

CARACTERÍSTIQUES DE LA RESPOSTA T A LES MALALTIES AUTOIMMUNITÀRIES

M. FOZ

Membre de la Secció de Ciències Biològiques de l'Institut d'Estudis Catalans
Professor de la Universitat Autònoma de Barcelona

Amb la col·laboració de

C. ROURA-MIR, D. JARAQUEMADA i R. PUJOL-BORRELL
Departament d'Immunologia. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.
Badalona

SUMMARY

Characterization of the cell mediated response to autoimmune disease.

During the last ten years, since the receptor that T cells use for the recognition of antigen was cloned, we have learned many aspects of the mechanisms by which T cells conduct the immune response. The central role of T cells in the immune response implies that they probably also drive the autoimmune response causing autoimmunity. The main standing questions regarding the involvement of T cells in these diseases are: 1) the subset of T cells driving the response, i.e. Th1 versus Th2, T α β versus T γ δ ; 2) the degree of oligoclonality of the response, i.e. restriction in the usage of the V and J segments of the TCR genes, number of T cell epitopes on the autoantigen; 3) possible role of superantigens in eliciting the autoimmune response; 4) which cytokines contribute to maintain the response; 5) presence of accessory molecules capable to give second signals at the target cell level.

To approach these questions a combination of immunohistological, T cell culture, T cell cloning and molecular techniques has been used in our and other laboratories. The preliminary results on thyroid autoimmune disease point to a polyclonal T cell response with a restriction in the number of T cell epitopes. Further studies are required to answer the remaining questions and to provide a basis for a specific immunotherapy.

INTRODUCCIÓ

El sistema immunològic és una xarxa complexa de diferents processos i interaccions que té com a funció la defensa de l'organisme. La resposta immunològica a un antigen estrany és el resultat de la integració de l'acció dels macròfags (les cèl·lules presentadores d'antigen), les citocines, els anticossos i els limfòcits T. Els limfòcits T tenen un paper central en la resposta immunològica: són els principals productors de citocines, són col·laboradors essencials en la producció d'anticossos i són efectors del dany tissular en la seva capacitat citotòxica i d'hipersensibilitat retardada (*Delayed Type Hypersensitivity*, DTH). El sistema immunològic pot fallar i atacar el que se suposa que ha de protegir, i això dóna com a resultat l'autoimmunitat.

LES MALALTIES AUTOIMMUNITÀRIES: PAPER DELS LIMFÒCITS T

El concepte genèric d'autoimmunitat agrupa diferents malalties que formen un espectre amb extrems ben definits. [1] En un dels extrems hi ha les malalties organo-específiques en les quals la reacció autoimmunitària és restringida a un únic òrgan. El prototipus d'aquestes malalties és la tiroïditis de Hashimoto. A l'altre extrem de l'espectre hi hauria les malalties autoimmunitàries no-organo-específiques, l'exemple clàssic de les quals és el lupus eritematós sistèmic (LSE). En el LSE les lesions estan disseminades i els autoanticossos són específics de dianes de distribució sistèmica. Al mig es troba tota una sèrie de malalties entre les quals hi ha aquelles amb anticossos específics d'un tipus cel·lular o de determinats receptors que poden estar presents en diferents òrgans, per exemple la miastenia gravis. [2] En altres casos la resposta autoimmunitària està localitzada, tot i que els autoantígens reconeguts tenen una distribució sistèmica. N'és un exemple la cirrosi biliar primària, [3] on es detecten anticossos anti-enzims mitocondrials però restringits al fetge. Aquesta classificació de les malalties autoimmunitàries té el mèrit d'agrupar processos que tenen tendència a agrupar-se en un mateix pacient o en familiars pròxims, la qual cosa suggereix l'existència d'un nexa patogènic comú.

Tot i que per a tenir una visió global del procés és necessari entendre el paper i l'aportació de tots i cadascun dels components abans esmentats de la resposta immunològica en cadascuna de les malalties autoimmunitàries, l'estudi dels limfòcits T i de la seva funció és essencial a causa del seu demostrat protagonisme en aquests processos. Els estudis realitzats en models experimentals com p. ex. l'encefalitis al·lèrgica experimental (EAE) [4] i l'artritis adjuvant [5] o la tiroïditis al·lèrgica experimental [6] confirmen que els limfòcits T fan un paper central en la iniciació, el manteniment i la regulació de les respostes autoimmunitàries, ja que en aquests casos s'han aïllat cèl·lules T autospecífiques derivades d'infiltrats limfocitaris dels òrgans afectats o de sang perifèrica, capaç de transferir la malaltia a individus sans.

Les cèl·lules T reconeixen els fragments de pèptids antigènics units a les molècules del complex principal d'histocompatibilitat (*Major Hystocompatibility Complex*, MHC) a través d'un receptor heterodimèric (TCR) de la superfície de la cèl·lula T format per una cadena α i una cadena β [7, 8] majoritàriament. Existeix també una subpoblació minoritària de cèl·lules T que expressen un TCR format per una cadena γ i una cadena δ . [9] Els gens que codifiquen aquestes molècules es reordenen abans i independentment dels de les cadenes α i β . Les cèl·lules $\gamma\delta$ constitueixen una subpoblació diferent de cèl·lules T que expressen CD3 però no CD4 ni en general CD8, i que formen entre un 2 i un 10 per cent de les cèl·lules T circulants en un adult normal. El receptor de la cèl·lula T és codificat per gens resultants dels reordenaments a l'atzar dels segments gènics V, D i J discontinus i insercions de regions N durant la maduració de la cèl·lula T. Aquesta reorganització proporciona una població de TCR molt heterogènia capaç de reconèixer una gran diversitat de complexos pèptid-MHC. [10, 11]

Aquest ampli repertori de cèl·lules T permet a l'individu respondre a una gran varietat d'agents nocius externs. El fet que el reordenament sigui, però, a l'atzar pot donar com a resultat cèl·lules T que reconeixin pèptids propis de l'individu i que per tant iniciïn una resposta autoimmunitària. En circumstàncies normals les cèl·lules T reactives contra antígens propis s'eliminen o inactiven en un procés de tolerització davant components propis. La tolerització davant determinats antígens propis pot fallar per causa/es desconegudes i donar com a resultat malalties autoimmunitàries.

