

## 総 説

## B 細胞を中心とした全身性強皮症における免疫学的異常と治療戦略

吉 崎 歩

## B cell abnormalities and therapeutic strategies in systemic sclerosis

Ayumi YOSHIZAKI

*Department of Dermatology, The University of Tokyo Graduate School of Medicine*

(Accepted April 14, 2016)

## summary

One of the major roles of B cells is to generate antibodies to specific antigens. Secreted antibodies are the principal molecules involved in humoral immunity, with the capacity not only to neutralize pathogens, but also to enhance their elimination by activating phagocytosis or complement proteins. Recently, it has been highlighted that B cells exert important regulatory roles independent of their antibody producing function. These roles include efficiently presenting antigens to the T cells, secreting cytokines, and inducing immune cell differentiation. Thus, B cells have emerged as cells that play crucial roles in immune systems in addition to producing antibodies. Systemic sclerosis (SSc) is characterized by autoimmunity and tissue fibrosis of several organs. Although the pathogenic relationship between systemic autoimmunity and the clinical manifestations of SSc remains unknown, SSc patients display a variety of abnormal immune activation including the production of disease-specific autoantibodies. Previous studies have demonstrated that immune cells, mainly including B cells, play a critical role in systemic autoimmunity and disease expression, though the role of autoimmunity in generating the clinical and pathologic phenotype in SSc remains uncertain. SSc patients have B cell abnormalities characterized by chronic hyper-reactivity of memory B cells. Although distinct subsets of autoantibodies do not have a proven pathogenic role, they are selectively associated with unique disease manifestations. To date, the treatment of SSc has largely relied on cytotoxic immunosuppressants and corticosteroids. Although this has resulted in improved disease survival, these patients may still suffer severe adverse events and refractory disease to conventional immunosuppressive therapies. Recently, clinical trials involving the chimeric monoclonal antibody rituximab have raised high expectations. B cell depleting therapy with rituximab offers a promising treatment for the rheumatic autoimmune diseases including SSc. This article reviews the current knowledge of B cell biology and pathogenesis in SSc as well as the therapeutic approaches focusing on the targeting of B cell specific surface molecules and on the blocking of B cell activation and survival.

**Key words**—B cell; systemic sclerosis; rituximab; belimumab

## 抄 録

古くから B 細胞は抗体産生に特化した機能を持ち、免疫系において他に重要な役割は果たさないと見なされてきた。ところが近年になり、B 細胞には抗体産生能以外にも様々な機能が備わっていることが明らかとされている。例えばマクロファージや樹状細胞と同様に、抗原提示能を有し、さらには多種類のサイトカインを産生することで T 細胞や他の免疫担当細胞へ直接働きかけ、それらの活性化や分化を誘導する。このように多彩な機能を持つ B 細胞は、免疫系において中心的な役割を果たしていると考えられるようになってきた。自己免疫反応においても、B 細胞は中心的な役割を担っていることが明らかとなっており、自己免疫疾患である全身性強皮症 (systemic sclerosis; SSc) に対しても病態形成に重要な役割を果たすことが強く示唆されている。このため、B 細胞をターゲットとした治療は SSc における新たな治療戦略になり得ると期待されている。特に B 細胞表面に特異的に発現する CD20 に対する抗体を用いた、B 細胞除去療法は種々の自己免疫疾患において有効であることが示されており、B 細胞の重要性をさらに強調している。本稿では最初に B 細胞の多彩な役割について述べ、SSc の病態における B 細胞の役割と、B 細胞を標的とした治療法について最新の知見を概説する。

## 1. はじめに；多彩な役割をもつ B 細胞

B 細胞は自身の B 細胞受容体に対応した抗原と出会った場合に活性化され、形質細胞へ分化し抗体を産生する。最もよく知られるこの抗体産生能に加えて、B 細胞は多彩な機能を発揮して免疫系において重要な役割を果たしている (図 1)。B 細胞は樹状細胞、マクロファージと同様に抗原提示細胞として働く<sup>1-3)</sup>。抗原提示をした B 細胞は、主要組織適合遺伝子複合体上に提示されたペプチドを認識する T 細胞と抗原特異的な cognate-interaction を行うが、

この際、B 細胞上に発現する CD40、CD80、CD86 などの共刺激分子は、T 細胞にシグナルを伝達する (図 2)。抗原提示を介した T 細胞受容体刺激と、共刺激分子を介したシグナル伝達の両者が同時に行われることによって T 細胞は活性化される。特に T 細胞に対する B 細胞の抗原提示と共刺激は、少ない量の抗原に感作された場合の CD4<sup>+</sup> T 細胞の活性化に重要であるとされ (図 3)、自己免疫疾患の発症に大きく関与していると考えられている<sup>4-8)</sup>。さらに B 細胞はリンパ組織の構築と再生を制御しており、B 細胞を欠損したマウスでは、胸腺細胞、脾

