総説

特集：新しい生物学的製剤を用いた難治性免疫疾患の治療

抗 CD20 抗体による自己免疫疾患の治療

田中良哉

Anti-CD20 antibody for the treatment of systemic autoimmune diseases

Yoshiya TANAKA

The First Department of Internal Medicine School of Medicine University of Occupational & Environmental Health, Japan

(Received January 5, 2004)

Key words—Autoimmunity; Biologics; Rheumatoid arthritis; Systemic lupus erythematosus; Treatment

抄録

関節リウマチ (RA) や全身性エリテマトーデス (SLE) 等の全身性自己免疫疾患の病態形成の過程で、B 細胞は自己反応性 T 細胞に対する抗原提示細胞、並びに、自己抗体産生細胞として中心的な役割を担う。CD20 は B 細胞に特異的な抗原であり、リツキシマブを用いた CD20 抗体療法は B 細胞リンパ腫を対象に保険収載される。欧米では、造血系自己免疫疾患、SLE や RA に対しても、CD20 抗体が試用され、認容性と有効性が報告される。著者らは、CD20 抗体療法の難治性 SLE に対する有効性と免疫異常リセットの可能性を示唆している。今後、自己免疫疾患の治療分野で、CD20 を標的とした治療が寛解導入へのブレイクスルーを齎せばと期待される。

I. 自己免疫疾患の病態における B 細胞は標的となり得るか

全身性エリテマトーデス (SLE) と関節リウマチ (RA) は、免疫寛容の破綻に伴う自己反応性 T 細胞を中心とした炎症病態が展開する代表的な全身性自己免疫疾患 (膠原病) である。例えば、RA の罹患滑膜では、クロナリティを有する T 細胞や抗体産生能を有する B 細胞の集積に伴う炎症が展開し、発熱、全身倦怠感、間質性肺炎などの関節外症候を併発する¹⁾。自己反応性 T 細胞の活性化は、B 細胞等の抗原提示細胞からの T 細胞受容体 TCR を介する抗原刺激と共刺激分子からのシグナルの共存で齎される。共刺激を阻害すると T 細胞は活性化されずに免疫寛容状態に陥る。自己寛容の破綻の結果拡大した T 細胞クローンは、当該組織へ遊出して細胞表面抗原やサイトカインを媒介として B 細胞を多クローン性に活性化し、過剰に産生された自己抗体による免疫複合体形成を介する病態を齎す (図 1)^{2,3)}。

即ち、自己免疫疾患の病態形成に於いて、B 細胞

は抗原提示を担う stimulator、並びに、自己抗体産生の responder として中心的な役割を司る (図 2)。したがって、B 細胞、並びに、共刺激分子などのリガンドである B 細胞表面抗原は、自己免疫制御の明確な標的となり得る。欧米では、RA やループス腎炎を対象に、共刺激分子を標的とした CTLA-4-Ig キメラ、CD40L 抗体、BlyS (B lymphocyte stimulator) 抗体等の臨床試験が開始されている^{4,5)}。同

図1 SLE 患者末梢血 B 細胞のポリクローナルな活性化と Ig 産生細胞への分化
B 細胞の IgG プラーク形成細胞 (PFC) を測定した (文献 2 より改変)。

図2 自己免疫疾患におけるB細胞の役割

自己反応性T細胞の活性化は、T細胞受容体を介する抗原刺激と共刺激分子からのシグナルの共存を必須とする。SLEのB細胞は、responderとして自己抗体を産生すると同時に、共刺激分子の発現を介してstimulatorとして自己反応性T細胞を活性化する。

様に、B細胞に特異的に発現するCD20分子も、魅力的な標的であり、CD20抗体によるB細胞の量的、或いは、質的な減衰による、B細胞-T細胞間相互作用の制御を介した免疫是正が期待される。

II. CD20分子と抗CD20抗体

CD19、CD20、CD21、CD22等のB細胞特異的表面抗原の中で、CD20分子は、遺伝子座を11q13に有する分子量35 kDaの4回膜貫通型疎水性糖蛋白質である。CD20は、他のB細胞分子と異なり、骨髓幹細胞には発現しない、抗体の結合による抗原抗体複合体の細胞内化や抗原変調が無い、可溶性CD20分子は存在しない、活性化B細胞では静止期の約4倍の発現量を示すなど、抗体療法の標的として有利な特性を併せ持つ。例えば、CD19は抗体で架橋形成すると強力なB細胞活性化シグナルを伝達するが、CD20に関しては明白な機能発現は見られず、CD20遺伝子をノックアウトしても顕著な免疫抑制が生ずるわけではない。