TOLERÀNCIA I AUTOIMMUNITAT

La teoria segons la qual el sistema immunològic no respon a antígens propis la posà en evidència Paul Erlich: comprovà que, si bé aconseguia induir la formació d'anticossos contra els eritròcits de diversos animals o altres individus de la mateixa espècie mitjançant injecció intraperitoneal de sang, no aconseguia el mateix resultat quan injectava eritròcits autòlegs. Va descriure aquest fenomen com "*horror autotoxicus*", terme que descriu molt gràficament la resistència del sistema immunològic a produir anticossos contra antígens propis.

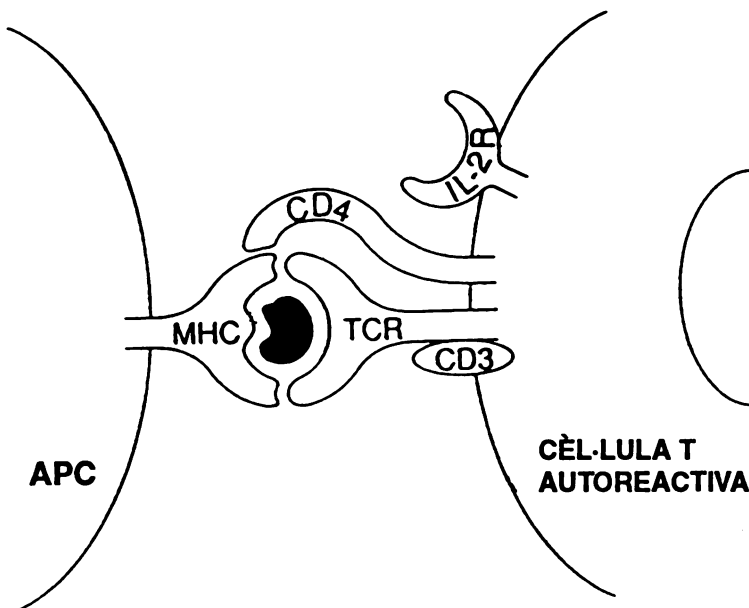


FIGURA 1. Diagrama que representa les interaccions moleculars d'una autoresposta.

El concepte de tolerància neix el 1946 a partir dels experiments d'Owen amb parelles de vedells dizigòtics: Owen comprovà que els vedells de la mateixa ventrada que havien compartit la circulació placentària durant la seva gestació mantenien en la circulació sanguínia cèl·lules que expressaven antígens corresponents als seus germans sense rebutjar-les i a més a més toleraven injerts de pell d'aquests germans. Aquesta observació i experiments posteriors donaren suport a la hipòtesi de Burnet i Fenner [12] segons la qual l'exposició del sistema immunològic a antígens foranis durant el desenvolupament anul·la la capacitat del sistema per a respondre a aquests antígens per deleció dels clons reactius. Això indicava que el sistema immunològic podia passar per un procés de tolerització durant la vida fetal de l'individu. El mecanisme de tolerització proposat per Burnet [13] era el de la *deleció clonal*, és a dir, aquelles cèl·lules T que presentaven un receptor que reconeixia un antígen propi durant la vida fetal eren eliminades. Han estat necessaris gairebé 40 anys d'avenços tecnològics per a poder comprovar que realment existeix una deleció clonal de les cèl·lules T autoreactives en el timus durant el període fetal i les primeres etapes del desenvolupament.

La utilització d'animals transgènics ha permès demostrar l'existència d'altres mecanismes de tolerància que no depenen de l'eliminació física dels clons autoreactius sinó de la seva inactivació funcional: *anèrgia clonal*. L'anèrgia clonal defineix l'estat d'una cèl·lula incapaç de reaccionar contra l'antigen per al qual és específica per una presentació "incorrecta" de l'antigen, es a dir, concentracions no adients, manca de segons senyals, etc. La tolerància que s'estableix per eliminació física o inactivació dels clons autoreactius durant la vida fetal té lloc al timus i s'anomena *tolerància central*. Tant l'anèrgia com la deleció clonal poden tenir lloc també al nivell de perifèria. En aquest cas parlem de *tolerància perifèrica*.

Existeixen altres mecanismes que impedeixen el reconeixement d'antígens propis per part de les cèl·lules T autoreactives. Un d'aquests mecanismes és l'anomenat silenci immunològic, en el qual l'antigen propi no és reconegut per les cèl·lules T simplement perquè no entren en contacte (antígens segrestats) o no entren en contacte en un context capaç d'activar-les. Ha esdevingut evident que el sistema immunològic no reconeix tots els possibles antígens presents en les moltes poblacions cel·lulars altament especialitzades presents als teixits perifèrics (p. ex. la retina, els conductes seminífers). En la majoria d'aquests teixits tan especialitzats l'expressió de molècules HLA i de molècules d'adhesió és molt baixa i normalment tenen molt poques cèl·lules presentadores d'antigen. Això constitueix una altra vàlvula de seguretat del sistema que evita la proliferació de respostes autoimmunitàries. Finalment, s'ha postulat l'existència de mecanismes supressors que podrien bloquejar la resposta dels limfòcits autoreactius [14] quan no s'eliminen completament les cèl·lules T autoreactives.

