

## 総 説

## 制御性 B 細胞と自己免疫性疾患

松下 貴史

## Regulatory B cell and autoimmune disease

Takashi MATSUSHITA

Department of Dermatology, Kanazawa University Graduate School of Medical Science

(Received July 31, 2010)

## summary

Regulatory B cells that produce IL-10 are now recognized as an important component of the immune system. Hallmark papers from a number of distinguished laboratories have identified phenotypically diverse B cell subsets with regulatory functions during distinct autoimmune diseases, including IL-10-producing B cells, CD5<sup>+</sup> B-1a cells, CD1d<sup>+</sup> marginal zone B cells, and transitional 2-marginal zone precursor B cells. Most recently, a numerically rare and phenotypically unique CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup>CD19<sup>hi</sup> subset of regulatory B cells has been identified in the spleens of both normal and autoimmune mice. Remarkably, regulatory B cells are potent negative regulators of inflammation and autoimmunity in mouse models of disease *in vivo*. Herein, our current understanding of regulatory B cell function is reviewed in the context of previous studies that have identified and characterized regulatory B cells.

**Key words**—regulatory B cell; IL-10; autoimmune disease; EAE

## 抄 録

近年、免疫応答における IL-10 を産生する制御性 B 細胞の重要性が明らかにされてきた。しかしながら、制御性 B 細胞の分画の報告としては B1a 細胞 (CD5<sup>+</sup>)、Marginal zone B 細胞 (CD1d<sup>hi</sup>CD21<sup>hi</sup>)、T2-marginal zone precursor B 細胞 (CD1d<sup>hi</sup>CD21<sup>hi</sup>CD23<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup>) など統一した見解がなかったが、CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup>CD19<sup>hi</sup> の表現形であることが明らかとなった。特に、制御性 B 細胞の研究は自己免疫性疾患モデルマウスを使用した研究で、多くのことが解明されてきた。今回、自己免疫性疾患における制御性 B 細胞の研究でこれまで解っている知見をまとめ、その機能、治療への応用の可能性につき概説する。

## はじめに

B 細胞は液性免疫応答を介して免疫を促進的に制御することがこれまで広く知られていた<sup>1,2)</sup>。しかしながら、B 細胞は抗体産生のみならず、抗原提示能やサイトカイン産生能を介して T 細胞の活性化にも重要な働きをしていることが明らかになってきた<sup>3~5)</sup>。さらに B 細胞表面上の CD80, CD86, OX40L のような副刺激分子が CD4<sup>+</sup> T 細胞活性化に重要である<sup>6,7)</sup>。よって B 細胞は抗体産生以外にも免疫応答を促進的に制御する。

一方、B 細胞が免疫応答を抑制的にも制御することが複数のマウスモデルにて証明されてきた<sup>8~12)</sup>。さらに Mizoguchi らにより “regulatory B cells (制

御性 B 細胞)” という概念が提唱された<sup>8)</sup>。一般に制御性 B 細胞は IL-10 を産生する B 細胞亜集団であるが、各モデルにより表現形が若干異なり、いまだ統一したものが同定されていなかった。近年、この IL-10 を産生する制御性 B 細胞が CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup>CD19<sup>hi</sup> を有することが報告された<sup>13)</sup>。この制御性 B 細胞は IL-10 産生を介して抗原特異的に T 細胞の活性化を抑制することが明らかとなった<sup>13~15)</sup>。

## I. 制御性 B 細胞の歴史

制御性 B 細胞の研究は、1974 年に Katz らが接触過敏反応において B 細胞が免疫抑制に重要であることを報告したことに始まる。1990 年代には、Mizoguchi<sup>16)</sup> や Wolf<sup>17)</sup> が遺伝的に B 細胞を欠損したマウスを用いて、炎症性腸炎や多発性硬化症のモデルマウスで症状が重症化すること、B 細胞が炎症

の抑制に重要であることを報告した。さらに、2000年代に入り、Fillatreau<sup>18)</sup> や Mauri<sup>19)</sup> が、IL-10 の産生を介して B 細胞が炎症反応を抑制することを報告し、この分野の研究がめざましく進むこととなった。IL-10 は免疫応答を強力に抑制するサイトカインで、T 細胞や抗原提示細胞の活性化を抑制する働きがある。