B細胞除去を目的として抗CD20抗体が、B細胞リンパ腫を対象に臨床使用が先行した。CD20抗体リツキシマブ(リツキサン®)は、マウスモノクローナル抗体IgG1の定常領域をヒトIgG1κで置換したキメラ抗体である。CD20抗体は、非抱合型抗体に分類され、抗体依存性細胞障害活性ADCCと補体依存性細胞障害活性CDCを介してB細胞を除去する。リツキシマブは、抗体定常領域(Fc)をヒト化しているため、反応効率はマウス抗体に比し遥かに高い。また、CD20抗体結合による抗体依存性B

細胞貪食作用、及び、MAPK活性化を介するB細胞アポトーシスの誘導作用も報告される⁶⁾。

本邦で、再発・再燃又は治療抵抗性CD20陽性indolent B細胞リンパ腫患者90症例を対象に施行された第II相試験では、リツキシマブ375 mg/m²/週1回、4週間反復投与により、約60%の奏効率が得られた。副作用は、発熱、悪寒等のグレード1の一過性副作用を高頻度に認めたが、グレード4の血液毒性やグレード3の非血液毒性はなかった。また、4例にHACAが最終投与4~12ヵ月後に出現したが、治療効果減弱は認めなかった。以上から、B細胞リンパ腫に対する有効性、化学療法と比較して軽度な有害事象が高く評価され、リツキシマブは、本邦では平成13年にCD20陽性低悪性度B細胞悪性リンパ腫に、さらに、平成15年9月に中・高悪性度を含むCD20陽性非ホジキンリンパ腫全般に適応承認された。

III. CD20抗体の自己免疫性血液疾患における臨床効果

CD20抗体の自己免疫疾患に対する臨床応用は、造血系の自己免疫疾患である特発性血小板減少性紫斑病ITPで最初に施行された。ステロイド薬抵抗性慢性ITPに対して、リツキシマブ375 mg/m²/週1回4週間反復、または、150 mg/m²投与後375 mg/m²/週1回3週間反復投与の10症例のうち、1例で部分寛解、2例で寛解を得た。有効例では、リツキシマブ投与後1週間以内に血小板数の回復が見られ、網内系マクロファージのFc受容体を介するIgG結合血小板の崩壊を阻害した可能性が示唆されている⁷⁾。

Quartierらは、6例の小児自己免疫性溶血性貧血AIHAに対して、リツキシマブ375 mg/m²/週1回4週間反復投与し、治療後15~22ヶ月後まで完全寛解を呈し、ステロイド薬や他の免疫抑制薬を中止し得た。治療後、B細胞消失と低γグロブリン血症が9ヶ月間持続したが、感染症を含む有害事象はなかった⁸⁾。さらに、成人のAIHA、寒冷凝集素症、混合型クリオグロブリン血症等の自己免疫性血液疾患に対するCD20抗体の有効性が報告される⁹⁾。

IV. RAに対するCD20抗体療法の試み

RAの治療は、免疫異常是正と臨床病態改善を目的とする抗リウマチ薬DMARD、及び、消炎鎮痛を目的とした抗炎症薬NSAIDの二本立てで行われ

る。関節破壊は RA の発症初期から始まることから、DMARD 療法は発症早期から使用が勧告されるが、関節破壊の進行抑制には不十分との認識もある¹⁰⁾。

RA に対する CD20 抗体療法の試みは、リツキシマブをステロイド薬大量、免疫抑制薬と併用し、短期強化療法による寛解導入を目標として試行された。Edwards らは、5 剤以上の DMARD による治療に抵抗性の RA 5 症例に、リツキシマブ 600 mg/週 1 回 4 週間反復、プレドニゾロン PSL 60 mg を 11~22 日間投与後中止又は 5 mg で維持、シクロホスファミド点滴 (IV-CY) 750 mg 計 2 回を併用投与した。その結果、1~2 ヶ月後に臨床症候の改善傾向を認め、6 ヶ月後に 3 例が ACR70、2 例が ACR50 を満たし、12~17 ヶ月まで治療効果が継続した¹¹⁾。その後、RA 22 症例に拡大し、リツキシマブ、PSL、IV-CY の併用療法を施行後、無治療期間を観察するとの試験が成され、治療終了後 6 ヶ月後に ACR70 を 8 症例が、ACR20 以上を 15 症例が満たした。反応群では、IgG-RF、IgA-RF や抗 CCP 抗体が著明に低下した¹²⁾。