De tota manera, tot i els nombrosos mecanismes esmentats per a induir i mantenir la tolerància immunològica, apareixen cèl·lules T autoreactives per trencament d'aquesta tolerància. S'han descrit diversos factors que podrien

contribuir a la pèrdua de tolerància: presència d'al·lèls susceptibles del MHC, que poden unir-se i presentar un antigen propi i seleccionar cèl·lules T autoreactives; l'existència de cèl·lules T autoreactives a causa de reordenaments somàtics dels gens V, J, D del TCR, a la selecció positiva i negativa que pateixen en el timus i que eviten la inducció de la tolerància al nivell perifèric; la presentació dels autoantígens segrestats per expressió ectòpica de classe II en cèl·lules que no són presentadores "professionals"; defectes en la regulació de les cèl·lules T supressores específiques per a autoantígens; alliberament de citocines i altres senyals coestimuladoris necessaris per activar les cèl·lules T autoreactives. Entre els factors inductors de l'autoimmunitat i per tant responsables de la pèrdua de tolerància s'han suggerit possibles efectes d'altres *locus* a part del MHC (gens del TCR o de les immunoglobulines) o factors ambientals iniciadors de la resposta, com ara virus, superantígens o toxines.

EL LIMFÒCIT T EN LES MALALTIES AUTOIMMUNITÀRIES HUMANES

La resposta immunològica responsable de les malalties autoimmunitàries és, doncs, deguda a una estimulació persistent feta per antígens propis a cèl·lules T autoreactives que s'han escapat dels mecanismes de tolerància. Els mecanismes implicats s'han pogut estudiar en models experimentals, amb els quals s'ha pogut demostrar que:

1) Les cèl·lules T autoreactives reconeixen determinats pèptids, corresponents a epítops immunodominants i el reconeixement d'aquests pèptids, presentats per les molècules del MHC, desencadena els mecanismes autoefectors que donen lloc a la malaltia autoimmunitària.

2) Les cèl·lules T responsables de l'autoresposta fan un ús selectiu dels segments V β del seu TCR i això indica l'existència d'una resposta oligoclonal.

Aquests resultats corresponen bàsicament als estudis realitzats amb l'EAE, [15] que es pot induir en el ratolí i la rata per immunització amb la proteïna bàsica de la mielina (MBP), i que és considerada com un bon model experimental de l'esclerosi múltiple (MS). A l'EAE s'han aïllat cèl·lules T autospecífiques que reconeixen la MBP; s'han identificat els epítops immunodominants responsables de la resposta, les molècules MHC responsables de la restricció i la utilització preferent de determinats segments V β del TCR d'aquestes cèl·lules T autoreactives. En l'esclerosi múltiple, on es considera que la MBP també és l'autoantigen, s'han aïllat línies i clons de cèl·lules T, tant de sang perifèrica [16, 17] com de limfòcits infiltrants, [18] que reconeixen aquesta proteïna; s'ha caracteritzat la restricció MHC d'aquests clons [16 19] i també els epítops immunodominants de la MBP que aquests clons reconeixen. [16 19, 20] Els resultats pel que fa a l'ús de les diferents famílies de segments gènics del TCR per part d'aquests clons encara no són definitius. Sembla que hi ha un ús restringit en lesions específiques [18] però

això no s'ha comprovat en els clons aïllats a partir de sang perifèrica dels malalts. [20].

La identificació de les cèl·lules T autoreactives i la caracterització del seu TCR a les malalties autoimmunitàries humanes és, doncs, essencial per a poder comprendre els mecanismes patogènics en els quals estan involucrades les cèl·lules T.

SUBPOBLACIONS DE LIMFÒCITS T

Tant cèl·lules CD4 com CD8 estan implicades en els processos patològics, però quina és exactament la cèl·lula T responsable d'iniciar-los o en darrer terme de destruir l'òrgan diana és la qüestió fonamental per a poder entendre l'autoimmunitat. Per tal de poder contestar a aquestes qüestions, s'han aïllat les cèl·lules T de pacients afectats per malalties autoimmunitàries, s'han caracteritzat fenotípicament i funcional i s'ha determinat la seva especificitat autoantigènica i la configuració del seu TCR. En els estudis realitzats en les cèl·lules T aïllades de teixits afectats, s'ha vist que les cèl·lules CD8 predominen en aquells òrgans que pateixen un procés de destrucció sever, p. ex. tiroïditis de Hashimoto, [21] mentre que en els teixits amb danys lleus, p. ex. malaltia de Graves-Basedow, [22, 23] s'expandeixen majoritàriament les cèl·lules CD4. Tot i que es poden aïllar i expandir cèl·lules T autoreactives CD4 a partir de sang perifèrica dels individus afectats per aquestes malalties, [24-26] les cèl·lules T autoreactives CD8 no es poden obtenir fàcilment a partir de sang perifèrica, probablement pel fet que aquestes cèl·lules són poc freqüents, o bé perquè han desaparegut del *pool* general de limfòcits circulants.