## II. 制御性 B 細胞の同定

これまで IL-10 を産生する B 細胞の亜集団の報告としては、Marginal zone B 細胞 (CD1d<sup>hi</sup>CD21<sup>hi</sup>)、T2-marginal zone precursor B 細胞 (CD1d<sup>hi</sup>CD21<sup>hi</sup>CD23<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup>) や B1a 細胞 (CD5<sup>+</sup>) との報告がなされていたが、統一した見解がなかった。そこで IL-10 を産生する B 細胞の亜集団を同定するために、細胞内サイトカイン染色による方法が用いられた<sup>13)</sup>。Monensin の存在下、LPS, PMA, ionomycin でマウス脾臓細胞を 5 時間培養すると B 細胞の約 2% が IL-10 を産生することが示された (図 1A)<sup>13)</sup>。この刺激条件で、IL-10<sup>+</sup> B 細胞と IL-10<sup>-</sup> B 細胞

の表面マーカーを解析したところ IgM<sup>hi</sup>IgD<sup>lo/hi</sup>CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup>CD11b<sup>lo</sup>CD19<sup>hi</sup>CD21<sup>int/hi</sup>CD23<sup>-/lo</sup>CD24<sup>hi</sup>CD43<sup>+/-</sup>CD93<sup>-</sup>B220<sup>+</sup> という表現形であった (図 1B)。特に CD1d と CD5 は有用なマーカーで IL-10 を産生する B 細胞の大半は CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> B 細胞である<sup>13)</sup>。一般に CD1d は様々な細胞で発現しているが、特に Marginal zone B 細胞でその発現が増強される。よって、CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> 制御性 B 細胞の表現形の一部は Marginal zone B 細胞と共通している。しかしながら、CD5 陽性という点では通常の Marginal zone B 細胞とは一線を画す、unique な表現形を持っている点が特徴である。

## III. 制御性 B 細胞と自己免疫性疾患モデルマウス

これまで自己免疫性疾患モデルマウスを用いて、B 細胞の役割が検討されてきた。B 細胞は自己免疫の発症において促進的にも抑制的にも働くことが明らかとなり、そのバランスが重要であると考えられている。代表的な自己免疫性疾患モデルマウスにおける B 細胞の役割、特に制御性 B 細胞の研究結果

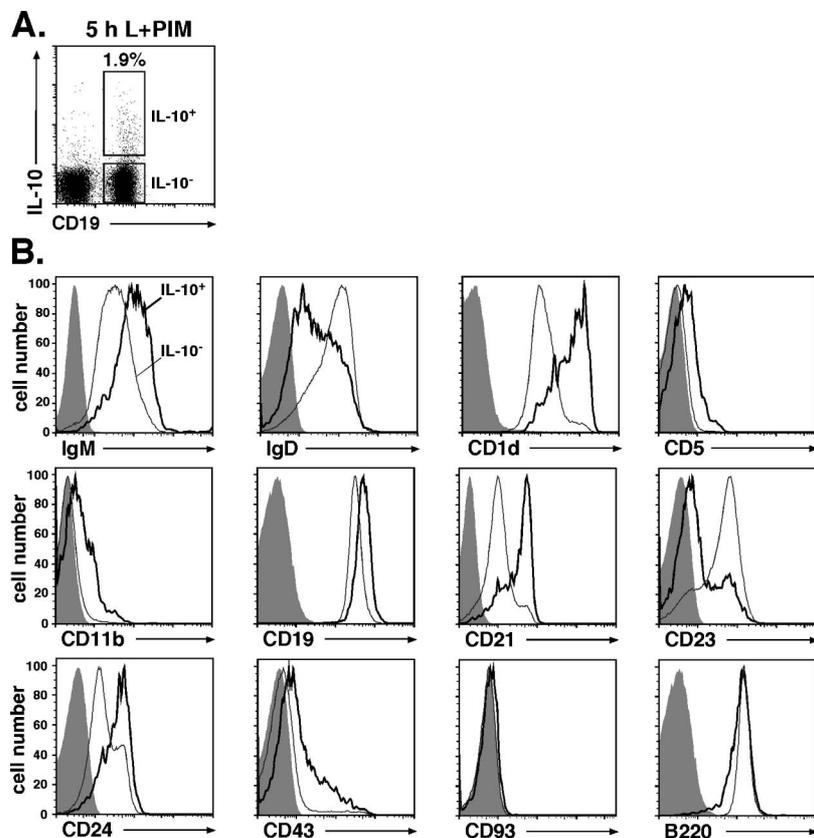


図 1 CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> 制御性 B 細胞 (文献 15 から改変)

A : L + PIM (LPS + PMA, ionomycin, Monensin) で 5 時間刺激後の IL-10 染色

B : IL-10 産生 B 細胞は IgM<sup>hi</sup>IgD<sup>lo/hi</sup>CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup>CD11b<sup>lo</sup>CD19<sup>hi</sup>CD21<sup>int/hi</sup>CD23<sup>-/lo</sup>CD24<sup>hi</sup>CD43<sup>+/-</sup>CD93<sup>-</sup>B220<sup>+</sup> であった。

