

総 説

レギュラトリー B 細胞

築 場 広 一

Regulatory B cells

Koichi YANABA

Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, 1-7-1, Sakamoto, Nagasaki, 852-8501, Japan

(Received February 3, 2009)

summary

B cells positively regulate immune responses through antibody production and optimal CD4⁺ T cell activation. However, a specific and functionally important subset of B cells can also negatively regulate immune responses in mouse autoimmunity and inflammation models. The lack or loss of regulatory B cells has been demonstrated by exacerbated symptoms in experimental autoimmune encephalitis, chronic colitis, contact hypersensitivity, collagen-induced arthritis, and non-obese diabetic mouse models. We have recently found that IL-10-producing regulatory B cells predominantly localize within a rare CD1d^{hi}CD5⁺ B cell subset that shares cell surface markers with both B-1 and marginal zone B cells. We have labeled this specific subset of regulatory B cells as B10 cells to highlight that these rare CD1d^{hi}CD5⁺ B cells only produce IL-10 and are responsible for most IL-10 production by B cells, and to distinguish them from other regulatory B cell subsets that may also exist. This review focuses on the recent progress in this field and the exciting opportunities for understanding how this unique B cell subset influences diverse immune functions.

Key words—B lymphocyte; IL-10; Autoimmunity; Inflammation

抄 録

B 細胞は抗体産生や T 細胞活性化を通じて免疫反応に関与していることは知られていたが、近年になり炎症反応を制御する B 細胞が存在することが明らかになった。T 細胞の活性化を司るエフェクター B 細胞に対して、この免疫を抑制する B 細胞はレギュラトリー B 細胞と呼ばれている。筆者らは、マウスの脾臓に IL-10 産生 B 細胞が存在することを確認し、これらが CD1d^{hi}CD5⁺ の表現型を有していることを発見した。またアレルギー性接触皮膚炎のモデルである接触過敏反応において、この B 細胞が IL-10 依存性に炎症を抑制することを明らかにした。さらに多発性硬化症の早期にはレギュラトリー B 細胞が優位に働くが、進行するにしたがいエフェクター B 細胞が優位に働くことが明らかになった。このようにエフェクター B 細胞とレギュラトリー B 細胞のバランスが炎症や自己免疫の病態形成に重要であると考えられる。ヒトにおいてもレギュラトリー B 細胞の存在が示唆されており、将来さまざまな炎症性疾患や自己免疫疾患などの治療に応用できる可能性がある。

はじめに

近年の急速な免疫学研究の進歩によって、B 細胞は自己抗体を産生することによって自己免疫に関与しているのみならず、その他にも様々な機能を有しており、自己免疫において中心的な役割を担っていることが分かってきた。B 細胞は抗原と出会った場合に活性化され、形質細胞に分化し抗体を産生するが、そのほかにも免疫反応において多彩な役割を果たしている¹⁾ (図 1)。まず B 細胞は樹状細胞、マ

クロファージとともに抗原提示細胞として働く。同時に B7, CD40, OX40L などの共刺激分子を発現し、T 細胞上の共刺激分子と相互作用することにより T 細胞にシグナルを伝達する。抗原提示と共刺激分子を通じたシグナル伝達の両方が行われることによって T 細胞は活性化される。特に B 細胞は、樹状細胞とともに低濃度の抗原に感作された場合の CD4⁺ T 細胞の活性化に重要である²⁾。これらの T 細胞活性化を司る B 細胞はエフェクター B 細胞と呼ばれる。一方で、レギュラトリー B 細胞と呼ばれる B 細胞サブセットが自己免疫や炎症反応の抑制に重要な役割を果たしていることが次第に明らかにされて