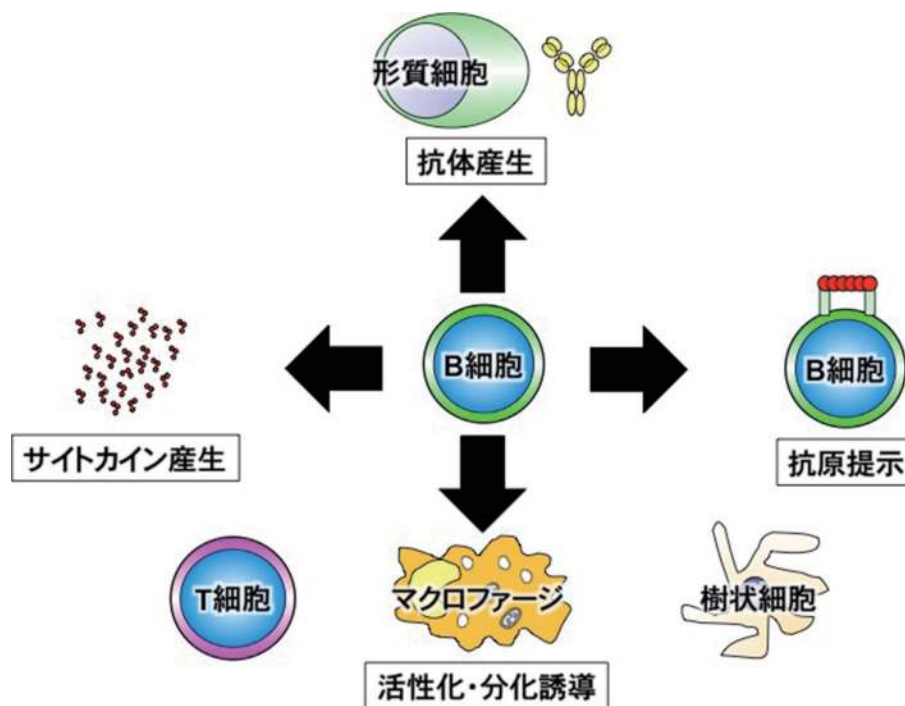


図 1 B 細胞が有する多彩な機能

B 細胞は抗体を産生するのみではなく、抗原提示、サイトカイン産生を行い、他の免疫細胞の活性化と分化の誘導に関与する。

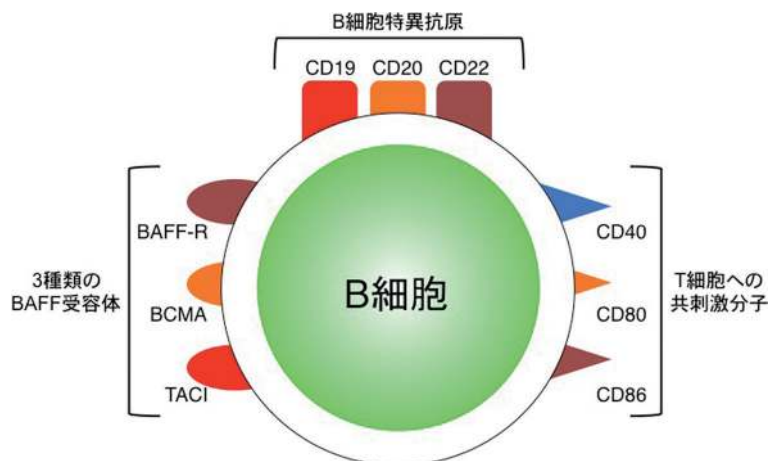


図 2 B 細胞が発現する治療ターゲットとなり得る表面分子

いずれも B 細胞の機能発現に重要な表面分子である。CD19、CD20、CD22 は主に B 細胞除去療法のターゲットとなる。CD80、CD86 は T 細胞との相互作用において重要である。BAFF-R、BCMA、TACI は BAFF の受容体である。

臓樹状細胞，T細胞の著明な減少が見られる<sup>1-3)</sup>。

B細胞は様々なサイトカインを産生することが近年明らかとなっているが，T細胞と同様に産生するサイトカインの種類によって，エフェクターB細胞 (effector B cell; Be) や制御性B細胞 (regulatory B cell; Breg) などのサブセットに分けられる<sup>9)</sup>。Be細胞は interferon- $\gamma$  などの Th1 型サイトカインを産生する Be-1 細胞 (図4)，interleukin (IL)-4 や IL-5 など Th2 型サイトカインを産生する Be-2 細胞に分けられる。Breg細胞は IL-10 や tumor growth factor- $\beta$  を産生し，炎症の抑制に関わると考えられている。他にも IL-17 を産生し，寄生虫感染症に対する防御に関与する Be細胞や，IL-35 を産生する新たな Breg細胞の存在が明らかになっており，今後もサイトカイン産生能に対応したB細胞の機能分類は

進むと考えられている<sup>10,11)</sup>。現在までにサイトカイン産生能の違いを反映した，マーカーとなり得る特徴的な表面分子の発現は十分に明らかとされていないが，我々のグループは IL-10 を産生する Breg細胞はマウスでは CD5 陽性 CD1d 強陽性<sup>12)</sup>，ヒトでは CD24 陽性 CD27 陽性<sup>13)</sup> であることを報告している。IL-10 産生性の Breg細胞は自己免疫や炎症反応の抑制に重要であると考えられており，マウスを用いた検討では，多発性硬化症，関節リウマチ，炎症性腸疾患などのモデルにおいて IL-10 産生性 Breg細胞が過剰な免疫反応を抑えることが示されている<sup>14,15)</sup>。ところが，この IL-10 産生性 Breg細胞は生体内に僅かしか存在しておらず，その分化誘導メカニズムは長年不明であった。我々は，IL-21 や IL-4，CD40，B cell activating factor (BAFF) などを介した