さらに、欧州多国間で、161 症例の RA を対象とした臨床試験が、図 3 に示す 4 群から構成されるプロトコルで成された。MTX 以外の DMARD に不応で、疼痛・腫脹関節数 ≥ 8 、リウマトイド因子陽性、CRP ≥ 1.5 mg/dl、ESR ≥ 30 mm/時、朝のこわばり ≥ 45 分を満たす RA 症例を対象とした。末梢血 CD19 陽性 B 細胞は 2 週目には消失し、24 週間低値が持続するが、血中免疫グロブリン量の低下や感染症を含む有害事象も殆どなく高い認容性が得られた。治療終了 24 週後の各群の ACR20 と

ACR50 改善は図に示す。MTX+PSL 群とリツキシマブ+PSL 群間に有意差はなかった。その後無治療で 48 週後に、リツキシマブ+PSL+IV-CY 群の 22%、リツキシマブ+PSL+MTX 群の 35%が、ACR50 以上を維持し、寛解が維持されている¹³⁾。

V. SLE に対する CD20 抗体療法の有効性

SLE の急性期に於いて、疾患活動性が高く、臓器病変を伴う重症な病態に対しては、PSL 大量療法と免疫抑制薬の併用が推奨される¹⁴⁾。しかし、多くの治療薬は保険未収載で、臨床治験を経た治療薬の開発が必至である。SLE は、活性化 B 細胞による過剰な自己抗体産生により齎される免疫複合体病でもあり、B 細胞の表面分子は治療標的として重要で、CD20 を標的とした抗体療法は格好な免疫調節療法となり得る。

Anolik らは、臓器障害を有さない SLAM スコア ≥ 6 の SLE 18 症例に、PSL 80 mg/日、リツキシマブ 100 mg/m²/1 回、375 mg/m²/1 回、375 mg/m²/週 1 回 4 週間反復の 3 群で比較検討した。B 細胞の著明な減少と共に、紅斑、関節炎、倦怠感などの改善が得られたが、重篤な有害事象はなかった¹⁵⁾。また、Albert らは、疾患活動性の高い SLE 7 症例に対し、リツキシマブ 375 mg/m² 4 週反復投与による第 I 相臨床試験を行い、6 例で SLEDAI の改善を認め、3 例では 6 ヶ月以上の長期間寛解を維持し、1 例でステロイド中止に至った¹⁶⁾。

英国では、Leandro らを中心に、ステロイド薬と免疫抑制薬で制御不能で高い疾患活動性を有するループス腎炎 6 症例を対象に、リツキシマブ 500 mg を週 1 回 2 週間反復、PSL 60 mg/日、IV-CY

図 3 161 症例の RA を対象としたリツキシマブ比較試験のスケジュール (文献 13 より)
右数字は、治療終了後 24 週目における ACR20 および ACR50 を満たす割合を示す。*Group A との間で $p < 0.05$

750 mg 計 2 回を併用投与した (図 4)¹⁷⁾。全例で改善したが、4 例で英国疾患活動性スコア BILAG が著明に低下し、関節炎、漿膜炎、皮膚血管炎等の臨床症候、及び、尿蛋白量、赤沈、補体価、ds-DNA 抗体値等の検査成績も改善した。2 例は各 16, 22 ヶ月間、腎炎の寛解状態を維持している。末梢血 B 細胞数は、3~8 ヶ月間減少したが、重篤な有害事象はなかった。

著者らは、自己抗体の過剰産生を呈する重篤な治療抵抗性 SLE に、CD20 抗体が奏効した 3 症例を経験した。1 例目は、35 歳女性で、平成 3 年の発症以来、ループス腎炎や CNS ループスの寛解増悪を反復し、免疫抑制薬、ステロイドパルス療法、IV-CY、COP 療法、血漿交換療法等を反復したが、CNS ループスに伴う意識障害が増悪し、1 日尿蛋白