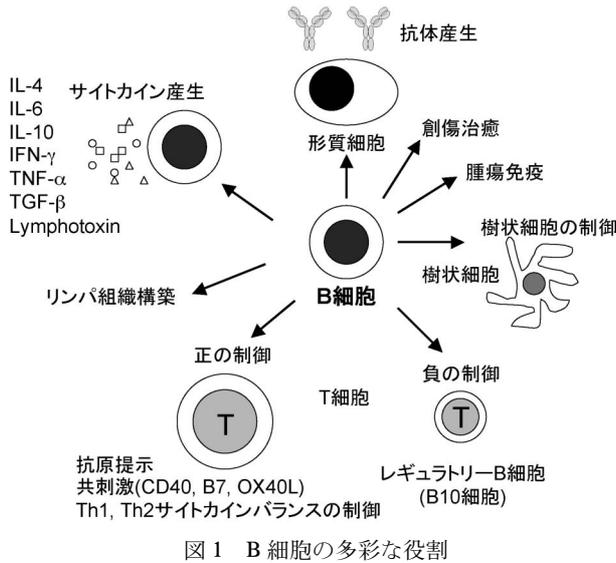


図1 B細胞の多彩な役割

きた。

I. レギュラトリー B 細胞の発見

B細胞を除去することにより遅延型過敏反応が増強されることが1974年に報告され、初めて免疫反応を抑制するB細胞の存在が指摘された³⁾。その後、主にB細胞を欠損したマウスを用いた研究で、多発性硬化症⁴⁾や炎症性腸疾患⁵⁾が重症化することが示されたが、そのメカニズムについては長い間不明のままであった。インターロイキン (interleukin ; IL)-10は免疫反応を抑制するサイトカインとして知られており、T細胞、マクロファージ、肥満細胞、好酸球、ケラチノサイトなど様々な細胞によって産生され⁶⁾、Th1, Th2の両方を抑制し、さらに樹状細胞の抗原提示やマクロファージからのサイトカイン産生を減少させる⁶⁾。近年になり、B細胞がIL-10を産生することにより自己免疫や炎症反応の抑制に重要な役割を果たしていることが次第に明らかにされてきた。マウスの疾患モデルを用いた研究により、多発性硬化症⁷⁾、関節リウマチ⁸⁾、炎症性腸疾患⁹⁾において、B細胞がIL-10を産生することにより過剰な免疫反応を制御するのに重要な役割を果たしていることが示されている。さらにこのほかにも炎症抑制作用を有するサイトカインであるTGF- β を産生することにより炎症を制御するB細胞の存在も示唆されており¹⁰⁾、現在ではこれらの炎症を制御するB細胞を総称してレギュラトリーB細胞と呼んでいる¹¹⁾。

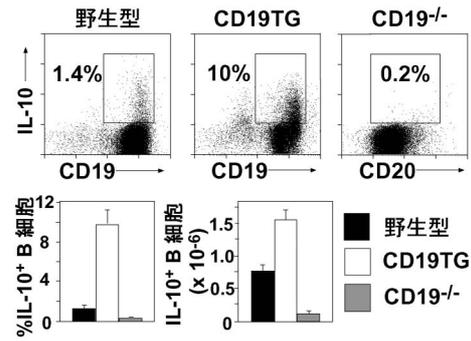
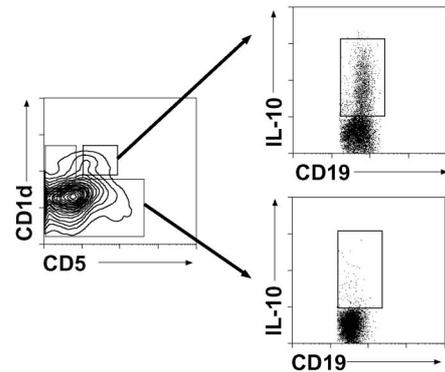


図2 CD19の発現はB細胞のIL-10産生を正に誘導する(文献14より改変)

図3 IL-10を産生する脾臓B細胞はCD1d^{hi}CD5⁺である(文献14より改変)

II. IL-10産生レギュラトリー B 細胞の同定

IL-10を産生するレギュラトリーB細胞がどのB細胞サブセットに属するのかといった点については、過去に数多くの報告がなされてきた。例えばB-1a細胞(CD5⁺)や、marginal zone B細胞(CD1d^{hi}CD21^{hi})、あるいはT2-marginal zone precursor B細胞(CD21^{hi}CD23^{hi})などのB細胞サブセットがIL-10を産生するとの報告がなされてきたが¹²⁾、これらの結果は相矛盾しておりその解明が待たれていた。

