NS-SV-AC) と導管細胞株 (NS-SV-DC) にこれらのサイトカインを加え、CXCL10 mRNA および蛋白質の発現を調べた。CXCL10 mRNA は NS-SV-DC で IFN- $\gamma$  刺激により著明な発現上昇を認めたが、IFN- $\alpha$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  刺激では発現上昇を認めなかった<sup>10)</sup>。また、CXCR3 ligand である CXCL9、CXCL11 も CXCL10 と同様 IFN- $\gamma$  刺激でのみ発現が上昇することが明らかとなった<sup>10)</sup>。蛋白質レベルで解析すると IFN- $\gamma$  刺激により NS-SV-DC から CXCL10 が著明に分泌された<sup>10)</sup>。これらの結果は、pSS 患者の末梢血では I 型 IFN 関連分子が有意であるが、pSS 唾液腺では II 型 IFN 関連分子が有意に作用するという報告<sup>11)</sup>と合致する。一方、NS-SV-AC では NS-SV-DC に比べると少ないものの、TNF- $\alpha$  刺激で CXCL10 mRNA および蛋白質の発現誘導を認めた<sup>10)</sup>。NS-SV-DC での CXCL10 過剰産生を導くシグナル伝達経路を解析した結果、IFN- $\gamma$  により JAK-STAT 経路および NF- $\kappa$ B 経路の両シグナルが活性化され、CXCL10 発現が上昇することが明らかとなった<sup>10)</sup>。しかし、STAT1 阻害剤と NF- $\kappa$ B 阻害剤を用いた解析では、STAT1 阻害剤による IFN- $\gamma$  誘導性 CXCL10 発現抑制効果が NF- $\kappa$ B 阻害剤と比較し著しく高く、IFN- $\gamma$  刺激の主なシグナル伝達経路は JAK-STAT 経路だと考えられた<sup>10)</sup>。

## JAK 阻害薬

JAK は細胞内チロシンキナーゼであり、サイトカイン受容体には特定の JAK が結合してい

表1 各サイトカイン・ホルモンの受容体に結合する JAK

| サイトカイン・ホルモンの種類   | JAK              |
|--|------------------|
| IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21                     | JAK1, JAK2       |
| IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$                             | JAK1, TYK2       |
| IL-6, IL-11, LIF, OSM, IL-13, IL-10, IL-19, IL-20, IL-22 | JAK1, JAK2, TYK2 |
| IFN- $\gamma$  | JAK1, JAK2       |
| IL-12, IL-23   | JAK2, TYK2       |
| IL-3, IL-5, GM-CSF, EPO, TPO, G-CSF, GH, Leptin          | JAK2, TYK2       |

る(表1)。サイトカインが受容体に結合すると、JAKのリン酸化とともに転写因子STATのリン酸化が誘導され、リン酸化されたSTATは二量体を形成して核内へ移行し遺伝子の転写を開始する<sup>15)</sup>。これまで4種類のJAK(JAK1、JAK2、JAK3、TYK2)と7種類のSTATが同定されており、サイトカインの種類によってどのJAK-STATが活性化するか決まっておる異なる細胞機能を誘導する<sup>15,16)</sup>。

JAK阻害薬は、細胞内でJAKのATP結合部位に競合的に結合することで細胞内キナーゼ阻害を介して複数のサイトカインシグナルを同時に抑制することができる。本邦では、2013年にRA治療薬として初めて承認され、生物学的製剤に匹敵する効果が明らかとなっている。さらに、JAK阻害薬は低分子化合物であるため、生物学的製剤と異なり経口摂取が可能で低薬価であるという利点を有している。本邦では2022年時点でJAKの阻害特性が異なる6種類の経口JAK阻害薬が承認されている。

本邦でRAに対し最初に承認された選択的JAK1/JAK3阻害薬トファシニブは、潰瘍性大腸炎に対する有効性が示され<sup>17)</sup>、2018年に追加承認された。現在、強直性脊椎炎や全身性若年性特発性関節炎とともにpSSを対象とした第II相臨床研究が進行中である。選択的JAK1/JAK2阻害薬であるバリシチニブは、2017年にRAに対して承認された2番目のJAK阻害薬で、RA治療においてTNF阻害薬に勝る治療効果を有する可能性が示唆された初めての薬剤である<sup>18)</sup>。さらに、2020年にアトピー性皮膚炎、2021年にSARS-CoV-2による肺炎に対しても承認され適応が拡大されている。現在、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythematosus: SLE)、特発性炎