白量 7 g, ds-DNA 抗体値 1191 を示した。リツキシマブ 375 mg/m²/週 1 回を 2 週間反復投与し、5 日後意識が正常化し、ds-DNA 抗体値や尿蛋白量も改善した (図 5)¹⁸⁾。2 例目は、46 歳女性で、多発性筋炎の診断で近医にて 23 年間ステロイド治療をされたが、発熱、浮腫のため来院。腎障害、意識障害、汎血球減少、ds-DNA 抗体 334 を伴う SLE と診断し、ステロイド大量療法、IV-CY、血漿交換療法などを施行した。しかし、意識障害、痙攣、血小板減少などが進行し、リツキシマブ投与により、意識障害の回復と共に、SLEDAI も 37 から 10 へ回復した。3 例目は、56 歳女性で、SLE の診断で近医にて 23 年間ステロイド治療をされた。子宮頸癌術後に溶血発作、血管内赤血球凝集と CNS ループスを呈し、リツキシマブにより、赤血球凝集は消失し、溶血は改善し、輸血不要となった。

VI. CD20 抗体は自己免疫疾患の治療にブレークスルーを齎し得るか

RA に保険収載された抗 TNF- α 抗体は、強力な抗炎症作用を介して画期的な効果を齎すが、治癒に到る症例は殆どなく、SLE に対してはむしろ逆効果である。今後、病因や病態に本質的に関与する免疫シグナル異常を改善し、治癒を目指す次世代の生物製剤が望まれる。T 細胞の共刺激分子に対する CTLA4-Ig キメラ、CD40L 抗体、BlyS 抗体などがその候補に挙げられるが、T 細胞に APC 活性を発揮する B 細胞を選択的に制御する CD20 抗体も注目される¹⁹⁾。

図 4 SLE に対するリツキシマブの効果

SLE 6 症例を対象に、リツキシマブ 500 mg を週 1 回 2 週間反復、PSL 60 mg/日、IV-CY 750 mg 計 2 回を併用投与し、英国疾患活動性スコア BILAG の推移を示す。(文献 17 より改変)

図 5 重篤な CNS 障害を伴う SLE に対してリツキシマブが奏効した一症例 (文献 18 より改変)。

前述の欧州多国間の 161 例の難治性 RA に対する試験では、MTX 投与後に CD20 抗体リツキシマブ、大量ステロイド薬と IV-CY を併用し、その後無治療で経過観察を可能としているが、寛解が長期継続するならば興味深い¹³⁾。Leandro らは、CD20 抗体で治療した SLE や RA では、IgD⁺CD27⁻ ナイーブ B 細胞から再構築が生じ、自己抗体産生性 B 細胞への分化が制御されると報告する²⁰⁾。Albert らの CD20 抗体を投与した活動期 SLE 6 症例中、1 例はステロイド中止にまで改善している¹⁶⁾。著者らが経験した症例 1 では、CD20 抗体治療の 1 年後、末梢血 B 細胞数や血清 IgG 値は回復したが、ds-DNA 抗体消失と尿蛋白陰性が継続され、ステロイド薬減量を可能とし、職場復帰した (図 5)。また、症例 3 では、CD20 抗体により末梢血 B 細胞数が一旦消失後に回復したが、CD19 陽性細胞上の CD40 の発現は低値を維持し、さらに、CD4 陽性 T 細胞上の CD40L や活性化抗原 CD69 の発現も低値を維持している。

これらの結果より、CD20 抗体が、B 細胞制御を介して自己反応性 T 細胞による免疫異常の是正を齎し、自己免疫を一時的にもリセットしている可能性も示唆される。欧州多国間の RA に対する CD20 抗体短期強化療法も、免疫異常のリセットを目指すものである。即ち、TNF- α 等を標的とし、抗炎症による病態改善を目指す生物製剤を「第 1 世代」とするならば、T-B 細胞間相互作用に関与する細胞膜機能分子を標的とする CTLA4-Ig キメラ、CD40L 抗体、BlyS 抗体、また、CD20 抗体は、免疫異常を改善し、治癒を目指す「第 2 世代」とも言える。殊に、B 細胞活性化と過剰な自己抗体産生が主たる病態を成す SLE では、CD20 抗体の有効性は容易に予想できる。リツキシマブは、本邦の B リンパ腫に対する臨床試験、市販後調査では、グレード 3 以上の重篤な副作用は報告されておらず、さらに、腫瘍崩壊症候群の危惧を要さない自己免疫疾患に於いては、使用し易い薬剤であると言える。これらの経過を背景に、著者らは、治療抵抗性 SLE に対しリツキシマブを用いた第 I 相試験申請中である。問題も山積するが、免疫シグナル分子を標的とした生物学的製剤による自己免疫異常のリセットは、次世代の生物製剤が目指すものであり、自己免疫疾患の治療のブレークスルーとして飛躍的な臨床展開を齎すものと期待される。

