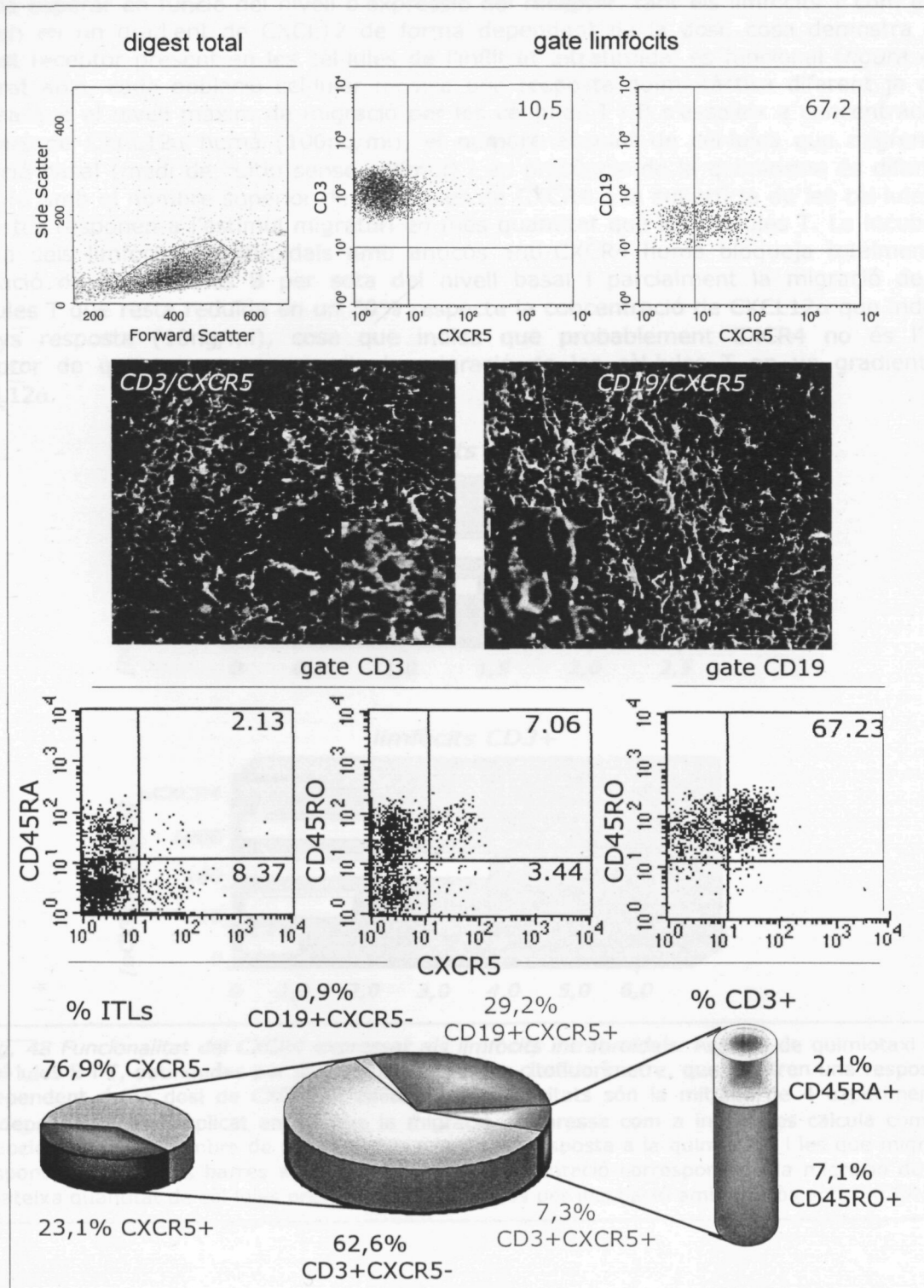


*ESTRUCTURACIÓ DE LA RESPOSTA B A LES
MALALTIES AUTOIMMUNITÀRIES DE LA TIROIDE*

*MEMÒRIA DE LA TESI PRESENTADA PER A OBTENIR EL GRAU DE DOCTOR EN
CIÈNCIES BIOLÒGIQUES PER LA UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA.
BELLATERRA, GENER 2004*

Ma del Pilar Armengol i Barnils

Fig. 47 Expressió de CXCR5 als limfòcits T i B intratiroidals. Població limfocitària utilitzada i resultats de citometria de l'expressió de CXCR5 prenent una finestra d'anàlisi de limfòcits CD3⁺ o CD19⁺ (vermell). Centre: imatges representatives de dobles tincions de crioseccions on s'observen en color verd els marcadors de tipus cel·lular (CD3 o CD19) i en vermell la tinció pel receptor. Als requadres interiors es mostren dues zones ampliades de les microfotografies. Els augments es representen amb una línia horitzontal que equival a 100µm. Part inferior: anàlisi de l'expressió de CXCR4 a cèl·lules CD3⁺ i CD19⁺ en funció de l'expressió de CD45RA o de CD45RO. Els % corresponen a les mitjanes de set experiments independents. El gràfic inferior representa el percentatge de cèl·lules CXCR4⁺ en l'infiltrat limfocitari que són respectivament CD19⁺ o CD3⁺ i la distribució relativa en CD45RA o CD45RO.



4.16 ELS RECEPTORS DE QUIMIOCINES INTRATIROÏDALS SÓN FUNCIONALS

Com hem comentat en la migració limfocitària, a més del reconeixement quimiocina/receptor, hi prenen part altres factors que poden jugar un paper determinant com la matriu extracel·lular, les citocines, algunes molècules d'activació i d'adhesió, etc. En aquest sentit, i per tal d'estudiar la funcionalitat del receptor de quimiocines expressat a la membrana dels limfòcits intratiroïdals (CXCR4) més àmpliament, hem fet assajos de quimiotaxi en els quals l'agent quimiotàctic utilitzat és el seu lligand natural CXCL12 humà a diferents concentracions i les cèl·lules diana de la quimiotaxi són cèl·lules T CD3⁺ i B CD19⁺ separades de les digestions totals de tiroïdes per cell-sorting. D'acord amb el caldria esperar en funció del nivell d'expressió del receptor, tant els limfòcits T com els B migren en un gradient de CXCL12 de forma dependent de la dosi, cosa demostra que aquest receptor present en les cèl·lules de l'infiltrat intratiroïdal és funcional (*figura 48*). Malgrat això, cada població cel·lular mostra una resposta quimiotàctica diferent ja que, encara que el nivell màxim de migració per les cèl·lules T i B s'assoleix a concentracions similars de CXCL12 α humana (100ng/ml), el nombre absolut de cèl·lules que migren en situació basal (medi de cultiu sense estímul) i en presència de la quimiocina és diferent. D'acord amb el nombre superior de molècules de CXCR4 a la superfície de les cèl·lules B, aquestes responen a l'estímul migratori en més quantitat que les cèl·lules T. La incubació prèvia dels limfòcits intratiroïdals amb anticòs anti-CXCR4 humana bloqueja totalment la migració de les cèl·lules B per sota del nivell basal i parcialment la migració de les cèl·lules T que resta reduïda en un 30% respecte la concentració de CXCL12 α que indueix menys resposta (10ng/ml), cosa que indica que probablement CXCR4 no és l'únic receptor de quimiocines que media la migració de les cèl·lules T en un gradient de CXCL12 α .

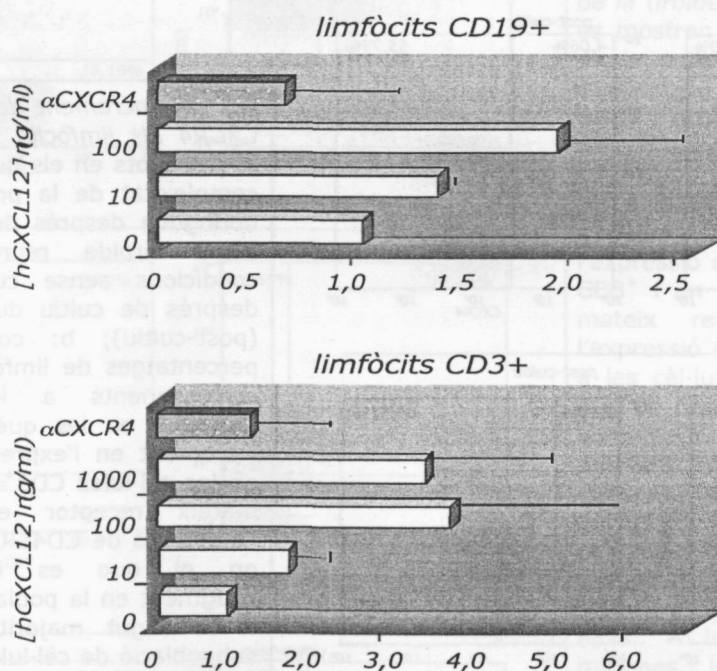


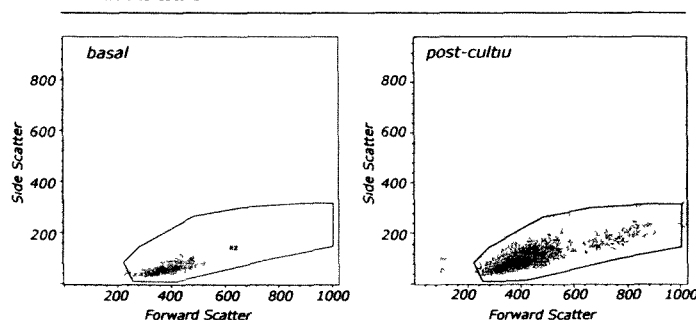
Fig. 48 Funcionalitat del CXCR4 expressat als limfòcits intratiroïdals. Assajos de quimiotaxi en cèl·lules B i T, obtingudes per separació cel·lular en citofluorímetre, que mostren una resposta dependent de la dosi de CXCL12 α utilitzada. Els resultats són la mitjana de 4 experiments independents per duplicat en els que la migració s'expressa com a índex i es calcula com a quocient entre el nombre de cèl·lules que migren en resposta a la quimiocina i les que migren espontàniament. Les barres superiors de cada representació corresponen a la migració de la mateixa quantitat de cèl·lules prèviament bloquejades per incubació amb anticòs anti-CXCR4.

4.17 L'EXPRESSIÓ DE CXCR4 I DE CXCR5 INCREMENTA DESPRÉS DE CULTIU

En el curs de la quantificació de receptors de quimiocines en limfòcits intratiroidals s'ha observat un fenomen, ja descrit anteriorment en alguns limfòcits de sang perifèrica per altres receptors, segons el qual després d'incubació llarga (12 hores) el nombre de molècules de receptor de quimiocines en membrana o el percentatge de cèl·lules positives augmenta. Nosaltres hem observat un comportament similar quan es cultiven durant períodes curts de temps (18-36 hores) els limfòcits intratiroidals provinents de digerits tiroïdals totals.

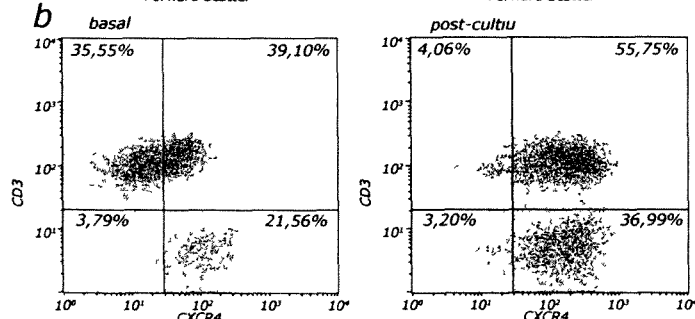
Quan es comparen amb els valors considerats basals (període d'incubació inferior a tres hores) l'expressió de CXCR4 incrementa 1,5 vegades respecte el basal. Això té lloc només a expenses de les cèl·lules T CD3⁺, donat que més del 90% de les cèl·lules B CD19⁺ en condicions basals són CXCR4⁺ (figura 49). Considerant les subpoblacions CD45RA i CD45RO, l'increment en l'expressió de CXCR4 es duplica en les CD3⁺ CD45RA⁻.

a limfòcits totals

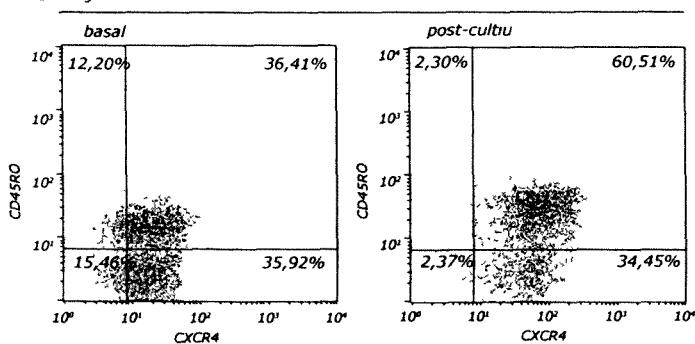


	basal	post-cultiu
CD3+ CXCR4+	44,7±7,4%	89,5±2,0%
CD3+ CD45RA+ CXCR4+	1,2±0,2	0,8±0,4
CD3+ CD45RA- CXCR4+	42,2±3,6	89,0±2,7
CD3+ CD45RO+ CXCR4+	42,6±2,1	65,5±3,3
CD3+ CD45RO- CXCR4+	39,6±2,1	31,3±3,2
CD19+ CXCR4+	92,7±8,0	95,9±2,8

b



c gate CD3+



d gate CD19+

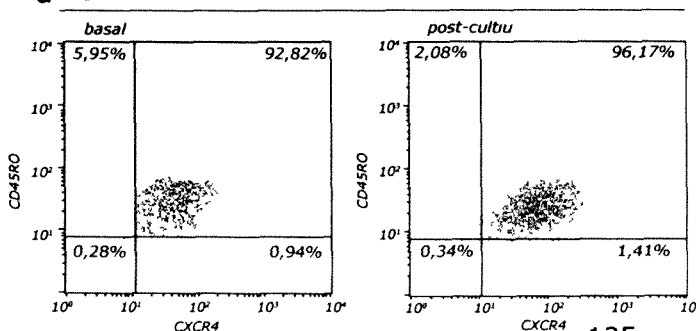
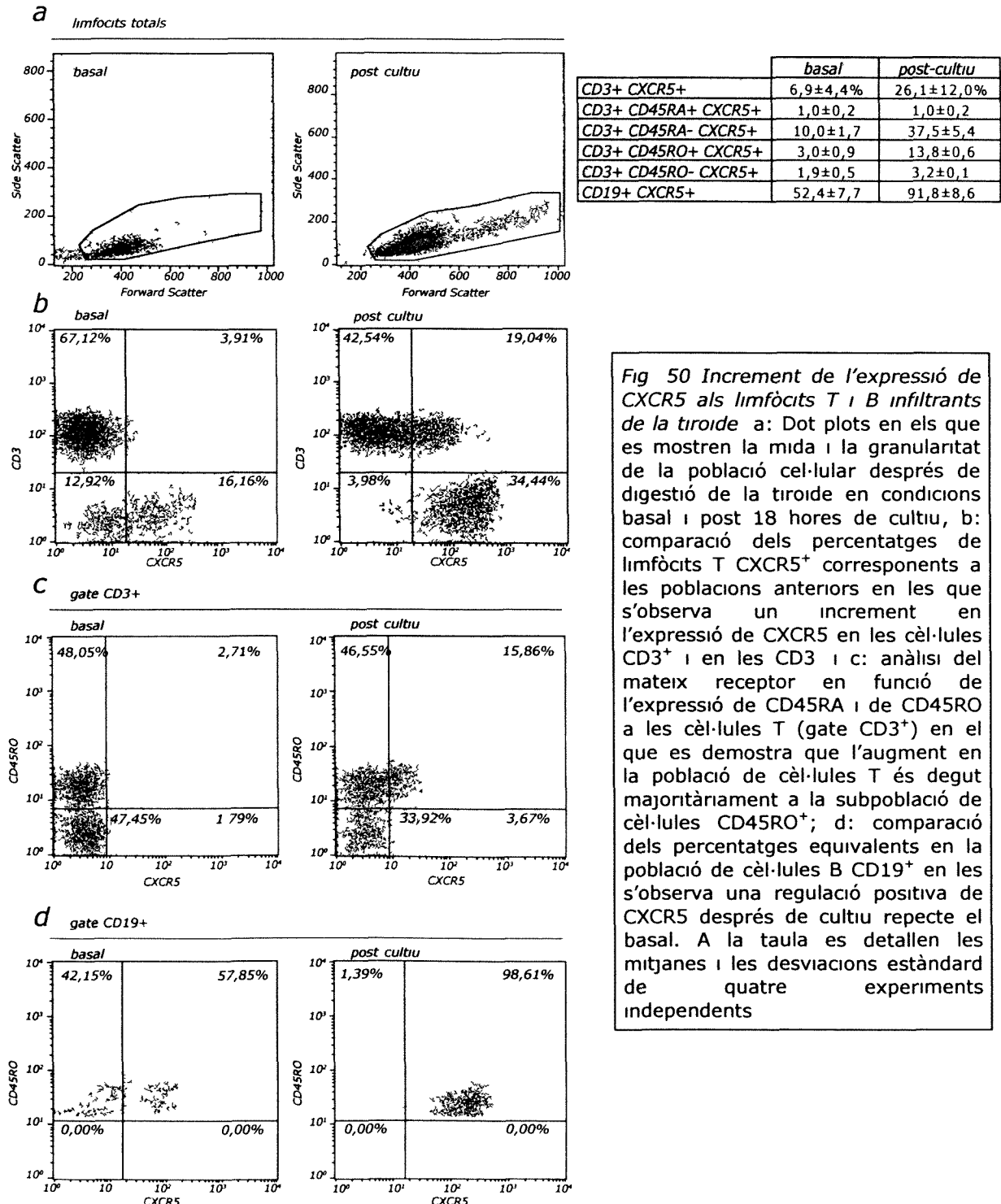


Fig. 49 Increment de l'expressió de CXCR4 als limfòcits T intratiroidals. a: Dot plots en els que es mostra la complexitat de la població cel·lular obtinguda després de digestió total d'una tiroide representativa en condicions sense cultiu (basal) i després de cultiu durant 18 hores (post-cultiu); b: comparació dels percentatges de limfòcits T CXCR4⁺ corresponents a les poblacions anteriors en les que s'observa un increment en l'expressió de CXCR4 en les cèl·lules CD3⁺ i c: anàlisi del mateix receptor en funció de l'expressió de CD45RA i de CD45RO en el que es demostra que l'augment en la població de cèl·lules T és degut majoritàriament a la subpoblació de cèl·lules CD45RA⁻; d: comparació dels percentatges equivalents en la població de cèl·lules B CD19⁺ en les que no s'observen variacions significatives en les cèl·lules cultivades respecte les basals. A la taula es detallen les mitjanes i les desviacions estàndard de quatre experiments independents.

El comportament de CXCR5 és parcialment similar donat que aquest receptor incrementa 5 cops en els limfòcits T CD3⁺ post-cultiu però, a diferència de CXCR4, també es duplica en les CD19⁺ respecte els nivells basals (*figura 50*). Un cop més la subpoblació CD3⁺ CD45RA sembla la responsable de l'increment en els limfòcits intratiroidals. Pel que fa a CCR7, donat que el seu nivell d'expressió basal era molt baix no es va determinar el seu increment post-cultiu.