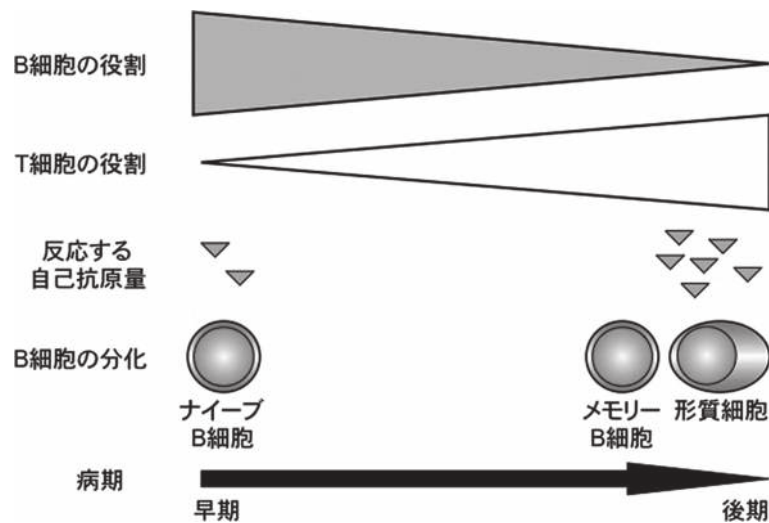


図3 抗原量に対するB細胞の役割

B細胞は抗原量が少ないときに効率良く抗原提示を行うことでT細胞の活性化を誘導する。このため，特に病態形成の早期に重要な役割をと考えられている。

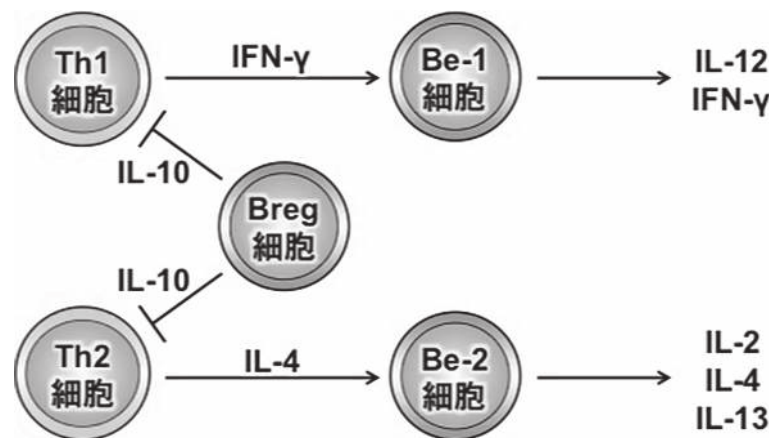


図4 B細胞のサブセット

T細胞と同様に，B細胞は産生するサイトカインによって分類されるサブセットを持ち，それぞれ異なった働きをされると考えられている。

刺激が IL-10 産生性 Breg 細胞の分化と増殖に関与していることを明らかにした<sup>16)</sup>。さらに IL-10 産生性 Breg 細胞は抗原特異的に過剰な免疫反応を抑制することを示唆した (図 5)。このように、B 細胞は種々の刺激により様々な機能を持つサブセットへ分化し、自己免疫疾患をはじめとする炎症性疾患に抗原特異性を持って大きく関わっている可能性がある。

## 2. SSc の病態における B 細胞の関与

SSc は皮膚や肺をはじめとした組織の線維化と血管障害、自己免疫異常を 3 主徴とする全身性自己免疫疾患である。近年、SSc の病態形成において、B 細胞を中心とした様々な免疫学的異常が重要であると考えられている。SSc 患者では高頻度に高  $\gamma$  グロブリン血症が見られ、また種々の自己抗体が検出される。さらにこの自己抗体は特定の病型と密接な関連がみられるため、臨床の現場において病型の子因子としても用いられている。例えば、抗トポイソメラーゼ I 抗体は重症型のびまん型 SSc (diffuse cutaneous SSc; dSSc) と関連し、抗セントロメア抗体は軽症型の限局型 SSc と関連する<sup>17)</sup>。また、抗トポイソメラーゼ I 抗体の抗体価は皮膚、肺、腎血管の線維化の程度と関連し、経過中の抗体価の上昇は SSc の活動性の増悪を反映することが多く、逆に抗体価の低下は病勢の改善と関連する。しかしながら、これまでのところ自己抗体が線維化に直接関わることを示した証拠はない。

SSc では B 細胞の機能異常が報告されている<sup>3, 17-19)</sup>。CD19 は B 細胞に特異的に発現し、B 細胞

の活性化閾値を下げ活性化シグナルを増強する分子であるが (図 2)、SSc 患者において CD19 の発現量は健常人に比べて約 20% 上昇している。さらに SSc 患者において高頻度に CD19 遺伝子プロモーター領域の多型性が見られ、この多型を有する群は CD19 の発現増加が見られた。CD19 を高発現させたマウスでは CD19 の発現量に比例して血中  $\gamma$  グロブリン値が上昇することから、SSc 患者でしばしば見られる高  $\gamma$  グロブリン血症には CD19 発現増強が関与していると考えられる。Tight-skin (Tsk) マウスは皮膚の著明な線維化を呈する突然変異マウスであるが、高  $\gamma$  グロブリン血症、抗核抗体、抗トポイソメラーゼ I 抗体を有することから、SSc の遺伝的モデルマウスとして広く知られている。CD19 を欠損した Tsk マウスでは、自己抗体産生抑制に加えて皮膚硬化の改善が見られた<sup>17)</sup>。さらに抗 CD20 抗体を用いて皮膚硬化の早期から B 細胞除去を行ったところ、自己抗体産生、皮膚硬化が著明に改善された<sup>8)</sup>。現在のところ SSc の線維化と自己免疫に対する有効な治療はないことから、次に述べるとおり B 細胞をターゲットとした治療は SSc に対する新たな治療戦略として期待されている。