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¹³⁾、筆者らは、CD19を過剰発現したマウス(CD19TG)では、脾臓のIL-10産生B細胞が野生型マウスより有為に増加している一方、CD19を欠損したマウス(CD19^{-/-})では脾臓におけるIL-10産生B細胞がほとんど存在しないことを発見した¹⁴⁾。さらにこのIL-10産生B細胞がCD1d^{hi}CD5⁺という表現型を有しており、B-1a細胞やmarginal zone B細胞などと一部表面マーカーを共有しているものの、独立したサブセットに属し

ていることを明らかにした^{12,14)} (図 3). またこの B 細胞は IL-10 以外のサイトカインを産生しなかった. さらに CD1d^{hi}CD5⁺ 以外の B 細胞からは有為な IL-10 の産生は認めなかった^{12,14)}. 以上の結果から IL-10 産生レギュラトリー B 細胞は CD19 のシグナルに依存し, CD1d^{hi}CD5⁺ を発現する B 細胞サブセットに属することを証明し, これを B10 細胞と名付けた.

III. レギュラトリー B 細胞とアレルギー性接触皮膚炎

接触過敏反応は遅延型過敏反応のひとつであり, IV型アレルギーに分類される¹⁵⁾. 皮膚の表面に低分子化合物 (ハプテン) を塗布すると, 容易に皮膚に侵入する. そして生体蛋白質と結合し複合体を形成することにより表皮に存在するランゲルハンス細胞や樹状細胞といった抗原提示細胞に認識される. これらが所属リンパ節に遊走し T 細胞に抗原提示することにより, 記憶 T 細胞が形成され皮膚に動員される. この個体が再び同じハプテンに暴露され, 記憶 T 細胞に抗原提示されると活性化され, 各種サイトカインなどを分泌することにより炎症が引き起こされる. これはヒトのアレルギー性接触皮膚炎のモデルとして広く用いられている.

CD20 は B 細胞のみに特異的に発現される表面分子であり, 抗 CD20 抗体を用いることにより B 細胞のみを選択的に除去することが出来る¹⁶⁾. 筆者らは, 抗 CD20 抗体を接触過敏反応モデルに用いることにより, B10 細胞のアレルギー性接触皮膚炎における役割を検討した¹⁴⁾. 第 1, 2 日に腹部にハプテンを塗布し (感作), 第 6 日に耳介に再びハプテンを塗布することにより耳介の腫脹が出現する (誘導). この耳介の腫脹を測定することにより炎症反応の程度を評価した. 抗 CD20 抗体を投与し B 細胞を除去したマウスでは, コントロール抗体を投与したマウスに比べて有為に耳介の腫脹が増強された (図 4A). よって B 細胞は接触過敏反応において, 炎症を抑制する役割を担っていることが推察された.

次に接触過敏反応を一度誘導した CD20 ノックアウトマウスから CD1d^{hi}CD5⁺ B 細胞 (B10 細胞) および CD1d^{hi}CD5⁺ 以外の B 細胞 (non-B10 細胞) を採取し, 抗 CD20 抗体を投与したマウスに移植したところ, non-B10 細胞を移植したマウスでは耳介の腫脹に変化は見られなかったが, B10 細胞を移植したマウスでは有為に耳介の腫脹が抑制された (図 4B). また IL-10 ノックアウトマウスから採取した B10 細胞では抑制効果はみられなかったことから, B10 細胞は IL-10 依存性に炎症を抑制するこ