についてまとめた。

## 1. EAE

EAE はミエリン関連タンパク (MOG など) を免疫することにより誘導できる多発性硬化症のモデルマウスである<sup>20,21</sup>。ミエリン反応性 CD4<sup>+</sup> T 細胞が中枢神経系に浸潤し脱髄を起こし麻痺症状を引き起こす。遺伝的に B 細胞を欠損したマウスに EAE を発症させたところ、EAE が重症化し回復が遅れることを Wolf らが最初に報告したのが制御性 B 細胞と EAE の研究の始まりである。さらに Fil-latreau らは B 細胞による EAE の抑制効果は B 細胞由来の IL-10 産生が重要であることを報告した<sup>18</sup>。さらに B 細胞由来の IL-10 の産生には CD40 の刺激が不可欠であることも示している。さらに最近の報告では、B 細胞由来の IL-10 産生には TLR の刺激、特に TLR-2/4 の刺激が重要であることを報告している<sup>22</sup>。著者らは EAE で抗 CD20 抗体を

使った B 細胞除去療法を行い、EAE 発症前に B 細胞除去療法を行ったところ EAE が増悪することを示した<sup>14</sup>。さらに、B 細胞除去された EAE マウスに CD20<sup>-/-</sup> マウス由来 (抗 CD20 抗体により除去されない) の CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> B 細胞を移入したところ、症状の改善が認められたことより CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> 制御性 B 細胞が EAE の抑制に重要であることを解明した (図 2B)。さらに IL-10<sup>-/-</sup>CD20<sup>-/-</sup> マウス由来の CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> B 細胞を移入しても効果が見られなかったことより、IL-10 産生を介した抑制効果であることが示唆された (図 2C)。一方、EAE 発症後に B 細胞除去療法を行ったところ、EAE の症状の改善が見られた。このことより制御性 B 細胞は EAE の発症早期により重要であること、制御性 B 細胞とは正反対に EAE を促進的に作用させる B 細胞集団 (effector B 細胞) も存在することが示唆された。以上より、制御性 B 細胞は EAE の抑制に非常に重要である。

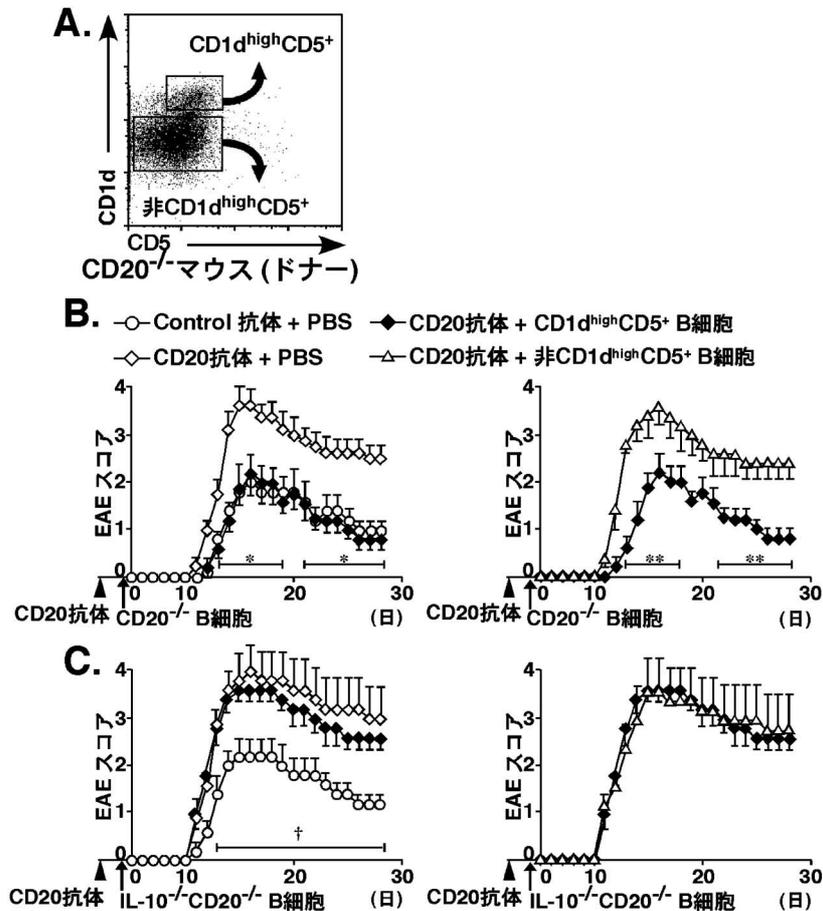


図 2 CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> 制御性 B 細胞の移入実験 (文献 14 から改変)

A : CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> B 細胞と非 CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> B 細胞を FACS でソーティング