## 3. SSc における B 細胞をターゲットとした治療

### I. リツキシマブ (抗ヒト CD20 モノクローナル抗体)

CD20 は、MS4A 遺伝子ファミリーに属する分子量約 33~37 kDa の 4 回膜貫通型蛋白質である<sup>20)</sup>。B 細胞に特異的に発現する細胞膜分子であり、骨髄において遺伝子再構成途上のプレ B 細胞の時期より細胞表面に発現がみられるようになり、未熟

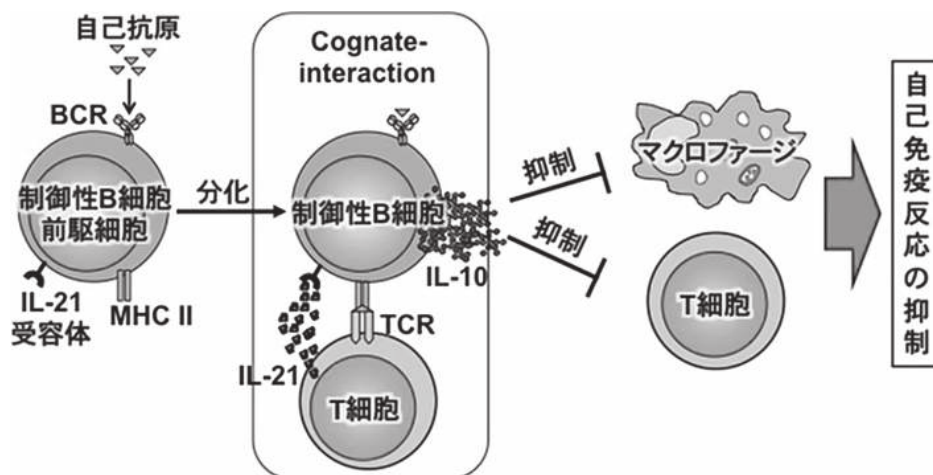


図 5 制御性 B 細胞の持つ抗原特異的作用

制御性 B 細胞の前駆細胞は、自己抗原に出会うと分化し、IL-10 を産生するようになる。制御性 B 細胞は抗原特異的に過剰な免疫反応を抑制する。

B細胞，成熟B細胞において強く発現し，抗体を産生する形質細胞に分化すると失われる（図6）。CD20はB細胞の活性化の過程において，細胞内へのカルシウムイオンの流入と細胞周期の進行を調節している。リツキシマブはCD20に対する抗体で，IgG型のマウス抗体における定常領域をヒトIgGで置換したキメラ抗体である。リツキシマブはCD20のカルシウムイオン調節能に影響を与え，B細胞のシグナル伝達や細胞周期を障害することで，抗体自体が直接アポトーシスを誘導する働きを持つ<sup>21-23</sup>。加えてリツキシマブは抗体依存性細胞介在性細胞障害作用（antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; ADCC）と補体依存性細胞障害作用（complement-mediated cytotoxicity; CDC）を介してB細胞を除去する。このようにリツキシマブは様々な働きを介してB細胞の除去を誘導する。

本邦においてリツキシマブは2001年に「低悪性度又はろ胞性B細胞性非ホジキンリンパ腫及びマントル細胞リンパ腫」に対して承認された。2003年には「中・高悪性度B細胞性非ホジキンリンパ腫」に対して，2013年には「免疫抑制状態下のCD20陽性のB細胞性リンパ増殖性疾患」と「ウェゲナー肉芽腫症，顕微鏡的多発血管炎」に対して，さらに2014年には「難治性のネフローゼ症候群」についても承認を得た。リツキシマブ投与に伴う有害反応としては，発熱，悪寒，悪心，嘔気，皮疹・掻痒などの皮膚アレルギー様症状などといった，いわゆる一過性のinfusion reactionがよく知られているが，解熱鎮痛薬や抗ヒスタミン薬の投与にてコントロール可能である。リツキシマブによるinfusion reactionは他の生物学的製剤で認められるものとは異なり，初回投与時に多く認められ，2回目以降では発生

頻度と重症度は減弱することが知られている。リツキシマブによるinfusion reactionの詳細な機序は未だ不明であるが，リツキシマブによるB細胞除去の際に誘導されるADCCやCDCにより，tumor necrosis factor- $\alpha$ やIL-6など炎症性サイトカインの血中濃度が高くなることが明らかとなっており，これによってinfusion reactionが引き起こされると考えられている。これらの炎症性サイトカイン濃度とinfusion reactionの程度が相関することからも，この仮説は裏付けられている<sup>24</sup>。リツキシマブは外来で投与される場合もあることから，一見すると問題になる有害事象がほとんど無い安全な薬剤にも見える。ところが，市販後調査の結果からは重篤な感染症や進行性多巣性白質脳症などの発生が認められており，さらに近年，新しく適応症が増えたことを考慮すると，これまで予期し得なかった有害事象が生じる可能性もあるため，投与に際しては十分な注意が必要である。

リツキシマブを用いたB細胞除去療法は，以前から自己免疫疾患において臨床研究が行われてきた。関節リウマチや全身性エリテマトーデス，皮膚筋炎，血管炎といった全身性自己免疫疾患に対して，リツキシマブによるB細胞除去療法が有効であったという報告がなされている<sup>25-29</sup>。SScにおいても，2009年頃から，少ない症例数を対象にしたものではあるが，一連の臨床試験が報告されている（表1）。Smithらは8例の発症後4年以内のびまん皮膚硬化型SSc（dSSc）早期例を対象にしたオープンラベル試験を報告した<sup>30</sup>。リツキシマブの投与量を1000 mgとし，1日目と14日目の2回に渡って投与を行い，皮膚硬化をmodified Rodnan total skin thickness score（MRSS）で評価した。初回のリ