症性筋炎、円形脱毛症を対象とした臨床試験が進行中である。

### SS治療薬としてのJAK阻害薬の可能性

#### 1) pSS患者口唇腺におけるJAK1、JAK2、リン酸化JAK1、リン酸化JAK2の発現

JAKファミリーのうちJAK1、JAK2、TYK2は広範囲の細胞に発現しているが、JAK3の発現はリンパ球などの血球細胞に限定されている<sup>15)</sup>。著者らはこれまでに報告がなかったpSS患者口唇腺におけるJAK1、JAK2、リン酸化JAK1、リン酸化JAK2の発現を免疫組織化学染色法にて解析した(図1)。JAK1は導管での発現を認めたが、腺房ではほとんど発現を認めなかった。リン酸化JAK1は導管での発現はJAK1と同程度であったが、腺房では基底側に発現を認めた。一方JAK2は、導管および腺房での発現はJAK1と比較して弱かった。リン酸化JAK2は導管での発現が著しく亢進し、導管周囲に集簇しているリンパ球にも強い発現を認めた。また、腺房基底側での発現も認めた。この結果から、SS口唇腺ではJAK1と

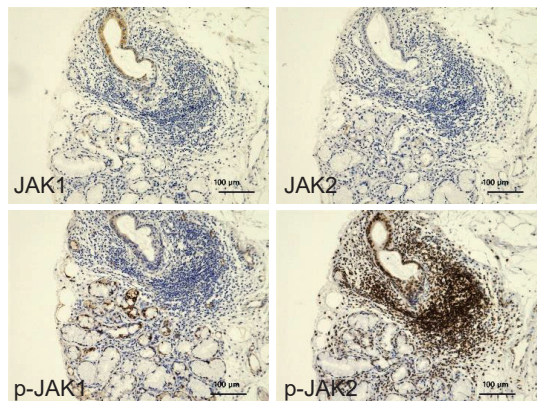


図1. pSS患者口唇腺におけるJAK1、JAK2、リン酸化JAK1、リン酸化JAK2の発現

JAK2のリン酸化は亢進し、JAK1とJAK2を分子標的にすることにより導管細胞からのCXCL10産生の抑制効果と、免疫細胞の活性化抑制効果が期待できると推察された。そこで、JAK1/JAK2選択的阻害薬であるバリシチニブを用いて、*in vitro*の解析を行った。

## 2) バリシチニブが唾液腺導管細胞の増殖に及ぼす影響

バリシチニブの至適濃度を決定するために唾液腺導管細胞株 (NS-SV-DC) を用いて MTT assay を行った。バリシチニブを10~5000 nMの濃度で培養液に添加し3日間培養したが、NS-SV-DCの増殖率が低下することはなく、各濃度で増殖率に有意差は認めなかった。

## 3) バリシチニブが唾液腺導管細胞での IFN- $\gamma$ 誘導性 CXCL10発現に及ぼす影響

バリシチニブがNS-SV-DCにおけるIFN- $\gamma$ 誘導性CXCL10発現に及ぼす影響をRT-qPCRおよびELISAにて解析した。NS-SV-DC培養液にバリシチニブを添加することによりIFN- $\gamma$ 誘導性CXCL10 mRNA発現およびCXCL10蛋白質分泌は有意に抑制された。バリシチニブのCXCL10抑制効果は濃度依存性であることが明らかになった(図2)。