B : CD20 抗体で B 細胞を除去すると EAE の増悪がみられるが CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> 制御性 B 細胞を移入すると正常化する。

C : IL-10 欠損 CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> B 細胞を移入しても効果なし。

## 2. 炎症性腸疾患

Mizoguchi らは TCR  $\alpha$  欠損マウスによる自然発症の炎症性腸疾患モデルに於いて、B 細胞は炎症性腸炎の発症に促進的に作用しないが、その抑制には非常に重要であることを報告している<sup>16)</sup>。さらに彼らは B 細胞の抑制効果には IL-10 産生を介していること、また gut-associated lymphoid 組織に存在する B 細胞では CD1d の発現が上昇していることを発見している<sup>23)</sup>。さらに腸間膜リンパ節由来の B 細胞の移入により炎症性腸炎を抑制しうることが報告し、その機序として制御性 T 細胞を増加させる作用があることを発見した<sup>24)</sup>。興味深いことに、リツキシマブによる B 細胞除去療法により潰瘍性大腸炎の増悪がみられた症例が報告されており、まさに制御性 B 細胞の除去による増悪が示唆される<sup>25)</sup>。以上より炎症性腸疾患においても制御性 B 細胞は重要な役割を有している。

### 3.1 型糖尿病

NOD マウスを用いた 1 型糖尿病モデルマウスにおける B 細胞の役割は、促進的な役割<sup>26)</sup>と抑制的な役割<sup>27,28)</sup>、両方が報告されている。NOD マウスで BCR 刺激した脾臓 B 細胞を移入すると糖尿病の発症を遅延させる。この抑制効果は IL-10<sup>-/-</sup> B 細胞では認められないことより、やはり B 細胞由来の IL-10 産生が重要である。その機序としては制御性 B 細胞が活性化した CD4<sup>+</sup> T 細胞を Th2 にシフトさせることが想定されている<sup>27,28)</sup>。また、他の報告では LPS で刺激した B 細胞が NOD の糖尿病の発症を抑制することを発見している。その作用としては B 細胞の Fas リガンドの発現増強や TGF- $\beta$  の産生を介しての抑制作用が考察されているが、IL-10 については充分解析されていない<sup>28)</sup>。以上より、糖尿病モデルマウスにおいて制御性 B 細胞が重要であること、活性化した B 細胞の移入による治療の可能性が示唆されている。

## 4. 関節リウマチ

collagen-induced arthritis (CIA) はコラーゲンを免疫することにより関節炎を発症する関節リウマチのモデルマウスである<sup>29)</sup>。B 細胞除去療法が関節炎の発症を有意に抑制することより、B 細胞は CIA の発症に促進的に働くと推測される<sup>30)</sup>。一方、Mauri らは B 細胞が CIA の発症に抑制的に働くことを報告しており<sup>19)</sup>、CIA に於いて B 細胞は相反

する作用を有することが考えられる。さらに Mauri らは CD40 で刺激すると B 細胞からの IL-10 産生が増強され、さらにこの CD40 で刺激された B 細胞を移入することにより CIA を抑制することを示した。また IL-10<sup>-/-</sup> B 細胞では、抑制作用が認められないことより B 細胞由来の IL-10 産生が不可欠であると考えられる。最近の報告で、Mauri らは IL-10 を産生する制御性 B 細胞は CD1d<sup>hi</sup>CD21<sup>hi</sup>CD23<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup> B 細胞の亜集団であり、T2-MZ precursor B 細胞に相当すると報告している。この CD21<sup>hi</sup>CD23<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup> 制御性 B 細胞を CIA 発症前に移入すると CIA の発症を抑制する。さらに CIA 発症後に制御性 B 細胞を移入することにより、すでに発症している関節炎を改善させる強力な作用も認められている<sup>31)</sup>。また CIA 発症前と発症後の CD21<sup>hi</sup>CD23<sup>+</sup>IgM<sup>+</sup> 制御性 B 細胞を比較すると CIA 発症後の制御性 B 細胞の方が有意に CIA を抑制することから、抗原特異的な制御性 B 細胞の存在が推測される。以上より、CIA では T2-MZ precursor 制御性 B 細胞が、関節炎の抑制に重要であると考えられる。