Els estudis funcionals han demostrat que clons de cèl·lules T CD4 autoreactives poden proliferar en presència de cèl·lules diana que expressin molècules HLA de classe II [22, 23, 27] o també en presència d'antígens ja processats i presentats per cèl·lules presentadores d'antigen (APC) HLA compatibles. [28] També s'ha comprovat que en determinades circumstàncies aquestes cèl·lules T poden danyar cèl·lules diana [22] o APC compatibles en presència d'autoantígens apropiats *in vitro*. En el cas dels clons de cèl·lules T autoreactives CD8 ha estat molt més difícil provar directament els seus efectes citotòxics *in vitro*. Això podria ésser degut a problemes en l'obtenció de cèl·lules diana a partir del teixit lesionat autòleg, p. ex., tiroïditis de Hashimoto, o a la impossibilitat d'aconseguir material adient de donants HLA compatibles.

Tot i aquestes dificultats, hi ha indicis sobre l'efecte citotòxic d'aquestes cèl·lules CD8 *in vivo*. L'evidència més clara es troba en el fet que quan segments de pàncrees es trasplanten a individus amb diabetis tipus I i HLA idèntics (p. ex. bessons o germans idèntics), no només hi ha una recurrència de la diabetis clínicament detectable en poques setmanes, sinó que la majoria de les cèl·lules que infiltren els illots del pàncrees trasplantat són CD8, [29, 30] un patró cel·lular semblant al que s'observa en el moment del debut, quan les cèl·lules CD8 predominen en els infiltrats dels illots. [31].

Pel que fa a la subpoblació de cèl·lules abans esmentada, T $\gamma\delta$ +, els estudis realitzats al nostre laboratori [32] han demostrat que en pacients amb tirotoxicosi autoimmunitària hi ha una expansió de limfòcits $\gamma\delta$ que és més evident en els infiltrats de la glàndula tiroïdal que a la perifèria. Els estudis realitzats en pacients amb diabetis insulino-dependent demostren que la proporció de cèl·lules T $\gamma\delta$ és normal a la perifèria.

L'expansió de limfòcits T $\gamma\delta$ en glàndules afectades per la malaltia de Graves detectada es correspon amb altres estudis de cèl·lules T $\gamma\delta$ fets en altres malalties autoimmunitàries. Aquests estudis han demostrat l'existència d'una expansió d'aquestes cèl·lules T en la sinòvia de pacients amb artritis reumatoide [33] i a la làmina pròpia de l'intestí a la malaltia celíaca. [34].

ESPECIFICITAT

Millores en les tècniques de clonatge de cèl·lules T han fet possible determinar els epítops autoantigènics precisos reconeguts per aquests clons de cèl·lules T autoreactives. Pel que s'ha pogut comprovar, els clons de cèl·lules T autoreactives no responen a un únic epítop dominant d'una determinada proteïna autoantigènica sinó a diversos epítops. En són exemples els experiments amb clons de cèl·lules T CD4 obtinguts de glàndules tiroïdals de pacients amb la malaltia de Graves amb tiroglobulina (Tg) i peroxidasa tiroïdal (TPO), com a font d'autoantigen. [35-37] També s'ha obtingut una reactivitat similar contra la MBP en el cas de clons T CD4 obtinguts de sang perifèrica o de plaques de desmielinització, de pacients amb esclerosi múltiple (MS). [35, 38-40] Aquests resultats d'una banda han suposat una important informació teòrica, però de l'altra han fet sorgir dubtes sobre la possible utilització de la teràpia de pèptids com a tractament de les malalties autoimmunitàries humanes. [41].

TCR

Els estudis de clons autoreactius de cèl·lules T han permès també analitzar la possible existència d'una restricció en l'ús del TCR en els processos autoimmunitaris humans i els resultats són contradictoris. [41] La majoria dels estudis han utilitzat la reacció en cadena de la polimerasa (PCR) per a analitzar el mRNA extret de poblacions totals de cèl·lules T obtingudes d'una gran varietat de teixits d'un individu afectat. Si bé en alguns casos s'ha trobat restricció en el TCR, aquesta no era massa evident, i algunes vegades contradeia els resultats d'altres grups. Una publicació recent de McIntosh i col·laboradors [41] demostra que en el cas de les malalties autoimmunitàries de la tiroide els resultats també són contradictoris.

De tota manera, aquests resultats no descarten totalment la hipòtesi segons la qual les cèl·lules T autoreactives podrien tenir un repertori de TCR restringit. De totes les cèl·lules T que infiltren un teixit, només el 2% són veritablement autoreactives, i la resta són senzillament cèl·lules acompanyants, tal com queda

demonstrat pel fet que quan es clonen cèl·lules T, la majoria de clons són nuls i no responen a cèl·lules diana viables ni a autoantígens rellevants. [22].

NOVES TERÀPIES

Les noves teràpies s'han dirigit a modificar les interaccions entre les diferents molècules involucrades en la resposta de cèl·lules T, és a dir, MHC, TCR, autoantigen, CD4/CD8, CD3, molècules d'adhesió, citocines i receptors de citocines.