## 4) バリシチニブが唾液腺導管細胞での IFN- $\gamma$ 誘導性 STATリン酸化に及ぼす影響

著者らは、NS-SV-DCにおいてIFN- $\gamma$ の細胞外刺激は細胞表面上のIFN- $\gamma$ レセプターと結

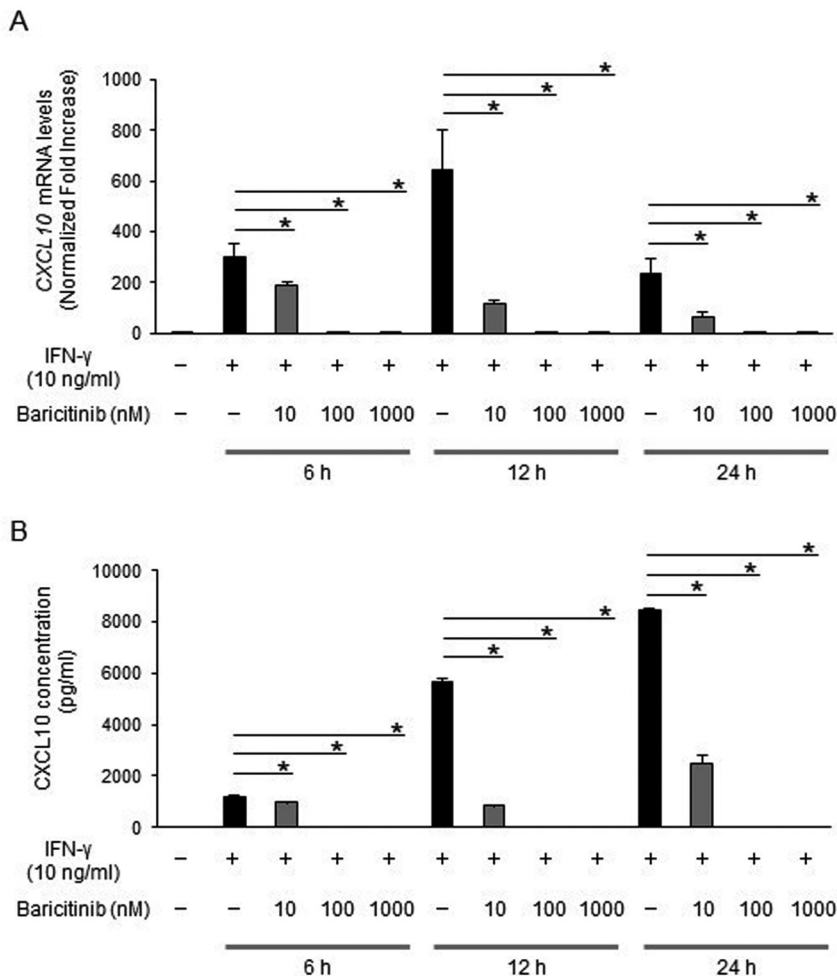


図2. バリシチニブが唾液腺導管細胞での IFN- $\gamma$  誘導性 CXCL10発現に及ぼす影響  
(A) CXCL10 mRNA 発現に及ぼす影響  
(B) CXCL10 蛋白質発現に及ぼす影響