## IV. 制御性 B 細胞による治療

制御性 B 細胞の治療戦略を、著者らは EAE を用いて検討した<sup>32)</sup>。まず、EAE を誘導していないマウスの脾臓 B 細胞を使用し、CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> B 細胞と CD1d<sup>lo</sup>CD5<sup>-</sup> B 細胞それぞれを EAE に移入し評価したところ、明らかな抑制効果を認めなかった (図 3A 左端)。次に EAE を発症したマウスの脾臓 B 細胞を使用し CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> 制御性 B 細胞を移入したところ、有意に EAE スコアを抑制した (図 3A 左から 2 番目)。このことより、抗原特異的な制御性 B 細胞の重要性が示唆される。さらに治療効果を高めるため、CD40 と LPS にて刺激した CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> 制御性 B 細胞を移入すると、さらなる抑制効果が認められた (図 3A 左から 3 番目)。実際、CD40 と LPS にて刺激すると CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> 制御性 B 細胞に含まれる IL-10 産生 B 細胞の比率が劇的に増加する (図 3B)<sup>32,33)</sup>。また、IL-10<sup>-/-</sup> マウス由来の CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> B 細胞を移入しても効果が見られないことより (図 3A 右端)、B 細胞由来の IL-10 産生が不可欠であると考えられる。以上より、CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup> 制御性 B 細胞による自己免疫性疾患の治療の可能性が示された。

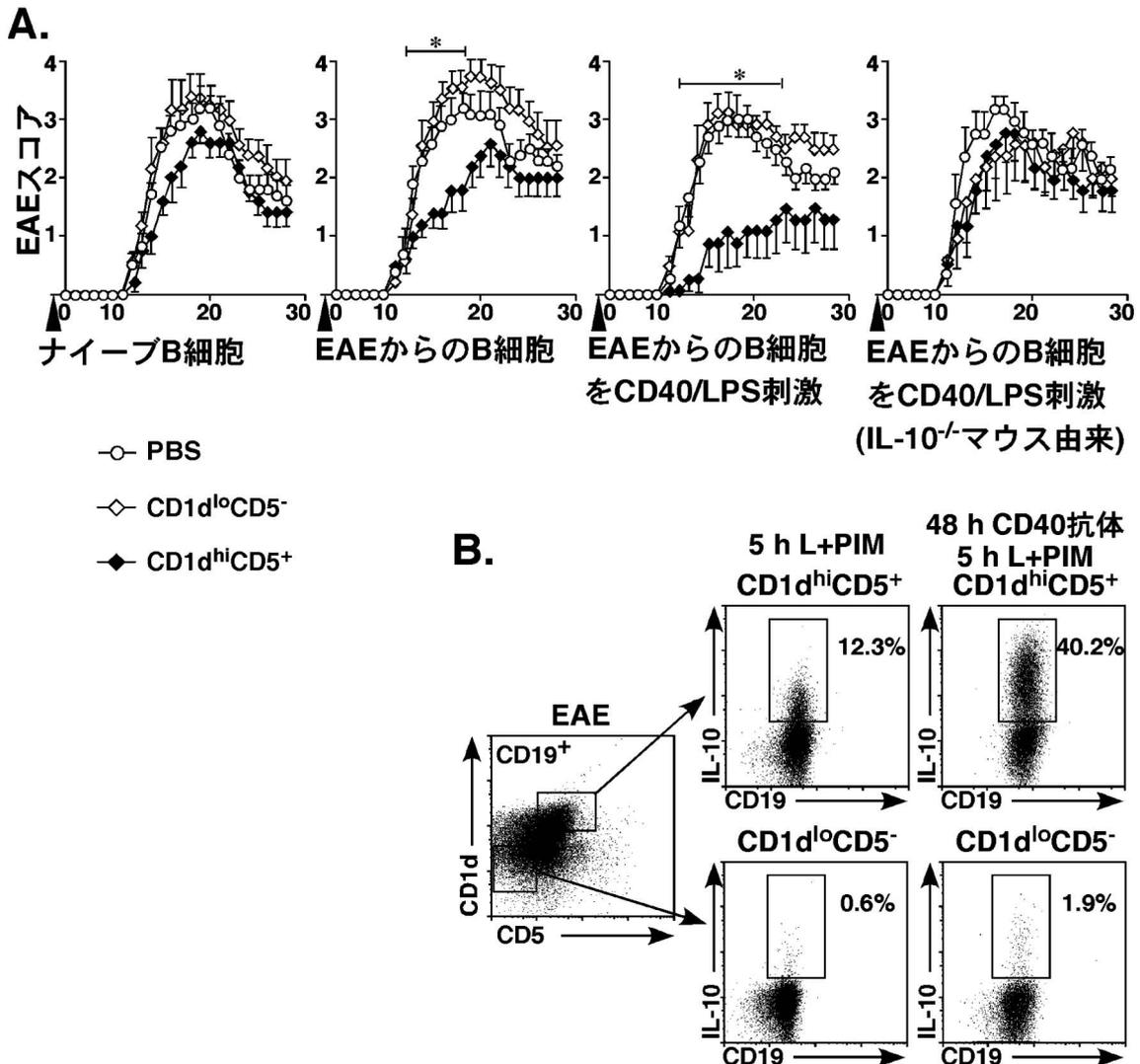


図3 制御性B細胞によるEAEの治療効果 (文献32から改変)

A: EAE誘導1日前にCD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup>B細胞, CD1d<sup>lo</sup>CD5<sup>-</sup>B細胞, PBSを静脈投与した.