Fins ara, en models humans només s'han utilitzat tractaments dirigits contra les interaccions no-específiques entre aquestes molècules. [44, 45] L'administració d'anticossos monoclonals (AcM) dirigits contra determinants monomòrfics del TCR (anti-CD3) és una de les teràpies possibles i potser la menys selectiva. Un altre mètode no específic però probablement més selectiu és la inhibició de l'activació de les cèl·lules T o l'eliminació directa de les cèl·lules T activades. S'ha aconseguit la inhibició de l'activació de les cèl·lules T mitjançant la inhibició de la transcripció dels gens de les interleucines, i més específicament del de la IL-2, amb drogues del tipus de la ciclosporina A. L'ús d'AcM específics per al receptor de la IL-2 (IL-2R) eliminaria les cèl·lules T activades. Els conjugats IL-2-toxina actuarien d'una forma similar. Una altra possibilitat són els AcM específics de les molècules accessòries, tant al nivell de les cèl·lules efectores (CD4, CD8, CD2, LFA-1) com de la cèl·lula presentadora (MHC classe I, classe II, LFA-3, ICAM-1). El principal problema de tots aquests tractaments és la seva incapacitat de distingir una resposta immunològica patològica d'una de no patològica i, tot i que hi ha diferències qualitatives entre els efectes dels diferents AcM, la seva administració perllongada podria provocar immunodeficiències.

El coneixement dels TCR específics involucrats en les reaccions autoimmunitàries i dels epítops autoantigènics reconeguts ha permès el desenvolupament de noves teràpies que han estat utilitzades amb èxit en els models experimentals, i que s'han encaminat a modificar les interaccions entre les diferents molècules involucrades en la resposta de les cèl·lules T, és a dir, l'MHC, el TCR i el pèptid autoantigènic. Aquestes teràpies es basen en la utilització de diferents tipus de "vacunes" que inhibeixen específicament el reconeixement T, bé sigui al nivell del TCR o del complex MHC-pèptid antigènic.

Dins aquest ventall de possibilitats terapèutiques, es pot intervenir al nivell del receptor específic (TCR). La forma més factible és la de les "*T cell vaccines*" o vacunes constituïdes per cèl·lules T autòlogues, autoreactives i patogèniques atenuades mitjançant irradiació o altres tractaments. [46] Perquè això sigui possible és imprescindible identificar aquestes cèl·lules T patogèniques, ja que s'ha detectat la presència de cèl·lules autoreactives en condicions no patològiques. L'administració d'aquestes "vacunes" induiria l'expansió de cèl·lules T reguladores específiques dels determinants del receptor clonotípic d'aquestes cèl·lules T. Aquesta tècnica és interessant ja que d'una banda no tindria efectes secundaris i de l'altra no exigiria un tractament continu. Una