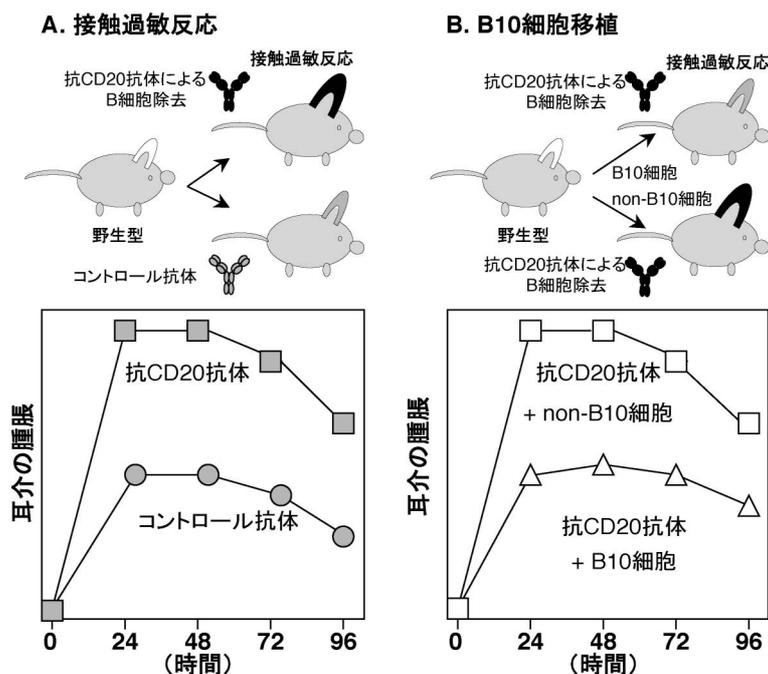


図 4 CD1d^{hi}CD5⁺ B 細胞 (B10 細胞) は接触過敏反応を抑制している (文献 12, 14 より改変)

A: 抗 CD20 抗体による B 細胞除去は接触過敏反応を増強する.

B: 接触過敏反応を誘導した CD20 ノックアウトマウスから採取した B10 細胞を B 細胞除去マウスに移植すると接触過敏反応は抑制される. 一方, non-B10 細胞を移植しても効果は見られない.

とが推察された。さらに接触過敏反応を誘導していないナイーブマウス、および異なるハプテンを投与したマウスの B10 細胞を移植しても抑制効果は見られなかったことから、B10 細胞は抗原特異的にアレルギー性接触皮膚炎を制御すると考えられた。

さらに接触過敏反応を誘発したマウスの脾臓と所属リンパ節から B 細胞を単離して IL-10 の発現をリアルタイム PCR で検討したところ、脾臓では著明な IL-10 の発現が見られたが、所属リンパ節では IL-10 の発現は見られなかった (図 5A)。また脾臓の B10 細胞および non-B10 細胞を単離して IL-10 の発現を調べたところ、B10 細胞のみが IL-10 を有為に発現していた (図 5B)。さらに興味深いことに、ナイーブマウスでは血中に IL-10 産生 B 細胞は見られないが、ハプテンで感作をしたマウスでは血中に IL-10 産生 B 細胞が出現し、耳介にハ

プテンを塗布するとやや減少する傾向が見られた (図 6)。以上の結果から、B10 細胞は脾臓から血流に入り直接炎症部位に到達し、局所において炎症を抑制する可能性が示唆された。今後炎症部位への B10 細胞の遊走の確認と、その炎症制御メカニズムの検討を明らかにする必要がある。

IV. 炎症、自己免疫性疾患におけるレギュラトリ-B 細胞

多発性硬化症は中枢神経系の炎症性脱髄疾患であり、髄鞘のミエリン蛋白を標的とした自己免疫疾患と考えられている。実験性自己免疫性脊髄炎 (experimental autoimmune encephalomyelitis ; EAE) は、様々な動物種にミエリン蛋白を免疫することにより多発性硬化症に非常に良く似た症状を呈する動物モデルであり、多発性硬化症の研究に広く用いられている。EAE の病態では B 細胞は非常に多彩な働きをしていると考えられている。B 細胞は EAE において抗原提示細胞として働き¹⁷⁾、またミエリン蛋白に対する自己抗体は中枢神経における脱髄、炎症を増強する¹⁸⁾。B 細胞欠損マウスは重症の EAE を発症するが、これは B 細胞の IL-10 産生が EAE を抑制するためと考えられている⁷⁾。興味深いことに、EAE の誘導前に抗 CD20 抗体を用いて B 細胞を除去すると EAE が悪化したのに対し、発症後に B 細胞を除去すると軽快した (図 7)。さらに B10 細胞の投与により EAE の軽快がみられた¹⁹⁾。よって EAE において初期にはレギュラトリ-B 細胞が優位に働くが、進行するにつれてエフェクター B 細胞が優位になると考えられる。またマウスの炎症性腸疾患モデルにおいても、CD19TG マウスでは腸炎が軽度になるが、CD19^{-/-}マウスでは逆に重症化する傾向が見られた (未発表データ)。ヒトで抗 CD20 抗体を用いて B 細胞除去を行ったことに