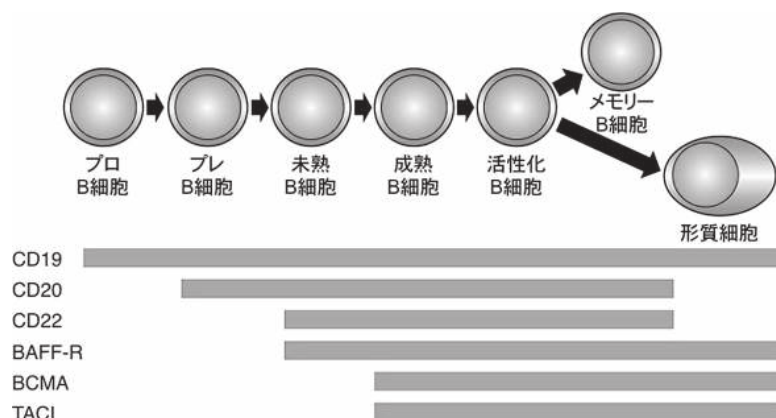


図6 B細胞の分化段階と表面分子の発現  
各分化段階においてB細胞に発現する分子は異なっている。

表1 SScに対するリツキシマブの臨床研究

文献	試験デザイン	症例数	観察期間	皮膚硬化	間質性肺炎
30	オープンラベル試験	8	6ヶ月	改善	変化無し
31	オープンラベル試験	15	12ヶ月	組織学的に改善	変化無し
32, 30	オープンラベル試験 ランダム化対照試験	14	12-24ヶ月	改善	改善
34	ネステッド・ ケースコントロール研究	63	平均6ヶ月(皮膚) 平均7ヶ月(肺)	改善	改善
35	オープンラベル試験	20	平均48ヶ月	改善	改善

リツキシマブ投与時をベースラインとし、24週後のMRSSを検討したところ、平均24.8点から14.3点と有意な皮膚硬化の改善が認められた( $p < 0.001$ )。さらに12週後における皮膚生検組織を用いた検討では、膠原線維とmyofibroblastの減少、皮膚へ浸潤するB細胞の消失が認められ、組織学的にもリツキシマブの効果が証明された。一方で間質性肺炎やSSc患者のQOLを反映するHAQスコアに関しては変化を認めなかった。Lafyatisらは15例の発症後18ヶ月未満のdSSc早期例に対してSmithらと同様の投与方法でオープンラベル試験を行った<sup>31)</sup>。リツキシマブ投与24週後と1年後にMRSSを用いた評価を行ったが、投与前と投与1年後における比較では皮膚硬化の改善を認めなかった。しかしながら、組織学的検討では、有意なmyofibroblastスコアの改善と皮膚へ浸潤するB細胞の消失を認めたとしており、皮膚硬化に対するリツキシマブの効果を示唆している。この研究においても、間質性肺炎に対するリツキシマブの有意差を持った効果は認められなかったが、%FVCの改善傾向を認めていた。有意差が得られなかった理由としては、症例ごとに得られた%FVC値にばらつきが大きかったためと結論付けている。Daoussisらは14例のdSSc患者に対する、オープンラベル・ランダム化対照試験を報告している<sup>32)</sup>。この研究は、症例数は少ないながらも現在までに行われたSScに対するリツキシマブの効果を検討した、唯一のプラセボ対照試験である。ベースライン時におけるMRSSと、%FVC、%DLcoを一致させたdSSc患者を、それぞれ8例と6例、ランダムにリツキシマブ投与群とプラセボ投与群に割り付けた。投与量は1回あたり375 mg/m<sup>2</sup>/週として4週間の投与を行い、これを1サイクルとして、ベースライン時と24週後に合計2サイクルの投与を行った。リツキシマブ投与群における、ベースライン時と1年後の比較では、それぞれ%FVCで68.1%から75.6% ( $p = 0.002$ )、%DLcoで52.2%か

ら62.0% ( $p = 0.02$ )の平均値の上昇を認め、有意な呼吸機能の改善を認めた。なお、プラセボ群において、%FVCと%DLcoの値は1年間の経過において、低下傾向ではあるものの、有意な増悪は認められなかった。しかしながら中央値に関する検討では、リツキシマブ投与群では%FVCと%DLcoは、それぞれ10.3%と19.5%改善している一方で、プラセボ群ではそれぞれ5%と7.5%の低下が認められている。皮膚硬化に関しては、リツキシマブ投与群ではMRSSの13.5点から8.4点の平均値の改善を認め ( $p = 0.0003$ )、プラセボ群では11.5点から9.7点となっていた ( $p = 0.16$ )。彼らはこの後も、投与回数を4サイクルとした2年間にわたる観察を行っており、リツキシマブの効果が継続して認められていることを報告している<sup>33)</sup>。2015年にはEuropean Scleroderma Trial and Research group (EUSTAR) による42施設からなるネステッド・ケースコントロール研究が報告された<sup>34)</sup>。皮膚硬化はリツキシマブ投与群において6ヶ月後の検討で平均24.0%改善しており、コントロール群における7.7%との改善と比べ有意な治療効果を認めた ( $p = 0.03$ )。間質性肺炎に関しては、7ヶ月後の検討においてコントロール群では%FVCが7.7%低下したのに対し、リツキシマブ投与群では0.4%の改善を認めた ( $p = 0.02$ )。Boselloらは20例のdSScに対して、平均4年間の観察を行ったオープンラベル試験を報告している<sup>35)</sup>。1回当たりの投与量は1000 mgで、ベースライン時と2週間後にリツキシマブの投与を行っている。MRSSの平均値は6ヶ月後から有意な改善を認めた ( $p = 0.001$ )。%FVCに関しては、ベースライン時に%FVC < 80%であった6症例では、1年後の時点で%FVCの平均値は64.3%から71.0%まで改善した ( $p = 0.03$ ) が、最終観察時点では65.7%に低下した。詳細な症例ごとの記載はないものの、最終観察時点において、6例中3例は不変、2例は10%以上の改善、1例は10%以上の増悪を認めたと