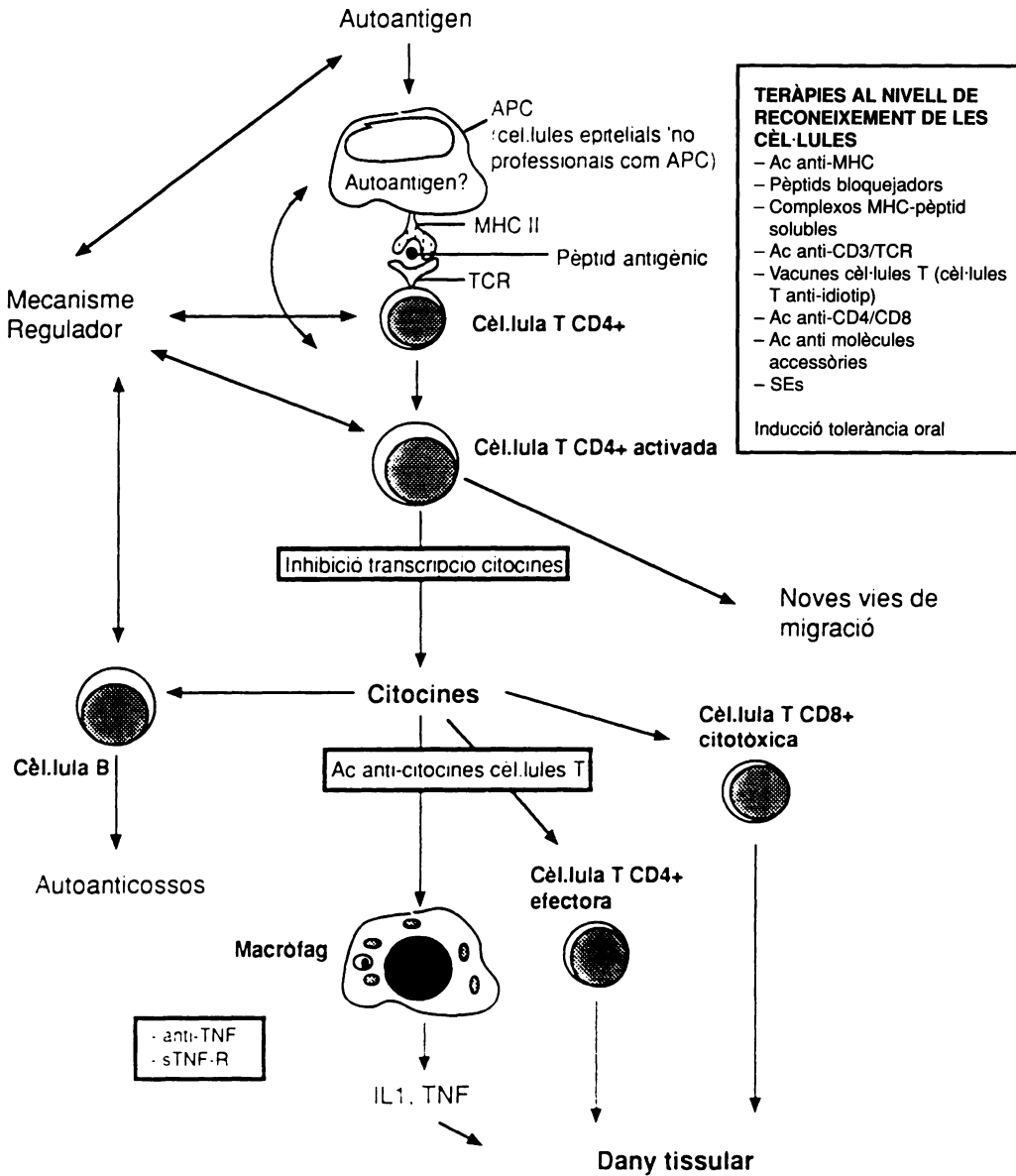


FIGURA 2. Esquema general de la resposta autoimmunitària i possibles vies terapèutiques (MacKay and Rose, 1993).

alternativa a aquestes vacunes, i amb un efecte similar, seria la utilització de pèptids sintètics corresponents als segments variables del TCR. [47] Un altre sistema, utilitzat amb èxit a l'EAE, consisteix en l'administració d'AcM específics dels idiotips del TCR, sigui com a reguladors negatius dels TCR específics o bé com a conjugats de toxines per a eliminar la població específica de cèl·lules T patogèniques. [48] Aquestes dues últimes alternatives només són possibles si les poblacions efectores utilitzen segments gènics homogenis de les regions variables del TCR, i aquest és un fet que encara no és clar en les malalties humanes, ja que malgrat els indicis d'homogeneïtat del TCR en algunes lesions específiques, [18] no s'ha demostrat en clons aïllats a partir de sang perifèrica de malalts, [20] com a mínim en el cas de la malaltia més estudiada en humans, l'esclerosi múltiple.

La possibilitat d'intervenció al nivell de MHC-pèptid ha donat lloc a un altre grup de teràpies que consisteix en el subministrament perllongat de pèptids específics no patogènics corresponents a seqüències modificades dels epítops immunodominants, que bloquegen la unió del pèptid patogènic a l'MHC i per tant el reconeixement d'antigen per part de les cèl·lules T. [49] Aquests pèptids bloquejadors inhibeixen la unió de la molècula rellevant de l'MHC a qualsevol pèptid immunogènic, de manera que disminueix la capacitat de resposta immunològica del pacient. De tota manera aquests efectes secundaris són controlables, perquè és un tractament totalment reversible.

Els pèptids corresponents a epítops immunodominants o a modificacions d'aquests també han estat utilitzats per a la inducció de tolerància o la supressió específica. La gran especificitat i la manca d'efectes secundaris d'aquestes tècniques fan que siguin considerades com una bona solució. Perquè es pugui induir la tolerància cal conèixer l'epítop immunodominant, ja que és contra ell que s'ha d'induir la tolerància. L'única dificultat teòrica consistiria a trobar el sistema perfecte d'administració del pèptid tolerogènic que impedeixi la seva patogenicitat, encara que segons els resultats obtinguts en models experimentals sembla que l'administració oral o intravenosa seria la més apropiada. La inducció de la supressió específica és una possibilitat molt atractiva, encara que tot just es comença a considerar perquè fins ara no s'ha demostrat la base molecular de la relació entre els epítops immunogènics i els inductors de la supressió específica.

La identificació i la caracterització de les poblacions específiques de cèl·lules T autoreactives que intervenen a les malalties autoimmunitàries humanes, dels epítops que reconeixen i dels seus TCR, és, doncs, imprescindible per a poder posar en funcionament qualsevulla d'aquestes teràpies. Al nostre laboratori estem treballant en la identificació, l'aïllament i la caracterització dels clons de cèl·lules T involucrats en la patogènia de la malaltia de Graves-Basedow i de la diabetis *mellitus* insulino-dependent, en la identificació del seus TCRs i dels antígens i epítops immunodominants que reconeixen.