B: CD1d<sup>hi</sup>CD5<sup>+</sup>B細胞, CD1d<sup>lo</sup>CD5<sup>-</sup>B細胞をFACSでソーティングし5時間L+PIM (LPS+PMA, ionomycin, Monensin)で刺激したIL-10陽性B細胞の結果と, 48時間CD40抗体, 5時間L+PIMで刺激したIL-10陽性B細胞の結果.

## V. 制御性B細胞の抑制機序

これまで, 制御性B細胞の重要性について多くの報告がなされてきたが, その機序についての解析はまだ充分されていない. 著者らは制御性B細胞がどのように自己免疫性疾患を制御するかを明らかにした<sup>32)</sup>. まず, 制御性B細胞とCD4<sup>+</sup>T細胞の共培養の実験系にて, 制御性B細胞はCD4<sup>+</sup>T細胞の細胞増殖抑制効果は認めないものの, サイトカイン産生能 (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) を有意に抑制することを解明した. さらに, 制御性B細胞は樹状細胞の抗原提示能を有意に抑制することもわかった (図4)<sup>32)</sup>. またIL-10受容体の発現を調べるとCD4<sup>+</sup>T細胞よりも, 樹状細胞やマクロファージなどの抗原

提示細胞により強く発現していることより, 制御性B細胞は抗原提示細胞により強く作用すると考えられる (図5). その他の作用としては制御性B細胞が制御性T細胞を増加させる可能性も考えられている.

## VI. ヒトでの制御性B細胞

ヒトでの制御性B細胞の研究はまだ始まったばかりだ<sup>12)</sup>. これまでの報告でヒトのB細胞がIL-10を産生することは報告されている. Burdinらは, ヒトの扁桃由来のB細胞をBCRとCD40で刺激することで, IL-10がわずかに検出されると報告している<sup>34)</sup>. またAmelらはSLE患者において, CD5<sup>+</sup>B細胞がIL-10を産生しうることを報告してい

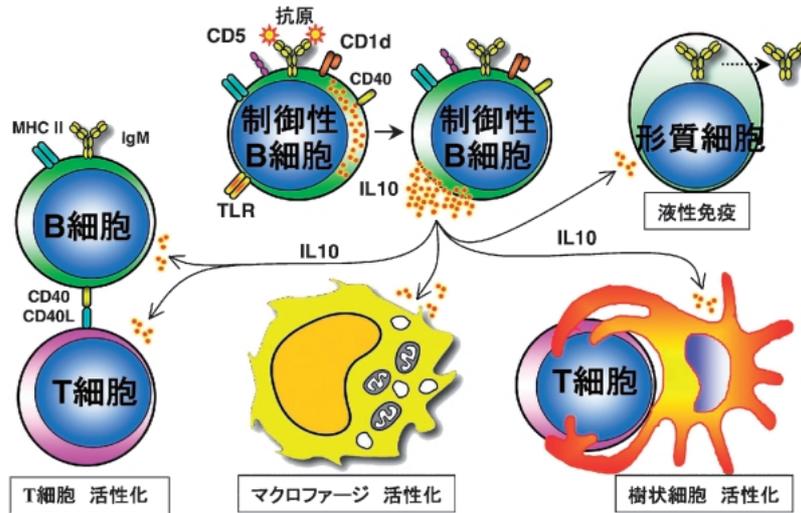


図4 制御性 B 細胞の抑制機序 (文献 15 から改変)

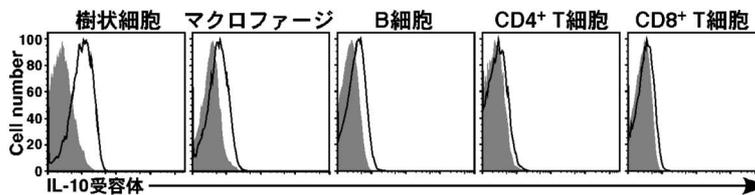


図5 IL-10 受容体の発現 (文献 32 から改変)

る<sup>35)</sup>。しかしながら別のグループの SLE 患者の研究では、 $CD154^+$  B 細胞が IL-10 を産生すると報告しており一定した見解がまだない。ごく最近、Mauri らによりヒトの IL-10 産生性 B 細胞の亜集団が  $CD19^+CD24^{hi}CD38^{hi}$  であると報告され<sup>36)</sup>、今後ヒトでの制御性 B 細胞の研究が飛躍的に進歩するものと予想される。また、多発性硬化症の患者では健常人と比べ B 細胞由来の IL-10 産生の減少が見られ、さらに治療とともに IL-10 産生が回復することが報告されており<sup>37)</sup>、ヒトでも制御性 B 細胞が免疫制御において重要な役割を有していることが推測される。