しており、この1例の増悪例が、平均値を大きく引き下げたことが予想される。この研究では、免疫学的な検討も併せて行われている。リツキシマブの投与により一旦除去されたB細胞は、6ヶ月後から12ヶ月後の間に回復し、血清IgG値とIgA値は経過を通じて変化を認めず、IgM値については6ヶ月後より有意な低下を認めた( $p=0.002$ )。抗トポイソメラーゼI抗体価に関しては、経過を通じて変化が無かった。興味深いのは、初回のリツキシマブ投与から12-18ヶ月後において、皮膚硬化が再燃した症例に追加投与を行ったところ症状の改善を認めたとしている点である。リツキシマブによるB細胞の除去効果は一時的なものであるため、症状の改善、もしくはその維持には、繰り返しのB細胞除去が必要である可能性を示唆している。

以上のように、リツキシマブはSScにおいて概ね良好な成績を得ている。日本人を対象とした研究については、症例報告において有効性が示唆されているのみで、未だ統計学的な解析を行っているものは無い。現在、当科ではdSScに対する自主臨床研究を行っているが、これまでのところ皮膚硬化と間質性肺炎に対する良好な治療成績が得られており(論文準備中)、治験の枠組みでのより大規模な研究を準備中である。今後の更なる症例の蓄積で、リツキシマブがSScに対する新たな治療法の一つとなることが期待される。

## II. ベリムマブ (BAFF 阻害薬)

ベリムマブは可溶性BAFFを中和する完全ヒト化モノクローナル抗体である。BAFFはTNFリガンドスーパーファミリーに属する分子で、単球、マ

クロファージ、樹状細胞から産生される。BAFFの受容体としては、BAFF receptor (BAFF-R)、B-cell maturation antigen (BCMA)、transmembrane activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand interactor (TACI)の3種類が知られており、B細胞の分化段階において広範に発現しており、形質細胞にまで認められる(図6)。これらの受容体を介してBAFFは、B細胞の生存や分化に関与し、免疫グロブリン産生を促す<sup>36)</sup>。本来生体には、自己抗原に反応し活性化する自己抗原反応性B細胞は、アポトーシスするというネガティブセレクションの機構が備わっている。しかしBAFFが過剰に存在する場合、B細胞に対する強い生存シグナルが働き、自己抗原反応性B細胞は生き残ることが明らかとされている<sup>37)</sup>。このようにして引き起こされたトレランスの破綻が、自己抗原反応性B細胞を中心とした免疫系の異常活性化を引き起こし、自己免疫疾患の発症に関与していると考えられている(図7)。

米国で行われた全身性エリテマトーデスに対する2つの治験(BLISS-52, BLISS-76)において、ベリムマブの有効性と安全性が示された。これを受け2011年に米国食品医薬品局よりSLEに対する治療薬として認可されたことから、ベリムマブは他の自己免疫疾患に対する新たな治療薬としても大きな関心を集めている。SScにおいても患者血清中においてBAFFの上昇が認められ、臓器病変の重症度とも相関が示されていることから、ベリムマブの効果が期待される<sup>38)</sup>。現在、米国で20例のSSc患者を対照に、ミコフェノール酸モフェチルをベースに用いた、ベリムマブとプラセボのランダム化対照試験が行われている。評価項目としてMRSSと呼吸機能、

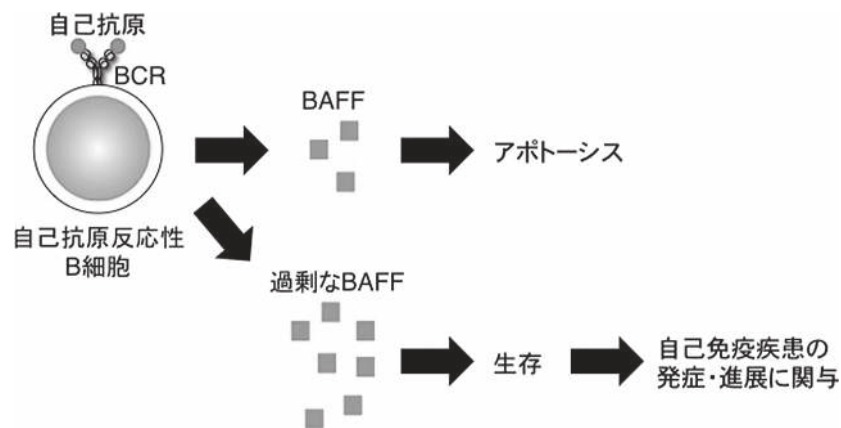


図7 自己抗原反応性B細胞とBAFFの関係

自己抗原に反応するB細胞はネガティブフィードバックの作用でアポトーシスに陥るが、BAFFが過剰に存在する際には生存し、自己免疫疾患の病態形成において重要な役割を果たす。

安全性が挙げられており、投与 48 週後を評価の時期としている。2016 年 2 月現在でデータの収集を終えており、結果の解析が待たれる。

### III. その他の B 細胞をターゲットとした治療

現在までに最も有望であると思われるリツキシマブとベリムマブについてまとめたが、他にも B 細胞をターゲットとした治療戦略は候補が挙げられており、研究と開発が進められている。B 細胞の活性化、分化、増殖、生存に重要と考えられる刺激を伝えるレセプターとリガンドの結合をブロックする治療、B 細胞内へ伝えられた細胞内シグナルをブロックする治療、B 細胞表面に発現する特異的な分子に対する抗体療法などである (図 2)。