REFERÈNCIES

1. MACKAY, I. R. i ROSE, N. R. *Autoimmunity: horizons. A: The Autoimmune Diseases II*. ROSE, N. L. i MACKAY, I. R., eds. 409-428. Academic Press Ltd. Londres, 1992.
2. SCHWIMBECK, P. L., DYRBERG, T., DRACHMAN, D. B. i OLDSTONE, M. B. A. Molecular mimicry and myasthenia gravis. *J. Clin Invest.*, 1989, **84**, 1174.
3. BALLARDINI, G., BIANCHI, F. B., MIRAKIAN, R., PISI, E., DONIACH, D. i BOTTAZZO, G. F. Aberrant expression of HLA-DR antigens on the bile duct epithelium in primary biliary cirrhosis: relevance to pathogenesis. *Lancet*, 1984, **2**, 1009-1113.
4. BOTINELLI, C. B. i MCFARLIN, D. E. Adaptative transfer of experimental allergic encephalomyelitis in SJL-J mice after in vivo activation of lymphocytes by myelin basic protein: requirements for Lyt-1+2- T lymphocytes. *J. Immunol.*, 1981, **127**, 1420.
5. TAUROG, J. D. et al. The cellular basis of adjuvant arthritis. *Cell Immunol.*, 1983, **75**, 271.
6. MARON et al. T lymphocyte line specific for the thyroglobulin produces or vaccinates against autoimmune thyroiditis in mice. *J. Immunol.*, 1983, **131**, 2316.
7. YANAGI, Y., YOSHIKAI, Y., LEGGETT, K., CLARK, S. P., ALEKSANDER, I. i MAK, T. W. A Human T cell specific cDNA clone encodes a protein having extensive homology to immunoglobulin chains. *Nature*, 1984, **308**, 145.
8. DAVIS, M. M. i BJORKMAN, P. J. T cell antigen receptor genes and T cell recognition. *Nature*, 1988, **334**, 395.
9. BAND, H. F., HOCHSTENBACH, F., MCLEAN, J., HATA, S., KRANGEL, M. S. i BRENNER, M. B. Immunochemical prove that a novel rearranging gene encodes the T-cell receptor delta subunit. *Science*, 1987, **238**, 682.
10. DAVIS, M. M. T cell receptor gene diversity and selection. *Ann. Rev Biochem.*, 1990, **59**, 475.
11. KUMURA, N., TOYONAGA, B., YOSHIKAI, Y. i DU, R., MARK, T. W. Eur. Sequences and repertoire of the human T cell receptor alpha and beta chain variable region genes in thymocytes. *Eur. J. Immunol.*, 1987, **17**, 375.
12. BURNET, F. M. i FENNER, F. The production of antibodies (Melbourne, MacMillan), 1949, p 102.
13. BURNET, F. M. The clonal selection theory of acquired immunity. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 1959.
14. JENSEN, P. E. i KAPP, J. A. Genetics of insulin specific helper and supressor in non-responder mice. *J. Immunol.*, 1985, **135**, 2990.
15. FRITZ, R. i MCFARLIN, D. E., 1989. Encephalitogenic epitopes of myelin basic protein. A: E. SECARTZ, Ed., *Chem. Immunol.*, Karger, Basel: **46**, 101.

16. MARTIN, R., JARAQUEMADA, D., FLERLAGE, M., RICHERT, J., WHITAKER, J., LONG, E., MCFARLIN, D. i MCFARLAND, H. Fine specificity and HLA restriction of myelin basic protein-specific cytotoxic T cell lines from multiple sclerosis patients and healthy individuals. *J. Immunol.*, 1990, **145**, 540.
17. OTA, K., MATSUI, M., MILFORD, E., MACKIN, G., WEINER, H. i HAFLER, D. T cell recognition fo an immunodominant myelin basic protein epitope in multiple sclerosis. *Nature*, 1990, **346**, 183.
18. Okseberg, J. R., Stuart, S., Begovich, A. B., Bell, R. B., Erlich, H. A., Steiman, L. i Barnard, C. A. Limited heterogeneity of rearranged T- cell receptor V α transcripts in brain of multiple sclerosis patients. *Nature*, 1990, **345**, 344.
19. JARAQUEMADA, D., MARTIN, R., ROSEN-BRONSON, S., FLERLAGE, M., MCFARLAND H. i LONG, E. HLA-DR2a is the dominant restriction molecule for the cytotoxic T cell response to myelin basic protein in DR2Dw2 individuals. *J. Immunol.*, 1990, **145**, 2880.
20. MARTIN, R., HOWEL, M., JARAQUEMADA, D., FLERLAGE, M., BROSTOFF, S., LONG, E., MCFARLIN, D. i MCFARLAND, H. A myelin basic protein peptide is recognized by cytotoxic T cells in the context of four HLA-DR types associated with multiple sclerosis. *J. Exp. Med.*, 1990, **173**, 19.
21. DEL PRETE, G. F., MAGGI, E., MARIOTTI, S. et al. Cytolytic T lymphocytes with natural killer activity in thyroid infiltrate of patients with Hashimoto's thyroiditis: analysis at clonal level. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1986, **62**, 52.
22. LONDEI, M., BOTTAZZO, G. F. i FELDMAN, M. Human T-cell clones from autoimmune thyroid glands: specific recognition of autologous thyroid cells. *Science*, 1985, **88**, 85.
23. WEETMAN, A. P., VOLKMAN, D. J., BURMAN, K. D., GERRARD, T. L. i FAUCI, A. S. The *in vitro* regulation of human thyrocyte HLA-DR antigen expression. *J. Clin. Endocrinol Metab.*, 1985, **61**, 817.
24. DE BERARDINIS, P., JAMES, R. F. L., WISE, P. H., LONDEI, M., LAKE, S. P. i FELDMANN, M. Do CD4-positive cytotoxic T cells damage islet β cells in type I diabetes? *Lancet*, 1988, **ii**, 823.
25. BEN-NUN, A., LIBLAU, R. S. COHEN, L., LEHMANN, D., TOURNIER-LASSERVE, E., ROSENZWEIG, A. i JINGWU, Z. Restricted T cell receptor Vb gene usage by myelin basic protein-specific T-cell clones in multiple sclerosis: predominant genes vary in individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1991, **88**, 2466.
26. ROEP, B.O., ARDEN, S. D., DE VRIES, R. R. P. i HUTTON, J. C. T-cell clones from a type I diabetes patient respond to insulin secretory granule proteins. *Nature*, 1990, **345**, 632.
27. DAVIES, T. F. Co-cultures of human thyroid monolayers cells and autologous T cells-impact of HLA class II antigen expression. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1985, **61**, 418.
28. LONDEI, M., LAMB, J. R., BOTTAZZO i G. F. FELDMANN, M. Epithelial cells expressing aberrant MHC class II determinants can present antigen to cloned human T cells. *Nature*, 1984, **312**, 639.