4.18 DISTRIBUCIÓ ASSIMÈTRICA DELS RECEPTORS DE QUIMIOCINES ALS MALALTS AMB AUTOIMMUNITAT TIROÏDAL

L'acumulació de limfòcits que expressen receptors de quimiocines en els fol·licles limfoides intratiroïdals podria ser tant la causa com la conseqüència d'una situació peculiar a nivell de receptors en limfòcits perifèrics que resultaria en una reducció o en un increment en els corresponents receptors en PBMCs. Per tal d'aclarir aquesta situació hem quantificat l'expressió de CCR7, CXCR4 i CXCR5 en els limfòcits de sang perifèrica dels mateixos malalts en els que s'havia determinat en limfòcits intratiroïdals. Donat que el comportament de cada receptor és particular, els considerarem per separat:

- CCR7. A diferència del que té lloc al teixit diana, els leucòcits CCR7⁺ a nivell circulant són molt més abundants i s'expressen tant a cèl·lules T com B (*figura 51*). Quan es comparen en un mateix malalt, els limfòcits perifèrics CCR7⁺ estan significativament incrementats respecte els corresponents intratiroïdals (32,9±15,1% a PBMCs i 4,7±2,8% a ITLs; p=0,0001). Aquest increment es pot atribuir tant a nivell de cèl·lules T CD3⁺ (39,3±13,6% a PBMCs i 2,5±1,4% a ITLs; p=0,018) com a nivell de cèl·lules B CD19⁺ (39,8±17,0 a PBMCs i 11,4±7,1% a ITLs; p=0,028). Entre els limfòcits T perifèrics, l'anàlisi de la proporció relativa de cèl·lules CD45RA i CD45RO que expressen CCR7 mostra que aproximadament dues terceres parts de limfòcits T són CCR7⁺CD45RA⁺, mentre que una tercera part és CCR7⁺CD45RO⁺ (*taula VI annex*).
- La comparació "limfòcits intratiroïdals-limfòcits circulants" pel que fa a l'expressió de CXCR4 (*figura 51*) és l'oposada a la de CCR7. Així, el total de limfòcits CXCR4⁺ és més abundant al teixit diana (63,6±12,9%) que en circulació (31,6±12,9%). També a diferència de l'anterior receptor, la reducció en el percentatge de limfòcits CXCR4⁺ perifèrics és atribuïble només al descens en les cèl·lules T, que representen el 59,6±15,0% a la tiroide i només un 21,9±15,1% a circulació; p=0,0001). Per contra, la proporció de CD19⁺CXCR4⁺ als limfòcits perifèrics dels malalts amb autoimmunitat tiroïdal es manté similar a la dels que infiltren la glàndula. La reducció en el percentatge de CD3⁺CXCR4⁺ és especialment marcada en la subpoblació de cèl·lules T CD45RO⁺ (32,6±10,7% a ITLs i 5,1±8,6% a PBMCs; p=0,0001), mentre que a les T CD45RA⁺ s'observa una tendència a l'increment a nivell de PBMCs que no és estadísticament significatiu.
- L'expressió de CXCR5 a periferia no difereix significativament de la que s'observa a la tiroide (*figura 51*) quan es comparen el total de limfòcits positius per aquest receptor amb els intratiroïdals (23,1±2,7% a ITLs i 28,2±9,7% a PBMCs; p=0,38). Quan s'analitza per separat l'expressió de CXCR5 en cèl·lules T i B, es confirmen els resultats considerats globalment donat que ni als limfòcits T (10,2±3,4% a ITLs i 10,5±8,7% a PBMCs; p=0,98817) ni als limfòcits B (67,2±19,0% a ITLs i 96,2±2,5% a PBMCs) s'observen diferències significatives, encara que als limfòcits B sí que es veu una tendència a l'increment en periferia. Considerant les mateixes subpoblacions limfocitàries de cèl·lules T que hem analitzat per als anteriors receptors de quimiocines, es descarta un increment en periferia de la subpoblació CD3⁺CD45RO⁺CXCR5⁺ (p=0,69946), mentre que s'observa un increment de les CD3⁺CD45RA⁺CXCR5⁺ (p=0,01963) que no repercuteix en el total de les cèl·lules T ni en els limfòcits infiltrants totals donat que percentualment aquesta subpoblació representa una proporció molt petita.

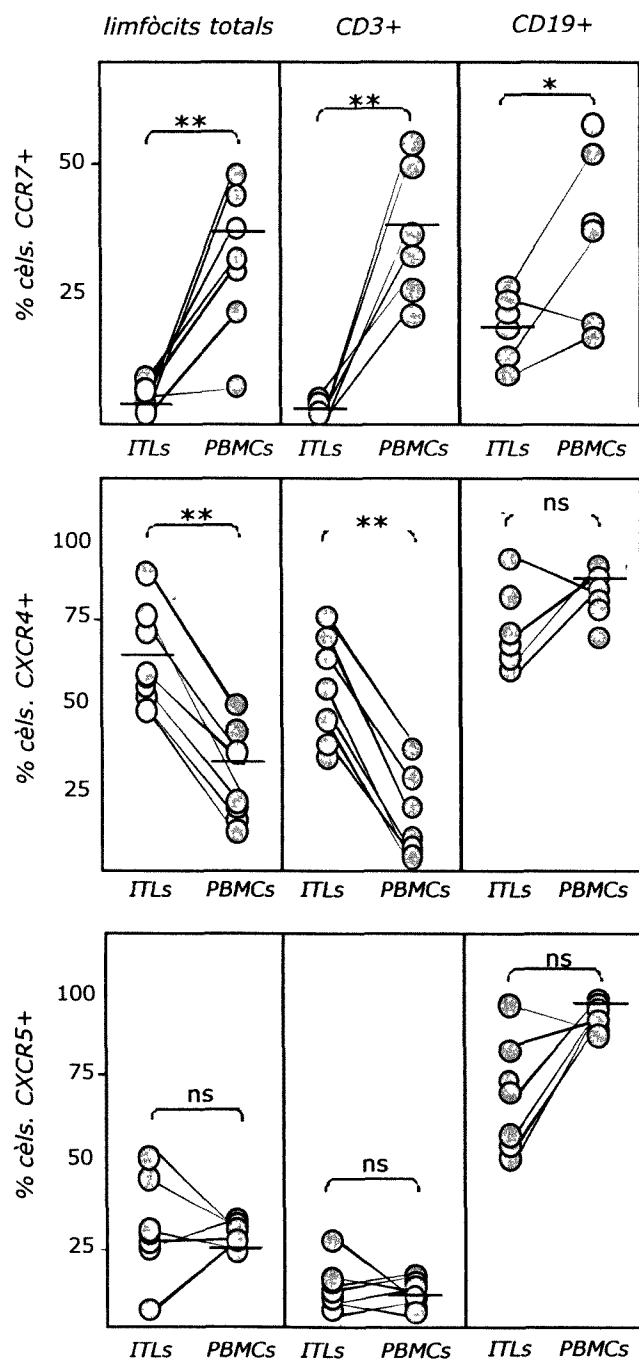


Fig. 51 Expressió dels receptors de quimiocines als limfòcits infiltrants de la tiroide i comparació amb els perifèrics dels malats amb AITD. Representacions gràfiques corresponents als percentatges de cèl·lules que expressen CCR7 (bloc superior), CXCR4 (bloc central) i CXCR5 (bloc inferior) en la superfície de limfòcits intratiroidals (ITLs) i de sang perifèrica (PBMCs) de 7 individus. Les dades corresponents al mateix malalt es mostren unides per una línia. Els gràfics de l'esquerra corresponen als percentatges respecte el total de limfòcits, mentre que els gràfics del centre i de la dreta s'han obtingut tenint en compte el total de limfòcits T i B en una finestra d'anàlisi utilitzant com a marcadors CD3 i CD19 respectivament. Les línies horitzontals representen les mitjanes dels valors obtinguts i s'ha considerat * si $p < 0,05$ i ** si $p < 0,01$.

4.19 ELS MALALTS AMB CENTRES GERMINALS INTRATIROÏDALS PRESENTEN UNA REDUCCIÓ PERIFÈRICA DELS NIVELLS DE CD3⁺CCR7⁺, CD19⁺CCR7⁺ I CD3⁺CXCR4⁺

En base als resultats asimètrics obtinguts en la comparació dels nivells de receptors a perifèria i al teixit diana d'un mateix individu, ens hem plantejar l'augment o la disminució d'alguns d'ells com a conseqüència de l'acumulació selectiva de determinats subtipus cel·lulars a la tiroide. Per tal de demostrar-ho, i basant-nos en dades bibliogràfiques sobre individus sans, hem intentat confirmar aquest fet determinant els nivells d'expressió de CCR7, CXCR4 i CXCR5 en sang perifèrica d'individus sans amb el mateix rang d'edat i sexe que els malalts amb autoimmunitat tiroïdal utilitzats. Els resultats obtinguts per cada receptor estudiat es presenten desglossats a continuació i a les dades de la *taula VIII de l'annex*:

- CCR7. El nombre de leucòcits CCR7⁺ a nivell perifèric en els malalts amb autoimmunitat tiroïdal (*figura 52*) és significativament més baix que en els individus control (35,3±12,8% a AITDs i 68,5±7,0% a controls; p=0,0021). Aquesta diferència és tan atribuïble als limfòcits T CD3⁺ (39,3±13,6% a AITDs i 67,3±7,9 a controls; p=0,013) com als limfòcits B CD19⁺ (40,3±17,0% a AITDs i 82,6±3,8% a controls; p=0,0005). Entre els limfòcits T, la subpoblació en que la disminució és més evident és en la de les cèl·lules T memòria CD45RO, que són CCR7⁺ en el 8,9±5,0% en perifèria en els AITDs mentre que representen el 31,7±13,0% als PBMCs dels individus controls sans (p=0,006).
- De forma similar a l'anterior, CXCR4 en els PBMCs de pacients i considerat globalment, és veu reduït a un trenta per cent del que es detecta en PBMCs d'individus sense autoimmunitat tiroïdal (31,6±12,9% en AITDs i 60,9±7,8% en controls sans; p=0,004) (*figura 53*). A diferència de l'anterior receptor, la disminució fonamental respecte els individus controls és restringida només a les cèl·lules T CXCR4⁺, que representen un 21,9±15,1% a les mostres de les persones amb autoimmunitat tiroïdal i que s'eleven al 58,3±9,6% als controls sans (p=0,016). Els percentatges de cèl·lules B CXCR4⁺ varien lleugerament però les modificacions no arriben a ser significatives quan es comparen aquestes dues poblacions (87,9±54% a AITDs i 96,13±4,1% a controls). De forma similar al CCR7, l'expressió reduïda de CXCR4 a les cèl·lules T afecta principalment la subpoblació de cèl·lules CD45RO, que representen un 5,8±8,6% als individus amb AITD i un 28,4±10,6% als controls sans (p=0,0003).
- Respecte CXCR5, les diferències mínimes observades en l'expressió d'aquest receptor a PBMCs de malalts i de controls sans (*figura 54*) no arriben a ser significatives ni a nivell de total de limfòcits de sang perifèrica (28,2±9,7% a AITDs i 21,9±3,8% a controls sans; p=0,392), ni quan es consideren per separat les poblacions de cèl·lules T (10,5±8,7% a AITDs i 8,5±4,2% a controls) i les de cèl·lules B (96,2±2,5 a AITDs i 97,9±3,1% a controls sans).

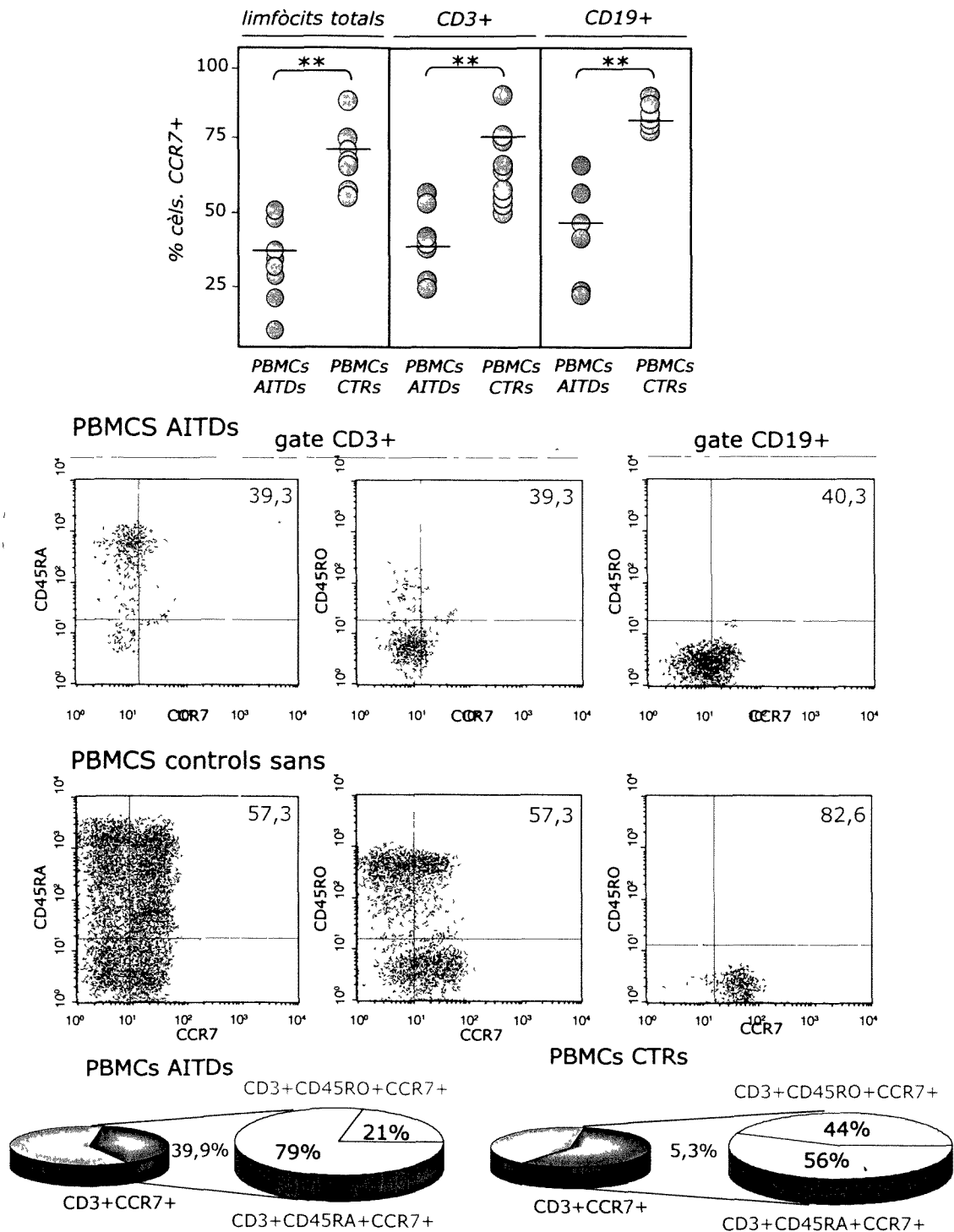


Fig. 52 Comparació de l'expressió de CCR7 als limfòcits perifèrics dels malalts amb AITD amb els limfòcits perifèrics de controls sans. Gràfic superior: representacions gràfiques corresponents als percentatges de cèl·lules que expressen CCR7 en la superfície de limfòcits de malalts (PBMCs AITDs) i de controls (PBMCs CTRs) 7 individus. Els gràfics de l'esquerra corresponen als percentatges respecte el total de limfòcits, mentre que els gràfics del centre i de la dreta s'han obtingut tenint en compte els total de limfòcits T i B en una finestra d'anàlisi utilitzant com a marcadors CD3 i CD19 respectivament. Les línies horitzontals representen les mitjanes dels valors obtinguts i s'ha considerat * si $p < 0,05$ i ** si $p < 0,01$. Els dot plots es mostra l'anàlisi i els percentatges del mateix receptor en funció de l'expressió de CD45RA i de CD45RO a les cèl·lules T (gate CD3⁺) i a les cèl·lules B (gate CD19⁺). La part inferior de la gràfica mostra la distribució de les cèl·lules CCR7⁺CD45RA⁺ i CCR7⁺CD45RO⁺ com a percentatge del total de cèl·lules CCR7⁺ en individus amb AITD i en controls sans.

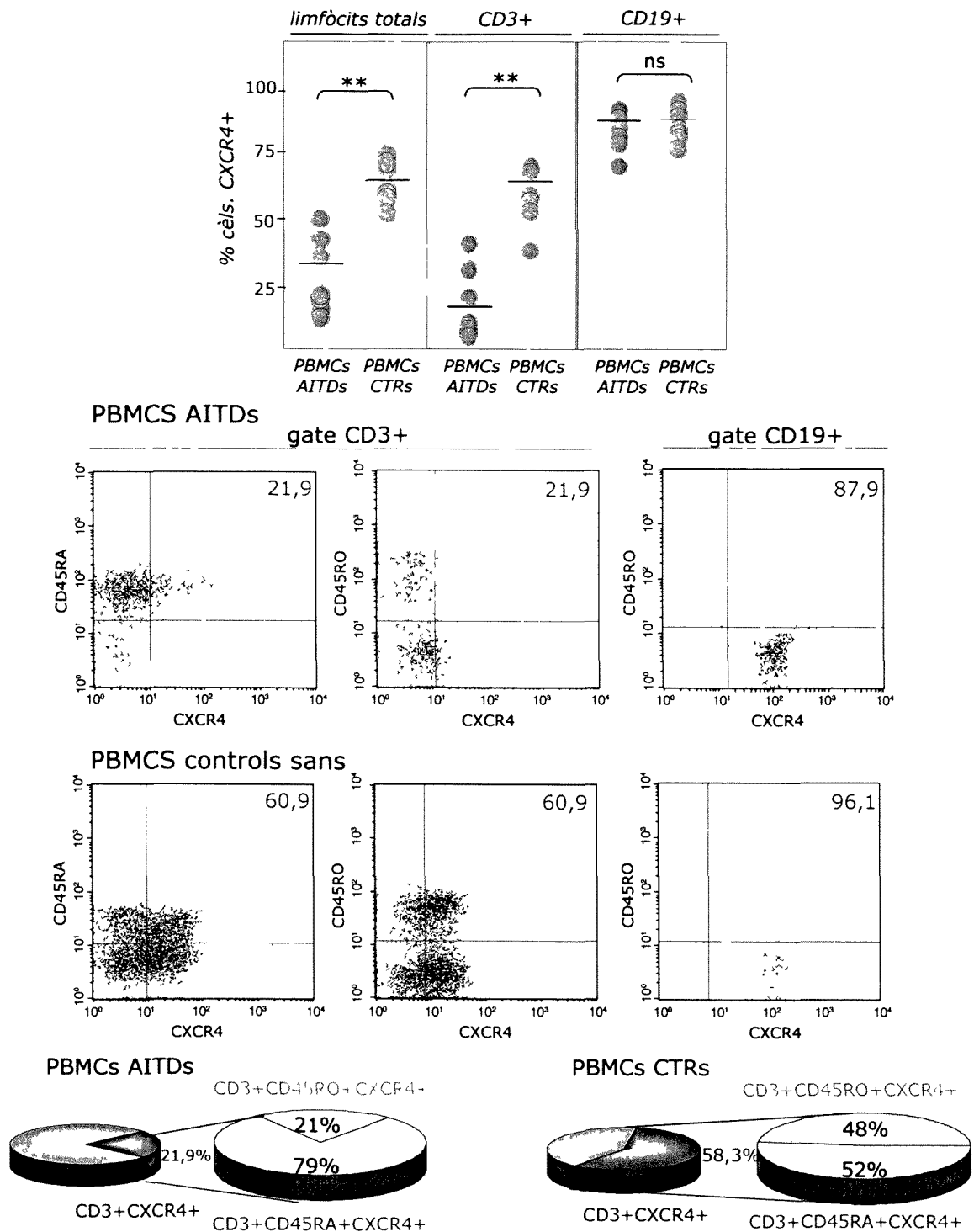


Fig. 53 Comparació de l'expressió de CXCR4 als limfòcits perifèrics dels malalts amb AITD amb els limfòcits perifèrics de controls sans. Gràfic superior: representacions gràfiques corresponents als percentatges de cèl.lules que expressen CXCR4 en la superfície de limfòcits de malalts (PBMCs AITDs) i de controls (PBMCs CTRs) 7 individus. Els gràfics de l'esquerra corresponen als percentatges respecte el total de limfòcits, mentre que els gràfics del centre i de la dreta s'han obtingut tenint en compte els total de limfòcits T i B en una finestra d'anàlisi utilitzant com a marcadors CD3 i CD19 respectivament. Les línies horitzontals representen les mitjanes dels valors obtinguts i s'ha considerat * si $p < 0,05$ i ** si $p < 0,01$. Els dot plots es mostra l'anàlisi i els percentatges del mateix receptor en funció de l'expressió de CD45RA i de CD45RO a les cèl.lules T (gate CD3⁺) i a les cèl.lules B (gate CD19⁺). La part inferior de la gràfica mostra la distribució de les cèl.lules CXCR4⁺CD45RA⁺ i CXCR4⁺CD45RO⁺ com a percentatge del total de cèl.lules CXCR4⁺ en individus amb AITD i en controls sans.