#### i. アバタセプト (CTLA4-Ig)

アバタセプトは CTLA-4 の細胞外ドメインと免疫グロブリンからなる融合蛋白質であり、その構造から CTLA4-Ig とも呼ばれる。B 細胞上の CD80 および CD86 と T 細胞上の CTLA-4 の結合を競合阻害する。国内においては既に関節リウマチに対する治療薬として用いられている。EUSTAR によって行われた 20 例の SSc に対するオープンラベル試験では、SSc に伴う関節症状は改善したものの、皮膚硬化と間質性肺炎には効果を認めなかった<sup>39)</sup>。一方で、米国で行われた 10 例の SSc 患者に対する I/II 相試験では、未だ文献として報告されていないため統計学的な検討結果は不明であるものの、アバタセプト群において MRSS と %DLco の改善を認めているようである。現在プラセボを用いた二重盲検ランダム化比較対象試験が進められているところである。他の B 細胞と T 細胞の相互作用を阻害するものとして、抗 CD40 リガンド抗体がある。作用機序の観点から有望であったが、米国とヨーロッパのそれぞれで、特発性血小板減少症とループス腎炎に対する臨床研究が行われ、いずれも血栓症の有害事象が多発したために、一旦中止されている。

#### ii. ボルテゾミブ (プロテアソーム阻害薬)

プロテアソーム阻害薬であるボルテゾミブは細胞内シグナル阻害薬の一つである。動物モデルを用いた検討では、線維芽細胞において TGF- $\beta$  によって活性化される細胞内シグナルを阻害することで、皮膚硬化と間質性肺炎を抑制することが報告されている<sup>40)</sup>。国内においては、多発性骨髄腫とマンデル細

胞リンパ腫に対して保険適用となっている。B 細胞と形質細胞を除去する効果があり、先に述べた線維芽細胞に対する作用と併せて SSc に対して優れた臨床効果を出す可能性がある。米国においてプラセボを用いたランダム化対照試験が行われる予定である。

### 4. おわりに

現在までのところ、SSc を含め多くの自己免疫疾患では治療薬としてステロイドや免疫抑制薬を用いているが、その効果は十分ではなく、仮に疾患の活動性を抑えることができていたとしても、副作用のため患者の QOL は著しく障害されていることが多い<sup>3, 17)</sup>。このため、ターゲットを明確とした、効果的で副作用の少ない治療法の開発が切望されている。これまで述べてきた様に、B 細胞は自己免疫疾患において重要な役割を果たす。B 細胞の持つ大きな特徴の一つに抗原特異性があり、自己免疫疾患ごとに、検出される自己抗体の種類は定まっている場合が多いという事実から、何らかの自己抗原特異的反応が病態形成に関わっていることは間違いないと考えられる。数々の臨床研究の結果から、現在までのところ B 細胞除去に関するものではリツキシマブを用いた、全ての B 細胞を除去する方法しか evidence のある治療戦略はない。同様に質の高い evidence を持つベリムマブの治療も、B 細胞あるいは形質細胞全般をターゲットとしたものである。真に副作用の少ない効果的な治療法を開発するためには、自己抗原特異的な B 細胞の解析と、新たな治療ターゲットの同定が必要であると考えられる。現在、当科では蛋白質解析までもを内包した単一細胞解析技術を確立しており、新たな革新的成果がもたらされることを期待している。

### 文 献

- 1) Engel, P., et al.: Abnormal B lymphocyte development, activation and differentiation in mice that lack or overexpress the CD19 signal transduction molecule. *Immunity*. **3**: 39–50, 1995.
- 2) Sato, S., et al: CD19 and CD22 expression reciprocally regulates tyrosine phosphorylation of Vav protein during B lymphocyte signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*. **94**: 13158–13162, 1997.
- 3) Yoshizaki, A., Sato, S.: Abnormal B lymphocyte activation and function in systemic sclerosis. *Ann Dermatol*. **27**: 1–9, 2015.