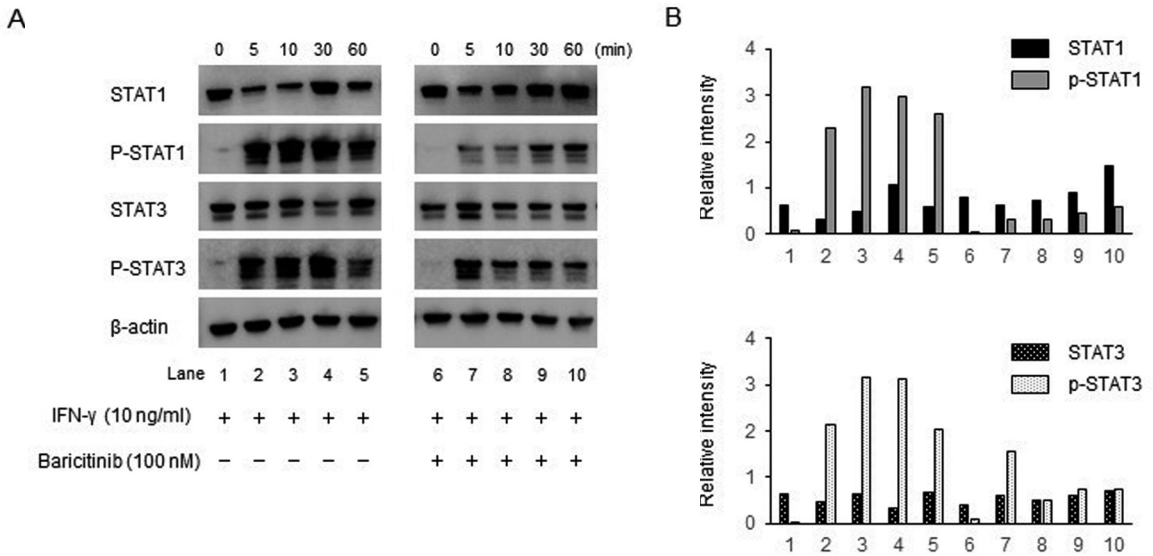


図3. バリシチニブが唾液腺導管細胞での IFN- $\gamma$  誘導性 STAT リン酸化に及ぼす影響

(A) Western blot 法による解析

(B) バンドの密度をルミノイメージアナライザーにて定量し、データを  $\beta$ -アクチンに対して正規化した。

合することで JAK1 と JAK2 が活性化し STAT1、STAT3 のリン酸化が起こり、ホモ二量体を形成したリン酸化 STAT が核内に移行し、CXCL10 の転写を開始し細胞外に分泌されることをすでに報告している<sup>10)</sup>。そこで、バリシチニブが IFN- $\gamma$  による JAK-STAT シグナルに及ぼす影響を Western blot 法にて解析した。NS-SV-DC 培養液に IFN- $\gamma$  を添加すると 5 分後より STAT1、STAT3 のリン酸化は起こるが、バリシチニブを加えることで STAT1 および STAT3 のリン酸化は減弱した (図 3)。これよりバリシチニブは、NS-SV-DC において JAK1、JAK2 を競合的に阻害する結果、STAT1 と STAT3 のリン酸化を抑制し、IFN- $\gamma$  のシグナル伝達を遮断することで核内での CXCL10 の転写ならびに蛋白質合成、分泌を制御すると考えられた。

#### おわりに

サイトカインや細胞表面抗原などをターゲットにした生物学的製剤による RA の治療の進歩は著しく、特に抗 TNF 抗体、抗 IL-6 受容体抗体は RA 治療に一大革命をもたらした。一方で、pSS ではこれまでに種々の生物学的製剤を用いた大規模臨床試験が世界的に実施されてきたが、腺病変

の改善には至らず現時点で治療法は確立されていない。

著者らは pSS 患者口唇腺の JAK 発現解析に基づき JAK1/JAK2 選択性阻害薬であるバリシチニブに焦点を当てた。バリシチニブは唾液腺導管細胞において、JAK/STAT シグナル制御を介して IFN- $\gamma$  誘導性 CXCL10 を抑制することが明らかとなった。唾液腺導管細胞からの CXCL10 分泌の抑制は、SS 唾液腺の炎症病態の改善に寄与する可能性が高い。さらに、pSS 患者口唇腺で浸潤 T リンパ球においてリン酸化 JAK2 の発現が亢進していることから、バリシチニブには免疫細胞の活性化の抑制にも作用すると考えられる。現在、pSS において JAK1/JAK3 選択的阻害薬トファシチニブが第 II 相臨床試験進行中であるが、本研究結果から JAK1/JAK2 選択的阻害薬バリシチニブが SS 唾液腺の炎症病態改善に臨床効果を発揮する可能性が示唆された。今回著者らはバリシチニブを選択したが、pSS 患者口唇腺での JAK 発現を個別に調べ、リン酸化が亢進している JAK に対応した JAK 阻害薬を選択することで pSS の個別化医療が実現でき、腺症状のより高い改善効果が期待できる。