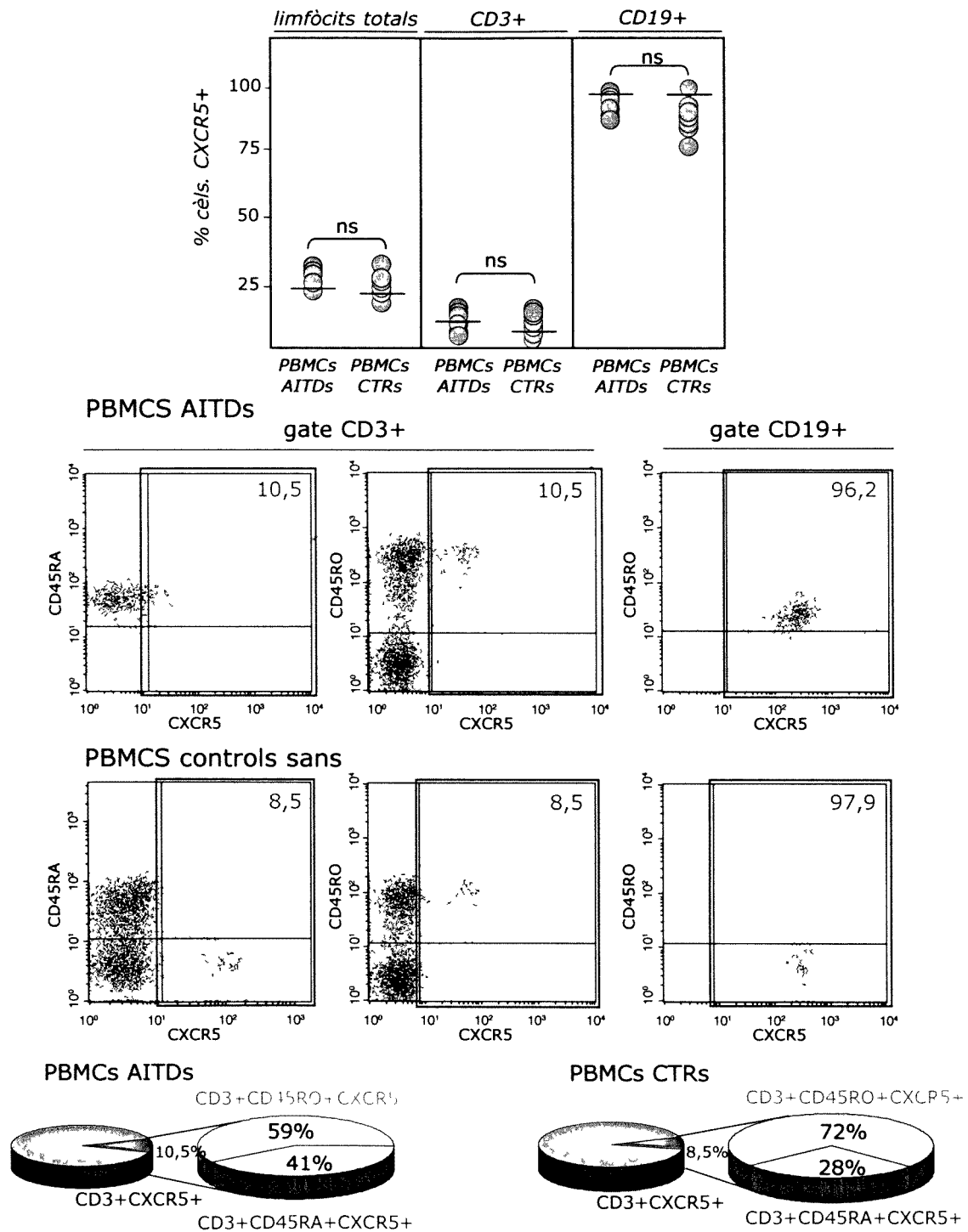


Fig. 54 Comparació de l'expressió de CXCR5 als limfòcits perifèrics dels malats amb AITD amb els limfòcits perifèrics de controls sans. Gràfic superior: representacions gràfiques corresponents als percentatges de cèl.lules que expressen CXCR5 en la superfície de limfòcits de malats (PBMCs AITDs) i de controls (PBMCs CTRs) 7 individus. Els gràfics de l'esquerra corresponen als percentatges respecte el total de limfòcits, mentre que els gràfics del centre i de la dreta s'han obtingut tenint en compte els total de limfòcits T i B en una finestra d'anàlisi utilitzant com a marcadors CD3 i CD19 respectivament. Les línies horitzontals representen les mitjanes dels valors obtinguts i s'ha considerat * si $p < 0,05$ i ** si $p < 0,01$. Els dot plots es mostra l'anàlisi i els percentatges del mateix receptor en funció de l'expressió de CD45RA i de CD45RO a les cèl.lules T (gate CD3⁺) i a les cèl.lules B (gate CD19⁺). La part inferior de la gràfica mostra la distribució de les cèl.lules CXCR5⁺CD45RA⁺ i CXCR5⁺CD45RO⁺ com a percentatge del total de cèl.lules CXCR5⁺ en individus amb AITD i en controls sans.

5. TAULES ANNEXES

Taula IIa

GC	àrea		
	GC (mm ²)	MZ (mm ²)	LF (mm ²)
GD 228 1 LF	0,028	0,059	0,087
GD 228 2 LF	0,018	0,086	0,104
GD 228 3 LF	0,020	0,062	0,082
GD 228 4 LF	0,028	0,064	0,092
GD 228 5 LF	0,037	0,052	0,089
GD 228 6 LF	0,034	0,022	0,056
GD 228 7 LF	0,012	0,010	0,022
GD 228 8 LF	0,015	0,015	0,030
GD 228 9 LF	0,032	0,031	0,063
GD 228 10 LF	0,026	0,020	0,046
GD 255 1 LF	0,059	0,103	0,162
GD 257 1 LF	0,032	0,039	0,071
GD 257 2 LF	0,026	0,016	0,042
GD 257 3 LF	0,062	0,111	0,173
GD 278 1 LF	0,026	0,060	0,086
GD 403 1 LF	0,030	0,029	0,059
GD 403 2 LF	0,023	0,024	0,047
GD 403 3 LF	0,036	0,047	0,083
GD 427 1 LF	0,251	0,182	0,433
GD 427 2 LF	0,043	0,056	0,099
mitjana	0,0419	0,0544	0,0963
SD	0,0508	0,0415	0,0879

Taula IIb

GC	àrea		
	GC (mm ²)	MZ (mm ²)	LF (mm ²)
HT 384 1 LF	0,092	0,081	0,173
HT 384 2 LF	0,281	0,104	0,385
HT 384 3 LF	0,020	0,006	0,026
HT 384 4 LF	0,017	0,025	0,042
HT 384 5 LF	0,043	0,056	0,099
HT 384 6 LF	0,052	0,059	0,111
HT 384 7 LF	0,045	0,039	0,084
HT 384 8 LF	0,055	0,041	0,096
HT 385 1 LN	0,094	0,084	0,178
HT 385 2 LN	0,330	0,253	0,563
HT BL 1 LF	0,113	0,051	0,164
HT BL 2 LF	0,121	0,050	0,171
HT BL 3 LF	0,345	0,097	0,442
HT BL 4 LF	0,172	0,093	0,265
HT BL 5 LF	0,062	0,046	0,108
HT BL 6 LF	0,037	0,032	0,069
HT BL 7 LF	0,294	0,164	0,458
HT BL 8 LF	0,127	0,043	0,170
HT BL 9 LF	0,128	0,083	0,211
HT BL 10 LF	0,248	0,104	0,352
HT JC 1 LF	0,037	0,080	0,117
HT JC 2 LF	0,016	0,017	0,033
HT JC 3 LF	0,144	0,074	0,218
HT JC 4 LF	0,101	0,058	0,159
HT JC 5 LF	0,091	0,047	0,138
HT RP 1 LF	0,027	0,023	0,050
HT RP 2 LF	0,097	0,058	0,155
HT RP 3 LF	0,091	0,080	0,171
HT RP 4 LF	0,060	0,046	0,106
HT RP 5 LF	0,079	0,069	0,148
HT RP 6 LF	0,031	0,070	0,101
HT RP 7 LF	0,025	0,021	0,046
HT RP 8 LF	0,066	0,038	0,104
HT RP 9 LF	0,034	0,071	0,105
HT RP 10 LF	0,060	0,052	0,112
HT290 1 LF	0,074	0,050	0,124
HT290 2 LF	0,059	0,031	0,090
mitjana	0,102	0,065	0,166
SD	0,089	0,065	0,125

Taula IIa, IIb, IIc, IID. Dades morfològiques dels fol·licles limfoides intratiroidals. Les taules mostren les àrees calculades en mm² del total de cada fol·licle (LF), de la zona ocupada pel mantell fol·licular (MZ) i del centre germinal (GC). a: dades corresponents als malalts de Graves-Basedow (GD); b: dades corresponents als malalts de tiroiditis de Hashimoto (HT); c: dades corresponents a les mostres de nòdul limfàtic (LN); d: dades corresponents a les mostres d'amígdala palatina (PT).

Taula IIc

GC number	GC (mm2)	àrea	
		MZ (mm2)	LF (mm2)
LN HT385 1 LF	0,034	0,03	0,064
LN HT385 2 LF	0,029	0,028	0,057
LN HT385 3 LF	0,012	0,012	0,103
LN HT385 4 LF	0,042	0,180	0,222
LN HT385 5 LF	0,050	0,099	0,149
LN HT385 6 LF	0,039	0,045	0,084
LN HT385 7 LF	0,055	0,085	0,140
LN CP 1 LF	0,031	0,069	0,100
LN CP 2 LF	0,199	0,204	0,403
LN CP 3 LF	0,041	0,043	0,084
LN CP 4 LF	0,122	0,213	0,335
LN CP 5 LF	0,125	0,140	0,265
LN CP 6 LF	0,034	0,089	0,123
LN CP 7 LF	0,035	0,059	0,094
LN CP 8 LF	0,016	0,049	0,065
LN GJ 1 LF	0,029	0,147	0,176
LN GJ 2 LF	0,055	0,050	0,105
LN GJ 3 LF	0,044	0,084	0,128
LN GJ 4 LF	0,074	0,092	0,166
LN GJ 5 LF	0,017	0,064	0,081
LN GJ 7 LF	0,026	0,030	0,056
LN GJ 6 LF	0,043	0,069	0,112
LN GJ 8 LF	0,037	0,071	0,108
LN MC 1 LF	0,022	0,054	0,076
LN MC 2 LF	0,030	0,047	0,077
LN MC 3 LF	0,032	0,033	0,065
LN MC 4 LF	0,026	0,046	0,072
LN MC 5 LF	0,015	0,026	0,041
LN MC 6 LF	0,025	0,024	0,049
LN MC 7 LF	0,010	0,020	0,030
LN MC 8 LF	0,007	0,014	0,021
LN PT 1 LF	0,037	0,056	0,093
LN PT 2 LF	0,127	0,152	0,279
LN PT 3 LF	0,013	0,052	0,065
LN PT 4 LF	0,033	0,025	0,058
LN PT 5 LF	0,019	0,025	0,044
LN PT 6 LF	0,024	0,044	0,068
LN PT 7 LF	0,066	0,037	0,103
LN PT 8 LF	0,025	0,021	0,046
mitjana	0,044	0,067	0,113
SD	0,039	0,052	0,084

Taula II d

GC	GC (mm2)	àrea	
		MZ (mm2)	LF (mm2)
PT GM 1 LF	0,132	0,135	0,267
PT GM 2 LF	0,061	0,088	0,149
PT GM 3 LF	0,181	0,085	0,266
PT GM 4 LF	0,033	0,044	0,077
PT GM 5 LF	0,075	0,107	0,182
PT GM 6 LF	0,056	0,080	0,136
PT GM 7 LF	0,151	0,111	0,262
PT GM 8 LF	0,034	0,044	0,078
PT LM 1 LF	0,192	0,171	0,363
PT LM 2 LF	0,115	0,120	0,235
PT LM 3 LF	0,082	0,085	0,167
PT LM 4 LF	0,015	0,019	0,034
PT LM 5 LF	0,016	0,038	0,054
PT LM 6 LF	0,207	0,095	0,302
PT LM 7 LF	0,144	0,082	0,226
PT LM 8 LF	0,267	0,257	0,524
PT 3 LF	0,470	0,328	0,798
PT 4 LF	0,425	0,302	0,727
PT 5 LF	0,380	0,276	0,656
PT 6 LF	0,336	0,250	0,585
PT 1 LF	0,449	0,208	0,657
PT 2 LF	0,123	0,286	0,409
PT 3 LF	0,078	0,066	0,144
PT 4 LF	0,161	0,167	0,328
PT 5 LF	0,183	0,112	0,295
PT 6 LF	0,084	0,109	0,193
mitjana	0,171	0,141	0,312
SD	0,137	0,090	0,218

Amígdala palatina

LF	àrea			LF (mm2)	àrea	
	GC (mm2)	cèls TUNEL+	cèls TUNEL+/mm2		cèls TUNEL+	cèls TUNEL+/mm2
1	0,449	102	227,2	0,657	117	178,1
2	0,123	53	430,8	0,409	59	144,2
3	0,078	36	461,5	0,144	38	271,4
4	0,161	40	248,4	0,328	41	125
5	0,183	62	338,8	0,295	71	240,7
6	0,084	22	261,9	0,193	23	119,2
m±SD	0,180±0,14	52,5±27,9	328,1±99,4	0,338±0,18	58,17±33,4	179,8±63,3

Graves-Basedow

LF	àrea			LF (mm2)	àrea	
	GC (mm2)	cèls TUNEL+	cèls TUNEL+/mm2		cèls TUNEL+	cèls TUNEL+/mm2
1	0,028	5	178,6	0,087	7	80,5
2	0,018	5	277,8	0,104	7	67,3
3	0,020	0	50	0,082	1	12,2
4	0,028	4	142,9	0,092	5	54,3
5	0,037	3	81,1	0,089	5	56,2
6	0,034	4	117,6	0,056	5	89,3
7	0,012	1	83,3	0,022	2	90,9
8	0,015	2	133,3	0,030	2	66,7
9	0,032	4	125	0,063	5	79,4
10	0,026	4	153,8	0,046	6	130,4
11	0,032	4	125	0,071	5	70,4
12	0,026	2	76,9	0,042	3	71,42
13	0,062	6	97,8	0,173	8	46,2
m±SD	0,028±0,01	3,38±1,7	126,39±57,6	0,07±0,04	4,69±2,1	70,40±27,4

Tiroiditis de Hashimoto

LF	àrea			LF (mm2)	àrea	
	GC (mm2)	cèls. TUNEL+	cèls. TUNEL+/mm2		cèls. TUNEL+	cèls. TUNEL+/mm2
1	0,092	21	222,3	0,173	88	508,7
2	0,281	77	274	0,385	112	290,9
3	0,020	4	400	0,026	4	153,8
4	0,017	16	941	0,042	17	404,8
5	0,043	13	302,2	0,099	24	242,4
6	0,052	18	346,1	0,111	25	227,3
7	0,045	23	511,1	0,084	25	297,6
8	0,055	13	236,4	0,096	14	145,8
9	0,094	19	202,1	0,178	67	376,4
10	0,330	70	212,1	0,563	115	204,3
11	0,034	12	363,6	0,064	17	265,6
12	0,029	18	642,8	0,057	37	660,7
13	0,012	3	272,7	0,103	19	184,5
14	0,042	11	261,9	0,222	24	108,6
15	0,050	17	425,0	0,149	30	201,3
16	0,039	12	315,8	0,084	17	202,4
17	0,055	20	363,6	0,140	34	242,9
m±SD	0,076±0,09	21,59±20,3	370,16±186,4	0,150±0,14	39,35±34,4	277,53±141,1

Taula III. Quantificació del nombre de cèl.lules apoptòtiques en els fol.licles limfoides ectòpics. A les tres taules s'expressa el nombre absolut de cèl.lules apoptòtiques (per positivitats per la tècnica de TUNEL sobre seccions de teixit de congelació que contenen centres germinals) i la seva distribució per mm² en el total del fol.licle limfoide (LF) i en l'interior del centre germinal (GC).

ID	GCs	AITD	α Tg (UI/ml)	α TPO (UI/ml)	α TSHR (UI/l)	% LI	CXCL12	CCL21	CXCL13	CCL22	LT α	LT β	LT β R	IFN γ
GD208	0	1	36	24	0,9	3,0	0,231	0,023	0,012	0,239	ND	ND	ND	ND
GD255	0	1	36	25	20,0	13,2	0,253	0,182	0,005	0,389	ND	ND	ND	ND
MNG376	0	0	36	24	1,4	3,5	0,115	0,173	0,003	0,144	ND	ND	ND	ND
MNG359	0	0	36	24	0,9	5,2	0,043	0,008	0,001	0,051	2,160	0,130	0,080	0,090
MNG362	0	0	36	24	1,6	6,1	0,473	0,012	0,006	0,655	0,320	0,340	0,150	0,170
MNG418	0	0	36	24	0,9	2,0	0,558	0,236	0,006	0,406	0,240	0,260	0,390	4,670
GD423	0	1	70	53	15,5	10,2	0,809	1,445	0,391	0,036	1,230	4,070	0,050	9,010
GD428	0	1	36	24	0,9	1,2	1,438	0,223	0,006	0,126	ND	ND	ND	ND
ND1	0	0	36	24	0,9	3,5	1,057	1,023	0,004	0,093	0,160	1,700	0,160	0,060
ND2	0	0	36	24	0,9	1,2	0,260	0,374	0,004	0,048	0,660	2,700	0,200	0,130
GD228	1	1	36	24	80,0	40,2	0,550	5,513	2,053	3,250	0,410	0,430	0,660	9,250
GD257	1	1	598	1155	67,0	70,2	4,470	1,772	4,928	ND	ND	ND	ND	ND
GD269	1	1	36	ND	33,0	11,1	0,816	0,485	1,156	0,199	3,050	1,840	0,070	2,510
GD270	1	1	ND	ND	28,0	38,0	2,207	5,219	1,775	0,927	6,010	0,750	0,070	3,230
GD278	1	1	36	24	16,0	42,2	1,780	0,158	1,265	0,659	ND	ND	ND	ND
HT384	1	1	ND	ND	ND	66,6	6,134	3,161	5,870	5,148	4,910	3,320	0,050	0,630
HT385	1	1	774	105000	0,9	76,6	1,288	0,237	7,250	7,414	0,090	0,090	0,120	4,290
MNG399	1	0	36	46	1,2	21,7	4,485	0,072	0,009	ND	1,940	0,540	0,330	0,010
GD430	1	1	36	46	10,1	10,6	0,522	0,307	1,016	0,210	2,530	0,290	0,040	2,380

Taula IV. Quantificació de l'expressió de quimiocines i citocines en tiroïdes autoimmunitàries. Els valors de la taula indiquen el nivells d'expressió de cada quimiocina/citocina calculats com la mitjana de les determinacions fetes per cada molècula en cada mostra (n=4) corregits per la mitjana dels valors d'expressió de GAPDH (n=6). GCs: presència de centres germinals ectòpics; AITD: malaltia autoimmunitària diagnosticada; α Tg: títuls d'anticossos anti-tiroglobulina; α TPO: títuls d'anticossos anti-TPO; α TSHR: títuls d'anticossos anti-receptor de la TSH; %LI: percentatge d'infiltració limfocitària.