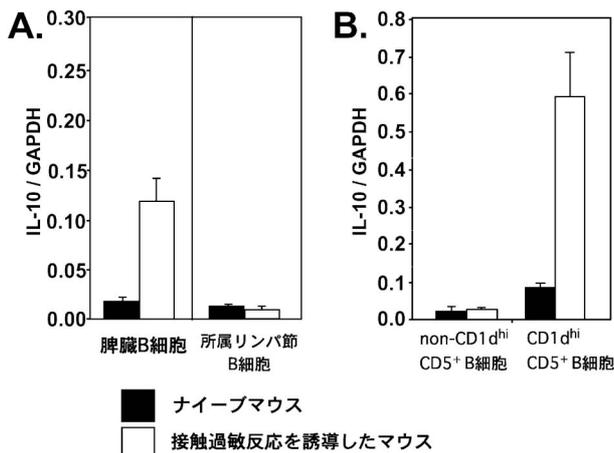


図 5 脾臓に存在する CD1d^{hi}CD5⁺B 細胞 (B10 細胞) は接触過敏反応において IL-10 を発現する (文献 14 より改変)
 A: 接触過敏反応を誘導したマウスの脾臓 B 細胞は IL-10 発現するが、所属リンパ節 B 細胞は有為な発現を示さない。
 B: IL-10 を発現する脾臓 B 細胞は CD1d^{hi}CD5⁺ である。

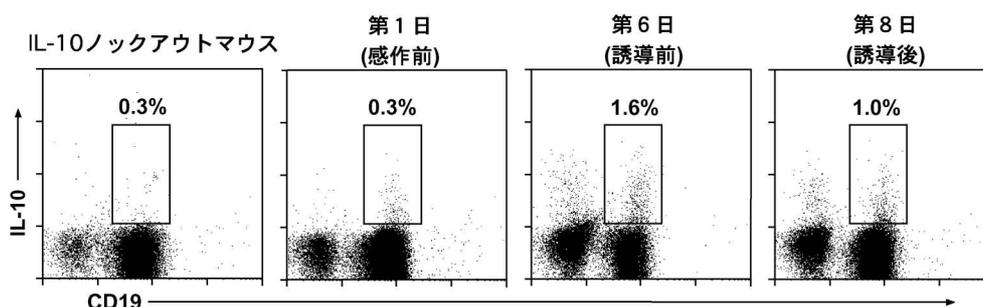


図 6 IL-10 産生 B 細胞は接触過敏反応において血中に出現する (文献 14 より改変)

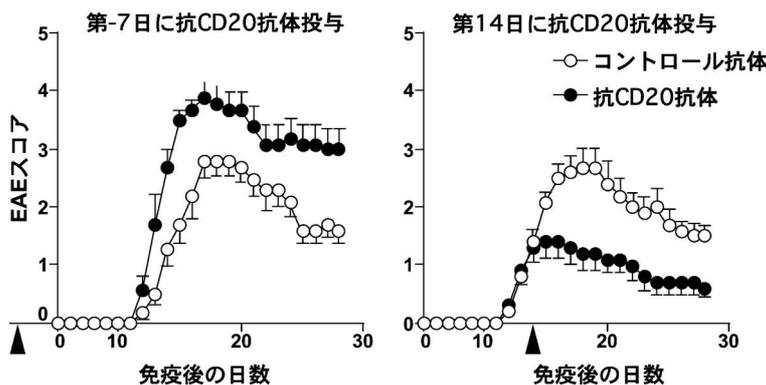


図7 EAEにおける抗CD20抗体療法の効果 (文献19より改変)

ミエリンペプチドと完全アジュバントを第0日に投与し、EAEを誘導した。第7日または第14日に抗CD20抗体を投与しB細胞除去を施行した。第7日にB細胞除去を行うと、EAEが増悪したが、第14日に投与するとEAEが軽快した。