### VII. 今後の展望

これまで、主に自己免疫性疾患での制御性 B 細胞の研究が行われてきたが、今後は腫瘍免疫や感染免疫においてもその重要性が認識されることが予想される。腸管の寄生虫感染が制御性 B 細胞を増加させることが報告されており<sup>38,39)</sup>、都市化による寄生虫の感染率の減少が制御性 B 細胞を減少させ、その結果として自己免疫性疾患の発症が増加している可能性が考えられる。しかしながら、制御性

B 細胞の研究の一番の問題点は、制御性 T 細胞における FoxP3 のような特異的なマーカーがまだ未同定であることである。一日も早く、特異的なマーカーが発見されことを期待する。

### 文 献

- 1) LeBien TW, Tedder TF. : B-lymphocytes : How they develop and function. *Blood* **112** : 1570-1579, 2008.
- 2) DiLillo DJ, Hamaguchi Y, Ueda Y, et al. : Maintenance of long-lived plasma cells and serological memory despite mature and memory B cell depletion during CD20 immunotherapy in mice. *J. Immunol.* **180** : 361-371, 2008.
- 3) Linton PJ, Harbertson J, Bradley LM. : A critical role for B cells in the development of memory CD4 cells. *J. Immunol.* **165** : 5558-5565, 2000.
- 4) Crawford A, Macleod M, Schumacher T, et al. : Primary T cell expansion and differentiation in vivo requires antigen presentation by B cells. *J. Immunol.* **176** : 3498-3506, 2006.
- 5) Bouaziz JD, Yanaba K, Venturi GM, et al. : Therapeutic B cell depletion impairs adaptive

- and autoreactive CD4<sup>+</sup> T cell activation in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104** : 20882–20887, 2007.
- 6) O'Neill SK, Cao Y, Hamel KM, et al. : Expression of CD80/86 on B cells is essential for autoreactive T cell activation and the development of arthritis. *J. Immunol.* **179** : 5109–5116, 2007.
  - 7) Linton PJ, Bautista B, Biederman E, et al. : Costimulation via OX40L expressed by B cells is sufficient to determine the extent of primary CD4 cell expansion and Th2 cytokine secretion in vivo. *J. Exp. Med.* **197** : 875–883, 2003.
  - 8) Mizoguchi A, Bhan AK. : A case for regulatory B cells. *J. Immunol.* **176** : 705–710, 2006.
  - 9) Serra P, Santamaria P. : To 'B' regulated : B cells as members of the regulatory workforce. *Trends Immunol.* **27** : 7–10, 2006.
  - 10) Mauri C, Ehrenstein MR. : The 'short' history of regulatory B cells. *Trends Immunol.* **29** : 34–40, 2008.
  - 11) Lund FE. : Cytokine-producing B lymphocytes—key regulators of immunity. *Curr. Opin. Immunol.* **20** : 1–7, 2008.
  - 12) Bouaziz J-D, Yanaba K, Tedder TF. Regulatory B cells as inhibitors of immune responses and inflammation. *Immunol. Rev.* **224** : 201–214, 2008.
  - 13) Yanaba K, Bouaziz J-D, Haas KM, et al. : A regulatory B cell subset with a unique CD1d<sup>hi</sup> CD5<sup>+</sup> phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses. *Immunity* **28** : 639–650, 2008.
  - 14) Matsushita T, Yanaba K, Bouaziz J-D, et al. : Regulatory B cells inhibit EAE initiation in mice while other B cells promote disease progression. *J. Clin. Invest.* **118** : 3420–3430, 2008.
  - 15) DiLillo DJ, Matsushita T, Tedder TF. : B10 and regulatory B cells balance immune responses during inflammation, autoimmunity and cancer. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1183** : 38–57, 2010.
  - 16) Mizoguchi A, Mizoguchi E, Smith RN, et al. : Suppressive role of B cells in chronic colitis of T cell receptor  $\alpha$  mutant mice. *J. Exp. Med.* **186** : 1749–1756, 1997.
  - 17) Wolf SD, Dittel BN, Hardardottir F, et al. : Experimental autoimmune encephalomyelitis induction in genetically B cell-deficient mice. *J. Exp. Med.* **184** : 2271–2278, 1996.
  - 18) Fillatreau S, Sweeney CH, McGeachy MJ, et al. : B cells regulate autoimmunity by provision of IL-10. *Nat. Immunol.* **3** : 944–950, 2002.
  - 19) Mauri C, Gray D, Mushtaq N, et al. : Prevention of arthritis by interleukin 10-producing B cells. *J. Exp. Med.* **197** : 489–501, 2003.
  - 20) Pettinelli CB, McFarlin DE. : Adoptive transfer of experimental allergic encephalomyelitis in SJL/J mice after in vitro activation of lymph node cells by myelin basic protein : requirement for Lyt 1<sup>+</sup> 2<sup>-</sup> T lymphocytes. *J. Immunol.* **127** : 1420–1423, 1981.
  - 21) Williams KC, Ulvestad E, Hickey WF. : Immunology of multiple sclerosis. *Clin. Neurosci.* **2** : 229–245, 1994.
  - 22) Lampropoulou V, Hoehlig K, Roch T, et al. : TLR-activated B cells suppress T cell-mediated autoimmunity. *J. Immunol.* **180** : 4763–4773, 2008.
  - 23) Mizoguchi A, Mizoguchi E, Takedatsu H, et al. : Chronic intestinal inflammatory condition generates IL-10-producing regulatory B cell subset characterized by CD1d upregulation. *Immunity* **16** : 219–230, 2002.
  - 24) Wei B, Velazquez P, Turovskaya O, et al. : Mesenteric B cells centrally inhibit CD4<sup>+</sup> T cell colitis through interaction with regulatory T cell subsets. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102** : 2010–2015, 2005.
  - 25) Goetz M, Atreya R, Ghalibafian M, et al. : Exacerbation of ulcerative colitis after rituximab salvage therapy. *Inflamm. Bowel Dis.* **13** : 1365–1368, 2007.
  - 26) Xiu Y, Wong CP, Hamaguchi Y, et al. : B lymphocytes depletion by CD20 monoclonal antibody prevents diabetes in NOD mice despite isotype-specific differences in Fc $\gamma$ R effector functions. *J. Immunol.* **180** : 2863–2875, 2008.
  - 27) Hussain S, Delovitch TL. : Intravenous transfusion of BCR-activated B cells protects NOD mice from type 1 diabetes in an IL-10-dependent manner. *J. Immunol.* **179** : 7225–7232, 2007.
  - 28) Tian J, Zekzer D, Hanssen L, et al. : Lipopolysaccharide-activated B cells down-regulate Th1 immunity and prevent autoimmune diabetes in nonobese diabetic mice. *J. Immunol.* **167** : 1081–1089, 2001.
  - 29) Trentham DE, Townes AS, Kang AH. : Autoimmunity to type II collagen an experimental model of arthritis. *J. Exp. Med.* **146** : 857–868,