CCR7

CD3	ITLs 1	ITLs 2	ITLs 3	ITLs 4	ITLs 5	ITLs 6	ITLs 7	mitjana	STDEV
CD3+CD45RA-CCR7+	0,5	1,4	0,9	1,1	1,4	4,7	0,4	1,5	1,5
CD3+CD45RA+CCR7+	0,3	0,3	0,9	0,7	2,3	0,4	0,6	0,8	0,7
CD3+CCR7+	0,8	1,6	1,8	1,7	3,6	5,1	1,0	2,2	1,6
CD3+CD45RO+CCR7+	0,7	0,3	3,2	1,6	5,0	2,4	3,2	2,3	1,6
CD3+CD45RO-CCR7+	0,2	0,1	0,4	1,1	0,1	0,7	0,1	0,4	0,4
CD3+CCR7+	0,9	0,4	3,6	2,7	5,1	3,1	3,3	2,7	1,6
CD3+CCR7+	0,8	1,0	2,7	2,2	4,4	4,1	2,1	2,5	1,4

CD19	ITLs 1	ITLs 2	ITLs 3	ITLs 4	ITLs 5	ITLs 6	ITLs 7	mitjana	STDEV
CD19+CCR7+	18,4	1,8	12,7	5,1	10,8	19,5	ND	11,4	7,1

CÈL.LULES TOTALS	ITLs 1	ITLs 2	ITLs 3	ITLs 4	ITLs 5	ITLs 6	ITLs 7	mitjana	STDEV
CD3+CCR7+	0,6	0,7	1,9	1,6	3,1	2,9	1,5	1,7	1,0
CD19+CCR7+	5,5	0,5	3,8	1,5	3,2	5,9	ND	3,4	2,1
CCR7+ totals	6,1	1,2	5,7	3,1	6,3	8,7	1,5	4,7	2,8

CXCR4

CD3+	ITLs 1	ITLs 2	ITLs 3	ITLs 4	ITLs 5	ITLs 6	ITLs 7	mitjana	STDEV
CD45RA-CXCR4+	59,0	75,5	46,7	52,0	33,6	ND	49,5	52,7	14,0
CD45RA+CXCR4+	25,1	2,9	1,7	17,1	9,9	ND	5,7	10,4	9,1
CD3+CXCR4+	84,1	78,4	48,4	69,0	43,5	ND	55,1	63,1	16,6
CD45RO+CXCR4+	19,4	27,2	25,0	48,3	38,5	26,9	43,1	32,6	10,7
CD45RO-CXCR4+	55,7	44,5	7,7	18,9	10,1	23,3	16,9	25,3	18,0
CD3+CXCR4+	75,1	71,7	32,7	67,2	48,6	50,2	59,9	57,9	15,0
CD3+CXCR4+	79,6	75,1	40,5	68,1	46,0	50,2	57,5	59,6	15,0

CD19+	ITLs 1	ITLs 2	ITLs 3	ITLs 4	ITLs 5	ITLs 6	ITLs 7	mitjana	STDEV
CD19+CXCR4+	95,3	71,4	66,5	75,9	82,7	73,6	ND	77,6	10,2

CÈL.LULES TOTALS	ITLs 1	ITLs 2	ITLs 3	ITLs 4	ITLs 5	ITLs 6	ITLs 7	mitjana	STDEV
CD3+CXCR4+	55,7	52,5	28,4	47,7	32,2	35,2	40,3	41,7	10,5
CD19+CXCR4+	28,6	21,4	20,0	22,8	24,8	22,1	ND	23,3	3,1
CXCR4+ totals	84,3	74,0	48,3	70,5	57,0	57,2	ND	65,2	13,3

CXCR5

CD3+	ITLs 1	ITLs 2	ITLs 3	ITLs 4	ITLs 5	ITLs 6	ITLs 7	mitjana	STDEV
CD45RA-CXCR5+	27,6	8,4	2,0	10,1	5,6	4,7	0,9	8,5	9,0
CD45RA+CXCR5+	5,8	1,6	2,0	2,2	2,8	0,3	0,2	2,1	1,9
CD3+CXCR5+	33,4	10,0	4,1	12,3	8,4	5,0	1,1	10,6	10,7
CD45RO+CXCR5+	9,8	1,8	4,6	8,8	11,5	5,2	7,8	7,1	3,4
CD45RO-CXCR5+	15,7	1,4	1,0	1,1	0,2	3,2	0,7	3,3	5,5
CD3+CXCR5+	25,5	3,1	5,6	9,9	11,7	8,4	8,5	10,4	7,2
CD3+CXCR5+	29,4	6,6	4,9	11,1	10,1	6,7	4,8	10,5	8,7

CD19+	ITLs 1	ITLs 2	ITLs 3	ITLs 4	ITLs 5	ITLs 6	ITLs 7	mitjana	STDEV
CD19+CXCR5+	75,3	66,2	66,7	99,0	46,2	50,0	ND	67,2	19,0

CÈL.LULES TOTALS	ITLs 1	ITLs 2	ITLs 3	ITLs 4	ITLs 5	ITLs 6	ITLs 7	mitjana	STDEV
CD3+CXCR5+	20,6	4,6	3,4	7,8	7,1	4,7	3,3	7,3	6,1
CD19+CXCR5+	22,6	19,9	20,0	29,7	13,9	15,0	ND	20,2	5,7
CXCR5+ totals	43,2	24,5	23,4	37,5	20,9	19,7	ND	28,2	9,7

Taula V. Quantificació de l'expressió dels receptors de quimiocines CCR7, CXCR4 i CXCR5 als limfòcits intratiroidals de malalts amb autoimmunitat. Els valors es mostren com a percentatges calculats en funció de la finestra d'anàlisi (cèl.lules CD3+ a la taula superior, cèl.lules CD19+ a la central i cèl.lules infiltrants totals a la inferior). Les dues darreres columnes es calculen com les mitjanes i desviacions estàndard dels set teixits.

cèls tot CCR7+

	ITLs 1 PBMCs 1	ITLs 2 PBMCs 2	ITLs 3 PBMCs 3	ITLs 4 PBMCs 4	ITLs 5 PBMCs 5	ITLs 6 PBMCs 6	ITLs 7 PBMCs 7	m±sd ITL	m±sd PBMC							
CCR7+	6,1	39,1	1,2	21,6	5,7	7,2	3,1	50,5	6,3	30,8	8,7	32,5	1,5	48,3	4,7±2,8	32,9±15,0

CD3+CCR7+

	ITLs 1 PBMCs 1	ITLs 2 PBMCs 2	ITLs 3 PBMCs 3	ITLs 4 PBMCs 4	ITLs 5 PBMCs 5	ITLs 6 PBMCs 6	ITLs 7 PBMCs 7	m±sd ITL	m±sd PBMC							
CD45RA-CCR7+	0,5	6,6	1,4	1,8	0,9	ND	1,1	1,6	1,4	4,6	4,7	14,7	0,4	5,2	0,7±1,5	14,5±4,8
CD45RA+CCR7+	0,3	29,3	0,3	20,3	0,9	ND	0,7	52,6	2,3	19,0	0,4	25,6	0,6	48,6	1,6±0,7	14,0±14,5
CCR7+	0,8	35,9	1,6	22,1	1,8	ND	1,7	54,2	3,6	23,7	5,1	40,3	1,0	53,8	1,6±1,6	5,0±14,0
CD45RO+CCR7+	0,7	12,8	0,3	3,0	3,2	ND	1,6	3,8	5,0	8,0	2,4	15,7	3,2	10,1	0,4±1,6	14,6±5,0
CD45RO-CCR7+	0,2	31,8	0,1	21,2	0,4	ND	1,1	48,2	0,1	21,7	0,7	15,7	0,1	49,8	1,6±0,4	14,1±14,6
CCR7+	0,9	44,6	0,4	24,2	3,6	ND	2,7	52,0	5,1	29,7	3,1	31,4	3,3	59,9	1,4±1,6	13,6±14,1
CCR7+	0,8	40,3	1,0	23,2	2,7	ND	2,2	53,1	4,4	26,7	4,1	35,8	2,1	56,9	2,5±1,4	39,3±13,6

CD19+CCR7+

	ITLs 1 PBMCs 1	ITLs 2 PBMCs 2	ITLs 3 PBMCs 3	ITLs 4 PBMCs 4	ITLs 5 PBMCs 5	ITLs 6 PBMCs 6	ITLs 7 PBMCs 7	m±sd ITL	m±sd PBMC							
CCR7+	18,4	32,2	1,8	12,8	12,7	48,2	5,1	35,9	10,8	54,2	19,5	13,3	ND	15,4	11,4±7,1	39,8±17,0

cèls tot CXCR4+

	ITLs 1 PBMCs 1	ITLs 2 PBMCs 2	ITLs 3 PBMCs 3	ITLs 4 PBMCs 4	ITLs 5 PBMCs 5	ITLs 6 PBMCs 6	ITLs 7 PBMCs 7	m±sd ITL	m±sd PBMC							
CXCR4+	84,3	47,9	74,0	29,7	48,3	18,6	70,5	38,3	57,0	13,2	57,2	18,2	54,1	15,9	63,6±12,9	31,6±12,9

CD3+CXCR4+

	ITLs 1 PBMCs 1	ITLs 2 PBMCs 2	ITLs 3 PBMCs 3	ITLs 4 PBMCs 4	ITLs 5 PBMCs 5	ITLs 6 PBMCs 6	ITLs 7 PBMCs 7	m±sd ITL	m±sd PBMC							
CD45RA-CXCR4+	59,0	6,8	75,5	2,3	46,7	1,8	52,0	0,7	33,6	0,1	ND	0,8	49,5	0,3	52,7±14,0	5,8±11,6
CD45RA+CXCR4+	25,1	52,1	2,9	15,7	1,7	6,4	17,1	28,5	9,9	1,4	ND	5,1	5,7	5,4	10,4±9,1	18,9±18,4
CXCR4+	84,1	58,9	78,4	17,9	48,4	8,3	69,0	29,1	43,5	1,6	ND	5,9	55,1	5,6	63,1±16,6	24,8±26,5
CD45RO+CXCR4+	19,4	5,2	27,2	4,6	25,0	0,7	48,3	0,7	38,5	0,9	26,9	2,5	43,1	0,1	32,6±10,7	5,1±8,6
CD45RO-CXCR4+	55,7	18,1	44,5	14,9	7,7	2,1	18,9	28,5	10,1	0,6	23,3	5,2	16,9	0,5	25,3±18,0	14,0±15,2
CXCR4+	75,1	23,2	71,7	19,5	32,7	2,7	67,2	29,1	48,6	1,6	50,2	7,7	59,9	0,7	57,9±15,0	19,1±22,7
CXCR4+	79,6	41,1	75,1	18,7	40,5	5,5	68,1	29,1	46,0	1,6	50,2	6,8	57,5	3,1	59,6±15,0	21,9±15,1

CD19+CXCR4+

	ITLs 1 PBMCs 1	ITLs 2 PBMCs 2	ITLs 3 PBMCs 3	ITLs 4 PBMCs 4	ITLs 5 PBMCs 5	ITLs 6 PBMCs 6	ITLs 7 PBMCs 7	m±sd ITL	m±sd PBMC							
CXCR4+	95,3	85,4	71,4	92,2	66,5	92,8	75,9	90,5	82,7	79,4	73,6	82,8	ND	92,2	77,6±10,0	87,9±5,4

cèls tot CXCR5+

	ITLs 1 PBMCs 1	ITLs 2 PBMCs 2	ITLs 3 PBMCs 3	ITLs 4 PBMCs 4	ITLs 5 PBMCs 5	ITLs 6 PBMCs 6	ITLs 7 PBMCs 7	m±sd ITL	m±sd PBMC							
CXCR5+	43,2	21,7	24,5	24,5	23,4	18,8	37,5	25,3	20,9	21,9	19,7	27,4	3,4	21,9	23,6±2,7	28,2±9,7

CD3+CXCR5+

	ITLs 1 PBMCs 1	ITLs 2 PBMCs 2	ITLs 3 PBMCs 3	ITLs 4 PBMCs 4	ITLs 5 PBMCs 5	ITLs 6 PBMCs 6	ITLs 7 PBMCs 7	m±sd ITL	m±sd PBMC							
CD45RA-CXCR5+	27,6	1,4	8,4	9,1	2,0	3,1	10,1	2,1	5,6	5,0	4,7	2,6	0,9	3,9	8,5±9,0	4,7±3,3
CD45RA+CXCR5+	5,8	5,8	1,6	4,4	2,0	4,5	2,2	11,1	2,8	5,6	0,3	12,8	0,2	7,9	2,1±1,9	6,9±3,5
CXCR5+	33,4	7,1	10,0	13,4	4,1	7,6	12,3	13,2	8,4	10,7	5,0	15,4	1,1	11,8	10,6±10,7	11,6±2,9
CD45RO+CXCR5+	9,8	6,8	1,8	7,6	4,6	0,9	8,8	2,1	11,5	5,6	5,2	14,5	7,8	5,4	7,1±3,4	6,2±4,1
CD45RO-CXCR5+	15,7	3,1	1,4	1,6	1,0	0,4	1,1	11,1	0,2	0,8	3,2	1,7	0,7	1,1	3,3±5,5	2,7±3,5
CXCR5+	25,5	9,9	3,1	9,2	5,6	1,3	9,9	13,2	11,7	6,4	8,4	16,2	8,5	6,6	10,4±7,2	8,9±4,5
CXCR5+	29,4	8,5	6,6	11,3	4,9	4,5	11,1	13,2	10,1	8,5	6,7	15,8	4,8	9,2	10,5±8,7	10,2±3,4

CD19+CXCR5+

	ITLs 1 PBMCs 1	ITLs 2 PBMCs 2	ITLs 3 PBMCs 3	ITLs 4 PBMCs 4	ITLs 5 PBMCs 5	ITLs 6 PBMCs 6	ITLs 7 PBMCs 7	m±sd ITL	m±sd PBMC							
CXCR5+	75,3	95,1	66,2	99,3	66,7	99,7	99,0	94,0	46,2	97,5	50,0	93,0	ND	94,1	67,2±19,0	96,2±2,5

Taula VI. Quantificació de l'expressió dels receptors de quimiocines CCR7, CXCR4 i CXCR5 als limfòcits intratiroidals de malalts amb autoimmunitat amb els corresponents de sang perifèrica. Els valors es mostren com a percentatges calculats en funció de la finestra d'anàlisi (cèl.lules totals a la taula superior, cèl.lules CD3+ a la intermitja i CD19+ a la inferior). Les dues darreres columnes es calculen amb les mitjanes i desviacions estàndard dels set teixits.

cèls tot CXCR5+																		
	AITD 1	AITD 2	AITD 3	AITD 4	AITD 5	AITD 6	AITD 7	AITD 8	CTR 1	CTR 2	CTR 3	CTR 4	CTR 5	CTR 6	CTR 7	CTR 8	m±sd AITDs	m±sd CTRs
CXCR5+	21,7	24,5	18,8	25,3	21,9	27,4	21,9	23,6	23,0	22,3	17,8	25,7	22,1	20,7	27,8	16,2	28,2±9,7	21,9±3,8

CD3+CXCR5+																		
	AITD 1	AITD 2	AITD 3	AITD 4	AITD 5	AITD 6	AITD 7	AITD 8	CTR 1	CTR 2	CTR 3	CTR 4	CTR 5	CTR 6	CTR 7	CTR 8	m±sd AITDs	m±sd CTRs
CD45RA-CXCR5+	1,4	9,1	3,1	2,1	5,0	2,6	3,9	10,4	6,1	4,3	3,6	8,0	6,0	3,3	12,0	2,2	4,7±3,3	5,7±3,2
CD45RA+CXCR5+	5,8	4,4	4,5	11,1	5,6	12,8	7,9	2,9	4,5	4,4	0,9	6,9	3,6	1,9	3,7	3,4	6,9±3,5	3,6±1,8
CXCR5+	7,1	13,4	7,6	13,2	10,7	15,4	11,8	13,2	10,6	8,6	4,5	14,9	9,7	5,2	15,7	5,6	11,6±2,9	9,3±4,3
CD45RO+CXCR5+	6,8	7,6	0,9	2,1	5,6	14,5	5,4	7,0	7,3	6,0	2,7	8,8	6,9	6,1	10,7	0,4	6,2±4,1	6,1±3,3
CD45RO-CXCR5+	3,1	1,6	0,4	11,1	0,8	1,7	1,1	1,4	1,0	2,8	0,3	1,6	0,4	2,2	4,6	0,1	2,7±3,5	1,6±1,5
CXCR5+	9,9	9,2	1,3	13,2	6,4	16,2	6,6	8,4	8,3	8,8	3,0	10,4	7,3	8,3	15,3	0,5	8,9±4,5	7,7±4,5
CXCR5+	8,5	11,3	4,5	13,2	8,5	15,8	9,2	10,8	9,5	8,7	3,7	12,6	8,5	6,7	15,5	3,1	10,5±8,7	8,5±4,2

CD19+CXCR5+																		
	AITD 1	AITD 2	AITD 3	AITD 4	AITD 5	AITD 6	AITD 7	AITD 8	CTR 1	CTR 2	CTR 3	CTR 4	CTR 5	CTR 6	CTR 7	CTR 8	m±sd AITDs	m±sd CTRs
CXCR5+	95,1	99,3	99,7	94,0	97,5	93,0	94,1	95,8	99,7	99,2	97,5	99,5	99,0	100	97,4	90,7	96,2±2,5	97,9±3,1

cèls tot CCR7+																	
	AITD 1	AITD 2	AITD 3	AITD 4	AITD 5	AITD 6	AITD 7	CTR 1	CTR 2	CTR 3	CTR 4	CTR 5	CTR 6	CTR 7	TR 8-12	m±sd AITDs	m±sd CTRs
CCR7+	39,1	21,6	7,2	50,5	30,8	32,5	48,3	61,0	76,3	64,0	69,9	64,3	58,0	83,2	ND	95,3±12,8	68,5±7,0

CD3+CCR7+																	
	AITD 1	AITD 2	AITD 3	AITD 4	AITD 5	AITD 6	AITD 7	CTR 1	CTR 2	CTR 3	CTR 4	CTR 5	CTR 6	CTR 7	TR 8-12	m±sd AITDs	m±sd CTRs
CD45RA-CCR7+	6,6	1,8	ND	1,6	4,6	14,7	5,2	31,9	32,2	32,6	30,9	40,5	19,5	21,1	ND	5,7±4,8	29,8±12,5
CD45RA+CCR7+	29,3	20,3	ND	52,6	19,0	25,6	48,6	28,2	42,8	39,5	41,4	20,8	42,2	60,4	ND	32,6±14,5	39,3±8,2
CCR7+	35,9	22,1	ND	54,2	23,7	40,3	53,8	60,1	75,0	72,2	72,3	61,2	61,7	81,5	ND	38,3±14,0	69,1±11,9
CD45RO+CCR7+	12,8	3,0	ND	3,8	8,0	15,7	10,1	29,1	44,7	22,2	24,1	49,8	17,5	31,9	ND	8,9±5,0	31,3±12,2
CD45RO-CCR7+	31,8	21,2	ND	48,2	21,7	15,7	49,8	27,4	29,9	27,5	39,8	11,4	30,5	51,4	ND	31,4±14,6	31,1±12,8
CCR7+	44,6	24,2	ND	52,0	29,7	31,4	59,9	56,5	74,7	49,7	63,9	61,2	48,0	83,2	ND	40,3±14,1	62,5±9,8
CCR7+	40,3	23,2	ND	53,1	26,7	35,8	56,9	57,9	74,8	60,9	68,1	61,2	54,9	82,3	69,6	39,3±13,6	57,3±7,9

CD19+CCR7+																	
	AITD 1	AITD 2	AITD 3	AITD 4	AITD 5	AITD 6	AITD 7	AITD 8	CTR 1	CTR 2	CTR 3	CTR 4	CTR 5	CTR 6	CTR 7	m±sd AITDs	m±sd CTRs
CCR7+	32,2	12,8	48,2	35,9	54,2	13,3	15,4	46,9	88,5	89,2	91,0	86,2	92,2	87,0	91,2	40,3±17,0	82,6±3,8

cèls tot CXCR4+																	
	AITD 1	AITD 2	AITD 3	AITD 4	AITD 5	AITD 6	AITD 7	CTR 1	CTR 2	CTR 3	CTR 4	CTR 5	CTR 6	CTR 7	CTR 8	m±sd AITDs	m±sd CTRs
CXCR4+	47,9	29,7	18,6	38,3	13,2	18,2	16,5	48,3	62,6	60,2	69,9	70,4	63,2	63,0	74,0	91,6±12,9	60,9±7,8

CD3+CXCR4+																	
	AITD 1	AITD 2	AITD 3	AITD 4	AITD 5	AITD 6	AITD 7	CTR 1	CTR 2	CTR 3	CTR 4	CTR 5	CTR 6	CTR 7	CTR 8	m±sd AITDs	m±sd CTRs
CD45RA-CXCR4+	6,8	2,3	1,8	0,7	0,1	0,8	0,3	28,4	23,8	22,8	21,0	40,1	25,0	33,2	19,3	5,8±2,3	26,7±7,0
CD45RA+CXCR4+	52,1	15,7	6,4	28,5	1,4	5,1	5,4	11,9	31,1	43,8	27,0	27,8	30,1	33,0	39,9	18,9±18,2	30,6±9,5
CXCR4+	58,9	17,9	8,3	29,1	1,6	5,9	5,6	40,3	54,9	66,5	47,9	67,9	55,1	66,1	59,2	24,8±20,2	57,3±9,7
CD45RO+CXCR4+	5,2	4,6	0,7	0,7	0,9	2,5	0,1	27,9	25,4	9,0	42,5	41,8	26,1	29,2	25,0	5,1±2,0	28,4±10,6
CD45RO-CXCR4+	18,1	14,9	2,1	28,5	0,6	5,2	0,5	11,4	33,7	31,6	39,1	21,1	33,1	18,3	59,2	14,0±10,8	30,9±14,7
CXCR4+	23,2	19,5	2,7	29,1	1,6	7,7	0,7	39,2	59,1	40,6	81,6	62,9	59,2	47,5	84,2	19,1±11,7	59,3±17,0
CXCR4+	41,1	18,7	5,5	29,1	1,6	6,8	3,1	39,8	57,0	53,6	64,7	65,4	57,1	56,8	71,7	21,9±15,1	58,3±9,6

CD19+CXCR4+																	
	AITD 1	AITD 2	AITD 3	AITD 4	AITD 5	AITD 6	AITD 7	CTR 1	CTR 2	CTR 3	CTR 4	CTR 5	CTR 6	CTR 7	CTR 8	m±sd AITDs	m±sd CTRs
CXCR4+	86,4	92,2	92,8	90,5	79,4	82,8	92,1	96,4	94,5	97,6	99,1	99,3	97,5	97,9	86,7	87,9±5,4	96,1±4,1

Taula VII. Quantificació de l'expressió dels receptors de quimiocines CCR7, CXCR4 i CXCR5 als limfòcits de sang perifèrica de malalts amb autoimmunitat amb els de controls sans. Els valors es mostren com a percentatges calculats en funció de la finestra d'anàlisi (cèl.lules totals a la taula superior, cèl.lules CD3+ a la intermitja i CD19+ a la inferior). Les dues darreres columnes es calculen com les mitjanes i desviacions estàndard dels set teixits.