より潰瘍性大腸炎が増悪した例²⁰⁾や乾癬が発症した例が報告されており²¹⁾、これらの疾患でもレギュラトリー B 細胞が重要な働きをしていると考えられる。

V. エフェクター B 細胞とレギュラトリー B 細胞のバランスが炎症、自己免疫疾患の病態を左右する

ヒトにおける治療やマウスを用いた研究によって、抗 CD20 抗体による B 細胞除去は、関節リウマチや全身性強皮症、1 型糖尿病、シェーグレン症候群、自己免疫性水疱症の症状を抑制することが示されている¹⁾。またヒトの再発寛解型多発性硬化症に対する抗 CD20 抗体の第 II 相試験において、2 週間おきに計 2 回の抗 CD20 抗体投与を行ったところ中枢神経病変の著明な減少が見られ、これは神経症状の改善と相関したとの報告がある²²⁾。これらの疾患ではおそらくエフェクター B 細胞がレギュラトリー B 細胞より優位に働いていると考えられる。一方で、早期の多発性硬化症や炎症性腸疾患などではレギュラトリー B 細胞がエフェクター B 細胞より優位に働いている可能性がある。おそらくエフェクター B 細胞とレギュラトリー B 細胞のバランスが炎症性疾患や自己免疫疾患の病態形成に重要ではないかと考えられる (図 8)。

VI. B10 細胞の発生と増殖シグナル

筆者らは各種サイトカインや抗体などを用いて in vitro で B 細胞を刺激し IL-10 産生 B 細胞の増殖を試みたところ、CD40 や Toll-like receptor のリガンドである lipopolysaccharide, CpG の刺激により

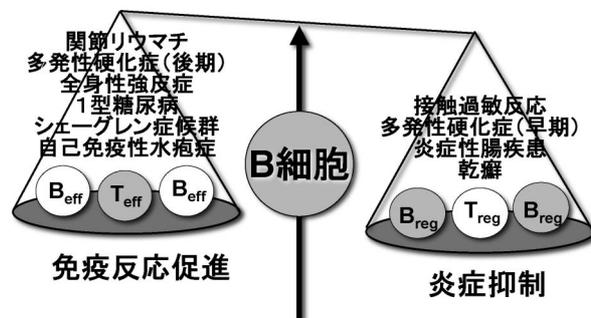


図8 エフェクター B 細胞とレギュラトリー B 細胞のバランスが自己免疫や炎症反応を左右する

IL-10 産生 B 細胞が有為に増加することを確認した²³⁾。これらの増加した IL-10 産生 B 細胞は全て CD1d^{hi}CD5⁺ であり、CD1d^{hi}CD5⁺ 以外の B 細胞は IL-10 を産生しなかった。このことから T 細胞との CD40-CD40L を介した相互作用や Toll-like receptor のシグナルが B10 細胞の増殖に重要であると考えられた。また CD40 の欠損マウスや Toll-like receptor のシグナル伝達に重要なアダプター分子である myeloid differentiation primary response gene88 を欠損したマウスでは B10 細胞に異常は見られなかったことから、これらは B10 細胞の発生自体には必要ないと考えられた。さらに全身性エリテマトーデスや 1 型糖尿病の自然発症モデルマウスにおける B10 細胞は、発症前と比べて発症後で著明に増加していたため、自己免疫自体が B10 細胞の増殖を誘導する可能性がある²³⁾。

おわりに

現在自己免疫疾患の治療では、主に副腎皮質ステ

ロイドやシクロスポリンなどの免疫抑制剤が広く用いられている。しかしこれらは免疫機能を非特異的に広く抑制するため、副作用もしばしば引き起こす。自己免疫疾患では B 細胞がこれまで考えられていた以上に重要な役割を担っており、抗 CD20 抗体などの B 細胞のみを標的にした治療を用いることにより、より効果的に病勢をコントロールできる可能性がある。反面 B 細胞は各疾患によって、また時期によって多彩な働きをするために、大半の B 細胞を無差別に除去することにより、例えばレギュラトリー B 細胞がエフェクター B 細胞より優位に働いている場合には、病気を悪化させるおそれもある (図 8)。今後さらに B 細胞の各疾患における機能を、より詳細に解明することが必要である。さらにもしヒトにおいてもレギュラトリー B 細胞を同定することができれば、将来難治性の炎症性疾患や自己免疫疾患などにおいてレギュラトリー B 細胞を用いた治療戦略が可能になるかもしれない。そのためにはレギュラトリー B 細胞の発生や炎症抑制メカニズム、増殖シグナル、in vitro における最適な増殖方法などを明らかにする必要がある、今後さらなる研究の集積に期待したい。