- 4) Bouaziz, J.D., et al.: Therapeutic B cell depletion impairs adaptive and autoreactive CD4<sup>+</sup> T cell activation in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. **104**: 20878–20883, 2007.
- 5) Yanaba, K., et al.: B cell depletion delays collagen-induced arthritis in mice: arthritis induction requires synergy between humoral and cell-mediated immunity. *J Immunol*. **179**: 1369–1380, 2007.
- 6) Xiu, Y., et al.: B lymphocytes depletion by CD20 monoclonal antibody prevents diabetes in NOD mice despite isotype-specific differences in FcγR effector functions. *J Immunol*. **180**: 2863–2875, 2008.
- 7) Hayakawa, I., et al.: B-lymphocyte depletion ameliorates Sjogren's syndrome in Id3 knockout mice. *Immunology*. **122**: 73–79, 2007.
- 8) Hasegawa, M., et al.: B-lymphocyte depletion reduces skin fibrosis and autoimmunity in the tight-skin mouse model for systemic sclerosis. *Am J Pathol*. **169**: 954–966, 2006.
- 9) Lund, F.: Cytokine-producing B lymphocytes – key regulators of immunity. *Curr Opin Immunol*. **20**: 332–338, 2008.
- 10) Leon, B., Lund, F.: IL-17-producing B cells combat parasites. *Nat Immunol*. **14**: 419–421, 2013.
- 11) Shen, P., et al.: IL-35-producing B cells are critical regulators of immunity during autoimmune and infectious diseases. *Nature*. **507**: 366–370, 2014.
- 12) Yanaba, K., et al.: A regulatory B cell subset with a unique CD1dhiCD5<sup>+</sup> phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses. *Immunity*. **28**: 639–650, 2008.
- 13) Iwata, Y., et al.: Characterization of a rare IL-10-competent B-cell subset in humans that parallels mouse regulatory B10 cells. *Blood*. **117**: 530–541, 2011.
- 14) Mizoguchi, A., Bhan, A.K.: A case for regulatory B cells. *J Immunol*. **176**: 705–710, 2006.
- 15) Kalampokis, I., et al.: IL-10-producing regulatory B cells (B10 cells) in autoimmune disease. *Arthritis Res Ther*. **15 suppl 1**: S1–12, 2013.
- 16) Yoshizaki, A., et al.: Regulatory B cells control T-cell autoimmunity through IL-21-dependent cognate interactions. *Nature*. **491**: 264–268, 2012.
- 17) Sato, S., et al.: Altered B lymphocyte function and systemic autoimmunity in systemic sclerosis. *Mol Immunol*. **41**: 1123–1133, 2004.
- 18) Yoshizaki, A.: B lymphocytes in systemic sclerosis: Abnormalities and therapeutic targets. *J Dermatol*. **43**: 39–45, 2016.
- 19) Tsuchiya, N., et al.: Association of a functional CD19 polymorphism with susceptibility to systemic sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum*. **50**: 4002–4007, 2004.
- 20) Tedder, T.F., et al.: Structure of the gene encoding the human B lymphocyte differentiation antigen CD20 (B1). *J Immunol*. **142**: 2560–2568, 1989.
- 21) Alas, S., et al.: Inhibition of interleukin 10 by rituximab results in down-regulation of Bcl-2 and sensitization of B-cell non-Hodgkin's lymphoma to apoptosis. *Clin Cancer Res*. **7**: 709–723, 2001.
- 22) Clynes, R., et al.: Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. *Nat Med*. **6**: 443–446, 2000.
- 23) Cragg, M., et al.: Complement-mediated lysis by anti-CD20 mAb correlates with segregation into lipid rafts. *Blood*. **101**: 1045–1052, 2003.
- 24) Winkler, U., et al.: Cytokine-release syndrome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia and high lymphocyte counts after treatment with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab, IDEC-C2B8). *Blood*. **94**: 2217–2224, 1999.
- 25) Emery, P., et al.: Efficacy and safety of different doses and retreatment of rituximab: a randomised, placebo-controlled trial in patients who are biological naive with active rheumatoid arthritis and an inadequate response to methotrexate (Study Evaluating Rituximab's Efficacy in MTX iNadequate rEsponders (SERENE)). *Ann Rheum Dis*. **69**: 1629–1635, 2010.
- 26) Catapano, F., et al.: Long-term efficacy and safety of rituximab in refractory and relapsing systemic lupus erythematosus. *Nephrol Dial Transplant*. **25**: 3586–3592, 2010.
- 27) Oddis, C.V., et al.: Rituximab in the treatment of refractory adult and juvenile dermatomyositis and adult polymyositis: a randomized, placebo-phase trial. *Arthritis Rheum*. **65**: 314–324, 2013.
- 28) Stone, J.H., et al.: Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med*. **363**: 221–232, 2010.
- 29) Guillevin, L., et al.: Rituximab versus azathioprine for maintenance in ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med*. **371**: 1771–1780, 2014.
- 30) Smith, V., et al.: Rituximab in diffuse cutaneous systemic sclerosis: an open-label clinical and histopathological study. *Ann Rheum Dis*. **69**: 193–197, 2010.
- 31) Lafyatis, R., et al.: B cell depletion with rituximab in patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*. **60**: 578–583, 2009.

- 32) Daoussis, D., et al.: Experience with rituximab in scleroderma: results from a 1-year, proof-of-principle study. *Rheumatology*. **49**: 271–280, 2010.
- 33) Daoussis, D., et al.: Effect of long-term treatment with rituximab on pulmonary function and skin fibrosis in patients with diffuse systemic sclerosis. *Clin Exp Rheumatol*. **30**: S17–22, 2012.
- 34) Jordan, S., et al.: Effects and safety of rituximab in systemic sclerosis: an analysis from the European Scleroderma Trial and Research (EUSTAR) group. *Ann Rheum Dis*. **74**: 1188–1194, 2015
- 35) Bosello, S.L., et al.: Long-term efficacy of B cell depletion therapy on lung and skin involvement in diffuse systemic sclerosis. *Semin Arthritis Rheum*. **44**: 428–436, 2015.
- 36) Von Bulow, G.U., et al.: Regulation of the T-independent humoral response by TACI. *Immunity*. **14**: 573–582, 2001.
- 37) Lesley, R., et al.: Reduced competitiveness of autoantigen-engaged B cells due to increased dependence on BAFF. *Immunity*. **20**: 441–453, 2004.
- 38) Matsushita, T., et al.: Elevated serum BAFF levels in patients with systemic sclerosis: enhanced BAFF signaling in systemic sclerosis B lymphocytes. *Arthritis Rheum*. **54**: 192–201, 2006.
- 39) Elhai, M., et al.: Outcomes of patients with systemic sclerosis-associated polyarthritis and myopathy treated with tocilizumab or abatacept: a EUSTAR observational study. *Ann Rheum Dis*. **72**: 1217–1220, 2013.
- 40) Fineschi, S., et al.: In vivo investigations on anti-fibrotic potential of proteasome inhibition in lung and skin fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*. **39**: 458–465, 2008.