## 謝辞

本研究に際し御指導を賜りました徳島大学 東雅之名誉教授に厚く感謝申し上げます。また、本総説を執筆する機会を与えてくださった口腔組織

培養学会役員の皆様様に深謝いたします。

本研究はJSPS 科研費（課題番号：20K18697、22K10172）の助成を受けたものです。

## 参考文献

- 1) Mariette, X., Ravaud, P., et al.: Inefficacy of infliximab in primary Sjögren's syndrome: results of the randomized, controlled Trial of Remicade in Primary Sjögren's Syndrome (TRIPSS). *Arthritis Rheum*, 50: 1270-1276, 2004.
- 2) Sankar, V., Brennan, M.T., et al.: Etanercept in Sjögren's syndrome: a twelve-week randomized, double-blind, placebo-controlled pilot clinical trial. *Arthritis Rheum*, 50: 2240-2245, 2004.
- 3) Felten, R., Devauchelle-Pensec, V., et al.: Interleukin 6 receptor inhibition in primary Sjögren syndrome: a multicentre double-blind randomised placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis*, 80: 329-338, 2021.
- 4) Baer, A.N., Gottenberg, J.E., et al.: Efficacy and safety of abatacept in active primary Sjögren's syndrome: results of a phase III, randomised, placebo-controlled trial. *Ann Rheum Dis*, 80: 339-348, 2021.
- 5) Letaief, H., Lukas, C., et al.: Efficacy and safety of biological DMARDs modulating B cells in primary Sjögren's syndrome: Systematic review and meta-analysis. *Joint Bone Spine*, 85: 15-22, 2018.
- 6) Yao, Q., Song, Z., et al.: Identifying key genes and functionally enriched pathways in Sjögren's syndrome by weighted gene co-expression network analysis. *Front Genet*, 10: 1142, 2019.
- 7) Ogawa, N., Ping, L., et al.: Involvement of the interferon- $\gamma$ -induced T cell-attracting chemokines, interferon- $\gamma$ -inducible 10-kd protein (CXCL10) and monokine induced by interferon- $\gamma$  (CXCL9), in the salivary gland lesions of patients with Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*, 46: 2730-2741, 2002.
- 8) Azuma, M., Tamatani, T., et al.: Immortalization of normal human salivary gland cells with duct-, myoepithelial-, acinar-, or squamous phenotype by transfection with SV40 ori- mutant deoxyribonucleic acid. *Lab Invest*, 69: 24-42, 1993.
- 9) Aota, K., Yamanoi, T., et al.: Inverse correlation between the number of CXCR3<sup>+</sup> macrophages and the severity of inflammatory lesions in Sjögren's syndrome salivary glands: A pilot study. *J Oral Pathol Med*, 47: 710-718, 2018.
- 10) Aota, K., Kani, K., et al. Distinct regulation of CXCL10 production by cytokines in human salivary gland ductal and acinar cells. *Inflammation*, 41: 1172-1181, 2018.
- 11) Nezos, A., Gravani, F., et al.: Type I and II interferon signatures in Sjögren's syndrome pathogenesis: Contributions in distinct clinical phenotypes and Sjögren's related lymphomagenesis. *J Autoimmun*, 63: 47-58, 2015.
- 12) Fox, R.I., Kang, H.I., et al.: Cytokine mRNA expression in salivary gland biopsies of Sjögren's syndrome. *J Immunol*, 152: 5529-5532, 1994.
- 13) Nocturne, G., Mariette, X.: Advances in understanding the pathogenesis of primary Sjögren's syndrome. *Nat Rev Rheumatol*, 9: 544-556, 2013.
- 14) Yamada, A., Arakaki, R., et al.: Targeting IL-1 in Sjögren's syndrome. *Expert Opin Ther Targets*, 17: 393-401, 2013.
- 15) Leonard, W.J., O'Shea, J.J.: Jaks and STATs: biological implications. *Annu Rev Immunol*, 16: 293-322, 1998.

- 16) O'Shea, J.J., Schwartz, D.M., et al.: The JAK-STAT pathway: impact on human disease and therapeutic intervention. *Annu Rev Med*, 66: 311-328, 2015.
- 17) Sandborn, W.J., Su, C., et al.: Tofacitinib as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med*, 376: 1723-1736, 2017.
- 18) Taylor, P.C., Keystone, E.C., et al.: Baricitinib versus placebo or adalimumab in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med*, 376: 652-662, 2017.