文 献

- 1) Yanaba, K. et al. : B-lymphocyte contributions to human autoimmune disease. *Immunol. Rev.* **223** : 284–299, 2008.
- 2) Bouaziz, J. D. et al. : Therapeutic B cell depletion impairs adaptive and autoreactive CD4⁺ T cell activation in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104** : 20882–20887, 2007.
- 3) Katz, S. I. et al. : B-cell suppression of delayed hypersensitivity reactions. *Nature.* **251** : 550–551, 1974.
- 4) Wolf, S. D. et al. : Experimental autoimmune encephalomyelitis induction in genetically B cell-deficient mice. *J. Exp. Med.* **184** : 2271–2278, 1996.
- 5) Mizoguchi, A. et al. : Suppressive role of B cells in chronic colitis of T cell receptor α mutant mice. *J. Exp. Med.* **186** : 1749–1756, 1997.
- 6) Asadullah, K. et al. : Interleukin-10 therapy-review of a new approach. *Pharmacol. Rev.* **55** : 241–269, 2003.
- 7) Fillatreau, S. et al. : B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10. *Nat. Immunol.* **3** : 944–950, 2002.
- 8) Mauri, C. et al. : Prevention of arthritis by interleukin 10-producing B cells. *J. Exp. Med.* **197** : 489–501, 2003.
- 9) Mizoguchi, A. et al. : Chronic intestinal inflammatory condition generates IL-10-producing regulatory B cell subset characterized by CD1d upregulation. *Immunity.* **16** : 219–230, 2002.
- 10) Tian, J. et al. : Lipopolysaccharide-activated B cells down-regulate Th1 immunity and prevent autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *J. Immunol.* **167** : 1081–1089, 2001.
- 11) Mizoguchi, A. et al. : A case for regulatory B cells. *J. Immunol.* **176** : 705–710, 2006.
- 12) Bouaziz, J. D. et al. : Regulatory B cells as inhibitors of immune responses and inflammation. *Immunol. Rev.* **224** : 201–214, 2008.
- 13) Fujimoto, M. et al. : B cell signaling and autoimmune diseases : CD19/CD22 loop as a B cell signaling device to regulate the balance of autoimmunity. *J. Dermatol. Sci.* **46** : 1–9, 2007.
- 14) Yanaba, K. et al. : A regulatory B cell subset with a unique CD1d^{hi}CD5⁺ phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses. *Immunity.* **28** : 639–650, 2008.
- 15) Wang, B. et al. : CD4⁺ Th1 and CD8⁺ type 1 cytotoxic T cells both play a crucial role in the full development of contact hypersensitivity. *J. Immunol.* **165** : 6783–6790, 2000.
- 16) Uchida, J. et al. : The innate mononuclear phagocyte network depletes B lymphocytes through Fc receptor-dependent mechanisms during anti-CD20 antibody immunotherapy. *J. Exp. Med.* **199** : 1659–1669, 2004.
- 17) Krishnamoorthy, G. et al. : Spontaneous opticospinal encephalomyelitis in a double-transgenic mouse model of autoimmune T cell/B cell cooperation. *J. Clin. Invest.* **116** : 2385–2392, 2006.
- 18) Linington, C. et al. : Augmentation of demyelination in rat acute allergic encephalomyelitis by circulating mouse monoclonal antibodies directed against a myelin/oligodendrocyte glycoprotein. *Am. J. Pathol.* **130** : 443–454, 1988.
- 19) Matsushita, T. et al. : Regulatory B cells inhibit EAE initiation in mice while other B cells promote disease progression. *J. Clin. Invest.* **118** : 3420–3430, 2008.
- 20) Goetz, M. et al. : Exacerbation of ulcerative colitis after rituximab salvage therapy. *Inflamm. Bowel Dis.* **13** : 1365–1368, 2007.

-
- 21) Dass, S. et al. : Development of psoriasis after B cell depletion with rituximab. *Arthritis Rheum.* **56** : 2715–2718, 2007.
- 22) Hauser, S. L. et al. : B-cell depletion with rituximab in relapsing-remitting multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* **358** : 676–688, 2008.
- 23) Yanaba, K. et al. : The Development and Function of Regulatory B Cells Expressing IL-10 B10 Cells Requires Antigen Receptor Diversity and TLR Signals. *J. Immunol.* **182** : In press, 2009.