6. *DISCUSSIÓ*

Per tal de generar una resposta humoral protectora, el sistema immunitari ha optimitzat microentorns (òrgans limfoides secundaris) en els que afavoreix la confluència i comunicació de cèl·lules T i cèl·lules B infreqüents i l'antigen^{464,465}. Des del punt de vista geogràfic, s'accepta que una resposta immunitària eficient té lloc en els òrgans limfoides secundaris perquè l'antigen hi arriba en quantitats adequades en un procés dependent del temps⁷¹ i existeixen mecanismes per prevenir l'expansió i maduració de cèl·lules T i B potencialment autoreactives. Els limfòcits T i B arriben als òrgans limfoides secundaris via HEVs i se situen en compartiments anatòmicament diferenciats on romanen durant algunes hores. En presència d'antigen les primeres interaccions cel·lulars es donen a la interfase de les àrees T i B i, en condicions apropiades s'inicia la reacció centre germinal. Després de migrar cap a la xarxa de cèl·lules dendrítiques fol·liculars, els limfòcits B proliferen, muten els gens de les Igs i els mutants amb alta especificitat antigènica se seleccionen positivament.

Les inflamacions cròniques, considerades com a mecanisme de defensa de l'hoste, són perllongades i qualitativament heterogènies i generen diversos tipus d'infiltrat cel·lular en funció de factors propis del teixit afectat, com és l'estímul antigènic. En els teixits diana de l'atac immunitari, els infiltrats limfocitaris que morfològicament són similars als que s'organitzen en els òrgans limfoides secundaris s'anomenen *òrgans limfoides terciaris*³ (TLTs) i el procés mitjançant el qual es desenvolupen s'anomena *neogènesi limfoide o limfoneogènesi*.

Els principis biològics que condueixen a la formació d'estructures limfoides secundàries i terciàries semblen compartits. Encara que la presència de fol·licles limfoides ectòpics s'ha descrit en un ampli ventall de malalties inflamatòries i cròniques (més abastament a l'artritis reumatoide^{290,291,299,466,268,297} i no tan exhaustivament a la síndrome de Sjögren⁴⁶⁷ i a la miastènia gravis^{307,306}), a la majoria no es coneix quina és la contribució d'aquestes estructures en la cronificació o en l'amplificació de la resposta immunitària. El nostre interès en l'estudi de la limfoneogènesi a nivell de tiroide pretén explicar com es desenvolupa i manté una malaltia autoimmunitària a la tiroide malgrat l'existència d'un repertori de cèl·lules T tolerants contra antígens tiroïdals.

En les malalties autoimmunitàries de la tiroide, la presència de fol·licles limfoides (LFs) intratiroïdals s'ha considerat una característica dels pacients amb malaltia de Hashimoto (HT) però no dels malalts de Graves-Basedow (GD). Per la seva pròpia estructura, els fol·licles limfoides es distribueixen en focus dispersos en la glàndula, de forma que un cribatge restringit a una àrea determinada de la tiroide pot no ser representativa del nombre real d'aquestes estructures. Aquesta subestimació es dona sobretot en les glàndules dels GD, donat que en aquestes la infiltració limfocítica és menys intensa i menys homogènia. En el present treball, per tal de reduir la pèrdua d'informació, hem utilitzat un protocol de cribatge que té en compte la distribució i el volum mitjà dels fol·licles limfoides, que consisteix a l'observació sistemàtica d'una de cada deu seccions consecutives en un total de 5 grams de teixit disponible. Malgrat tot, les dades obtingudes del recompte encara poden representar una subestimació del valor real, la qual cosa implicaria que la presència de LFs intratiroïdals seria un fet regular.

L'associació entre títols elevats d'autoanticossos contra la TPO i el TSHR i la presència de LFs intratiroïdals a les AITDs suggereix que aquestes estructures poden jugar un paper en la producció d'anticossos. Una possibilitat seria que la formació de LFs intratiroïdals determinés la transició d'una resposta auto-limitada contra antígens tiroïdals, com ja s'ha suggerit en altres models experimentals¹⁵⁴. El nostre treball mostra una unió específica de Tg i de TPO a les cèl·lules B i a les cèl·lules plasmàtiques i la seva distribució en els LFs suggereix que la majoria de reaccions de centre germinal en els LFs estan compromeses contra autoantígens tiroïdals. El patró de reconeixement antigènic dels clons de cèl·lules B obtinguts per immortalització de limfòcits B intratiroïdals recolza els anteriors resultats, donat que aproximadament el 50% són específics contra Tg o contra TPO. La contribució relativa dels LFs ectòpics als nivells finals d'autoanticossos circulants no es pot deduir directament dels presents resultats, però sembla que pot ser important, sobretot per les observacions clíniques que demostren una reducció immediata dels

nivells d'autoanticossos després d'una tiroïdectomia en els malalts de GD⁴⁶⁸. Una resposta autoimmunitària dirigida pels nòduls limfàtics regionals hauria de ser més mantinguda donada la persistència per llargs períodes de temps dels autoantígens en la superfície de les cèl·lules dendrítiques fol·liculars⁴⁶⁹. Existeixen resultats d'altres grups que recolzen la contribució de les cèl·lules B dels centres germinals en la generació d'anticossos com són les estructures limfoides associades a mucoses que es desenvolupen en les infeccions per *H. pylori* i que són específiques contra antígens bacterians⁴⁷⁰.

Les similituds quan a mida, grau de desenvolupament i distribució relativa de la zona del mantell fol·licular respecte del centre germinal, nivell de proliferació, grau d'apoptosi, etc, entre els LFs dels HT i els de l'amígdala palatina i entre els dels GD i els de gangli limfàtic pot indicar una diferència en la patogènesi de les dues formes d'autoimmunitat tiroïdal. Tant les amígdales com els HT presenten un grau d'activació elevat. En els primers s'ha demostrat que els LFs poden ser activats per LPS i altres productes bacterians presents a la faringe⁴⁷¹. En aquest sentit les nostres dades suggereixen que els LFs intratiroïdals són estimulats per concentracions elevades de proteïnes tiroïdals que poden mantenir el seu estat d'activació. Això podria ser relevant en els limfomes de cèl·lules B que es desenvolupen en les tiroïdes dels malalts amb tiroïditis de Hashimoto, que tenen característiques típiques de limfomes tipus MALT⁴⁷² i que són conseqüència d'una expansió monoclonal de limfòcits B memòria postfol·liculars estimulats crònicament per antígens del tracte gastrointestinal. De forma similar, els limfomes B dels malalts amb HT podrien ser el resultat d'una estimulació crònica de les cèl·lules dels centres germinals per antígens tiroïdals. Malgrat tot, encara que els limfomes tipus MALT s'originin en llocs anatòmics en els que s'han generat GCs, les cèl·lules dels limfomes MALT són diferents de les dels GCs i no en formen espontàniament encara que poden colonitzar fol·licles limfoides pre-existents⁴⁷³. En aquest sentit les dades publicades en artritis reumatoide indicarien que els limfomes tipus MALT s'originarien quan cèl·lules B autoreactives clonals generades en teixits limfoides terciaris escaparien als mecanismes de control del GC, s'estimularien i proliferarien en presència de limfòcits T específics d'antigen i adquiririen transformacions genètiques estables a nivell dels gens de les Igs⁴⁷⁴. En els malalts amb GD, la presència de limfomes B tipus MALT és la mateixa que a la població sense malaltia autoimmunitària de la tiroide. En aquests malalts, el menor grau d'activació dels centres germinals intratiroïdals es podria explicar per la baixa concentració del TSHR que és l'autoantigen amb més entitat en aquesta patologia.

Una qüestió interessant relacionada amb l'anterior és el biaix en el repertori dels gens VH, DH i JH de les immunoglobulines dels limfòcits B que infiltrin les tiroïdes. D'acord amb els coneixements teòrics, la restricció en l'ús dels segments CDR3 indicaria una oligoclonalitat de les cèl·lules B que formen part del centre germinal similar a la que s'ha descrit en altres malalties autoimmunitàries com la síndrome de Sjögren, en la que els limfomes MALT que es desenvolupen estan dirigint la limfogeneïsi.

En el present treball es demostra un paral·lelisme complet entre els fol·licles limfoides canònics i els que es detecten a les tiroïdes. Aquest fet es refereix tant a nivell estructural (composició i distribució cel·lulars) com a nivell dels mecanismes bàsics fonamentals que tenen lloc en la reacció centre germinal:

1/ Respecte la composició i distribució cel·lulars, no existeixen diferències fonamentals respecte les publicades per altres grups en altres malalties autoimmunitàries, però sí que caldria comentar que, en contrast amb el que d'ha descrit a l'artritis reumatoide on només es detecten limfòcits T CD8⁺, i en els ganglis limfàtics on només es descriuen T CD4⁺, en els centres germinals intratiroïdals co-existeixen les cèl·lules T CD4⁺ amb les CD8⁺. Les evidències experimentals suggereixen que ambdues subpoblacions estan involucrades en el desenvolupament dels teixits limfoides terciaris. Mentre que les cèl·lules T CD4⁺ regularien la proliferació i diferenciació dels limfòcits B dels nòduls limfàtics, la presència de T CD8⁺CD154⁺ en la zona perifol·licular s'associaria amb processos funcionals independents²⁹⁹. Els estudis funcionals duts a terme en quimeres de ratolí SCID-sinòvia humana demostren que els limfòcits T CD8⁺CD154⁺ produeixen IFN γ i

TNF α i que la seva depleció amb tractament amb anticossos anti-CD3 condueix a una desintegració dels GCs, una eliminació de les cèl·lules dendrítiques fol·liculars, un decrement molt important en la producció de LT α 1 β 2 i una desaparició d'Igs. La presència de limfòcits T CD8⁺ als fol·licles limfoides de les AITDs suggeriria un paper rellevant dels antígens endògens (tiroglobulina i peroxidasa tiroïdal) associats a molècules d'HLA de classe I en la formació dels GCs.

2/ Els gens *RAG1* i *RAG2* (recombination activation genes) juguen un paper fonamental en els reordenaments dels segments gènics V(D)J durant el desenvolupament dels limfòcits en els òrgans limfoides primaris⁴⁷⁵. Encara que inicialment la seva expressió es va suggerir restringida als òrgans limfoides primaris, posteriorment es va demostrar que alguns limfòcits B perifèrics poden ser reinduits a expressar RAG o regular-lo positivament^{232,270,271}. Això es va demostrar en cèl·lules B esplèniques estimulades *in vitro* amb LPS+IL-4 i en cèl·lules B de centre germinal de ratolins immunitzats^{273,269}. Aquesta re-expressió dels gens RAG es va interpretar com una evidència de l'edició del receptor a nivell perifèric (ara coneguda com a receptor revisió) i que estava dirigida a rescatar els limfòcits B autoreactius generats després d'un procés d'hipermutació somàtica. La demostració que la unió al receptor (Ig) inhibia l'expressió de RAG en cèl·lules B humanes d'amígdala palatina suggeria que aquesta revisió del receptor estava destinada al rescat d'aquelles cèl·lules en les que el seu receptor de superfície hagués reduït l'afinitat durant la hipermutació somàtica⁴⁷⁶. Contràriament a les primeres dades, experiments més recents utilitzant la GFP com a marcador de la inducció de l'expressió de RAG2 indiquen que l'expressió de RAG en els centres germinals podria ser deguda a la presència d'un percentatge petit de cèl·lules B immadures RAG⁺ tant a la melsa com als nòduls limfàtics⁴⁷⁷. Aquests limfòcits B immadurs contribuirien probablement a la resposta immunitària i l'expressió de RAG no tindria per què ser considerada com a característica d'activitat del centre germinal⁴⁷⁸. Als fol·licles limfoides intratiroïdals, l'expressió de RAG és molt remarcable i en alguns casos es troba per sobre dels nivells d'expressió al timus, cosa que probablement indicaria una alta activitat dels centres germinals que contenen. Les nostres dades no permeten d'establir quina de les següents alternatives (no mútuament excloents) podrien explicar aquest nivell d'expressió elevat de RAG. Una primera explicació seria que podria estar tenint lloc una activa revisió del receptor. En una segona explicació es podria postular la presència d'una elevada proporció de cèl·lules B immadures o, en general, recents emigrants del moll de l'os. El fenotip de les cèl·lules B intratiroïdals ens fa decantar per la primera alternativa. És possible que els limfòcits B reclutats de la sang cap als fol·licles tiroïdals expressin receptors de baixa afinitat i tingui lloc una extensa revisió del receptor per tal de generar limfòcits B d'alta afinitat per l'antigen, com s'ha demostrat en altres malalties autoimmunitàries humanes com el lupus eritematós sistèmic⁴⁷⁹ i en l'artritis reumatoide²⁶⁸.

La *migració selectiva* dels limfòcits cap als òrgans limfoides perifèrics està regulada, entre d'altres, per molècules d'adhesió. Les vècules d'endoteli alt (HEVs) són estructures vasculars especialitzades que permeten un tràfec ràpid i selectiu dels limfòcits des de la sang cap als òrgans limfoides secundaris. En el present treball hem demostrat la presència d'aquestes estructures distribuïdes al voltant dels fol·licles limfoides intratiroïdals, cosa que indicaria la possibilitat de la glàndula d'atraure selectivament determinades subpoblacions leucocitàries.

Els senyals que dirigeixen les cèl·lules cap als òrgans limfoides secundaris no estan absolutament determinats, però se sap que citocines com LT α , LT β ^{157,480} i quimiocines com CXCL13⁴⁸¹, CCL21, CXCL12⁴⁸² i CCL22⁴⁸³ i els seus respectius receptors actuen sinèrgicament en la definició final i en el manteniment de l'estructura del fol·licle limfoide i del centre germinal de forma seqüencial en el que es coneix com a "**multistep paradigm**". Els treballs amb teixits humans presenten algunes limitacions metodològiques donat que en determinades circumstàncies els inductors d'un procés i les seves conseqüències poden no ser fàcilment distingibles. Per contra, però, els resultats obtinguts tenen una vàlua addicional donat que han estat obtinguts sense cap

manipulació externa del sistema. Les restriccions mencionades i les limitacions intrínseques de les anàlisis bivariants correntment utilitzades, s'han minimitzat mitjançant la utilització d'un nombre elevat de mostres i s'han estudiat els resultats mitjançant anàlisis multivariants que poden predir esdeveniments i poden establir classificacions jeràrquiques. D'acord amb aquestes premisses i donat que la xarxa de quimiocines és altament imbrincada, analitzarem els resultats individualment en una primera aproximació.

1/ És sabut que CCL21 és secretada principalment per les HEVs¹⁰⁹ i pot ser considerada com el primer quimioattractant en un **primer pas** en la neolimfogènesi. Els nostres resultats mostren que aquesta quimiocina està hiperexpressada a nivell de missatger en les glàndules d'AITDs que contenen centres germinals i a nivell proteic s'ha pogut definir clarament en les HEVs. Altres autors també han proposat les cèl·lules endotelials com a responsables de CCL21 en teixits que contenen LFs i són diana de malalties⁴⁸⁴. Quan la quimiocina s'expressa ectòpicament o es generen ratolins defectius, tenen lloc fenòmens inflamatoris en alguns casos⁴⁸⁵, formacions de centres germinals ectòpics en d'altres^{486,487} o s'inhibeix l'arribada de les cèl·lules pre-immunes i de les dendrítiques a les àrees T dels nòduls limfàtics¹⁷⁰. Les nostres dades demostren la capacitat de les glàndules tiroïdals d'actuar com a àrees d'arribada de leucòcits. Com és esperable i d'acord amb dades d'altres grups, CCR7 es detecta en els limfòcits intratiroïdals i en les cèl·lules dendrítiques però el nivell d'expressió és baix i el nombre de cèl·lules positives per a aquest receptor també ho és. Una explicació a aquest resultat podria ser la regulació negativa del receptor de superfície un cop la cèl·lula ha assolit la glàndula (com s'ha proposat en altres models per altres receptors^{488,489}) que, a la vegada, indicaria indirectament que el reciclatge dels limfòcits en els LFs intratiroïdals seria relativament baix en aquest estadi.

2/ CXCL12 és una quimiocina homeostàtica constitutiva produïda per les cèl·lules estromals del moll de l'os, el timus, els òrgans limfoides secundaris⁴⁸² i altres teixits^{490,491}. Dels nostres resultats es dedueix que CXCL12 esdevé en aquest punt (considerat per nosaltres com a **segon pas**) la quimiocina involucrada en la regulació del tràfec limfocitari un cop les cèl·lules han arribat a la tiroide. Hem demostrat que les cèl·lules estromals tiroïdals en la majoria de tiroïdes produeixen nivells baixos i variables de CXCL12, excepte en els HT en els que el nivell d'expressió és més elevat malgrat que la destrucció de cèl·lules epitelials sigui més extesa. La variabilitat en l'expressió d'aquesta quimiocina en els malalts amb autoimmunitat tiroïdal és probablement explicable per la proporció variable que l'infiltrat limfocitari representa en cada glàndula. Segons això, aquelles tiroïdes en les que l'infiltrat intratiroïdal seria més elevat (en funció de l'estadi de la malaltia, el tractament farmacològic rebut pel pacient, etc) i en les que d'acord amb els nostres resultats s'hi haurien format ja fol·licles limfoides ectòpics, presentarien un contingut més reduït de cèl·lules estromals capaces de produir CXCL12. Quant als HT, quan s'injecten PBMCs d'individus EBV⁺ en ratolins SCID, es desenvolupen tumors humans que donen lloc a limfomes B⁴⁹². En aquests tumors s'expressa més CXCR4 que d'altres receptors (CXCR3 i CCR7), però sobretot s'hi expressa selectivament CXCL12, cosa que suggereix una relació entre l'expressió de la quimiocina i el desenvolupament de la LCL. En els nostres resultats demostrem que les glàndules amb AITD que expressen més CXCL12 són els HT que, a la vegada, són els que amb més freqüència fan limfomes. Potser es podria establir la mateixa correlació. Només després d'estimulació amb citocines, com en altres cèl·lules epitelials endocrines⁴⁹³, els tiròcits esdevenen la principal font de CXCL12 biològicament activa sobre limfòcits T i B. De tots els estímuls testats, l'IFN γ sembla el més potent, fet que està en correlació directa amb la hiperexpressió d'IFN γ en les tiroïdes que contenen centres germinals. La producció de CXCL12 per part dels tiròcits no és un fenomen excepcional, donat que poden sintetitzar algunes quimiocines inflamatòries implicades en l'atracció de monòcits via CCL2 i de limfòcits T i B^{446,447} via CXCL10 i, a més, és conegut que cèl·lules estromals d'altres òrgans diana de malalties autoimmunitàries també produeixen CXCL12³⁷⁴. Aquest fet podria explicar la generació de LFs ectòpics en les tiroïdes de malalts amb goll multinodular que no és una entitat clínicament considerada com d'origen autoimmunitari.