29. SANTAMARIA, P., NAKHLEH, R. E., SUTHERLAND, D. E. i BARBOSA, J. J. Characterization of T lymphocytes in infiltrating human pancreas allograft affected by isletitis and recurrent diabetes. *Diabetes*, 1992, 41, 53.
30. SIBLEY, R. K. i SUTHERLAND, D. E. R. Pancreas transplantation: an immunohistologic and histopathologic examination of 100 grafts. *Am. J. Pathol.*, 1987, 128, 151.
31. BOTTAZZO, G. F., DEAN, B. M., MCNALLY, J. M., MCKAY, E. H. H., SWIFT, P. G. F. i GAMBLE, D.R. In situ characterisation of autoimmune phenomenon and expression of HLA class II molecules in the pancreas in diabetic insulinitis. *N. Engl. J. Med.*, 1985, 313, 353.
32. ROURA-MIR, C., ALCALDE, L., VARGAS, F., TOLOSA, E., OBIOLS, G., FOZ, M., JARAQUEMADA, D. i PUJOL-BORRELL, R. $\gamma\delta$ Lymphocytes in endocrine autoimmunity: evidence of expansion in Graves' disease but not in type I diabetes. *Clin Exp Immunol.*, 1993, 92, 288-295.
33. BRENNAN, F. M., LONDEI, M., JACKSON, A. M., HERCEND, T., BRENNER, M. B., MAINI, R. N. i FELDMANN, M. T cells expressing $\gamma\delta$ chain receptors in Rheumatoid Arthritis. *J. Autoimmunity*, 1988, 1, 319-25.
34. HALSTENSEN, T. S., SCOTT, H. i BRANDTZAEG, P. Intraepithelial T cells of the TcR $\gamma\delta$ +CD8- and V δ 1/J δ 1+ Phenotypes are increased in Coeliac Disease. *Scand. J. Immunol.*, 1989, 30, 665-72.
35. DAYAN, C. M., LONDEI, M., CORCORAN, A. E., GRUBECK-LOEBENSTEIN, B., JAMES, R. F. L., RAPOPORT, B. i FELDMAN, M. Autoantigen recognition by thyroid-infiltrating T cells in Graves' disease. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1991, 88, 7415.
36. FUKUMA, N., MCLACHLAN, S. M., RAPOPORT, B. et al. Thyroid autoantigens and human T cell responses. *Clin. Exp. Immunol.*, 1990, 82, 275-83.
37. TANDON, N., FREEMAN, M. i WEETMAN, A. P., T cell responses to synthetic thyroid peroxidase peptides in autoimmune thyroid disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 1991, 86, 56.
38. WUCHERPFENNING, K. W., OTA, K., ENDO, N., SEIDMAN, J. G., ROSENZWEIG, A., WEINER, H. L. i HAFLER, D. A. Shared human T cell receptor V β usage to immunodominant regions of myelin basic protein peptide major histocompatibility complexes. *Science*, 1990, 248, 1016.
39. GIEGERICH, G., PETTE, M., MEINL, E., EPPLER, J. T., WEKERLE, H. i HINKKANEN, A. Diversity of T cell receptor α and β chain genes expressed by human T cells specific for similar myelin basic protein peptide/major histocompatibility complexes. *Eur. J. Immunol.*, 1992, 22, 753.
40. WUCHERPFENNIG, K. W., NEWCOMBE, J., LI, H., KEDDY, C., CUZNER, M. L. i HAFLER, D. A. T cell receptor V α -V β repertoire and cytokine gene expression in active multiple sclerosis lesions. *J. Exp. Med.*, 1992, 175, 993.
41. STEINMAN, L., The development of rational strategies for selective immunotherapy against autoimmune demyelinating disease. *Adv. Immunol.*, 1991, 49, 357.

42. MOSS, P. A. H, ROSENBERG, W. M. C. i BELL, J. I. The human T cell receptor in health and disease. *Ann. Rev. Immunol.*, 1992, 10, 71.
43. MCLINTOSH, R. S., WATSON, P. F., PICKERILL, A. P., DAVIES, R. i WEETMAN, A. P., No restriction of intrathyroidal T cell receptor V α families in the thyroid of Graves' disease. *Clin. Exp. Immunol.*, 1993, 91, 147.
44. ACHA-ORBEA, H., STEINMAN, H. i McDEVITT, H. T cell receptor in murine autoimmune diseases. *Ann. Rev. Immunol.*, 1989, 7, 371.
45. ADORINI, L., BARMABA, V., BONA, C., CELADA, F., LANZOVECCHIA, A., SERCAZ, E., SUCIN-FOCA, N. i WEKERLE, H. New perspectives on immunointervention in autoimmune diseases. *Immunol. today*, 1990, 11, 383.
46. LIDER, O., RESHFES, T., BERAUD, E., BEN-NUN, A. i COHEN, I. Anti-identity network induced by T cell vaccination against experimental autoimmune encephalomyelitis. *Science*, 1988, 239, 181.
47. VANDENBARK, A., HASHIM, G. i HOFFNER, H. Immunization with a synthetic T-cell receptor V-region peptide protects against experimental autoimmune encephalomyelitis. *Nature*, 1989, 341, 541.
48. SAKAI, K., ZAMVIL, S., MITCHELL, D., HODGKINSON, S., ROTHBARD, J. i STEINMAN, L. Prevention of experimental encephalomyelitis with peptides that block interaction of T cells with major histocompatibility complex proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1989, 86, 9470.

*(Original rebut per a publicació
el dia 1 de desembre de 1993)*