謝 辞：本研究は、当講座免疫グループ諸氏のご協力によるものであり、謝辞を表する。

文 献

- 1) Firestein GS. : Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* **423** : 356–361, 2003.
- 2) Tanaka Y, Shirakawa F, Ota T, et al. : Mechanism of spontaneous activation of B cells in patients with systemic lupus erythematosus : analysis with anti-class II antibody. *J Immunol* **141** : 761–767, 1988.
- 3) Tanaka Y, Saito K, Shirakawa F, et al. : Production of B cell stimulating factors by B cells in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* **141** : 3043–3049, 1988.
- 4) Shanahan JC, Moreland LW, Carter RH. : Upcoming biologic agents for the treatment of rheumatic diseases. *Curr Opin Rheumatol* **15** : 226–236, 2003.
- 5) Boumpas DT, Furie R, Manzi S, et al. : A short course of BG9588 (anti-CD40 ligand antibody) improves serologic activity and decreases hematuria in patients with proliferative lupus glomerulonephritis. *Arthritis Rheum* **48** : 719–727, 2003.
- 6) Boye J, Elter T, Engert A. : An overview of the current clinical use of the anti-CD20 monoclonal antibody rituximab. *Ann Oncol* **14** : 520–535, 2003.
- 7) Stasi R, Stipa E, Forte V, et al. : Variable patterns of response to rituximab treatment in adults with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* **99** : 3872–3873, 2002.
- 8) Quartier P, Brethon B, Philippet P, et al. : Treatment of childhood autoimmune haemolytic anaemia with rituximab. *Lancet* **358** : 1511–1513, 2001.
- 9) Silverman GJ, Weisman S. : Rituximab therapy and autoimmune disorders : prospects for anti-B cell therapy. *Arthritis Rheum* **48** : 1484–1492, 2003.
- 10) American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid arthritis guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. 2002 update. *Arthritis Rheum* **46** : 328–346, 2002.
- 11) Edwards JC, Cambridge G. : Sustained improvement in rheumatoid arthritis following a protocol designed to deplete B lymphocytes. *Rheumatol* **40** : 205–211, 2001.

- 12) Cambridge G, Leandro MJ, Edwards JC, et al. : Serologic changes following B lymphocyte depletion therapy for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* **48** : 2146–2154, 2003.
- 13) Szczepanski L, Szechinski J, Filipowicz-Sosnowska A, et al. : Safety data from 48 weeks follow-up of a randomised controlled trial of rituximab in patients with rheumatoid arthritis [abstract]. *Arthritis Rheum* **48** : S204, 2003.
- 14) Hahn BH. : Systemic lupus erythematosus. Harrison's Principles of Internal Medicine, 15th edition, (eds. By Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, et al), McGraw-Hill, Columbus p1922–1928, 2001.
- 15) Anolik JH, Campbell D, Felgar RE, et al. : The relationship of Fc. RIIIA genotype to degree of B cell depletion by rituximab in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **48** : 455–459, 2003.
- 16) Albert DA, Khan SR, Stansberry J, et al. : A phase I trial of rituximab (anti-CD20) for treatment of systemic L lupus erythematosus [abstract]. *Arthritis Rheum* **48** : S518, 2003.
- 17) Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge G, et al. : An open study of B lymphocyte depletion in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* **46** : 2673–2677, 2002.
- 18) Saito K, Nawata M, Nakayamada S, et al. : Successful treatment with anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) of life-threatening refractory systemic lupus erythematosus with renal and central nervous system involvement. *Lupus* **12** : 798–800, 2003.
- 19) Leandro MJ, Edwards JCW, Cambridge G, Ehrenstein MR. : B-cell repopulation occurs mainly from naive B cells in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus treated with rituximab [abstract]. *Arthritis Rheum* **48** : S1160, 2003.
- 20) Anolik J, Sanz I, Looney RJ. : B cell depletion therapy in systemic lupus erythematosus. *Curr Rheumatol Rep* **5**, 350–356, 2003.