- 1977.
- 30) Yanaba K, Hamaguchi Y, Venturi GM, 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.
- 31) Evans JG, Chavez-Rueda KA, Eddaoudi A, et al. : Novel suppressive function of transitional 2 B cells in experimental arthritis. *J. Immunol.* **178** : 7868-7878, 2007.
- 32) Matsushita T, Horikawa M, Iwata Y, et al. : Regulatory B Cells (B10 Cells) and Regulatory T Cells Have Independent Roles in Controlling Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Initiation and Late-Phase Immunopathogenesis. *J. Immunol.* **185** : 2240-2252, 2010.
- 33) Yanaba K, Bouaziz J-D, Matsushita T, 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** : 7459-7472, 2009.
- 34) Burdin N, Rousset F, Banchereau J. : B-cell-derived IL-10 : production and function. *Methods* **11** : 98-111, 1997.
- 35) Amel Kashipaz MR, Huggins ML, Lanyon P, et al. : Assessment of Be1 and Be2 cells in systemic lupus erythematosus indicates elevated interleukin-10 producing CD5<sup>+</sup> B cells. *Lupus* **12** : 356-363, 2003.
- 36) Blair PA, Norena LY, Flores-Borja F, et al. : CD19(+)CD24(hi)CD38(hi) B cells exhibit regulatory capacity in healthy individuals but are functionally impaired in systemic Lupus Erythematosus patients. *Immunity* **32** : 129-140, 2010.
- 37) Duddy M, Niino M, Adatia F, et al. : Distinct effector cytokine profiles of memory and naive human B cell subsets and implication in multiple sclerosis. *J. Immunol.* **178** : 6092-6099, 2007.
- 38) Mangan NE, Fallon RE, Smith P, et al. : Helminth infection protects mice from anaphylaxis via IL-10-producing B cells. *J. Immunol.* **173** : 6346-6356, 2004.
- 39) Correale J, Farez M, Razzitte G. : Helminth infections associated with multiple sclerosis induce regulatory B cells. *Ann. Neurol.* **64** : 187-199, 2008.