En aquest context, un esdeveniment inicial local inespecífic (excés de iode com en el model murí de tiroïditis autoimmunitària induïda⁴⁰⁷) podria produir la necrosi de tiròcits, que conduiria a l'estimulació de macròfags residents a la glàndula productors d'IL-1 o altres citocines, que induiria l'increment en l'expressió de CXCL12 pel tiròcits adjacents. L'únic receptor descrit fins el moment de CXCL12, CXCR4, permet la migració dels limfòcits B cap a les àrees B dels LFs i en les malalties autoimmunitàries de la tiroide, com en altres malalties autoimmunitàries⁴⁹⁴ la interacció amb el seu lligand sembla crítica en l'acumulació de les cèl·lules T i B.

3/ Al contrari de les quimiocines homeostàtiques que són d'expressió constitutiva, altres són regulades o induïdes per algunes citocines. Aquest és el cas de CXCL13 que és induïda per la secreció de LT α ⁴⁹⁵ en un feedback positiu, donat que CXCL13 indueix a la vegada l'expressió en superfície de LT β . En general, les *citocines de la família del factor de necrosi tumoral* juguen un paper important en l'organogènesi limfoide, fet que es demostra quan els ratolins defectius en LT α o LT β i en el seu receptor LTbetaR presenten anomalies en l'organització dels teixits limfoides i que quan s'expressen transgènicament es formen LFs ectòpics⁴⁹⁶. En els centres germinalis canònics, LT β s'expressa en una proporció reduïda de limfòcits T i B però s'ha de co-expressar amb LT α en forma de trímer LT α 1 β 2 per a que sigui considerada funcional. En el nostre model humà, segons els resultats de l'anàlisi bivariant, només l'expressió de LT α correlaciona amb el desenvolupament de GCs intratiroidals visibles, mentre que LT β i LTbetaR són més uniformement presents en totes les glàndules tant autoimmunitàries com no. Els nostres resultats no coincideixen amb els reportats en l'artritis reumatoide, segons els quals LT β correlaciona amb CXCL13⁴⁹⁷. Aquesta discrepància podria ser deguda a l'estat tardà de maduració dels LFs intratiroidals del nostre material. De fet, en el moment en els que els pacients són intervinguts quirúrgicament, la malaltia ha estat activa durant períodes de temps variables. Quan es consideren els resultats de l'anàlisi multivariant, l'expressió de LTbetaR sembla indispensable en el desenvolupament dels fol·licles limfoides intratiroidals. Considerats en conjunt, els resultats indicarien un **tercer pas** en el que la secreció de LT α induiria l'expressió de CXCL13.

4/ Entre les quimiocines que regulen la compartimentalització dels limfòcits T i B en els LFs i que modula l'expressió de LT β , *CXCL13* és la relacionada amb el *manteniment de la xarxa de cèl·lules dendrítiques fol·liculars*⁴⁹⁸. En les nostres mostres hem demostrat la síntesi de CXCL13 restringida a les tiroïdes amb CGs, però no hem pogut determinar la naturalesa de les cèl·lules productores d'aquesta quimiocina. En l'artritis reumatoide s'han identificat els sinoviocits, les cèl·lules endotelials i les FDCs com a productores de CXCL13⁴⁷⁴. En el nostre cas la distribució de les cèl·lules CXCL13⁺ recorda més la de les cèl·lules dendrítiques, encara que no es pot descartar que els focus de cèl·lules CXCL13⁺ aïllades puguin ser FDCs residuals o en els primers estafdis de diferenciació a partir d'un precursor cel·lular resident inicialment a la tiroide i modificat posteriorment per estímuls encara no determinats. D'acord amb el model "multistep", la secreció de CXCL13 induiria a la vegada la síntesi de LT β per part de les cèl·lules B del centre germinal (**quart pas**) tancant així un cercle que s'aniria autoalimentant i mantindria la compartimentalització del LF. Els limfòcits intratiroidals expressen CXCR5 en la seva superfície. Dos grups independents han descrit la presència d'un nou subtipus de cèl·lula T memòria CD4⁺CXCR5⁺CCR7⁻, que indueix el canvi d'isotip quan es co-cultiven amb limfòcits B d'amígdala^{488,489}.

5/ El **cinquè** i darrer **pas** del procés seria atribuïble a CCL22¹⁶⁵, expressada per les DCs madures⁴⁹⁹ i que ha estat descrita com a quimiotàctica per les cèl·lules CLA-1⁺. Segons els nostres resultats, CCL22 es gairebé exclusiva de les tiroïdes amb centres germinals, per la qual cosa la converteix en una de les molècules necessàries en el desenvolupament d'aquestes estructures a nivell de tiroide. La correlació que existeix entre la quimiocina i els nivells d'autoanticossos tiroïdals (Tg, TPO i TSHR) suggereixen una contribució d'aquesta molècula en la immunitat humoral característica de les malalties autoimmunitàries de la tiroide.

Donada la diversitat o variabilitat dels processos de neogènesi en diferents malalties autoimmunitàries, a la vista dels resultats propis i d'altres grups, la qüestió principal sembla la de concretar els factors que determinen el control final dels procés. Sembla que un dels factors crítics és l'antigen, però que els patrons de l'hoste com factors genètics, etc, pot ser determinant. Existeixen múltiples factors que contribueixen a la transformació d'un infiltrat inflamatori en una estructura limfoide organitzada que tingui la capacitat d'adquirir funcions noves i de dirigir el curs d'una malaltia autoimmunitària. En les malalties autoimmunitàries de la tiroide, la regressió multivariant mostra que els elements fonamentals en el desenvolupament de LFs intratiroïdals són l'expressió de CXCL13, CCL22 i la presència de limfotoxina, mentre que d'altres molècules com citocines i altres quimiocines produïdes en la lesió no semblen determinants en el procés de neogènesi (de forma similar al que s'ha descrit en l'artritis reumatoïde en la que CCL22 és substituïda per CCL21⁴⁹⁷).

Una de les qüestions més interessants que es desprenen del present treball és quin paper juguen els LFs intratiroïdals en el desenvolupament de la patogènesi. És difícil respondre donat que el rol dels LFs ectòpics fisiològics que apareixen durant la resposta a una infecció encara no s'ha determinat. No està clar quin és l'avantatge que obté el sistema immunitari quan trasllada aquestes "posicions avençades" al teixit diana. Els LFs en àrees molt riques en antigen i fora del teixit limfoide podrien permetre una expansió ràpida de la resposta que podria assolir una alta intensitat. El reclutament de cèl·lules B dèbilment autoreactives a la tiroide i una revisió extensiva dels seus receptors (que es convertirien en Igs de superfície d'alta afinitat), seria important per la producció d'autoanticossos d'alta afinitat. En un LF normal, les cèl·lules B autoreactives serien eliminades per apoptosi quan es posessin en contacte amb antigen, però això no sembla que sigui el que té lloc en els GCs intratiroïdals en els que la concentració d'antigen és molt elevada, cosa que suggeriria que el microambient en el que es desenvolupen els GCs a la tiroide és permissiu a les respostes autoimmunitàries. Posteriorment, la presentació antigènica d'antígens propis per les cèl·lules B autoreactives i, potser també per cèl·lules presentadores d'antigen professionals i no professionals (com tiròcits que expressen alts nivells de molècules d'HLA de classe II i d'adhesió^{500,501,502}), podria ser crucial en el manteniment i en l'expansió de la resposta autoimmunitària. En aquest escenari seria senzill predir que les respostes autoimmunitàries serien més difícils de controlar quan es desenvolupessin LFs al teixit diana.

L'esdeveniment que inicia les AITDs encara no s'ha identificat, però modificacions en els nivells de l'aport de iodina és probablement important. No és difícil de concenbre que una resposta inicial inflammatòria no específica induïda localment per toxicitat podria estimular la secreció de citocines i de quimiocines per part de macròfags, cèl·lules dendrítiques i tiròcits. En algunes circumstàncies, les cèl·lules endotelials podrien adquirir les característiques de vècules d'endoteli alt i recultar limfòcits T i B, mentre que alhora algunes cèl·lules estromals podrien evolucionar a cèl·lules dendrítiques fol·liculars. En aquest escenari, l'inici d'una resposta immunitària a nòdul limfàtic regional no seria estrictament necessària, donat que els limfòcits en el propi òrgan diana podrien proimoure la resposta.

La possibilitat que els LFs intratiroïdals puguin contribuir al desenvolupament d'una AITD, suggereix que l'administració local d'uan teràpia immunosupressora podria controlar la malaltia. Aquest fet no seria impostant a les malalties autoimmunitàries de la tiroide donat que els tractament a l'abast són relativament satisfactoris, però podrien ser-ho en altres malalties per que l'administració de tractament local no comporta els efectes no desitjats severes que comporta el tractament amb immunosupressors sistèmics.

Un altra resultat interessant que es desprèn del present treball és que l'acumulació de limfòcits a la tiroide té conseqüències perifèriques. Aquesta acumulació "específica de receptor" es podria explicar com a conseqüència de dues situacions diferents: a/ que el percentatge de limfòcits CXCR4⁺ circulants a PBMCs dels AITDs incrementi després de l'atac autoimmunitari cosa que incrementa la probabilitat que es dirigeixin cap a la tiroide, o b/ que els limfòcits CXCR4⁺ perifèrics siguin reclutats al teixit diana i, com a

conseqüència, el nombre de les cèl·lules positives pel receptor minvi. Els nostres resultats són compatibles amb la segona situació degut a que hem trobat un percentatge més elevat de cèl·lules "receptor-positives" infiltrant el teixit diana i formant els centres germinals intratiroïdals que en perifèria. És probable que el nivell d'activació alt dels LFs a la tiroide causi una reducció marcada en la proporció de limfòcits T CXCR4⁺ i CCR7⁺, i menys marcada en els limfòcits B CXCR5⁺, dels malalts amb AITD. Aquest canvi fenotípic podria constituir un bon marcador de l'activitat cel·lular de la resposta immunitària contra els antígens tiroïdals i es podria utilitzar com a test clínic pel seguiment dels malalts.

Finalment, i corroborant la relevància patogènica de la neogènesi limfoide intratiroïdal en la resposta autoimmunitària, hem trobat una elevada correlació entre els nivells d'expressió de quimiocines i els nivells d'autoanticossos.

7. CONCLUSIONS

1/ La tiroide es comporta com una glàndula que, en les malalties autoimmunitàries de la tiroide (malaltia de Graves-Basedow i tiroïditis de Hashimoto), es comporta alhora com a teixit diana de l'atac autoimmunitari i com a glàndula en la que es desenvolupen fol·licles limfoides ectòpics (teixit limfoide terciari) propis de teixit limfoide secundari.

2/ Els centres germinals que s'hi formen estan constituïts per tots els tipus cel·lulars descrits fins al moment en els centres germinals canònics, amb una distribució molt similar. En el seu sí, tenen lloc tots els processos característics de la reacció centre germinal (proliferaió, hipermutació somàtica amb reordenaments secundaris, apoptosi, canvi d'isotip).

3/ En els fol·licles limfoides intratiroïdals s'hi generen cèl·lules B que expressen receptors (immunoglobulines) específiques contra antígens tiroïdals (contra tiroglobulina i contra peroxidasa tiroïdal) que poden contribuir a la cronificació de la malaltia un cop instaurada dirigida per la pròpia glàndula.

4/ Els mecanismes d'eliminació de les cèl·lules autoreactives generades *in situ* són insuficients o defectuosos (fins i tot encara que hi hagi una alta concentració d'antigen).

5/ En les tiroïdes on es desenvolupen centres germinals, s'observa un patró de citocines característic dels centres germinals canònics, en els que aquestes es troben hiperexpressades.

6/ En les tiroïdes on es desenvolupen centres germinals, s'observa un patró de quimiocines característic dels centres germinals canònics, en els que aquestes es troben hiperexpressades. En la producció d'aquestes quimiocines, els tiròcits juguen un paper fonamental, donat que són la principal font de CXCL12 funcional que sembla que jugaria un paper important en el reclutament inicial dels limfòcits T i B que infiltrin les glàndules.

7/ El patró de receptors de citocines i de quimiocines dels limfòcits presents a l'infiltrat tiroïdal és el característic dels ganglis limfàtics i provoca un reclutament selectiu dels limfòcits que els expressen cap a la tiroide.

8/ L'acumulació selectiva dels esmentats limfòcits provoca un descens d'aquest en sang perifèrica dels malals, de forma que un seguiment de la població que expressa receptors de quimiocines podria ser útil com a marcador de desenvolupament de fol·licles limfoides intratiroïdals a les malalties autoimmunitàries de la tiroide.

8. ABREVIATURES

AcMo	anticòs monoclonal
Ag	antigen
AICD (antigen-induced cell death)	mort cel·lular induïda per activació
AID	activation-induced cytidine deaminase
AITD (autoimmune thyroid disease)	malaltia autoimmunitària de la tiroide
-AP	conjugat amb fosfatasa alcalina
APC (antigen presenting cell)	cèl·lula presentadora d'antigen
BCA-1	B cell attracting factor-1
BCR (B cell receptor)	receptor de la cèl·lula B
BSA (bovine serum albumin)	albúmina sèrica bovina
CD	cluster de diferenciació
cpm	comptes per minut
°C	graus centígrads
CSR (class switch recombination)	canvi d'isotip
CTL	limfòcits T citotòxics
DC (dendritic cell)	cèl·lula dendrítica (iDC, immadura; mDC, madura)
DAB	diaminobenzidina
DEPC	dietilpirocarbonat
dNTPs	desoxinucleòtids
DMSO	dimetil sulfòxid
DO	densitat òptica
dsDNA (double stranded DNA)	DNA de doble cadena
DTH	reaccions d'hipersensibilitat retardada
DZ (dark zone)	zona fosca
EAE	encefalomielitis autoimmunitària
EBV	virus Epstein-Barr
ECD (extracel·lular domain)	domini extracel·lular TSHR)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
FDC (follicular dendritic cell)	cèl·lula dendrítica fol·licular
-FITC (fluorescein isothiocyanate)	isotiocianat de fluoresceïna
GALT (gut-associated lymphoid tissue)	teixit limfoide associat als budells
GAPDH	dliceraldehid fosfat deshidrogenasa
GC	centre germinal
G-CSF	granulocyte colony-stimulating factor
GD (Graves-Basedow disease)	malaltia de Graves-Basedow
GlyCAMs	glycosilation-dependent cell adhesion molecule
GM-CSF	granulocyte-macrophage-colony- stimulating factor
HEL	hen-egg lysozyme
HEV (high endothelial venules)	vènules d'endoteli alt
HIGM1 (X-linked HIGM syndrome)	síndrome d'hiper-IgM lligada al crom osoma X
HLA	histocompatibility leucocyte antigen
HT (Hashimoto's disease)	malaltia de Hashimoto
IBD	inflammatory bowel disease
IC	immunocomplexes
ICAM	intercellular adhesion molecule
IDC (interdigitating dendritic cell)	cèl·lula dendrítica interdigitant
IDDM	insulin dependent diabetes mellitus
IFL	immunofluorescència
IFN	interferó
IL	interleucina
IL-R	receptor d'interleucina
IMGT	ImMunoGeneTics database
ITLs (infiltrating lymphocytes)	limfòcits infiltrants
IP	iodur de propidi

kDa	kilodalton
LCL	leucèmia limfàtica crònica
LF (lymphoid follicle)	fol·licle limfoide
LFA	lymphocyte-associated molecule
LN (lymph node)	gangli limfàtic
LP	làmina pròpia
LT	limfotoxina
LZ (light zone)	zona clara
MadCAM	mucosal addressin cell adhesion molecule
MALT (mucose-associated lymphoid tissue)	teixit limfoide associat a mucoses
MBP (myelin basic protein)	proteïna bàsica de la mielina
M-CSF	macrophage colony-stimulating factor
MDC	macrophage-derived factor
mg	miligram
MG	miastènia gravis
MHC (major histocompatibility complex)	sistema major d'histocompatibilitat
MIF	mitjana intensitat de fluorescència
MIP	macrophage-inflammatory chemokine
MLN (mesenteric lymph node)	gangli limfàtic mesentèric
mM	milimolar
µM	micròmetre o micra
MM	macròfags metal·lofíl·lics
MNG (multinodular goiter)	goll multinodular
MS	esclerosi múltiple
MZ (mantle zone)	zona del mantell fol·licular
MZM	macròfags de zona marginal esplènica
NEHJ	nonhomologous end-joining
NK (natural killer)	cèl·lules "assassines"
OL2 ^{ris} i OL3 ^{ris}	òrgans limfoïdes secundaris i terciaris
PALS (periarteriolar lymphoid tissue)	veïna limfoïde periarteriolar
PBLs (peripheral blood lymphocytes)	limfòcits de sang perifèrica
PBMCs (peripheral blood mononuclear cells)	cèl·lules mononuclears de sang perifèrica
PBS (phosphate buffered saline)	tampó fosfat salí
-PE (phycoerythrin)	ficoeritrina
-PerCP	proteïna clorofil·la peridinina
PFA	paraformaldehid
PNA (peanut agglutinin)	aglutinina de cacauet
PNAds	adressines de nòdul limfàtic perifèric
-PO	conjugat amb peroxidasa
PPs (Peyer's patches)	plaques de Peyer
PT	toxina pertussis
PT (palatine tonsil)	amígdala palatina
RA	artritis reumatoide
RAG	recombination activating gene
RR	revisió del receptor
RSS	seqüència de senyal de recombinació
SDF-1	stromal cell-derived factor-1
SHM	hipermutacions somàtiques
SLC	secondary lymphoid chemokine
SLE	lupus eritematós sistèmic
SMZ (splenic marginal zone)	zona marginal esplènica
SS	síndrome de Sjögren
TCR (T cell receptor)	receptor de la cèl·lula T
TdT	terminal deoxynucleotidil transferase
Th (helper T cells)	cèl·lules T col·laboradores

TFC (thyroid follicular cells)	cèl·lules tiroïdals fol·liculars
Tg (thyroglobulin)	tiroglobulina
TLPs	progenitors limfàtics tímics
TMB	timus
TNF (tumor necrosis factor)	factor de necrosi tumoral
TPO (thyroidal peroxidase)	peroxidasa tiroïdal
TRANC	TNF-related activation-induced cytokine
Treg	cèl·lula T reguladora
TSHR (thyrotropin stimulatory hormone receptor)	receptor de l'hormona estimuladora de la tiroïdina
TSI (thyroid-stimulating immunoglobulins)	immunoglobulines estimuladores de la tiroide
TRITC (tetramethyl rhodamine isothiocyanate)	isocianat de tetrametil rodamina
TUNEL	TdT-mediated dUTP nick-end labeling assay
VAPs	vascular adhesion proteins
VCAM	vascular cell adhesion molecule

9. BIBLIOGRAFIA

1. Roitt IM, Briostoff J, Male D. Inmunidad adaptativa e innata. Inmunología 5ª edición.: Blackwell Science Ltd.; 1998:1-3
2. Picker LJ. Mechanisms of lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol.* 1992;4:277-286.
3. Picker LJ, Butcher EC. Physiological and molecular mechanisms of lymphocyte homing. *Ann Rev Immunol.* 1992;10:561-591
4. Mackay CR. Homing of naive, memory and effector lymphocytes. *Curr Opin Immunol.* 1993;5:423-427.
5. Sikorski EE, Hallmann R, Berg EL, Butcher EC. The Peyer's Patch High Endothelial Receptor for Lymphocytes, the Mucosal Vascular Addressin, is Induced on a Murine Endothelial Cell Line by Tumor Necrosis Factor- and IL-1. *J Immunol.* 1993;151:5239-5250
6. Mebius RE, Dowbenko D, Williams A, Fennie C, Lasky LA, Watson SR. Expression of GlyCAM-1, an Endothelial Ligand for L-Selectin, is Affected by Afferent Lymphatic Flow. *J Immunol.* 1993;151:6769-6776
7. Springer TA. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell.* 1994;76:301-314
8. Patel KD, Cuvelier SL, Wiewler S. Selectins: critical mediators of leukocyte recruitment. *Seminars in Immunology.* 2002;14:73-81
9. Imhof BA, Dunon D. Leukocyte migration and adhesion. *Adv Immunol.* 1995;58:345-416
10. Labow MA, Norton CR, Rumberger JM, Lombard-Gillooly KM, Shuster DJ, Hubbard J, Bertko R, Knaack PA, Terry RW, Harbison ML. Characterization of E-selectin-deficient mice: demonstration of overlapping function of the endothelial selectins. *Immunity.* 1994;1
11. Cid MC, Esparza J, Juan M, Miralles A, Ordi J, Vilella R, Urbano-Marquez A, Gaya A, Vives J, J. Y. Signaling through CD50 (ICAM-3) stimulates T lymphocyte binding to human umbilical vein endothelial cells and extracellular matrix proteins via an increase in beta 1 and beta 2 integrin function. *Eur J Immunol.* 1994;24:1377-1382
12. Doussis-Anagnostopoulou I, Kaklamanis L, Cordell J, Jones M, Turley H, Pulford K, Simmons D, Mason D, Gatter K. ICAM-3 expression on endothelium in lymphoid malignancy. *Am J Pathol.* 1993;143:1040-1043.
13. Berlin C, Berg EL, Briskin MJ, Andrew DP, Kilshaw PJ, Holzmann B, Weissman IL, Hamann A, EC. B. Alpha 4 beta 7 integrin mediates lymphocyte binding to the mucosal vascular addressin MAdCAM-1. *Cell.* 1993;74:185-205
14. Ferrara N, Houck KA, Jakeman LB, Winer J, Leung DW. The vascular endothelial growth factor family of polypeptides. *J Cell Biochem.* 1991;47:211-218
15. Berg DJ, Leach MW, Kuhn R, Rajewsky K, Muller W, Davidson NJ, Rennick D. Interleukin 10 but not interleukin 4 is a natural suppressant of cutaneous inflammatory responses. *J Exp Med.* 1995;182:99-108
16. Massague J. The TGF-beta family of growth and differentiation factors. *Cell.* 1987;49:437-438
17. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature.* 1996;383:787-793.
18. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity.* 2000;12:121-127
19. Murphy PM. The molecular biology of leukocyte chemoattractant receptors. *Annu Rev Immunol.* 1994;12:593-633
20. Skelton NJ. Proton NMR assignments and solution conformation of RANTES, a chemokine of the C-C type. *Biochemistry.* 1995;34:5329-5342
21. Gong JH, Clark-Lewis I. Antagonists of monocyte chemoattractant protein 1 identified by modification of functionally critical NH2-terminal residues. *J Exp Med.* 1995;181:631-640
22. Witt DP, Lander AD. Differential binding of chemokines to glycosaminoglycan subpopulations. *Curr Biol.* 1994;4:394-400
23. Kelner GS. Lymphotactin: a cytokine that represents a new class of chemokine. *Science.* 1994;266:1395-1399
24. Bazan JF. A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif. *Nature.* 1997;385:640-644
25. Miller MD. Sequence and chromosomal location of the I-309 gene. Relationship to genes encoding a family of inflammatory cytokines. *J Immunol.* 1990;145:2737-2744
26. Schulz-Knappe P. HCC-1, a novel chemokine from human plasma. *J Exp Med.* 1996;183:295-299
27. Nagira M, Imai T, Hieshima K, Kusuda J, Ridanpaa M, Takagi S, Nishimura M, Kakizaki M, O. Y. Molecular cloning of a novel human CC chemokine secondary lymphoid tissue chemokine that is a potent chemoattractant for lymphocytes and mapped to chromosome 9p13. *J. Biol. Chem.* 1997;272:19518
28. Youn BS. Molecular cloning of leukotactin-1: a novel human beta-chemokine, a chemoattractant for neutrophils, monocytes, and lymphocytes, and a potent agonist at CC chemokine receptors 1 and 3. *J Immunol.* 1997;159:5201-5205
29. Proost P. Truncation of macrophage-derived chemokine by CD26/ dipeptidyl- peptidase IV beyond its predicted cleavage site affects chemotactic activity and CC chemokine receptor 4 interaction. *J Biol Chem.* 1999;274:3988-3993
30. Proost P. Amino-terminal truncation of chemokines by CD26/dipeptidyl-peptidase IV. Conversion of RANTES into a potent inhibitor of monocyte chemotaxis and HIV-1-infection. *J Biol Chem.* 1998;273:7222-7227
31. Lambeir AM. Kinetic investigation of chemokine truncation by CD26/dipeptidyl peptidase IV reveals a striking selectivity within the chemokine family. *J Biol Chem.* 2001;276:29839-29845
32. Struyf S. Diverging binding capacities of natural LD78beta isoforms of macrophage inflammatory protein-1alpha to the CC chemokine receptors 1, 3 and 5 affect their anti-HIV-1 activity and chemotactic potencies for neutrophils and eosinophils. *Eur J Immunol.* 2001;31:2170-2178
33. Proost P. Cleavage by CD26/dipeptidyl peptidase IV converts the chemokine LD78beta into a most efficient monocyte attractant and CCR1 agonist. *Blood.* 2000;96:1674-1680
34. Schraufstatter IU. Multiple sites on IL-8 responsible for binding to alpha and beta IL-8 receptors. *J Immunol.* 1993;151:6418-6428
35. Clark-Lewis I. Structural requirements for interleukin-8 function identified by design of analogs and CXC chemokine hybrids. *J Biol Chem.* 1994;269:16075-16081
36. Berkhout TA, Sarau HM, Moores K, White JR, Elshourbagy N, Appelbaum E, Reape RJ, Brawner M, Makwana J, Foley JJ, Schmidt DB, Imburgia C, McNulty D, Matthews J, O'Donnell K, O'Shannessy D, Scott M, Groot PH, Macphee C. Cloning, In vitro expression, and functional characterization of a novel human CC chemokine of the monocyte chemoattractant protein (MCP) family (MCP-4) that binds and signals through the CC chemokine receptor 2B. *J Biol Chem.* 1997;272:16404-16413

37. Luster AD, Rothenberg ME. Role of the monocyte chemoattractant protein and eotaxin subfamily of chemokines in allergic inflammation. *J Leukoc Biol.* 1997;62:620-633
38. Sauder DN, Mounessa NL, Katz SI, Dinarello CA, Gallin JI. Chemotactic cytokines: the role of leukocytic pyrogen and epidermal cell thymocyte-activating factor in neutrophil chemotaxis. *J Immunol.* 1984;132:828-832
39. Forssmann U, Delgado MB, Uguccioni M, Loetscher P, Garotta G, Baggiolini M. CKbeta8, a novel CC chemokine that predominantly acts on monocytes. *FEBS Lett.* 1997;408:211-216
40. D'Apuzzo M, Rolink A, Loetscher M, Hoxie JA, Clark-Lewis I, Melchers F, Baggiolini M, Moser B. The chemokine SDF-1, stromal cell-derived factor 1, attracts early stage B cell precursors via the chemokine receptor CXCR4. *Eur J Immunol.* 1997;27:1788-1793
41. Gunn M, N'go VN, Ansel KM, Ekland EH, Jason GC, Williams LT. A B cell homing chemokine made in lymphoid follicles activates Burkitt's lymphoma receptor-1. *Nature.* 1998;391:799-803.
42. Legler DF, Loetscher M, Roos RS, Clark-Lewis I, Baggiolini M, B. M. B cell-attracting chemokine 1, a human CXC chemokine expressed in lymphoid tissues, selectively attracts B lymphocytes via BLR1/CXCR5. *J Exp Med.* 1998;187(4):655-660
43. Keane MP. CXC chemokines and angiogenesis/angiostasis. *Proc Assoc Am Physicians.* 1998;110:288-296
44. Gengrinovitch S. Platelet factor-4 inhibits the mitogenic activity of VEGF121 and VEGF165 using several concurrent mechanisms. *J Biol Chem.* 1995;270:15059-15065
45. Tanaka T. Viral vector-mediated transduction of a modified platelet factor 4 cDNA inhibits angiogenesis and tumor growth. *Nat Med.* 1997;3:437-442
46. Cole KE. Interferon-inducible T cell alpha chemoattractant (I-TAC): a novel non- ELR CXC chemokine with potent activity on activated T cells through selective high affinity binding to CXCR3. *J Exp Med.* 1998;187:2009-2021
47. Tachibana K. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. *Nature.* 1998;393:591-594
48. Colobran R. Complexitat de les quimiocines: variants de CCL4. Immunology Unit. Badalona: Universitat Autònoma de Barcelona; 2002
49. Premack BA, Schall TJ. Chemokine receptors: gateways to inflammation and infection. *Nat Med.* 1996;2:1174-1178
50. Yoshie O, T Imal, H Nomiya. Novel lymphocyte-specific CC chemokines and their receptors. *J Leukoc Biol.* 1997;62:634-644
51. Locati M, Murphy PM. Chemokines and chemokine receptors: biology and clinical relevance in inflammation and AIDS. *Annu Rev Med.* 1999;50:425-440
52. Zlotnik A, Morales J, Hedrick JA. Recent advances in chemokines and chemokine receptors. *Crit Rev Immunol.* 1999;19:1-47
53. McFadden G, Lalani A, Everett H, Nash P, Xu X. Virus-encoded receptors for cytokines and chemokines. *Semin Cell Dev Biol.* 1998;9:359-368
54. Pease JE, Murphy PM. Microbial corruption of the chemokine system: an expanding paradigm. *Semin Immunol.* 1999;10:169-178
55. Bodaghi B, Jones TR, Zipeto D, Vita C, Sun L, Laurent L, Arenzana-Seisdedos F, Virelizier JL, Michelson S. Chemokine sequestration by viral chemoreceptors as a novel viral escape strategy: withdrawal of chemokines from the environment of cytomegalovirus-infected cells. *J Exp Med.* 1998;188:855-866
56. Arvanitakis L, Geras-Raaka E, Varma A, Gershengorn MC, Cesarman E. Human herpesvirus KSHV encodes a constitutively active G-protein- coupled receptor linked to cell proliferation. *Nature.* 1997;385:347-350.
57. Wiedle G, Dunon D, Imhof BA. Current concepts in lymphocyte homing and recirculation. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2001;38:1-31
58. Kappler JW, Roehm N, Marrak P. T cell tolerance by clonal elimination in the thymus. *Cell.* 1987;49:273
59. Ismaili J, Antica M, Wu L. CD4 and CD8 expression and T cell antigen receptor gene rearrangement in early intrathymic precursor cells. *European Journal of Immunology.* 1996;25:1244
60. Ikawa T, Kawamoto H, Fujimoto S, Katsura Y. Commitment of common T/Natural Killer (NK) progenitors to unipotent T and NK progenitors in murine fetal thymus revealed by a Single Progenitor Assay. *Journal of Experimental Medicine.* 1999;190:1617-1625
61. Goldrath A, Bevan MJ. Selecting and maintaining a diverse T cell repertoire. *Nature.* 1999;402:255
62. Vafiadis P, Bennett ST, Todd JA. Insulin expression in human thymus is modulated by INS VNTR alleles at the IDDM2 locus. *Nature Genetics.* 1997;15:289-292
63. Pugliese A, Zeller M, Fernández A Jr. The insulin gene is transcribed in the human thymus and transcription levels correlated with allelic variation at the INS VNTR-IDDM2 susceptibility locus for type I diabetes. *Nature Genetics.* 1997;15:293-297
64. Klein L, Klugmann M, Nave KA, Kyewski B. Shaping of the autoreactive T-cell repertoire by a splice variant of self protein expressed in thymic epithelial cells. *Nature Medicine.* 2000;6:56-61
65. Anderson G, Owen JJT, Moore NC, Jenkinson EJ. Thymic epithelial cells provide unique signals for positive selection of CD4+CD8+ thymocytes *in vivo*. *Journal of Experimental Medicine.* 1994;179:2027
66. Murphy KM, MHeimberger AB, Loh DY. Induction by antigen of intrathymic apoptosis of CD4+CD8+TCR^{low} thymocytes *in vivo*. *Science.* 1990;267:1720
67. Anderson G, Jenkinson E. Piecing together the thymic puzzle. *Immunology Today.* 1997;18:363
68. Sospedra M, Ferrer-Francesch X, Dominguez O, Juan M, Foz-Sala M, Pujol-Borrell R. Transcription of a broad range of self-antigens in human thymus suggests a role for central mechanisms in tolerance toward peripheral antigens. *Journal of Immunology.* 1998;161:5918-5929
69. Wakkach A, Guyon T, Bruand C, Tzartos S, Cohen-Kaminsky S, S. B-A. Expression of acetylcholine receptor genes in human thymic epithelial cells: Implications for myasthenia gravis. *Journal Of Immunology.* 1996;157:3752-3760
70. Spitzweg C, Joba W, Heufelder AE. Expression of thyroid-related genes in human thymus. *Thyroid.* 1999;9:133
71. Zinkernagel RM, Ehl S AP, Oehen S, Kundig T, H. H. Antigen localisation regulates immune responses in a dose- and time-dependent fashion: a geographical view of immune reactivity. *Immunol Rev.* 1997;156:199-209

72. Heath WR, Karamalis F, Donoghue J, Miller JFAP. Autoimmunity caused by ignorant CD8+ T cells is transient and depends on avidity. *Journal of Immunology*. 1995;155:2339
73. Van Parijs L, Ibraghimov A, Abbas A. The roles of costimulation and Fas in T cell apoptosis and peripheral tolerance. *Immunity*. 1996;4:321
74. Bellgrau D, Gold D, Selawry H, Moore J, Franzusoff A, Duke RC. A role for CD95 ligand in preventing graft rejection. *Nature*. 1995;377:630
75. Griffith TS, Ferguson TA. The role of FasL-induced apoptosis in immune privilege. *Immunology Today*. 1997;18:240
76. Giordano C, Stassi G, De Maria R, Todaro M, Richiusa P, Papoff G, Ruberti G, Bagnasco M, Testi R, Galluzzo A. Potential involvement of Fas and its ligand in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis [see comments]. *Science*. 1997;275:960-963
77. Giordano C, Richiusa P, Sbriglia MS, Pizzolanti G. The role of FAS/FASLig and apoptosis in beta-cell death in animal models: relevance for human IDDM. *Diabetes Metab Rev*. 1998;14:194-195
78. von Herrath MG, Guerder S, Lewicki H, Flavell RA, Oldstone MAB. Coexpression of B7-1 and viral ('self') transgenes in pancreatic b cells can break peripheral ignorance and lead to spontaneous autoimmune diabetes. *Immunity*. 1995;3:727
79. Guerder S, Picarella DE, Linsley PS, Flavell RA. Costimulator B7-1 confers antigen-presenting-cell function to parenchymal tissue and in conjunction with tumor necrosis factor alpha leads to autoimmunity in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91:5138
80. Arnold B, Schonrich G, Hammerling GJ. Multiple levels of peripheral tolerance. *Immunology Today*. 1993;14:12
81. Allison JP. CD28-B7 interactions in T cell activation. *Current Opinion in Immunology*. 1994;6:414
82. Sotomayor EM, Borrello I, Tubb E, Rattis FM, Bien H, Lu Z, Schoenberger S, Levitsky HI. Conversion of tumor-specific CD4+ T-cell tolerance to T-cell priming through in vivo ligation of CD40. *Nat Med*. 1999;5:780-787
83. Bansal-Pakala P, Jember AGH, Croft M. Signaling through OX40 (CD134) breaks peripheral B-cell tolerance. *Nat Med*. 2001;7:907-912
84. Morgan DJ, Krewel HTC, Sherman LA. Antigen concentration and precursor frequency determine the rate of CD8+ T cell tolerance to peripherally expressed antigens. *J Immunol*. 1999;163:723-727
85. Read S, Powne F. CD4(+) regulatory T cells. *Curr Opin Immunol*. 2001;13:644-649
86. Paul WE, Seder RA. Lymphocytes responses and cytokines. *Cell*. 1995;76:241
87. Mason D. T-cell-mediated control of autoimmunity. *Arthritis Res*. 2001;3:133-135
88. Sakaguchi S, Hori S, Fukui Y, Sasazuki T, Sakaguchi N, Takahashi T. Thymic generation and selection of CD25+CD4+ regulatory T cells: implications of their broad repertoire and high self-reactivity for the maintenance of immunological self-tolerance. *Novartis Found Symp*. 2003;252:6-16
89. Bleul CC, Fuhlbrigge RC, Casasnovas JM, Aluti A, TA. S. A highly efficacious lymphocyte chemoattractant, stromal-cell derived-factor 1 (SDF-1). *J. Exp. Med*. 1996;184:1001-1009
90. Fedyk ER, Ryyan DH, Ritterman I, Springer TA. Maturation decreases responsiveness of human bone marrow B lineage cells to stromal-derived factor 1 (SDF-1). *J Leukoc Biol*. 1999;66:667-673
91. Honczarenko M, Douglas RS, Mathias C, Lee B, Ratajczak MZ, Silberstein LE. SDF-1 responsiveness does not correlate with CXCR4 expression levels of developing human bone marrow B cells. *Blood*. 1999;94:2990-2998
92. Nemazee DA, Burki K. Clonal deletion of B lymphocytes in a transgenic mouse bearing anti-MHC class I antibody genes. *Nature*. 1989;337:562-566
93. Hartley SB, Crosbie B, Brink R, Kantor AB, Basten A, Goodnow CC. Elimination from peripheral lymphoid tissues of self-reacting B lymphocytes recognizing membrane-bound antigens. *Nature*. 1991;353:765-769
94. Goodnow CC, Crosbie J, Adelstein S ea. Altered immunoglobulin expression and functional silencing of self-reactive B lymphocytes in transgenic mice. *Nature*. 1988;334:676-682
95. Seo SJ, Fields ML, Buckler JL, Reed AJ, Mandik-Nayak L, Nish SA, Noelle RJ, Turka LA, Finkelman FD, Caton AJ, Erikson J. The impact of T-helper and T regulatory cells on the regulation of anti-double-stranded DNA B cells. *Immunity*. 2002;16:535-546
96. Tiegs SL. Receptor editing in self-reactive bone marrow B cells. *J. Exp. Med*. 1993;177:1009-1020.
97. Radic MZ, Erikson J, Litwin S, Weigert M. B lymphocytes may escape tolerance by revising their antigen receptors. *J Exp Med*. 1993;177:1165-1173.
98. Hertz M, Nemazee D. BCR ligation induces receptor editing in IgM+IgD- bone marrow B cells in vitro. *Immunity*. 1997;6:429-436.
99. Loder F, Mutschler B, Ray RJ, Paige CJ, Sideras P, Torres R, Lamers MC, Carsetti R. B cell development in the spleen takes place in discrete steps and is determined by the quality of B cell receptor-derived signals. *J Exp Med*. 1999;190:75-89
100. Allman DM, Ferguson SE, Lentz VM, Cancro MP. Peripheral B cell maturation. II. Heat-stable antigen(hi) splenic B cells are an immature developmental intermediate in the production of long-lived marrow-derived B cells. *J Immunol*. 1993;151:4431-4444
101. Batten M, Groom J, Cachero TG, Qian F, Schneider P, Tschopp J, Browning JL, Mackay F. BAFF mediates survival of peripheral immature B lymphocytes. *J Exp Med*. 2000;192:1453-1466
102. Nossal GJ. Cellular mechanisms of immunologic tolerance. *Annu Rev Immunol*. 1983;1:33-62
103. Goodnow CC, Cyster JG, Hartley SB, Bell SE, Cooke MP, Healy JJ, Akkaraju S, Rathmell JC, Pogue SL, Shokat KP. Self-tolerance checkpoints in B lymphocyte development. *Adv Immunol*. 1995;59:279-368
104. Hammerling GJ, Schonrich G, Momburg F, Auphan N, Malissen M, Malissen B, Schmitt-Verhulst AM, Arnold B. Non-deletional mechanisms of peripheral and central tolerance: studies with transgenic mice with tissue-specific expression of a foreign MHC class I antigen. *Immunol Rev*. 1991;122:47-67
105. Liu YJ, Arpin C. Germinal center development. *Immunol Rev*. 1997;156:111-126
106. Mond JJ, Lees A, Snapper CM. T cell-independent antigens type 2. *Annu. Rev. Immunol*. 1995;13:655-692
107. Shimizu Y, Newman W, Tanaka Y, Shaw S. Lymphocyte Interactions with Endothelial Cells. *Immunol Today*. 1992;13:106-112

108. Bargatze RF, Jutila MA, EC. B. Distinct roles of L-selectin and integrins 47 and LFA-1 in lymphocyte homing to Peyer's patch-HEV in situ: the multistep model confirmed and refined. *Immunity*. 1995;3:99-108
109. Gunn MD, Tangemann K, Tam C, Cyster JG, Rosen SD, Williams LT. A chemokine expressed in lymphoid high endothelial venules promotes the adhesion and chemotaxis of naive lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95:258-263
110. Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell*. 1991;67:1033-1036.
111. Butcher EC, Williams M, Youngman K, Rott L, Briskin M. Lymphocyte trafficking and regional immunity. *Adv Immunol*. 1999;72:209-253
112. von Andrian UH, Mackay CR. T-cell function and migration. Two sides of the same coin. *N Eng J Med*. 2000;343:1020-1034
113. Campbell JJ, Butcher EC. Chemokines in tissue-specific and microenvironment-specific lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol*. 2000;12:336-341
114. Rose ML, Birbeck MSC, Wallis VJ, Forrester GA, Davies AJ. Peanut lectin binding properties of germinal centres of mouse lymphoid tissue. *Nature*. 1980;284:364.
115. Nossal GJ, Abbot A, Mitchell J, Lummus Z. Antigens in immunity. XV. Ultrastructural features of antigen capture in primary and secondary lymphoid follicles. *J Exp Med*. 1968;127:277-290
116. van Nierop K, de Groot C. Human follicular dendritic cells: function, origin and development. *Semin Immunol*. 2002;14:251.
117. Imai Y, Maeda K, Yamakawa M, Karube Y, Matsuda M, Dobashi M, Sato H, Terashima K. Heterogeneity and cellular origin of follicular dendritic cells. *Adv Exp Med Biol*. 1993;329:339-344
118. Mandel TE, Phipps RP, Abbot A, Tew JG. The follicular dendritic cell: long term antigen retention during immunity. *Immunol Rev*. 1980;53:29-59
119. Gray D, Skarvall H. B-cell memory is short-lived in the absence of antigen. *Nature*. 1988;336:70-73
120. Grouard G, Durand I, Filgueira L, Banchereau J, Liu YJ. Dendritic cells capable of stimulating T cells in germinal centres. *Nature*. 1996;384:364-367
121. Lu YJ, Grouard G, de Bouteiller O, Banchereau J. Follicular dendritic cells and germinal centers. *Int Rev Cytol*. 1996;166:139-179
122. Summers KL, Hock BD, McKenzie JL, Hart DN. Phenotypic characterization of five dendritic cell subsets in human tonsils. *Am J Pathol*. 2001;159:285-295
123. Jacobsen EB, Caporale LH, Thorbecke GJ. Effect of thymus cell injections on germinal centre formation in lymphoid tissues of nude (thymusless) mice. *Cell Immunol*. 1974;13:416
124. Kupperts R, Zhao M, Hansmann M-L, Rajewsky K. Tracing B cell development in human germinal centres by molecular analysis of single cells picked from histological sections. *Embo J*. 1993;12:4955-4967
125. Liu YJ, Barthelemy C, Bouteiller O, Arpin A, Durand I, Banchereau J. Memory Cells from Human Tonsils Colonize Mucosal Epithelium and Directly Present Antigen to Cells by Rapid Up-regulation of B7-1 and B7-2. *Immunity*. 1995;2:239-248
126. Martin F, Kearney JF. Positive selection from newly formed to marginal zone B cells depends on the rate of clonal production, CD19, and btk. *Immunity*. 2000;12:39-49
127. Koopman G, Parmentier HK, Schuurman HJ, Newman W, Meijer CJ, Pals ST. Adhesion of human B cells to follicular dendritic cells involves both the lymphocyte function-associated antigen 1/intercellular adhesion molecule 1 and very late antigen 4/vascular cell adhesion molecule 1 pathways. *J Exp Med*. 1991;173:1297-1304.
128. Hedman H, Lundgren E. Regulation of LFA-1 avidity in human B cells. Requirements for dephosphorylation events for high avidity ICAM-1 binding. *J Immunol*. 1992;149:2295-2299
129. Bonnefoy JY, Henchoz S, Hardie D, Holder MJ, Gordon J. A subset of anti-CD21 antibodies promote the rescue of germinal center B cells from apoptosis. *Eur J Immunol*. 1993;23:969-972
130. Valentine MA, Lucciardi KA. Rescue from anti-IgM-induced programmed cell death by the B cell surface proteins CD20 and CD40. *Eur J Immunol*. 1992;22:3141-3148
131. Sanders VM, Snyder JM, Uhr JW, Vitetta ES. Characterization of the physical interaction between antigen-specific B and T cells. *J Immunol*. 1986;137:2395
132. Matsumoto M, Fu YX, Molina H, Chaplin DD. Lymphotoxin-alpha-deficient and TNF receptor-I-deficient mice define developmental and functional characteristics of germinal centers. *Immunol Rev*. 1997;156:137-144
133. Fötter A, Mink K, Luz A, Kosko-Vilbois MH, Pfeffer K. The lymphotoxin beta receptor controls organogenesis and affinity maturation in peripheral lymphoid tissues. *Immunity*. 1998;9:59-70
134. Matsumoto M. Role of TNF ligand and receptor family in the lymphoid organogenesis defined by gene targeting. *J Med Invest*. 1999;46:141-150
135. Force WR, Walter BN, Hession C, Tizard R, Kozak CA, Browning JL, Ware CF. Mouse lymphotoxin-beta receptor. Molecular genetics, ligand binding, and expression. *J Immunol*. 1995;155:5280-5288
136. Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*. 2001;104:487-501
137. Shu HB, Johnson H. B cell maturation protein is a receptor for the tumor necrosis factor family member TALL-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:9156-9161
138. De Togni P, Goellner PJ, Ruddle NH, Streeter PR, Fick A, Manathanan S, Smith SC, Chaplin DD. Abnormal development of peripheral lymphoid organs in mice deficient in lymphotoxin. *Science*. 1994;264:703
139. Banks TA, Rouse BT, Kerley MK, Blair PJ, Godfrey BL, Kuklin NA, Bouley DM, Thomas J, Kanangat S, Mucenski ML. Lymphotoxin-alpha-deficient mice: effects on secondary lymphoid organ development and humoral immune responsiveness. *J Immunol*. 1995;155:1685
140. Alimzhanov MB, Kuprash DV, Kosko-Vilbois MH, Luz A, Turetskaya RL, Tarakhovskiy A, Rajewsky K, Nedospasov SA, Pfeffer K. Abnormal development of secondary lymphoid tissues in lymphotoxin beta-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:9302-9307

141. Konr PA, Sacca R, Lawton P, Browning JL, Ruddle NH, Flavell R. Distinct roles in lymphoid organogenesis for lymphotoxins α and β revealed in lymphotoxin β -deficient mice. *Immunity*. 1997;6:491-500
142. Pfeffer K, Matsuyama T, Kundig TM, Wakeham A, Kishihara K, Shahinian A, Wiegmann K, Ohashi PS, Kronke M, Mak TW. Mice deficient for the 55 kd tumor necrosis factor receptor are resistant to endotoxic shock, yet succumb to *L. monocytogenes* infection. *Cell*. 1993;73:457-467
143. Erickson SL, de Sauvage FJ, Kikly K, Carver-Moore K, Pitts-Meek S, Gillett N, Sheehan KC, Schreiber RD, Goeddel DV, Moore MW. Decreased sensitivity to tumour-necrosis factor but normal T-cell development in TNF receptor-2-deficient mice. *Nature*. 1994;372:560-563
144. Manathanan S, Matsumoto M, Baranyay F, Nahm MH, Kanagawa O, Chaplin DD. Absence of lymph nodes in lymphotoxin- α -deficient mice is due to abnormal organ development, not defective lymphocyte migration. *J Immunol*. 1995;155:72-78
145. Wu Q, Wang Y, Wang J, Hedgeman EO, Browning JL, Fu YX. The requirement of membrane lymphotoxin for the presence of dendritic cells in lymphoid tissues. *Journal of Experimental Medicine*. 1999;190:629-638
146. Ruddle NH. Lymphoid neo-organogenesis: lymphotoxin's role in inflammation and development. *Immunol Res*. 1999;19:119-125
147. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliveira-dos-Santos AJ, Van G, Itie A. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*. 1999;397:315-323
148. Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, Rohrbach K, Brasel K, De Smedt T, Daro E, Smith J, Tometsko ME, Maliszewski CR, Armstrong A, Shen V, Bain S, Cosman D, Anderson D, Morrissey PJ, Peschon JJ, Schuh J. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev*. 1999;13:2412-2424
149. Forster R, Mattis AE, Kremmer E, Wolf E, Brem G, Lipp M. A putative chemokine receptor, BLR1, directs B cell migration to defined lymphoid organs and specific anatomic compartments of the spleen. *Cell*. 1996;87:1037-1047
150. Ansel KM, Ngo VN, Hyman PL, Luther SA, Forster R, Sedgwick JD, Browning JL, Lipp M, Cyster JG. A chemokine-driven positive feedback loop organizes lymphoid follicles. *Nature*. 2000;406:309-314
151. Forster R, Emrich T, Kremmer E, Lipp M. Expression of the G-protein-coupled receptor BLR1 defines mature, recirculating B cells and a subset of T-helper memory cells. *Blood*. 1994;84:830-840
152. Kaiser E, Forster R, Wolf I, Ebensperger C, Kuehl WM, Lipp M. The G-protein coupled receptor BLR1 is involved in murine B cell differentiation and is also expressed in neuronal tissues. *J Immunol*. 1993;23:2532-2539
153. Luther SA, López T, Bai W, Hanahan D, Cyster JG. BLC expression in pancreatic islets causes B cell recruitment and lymphotoxin-dependent lymphoid neogenesis. *Immunity*. 2000;12:471-481
154. Ludewig B, Odermatt B, Landmann S, Hengartner H, Zinkernagel RM. Dendritic cells induce autoimmune diabetes and maintain disease via de novo formation of local lymphoid tissue. *J Exp Med*. 1998;188:1493-1501
155. Nishikawa SI, Hashi H, Honda K, Fraser S, Yoshida H. Inflammation, a prototype for organogenesis of the lymphopoietic/hematopoietic system. *Curr Opin Immunol*. 2000;12:342-345
156. Husson H, Lugli SM, Ghia P, Cardoso A, Roth A, Brohmi K, Cardeo EG, Choi YS, Browning J, Freedman AS. Functional effects of TNF and lymphotoxin α 1 β 2 on FDC-like cells. *Cell Immunol*. 2000;203:134-143
157. Ngo VN, Korner H, Gunn MD, Schmidt KN, Rminton DS, Cooper MD, Browning JL, Sedgwick JD, JG. C. Lymphotoxin α / β and tumor necrosis factor are required for stromal cell expression of homing chemokines in B and T cell areas of the spleen. *J. Exp. Med*. 1999;189(2):403-412
158. Ohi L, Henning G, Krautwald S, Lipp M, Hardtke S, Bernhardt G, Pabst O, Forster R. Cooperating mechanisms of CXCR5 and CCR7 in development and organization of secondary lymphoid organs. *Journal of Clinical Investigation*. 2003;113:1199-1204
159. Kim CH, Pelus LM, White JR, HE. B. Differential chemotactic behavior of developing T-cells in response to thymic chemokines. *Blood*. 1998;91:4434-4443
160. Tanaka Y, Imai T, Baba M, Ishikawa I, Uehira M, Nomiyama H, Yoshie O. Selective expression of liver and activation-regulated chemokine (LARC) in intestinal epithelium in mice and humans. *Eur J Immunol*. 1999;29:633-642
161. Nagasawa T. Defects of B cell lymphopoiesis and bone marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. *Nature*. 1996;382:635-638
162. Hamada T, Mohle R, Hesselgesser J, Hoxie J, Nachman RL, Moore MA, Raffi S. Transendothelial migration of megakaryocytes in response to stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) enhances platelet formation. *J Exp Med*. 1998;188:39-48
163. Aiuti A. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34+ progenitors to peripheral blood. *J Exp Med*. 1997;185:111-120
164. Zou YR. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. *Nature*. 1998;393:595-599
165. Godiska R, Chantry D, Raport CJ, Sozzani S, Allavena P, Leviten D, Mantovani A. Human macrophage-derived chemokine (MDC), a novel chemoattractant for monocytes, monocyte-derived dendritic cells, and natural killer cells. *Journal of Experimental Medicine*. 1997;185:1595-1604
166. Kellermann SA, Hudak S, Oldham ER, Lu YJ, McEvoy L. The CC chemokine receptor-7 ligands 6CKine and macrophage inflammatory protein-3 β are potent chemoattractants for in vitro and in vivo-derived dendritic cells. *J Immunol*. 1999;162:3859-3864
167. Nakano H, Mori S, Yonekawa H, Naruchi H, Matsuzawa A, Kakiuchi T. A novel mutant gene involved in T-lymphocyte-specific homing into peripheral lymphoid organs on mouse chromosome 4. *Blood*. 1998;91:2886-2895
168. Birkenbach M, Josefsen K, Yalamanchili R, Lenoir G, Kleff E. Epstein-Barr virus-induced genes: first lymphocyte-specific G protein-coupled peptide receptors. *J Virol*. 1993;67:2209-2220
169. Sallusto F, Lenig D, Forster R, Lipp M, A. L. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature*. 1999;401:708-712
170. Nakano H, Tamura T, Yoshimoto T, Yagita H, Miyasaka M, Butcher E, Naruchi H, Kakiuchi T, A M. Genetic defect in T lymphocyte-specific homing into peripheral lymph nodes. *Eur J Immunol*. 1997;27:215-221
171. Adema GJ, Hartgers F, Verstraten R, de Vries E, Marland G, Menon S, Foster J, Xu Y, Nooyen P, McClanahan T, Bacon KB, Figdor CG. A dendritic-cell-derived C-C chemokine that preferentially attracts naive T cells. *Nature*. 1997;387:713-717

172. Hlieshima K, Imai T, Baba M, Shoudai K, Ishizuka K, Nakagawa T, Tsuruta J, Takeya M, Sakaki Y, Takatsuki T, Miura R, Opdenakker G, Van Damme J, Yoshie O, Nomiyama H. A novel human CC chemokine PARC that is most homologous to macrophage-inflammatory protein-1 alpha/LD78 and chemotactic for T lymphocytes, but not for monocytes. *J Immunol.* 1997;159:1140-1149
173. Mauri DN, Ebner R, Montgomery RI, Kochel KD, Cheung TC, Yu GL, Ruben S, Murphy M, Eisenberg RJ, Cohen GH. LIGHT, a new member of the TNF superfamily, and lymphotoxin alpha are ligands for herpesvirus entry mediator. *Immunity.* 1998;8:21-30
174. Yu KI, Kwon B, Ni J, Zhai Y, Ebner R, Kwon BS. A newly identified member of the tumor necrosis factor receptor superfamily (TR6) suppresses LIGHT-mediated apoptosis. *J Biol Chem.* 1999;274:13733-13736
175. Tamada K, Shimosaki K, Chapoval AI, Zhu G, Sica G, Flies D, Boone T, Hsu H, Fu YX, Nagata S. Modulation of T cell-mediated immunity in tumor and graft-versus-host disease models through the LIGHT co-stimulatory pathway. *Nature Medicine.* 2000;6:283-289
176. Wang J, Chun TJ, Wu G, Wang Y, Foster A, Rocan K, Chen M, Tamada K, Chen L. The critical role of LIGHT, a TNF family member, in T cell development. *J Immunol.* 2001;167
177. Scheu S, Aiferink J, Potzel T, Barchet W, Kalinke U, Pfeffer K. Targeted disruption of LIGHT causes defects in costimulatory T cell activation and reveals cooperation with lymphotoxin beta in mesenteric lymph node genesis. *J Exp Med.* 2002;195
178. Wang J, Lo JC, Foster A, Yu P, Chen HM, Wang Y, Tamada K, Chen L, Fu Y-U. The regulation of T cell homeostasis and autoimmunity by T cell-derived LIGHT. *J Clin Invest.* 2001;108:1771-1780
179. Shaikh RB, Santee S, Granger SW, Butrovich K, Cheung T, Kronenberg M, Cheroutre H, Ware CF. Constitutive expression of LIGHT on T cells leads to lymphocyte activation, inflammation, and tissue destruction. *J Immunol.* 2001;167:6330-6337
180. Weinberg AD. OX40: targeted immunotherapy implications for tempering autoimmunity and enhancing vaccines. *Trends in Immunology.* 2002;195:102-109
181. Stueber E, Strober W. The T cell-B cell interaction via OX40-OX40L is necessary for the T-cell-dependent humoral immune response. *J Exp Med.* 1996;183
182. Mukhopadhyay A, Ni J, Zhai Y, Yu GL, Aggarwal BB. Identification and characterization of a novel cytokine, THANK, a TNF homologue that activates apoptosis, nuclear factor-kappaB, and c-Jun NH2-terminal kinase. *J Biol Chem.* 1999;274:15978-15981.
183. Schneider P, MacKay F, Steiner V, Hofmann K, Bodmer JL, Holler N, Ambrose C, Lawton P, Bixler S, Acha-Orbea H, Valmon D, Romero P, Werner-Favre C, Zubler RH, Browning JL, Tschopp J. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. *J Exp Med.* 1999;189:1747-1756.
184. Kelly K, Manos E, Jensen G, Nadauld L, Jones DA. APRIL/TRDL-1, a tumor necrosis factor-like ligand, stimulates cell death. *Cancer Res.* 2000;60:1021-1027.
185. Mackay F, Woodcock SA, Lawton P, Ambrose C, Baetscher M, Schneider P, Tschopp J, Browning JL. Mice Transgenic for BAFF Develop Lymphocytic Disorders Along with Autoimmune Manifestations. *Journal of Experimental Medicine.* 1999;190:1697-1710
186. Vora KA, Wang LC, Rao SP, Liu Z-Y, Majeau GR, Cutler AH, Hochman PS, Scott ML, Kalled SL. Germinal Centers Formed in the Absence of B Cell-Activating Factor Belonging to the TNF Family Exhibit Impaired Maturation and Function. *The Journal of Immunology.* 2003;171:547-551
187. Cheema GS, Roschke V, Hilbert DM, Stohl W. Elevated serum B lymphocyte stimulator levels in patients with systemic immune-based rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2001;44:1313-1319.
188. Gross JA, Johnston J, Mudri S, Enselman R, Dillon SR, Madden K, Xu W, Parrish-Novak J, Foster D, Lofton-Day C, Moore M, Littau A, Grossman A, Haugen H, Foley K, Blumberg H, Harrison K, Kindsvogel W, Clegg CH. TACI and BCMA are receptors for a TNF homologue implicated in B-cell autoimmune disease. *Nature.* 2000;404:995-999.
189. Groom J, Kalled SL, Cutler AH, Olson C, Woodcock SA, Schneider P, Tschopp J, Cachero TG, Batten M, Wheway J, Mauri D, Cavill D, Gordon TP, Mackay CR, Mackay F. Association of BAFF/BLyS overexpression and altered B cell differentiation with Sjogren's syndrome. *J Clin Invest.* 2002;109:59-68.
190. Laabi Y, Gras MP, Carbonnel F, Brouet JC, Berger R, Larsen CJ, Tsapis A. A new gene, BCM, on chromosome 16 is fused to the interleukin 2 gene by a t(4;16)(q26;p13) translocation in a malignant T cell lymphoma. *Embo J.* 1992;11:3897-3904.
191. Madry C, Laabi Y, Callebaut I, Roussel J, Hatzoglou A, Le Coniat M, Mornon JP, Berger R, Tsapis A. The characterization of murine BCMA gene defines it as a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Int Immunol.* 1998;10:1693-1702.
192. von Bulow GU, Bram RJ. NF-AT activation induced by a CAML-interacting member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Science.* 1997;278:138-141.
193. Thompson JS, Bixler SA, Qian F, Vora K, Scott ML, Cachero TG, Hession C, Schneider P, Sizing ID, Mullen C, Strauch K, Zafari M, Benjamin CD, Tschopp J, Browning JL, Ambrose C. BAFF-R, a newly identified TNF receptor that specifically interacts with BAFF. *Science.* 2001;293:2108-2111.
194. Matsuzaki Y, Nakayama K, Tomita T, Isoda M, Loh DY, Nakauchi H. Role of bcl-2 in the development of lymphoid cells from the hematopoietic stem cell. *Blood.* 1997;89:853-862.
195. O'Reilly LA, Huang DC, Strasser A. The cell death inhibitor Bcl-2 and its homologues influence control of cell cycle entry. *Embo J.* 1996;15:6979-6990.
196. Smith KG, Light A, O'Reilly LA, Ang SM, Strasser A, Tarlinton D. bcl-2 transgene expression inhibits apoptosis in the germinal center and reveals differences in the selection of memory B cells and bone marrow antibody-forming cells. *J Exp Med.* 2000;191:475-484.
197. Veis DJ, Sorenson CM, Shutter JR, Korsmeyer SJ. Bcl-2-deficient mice demonstrate fulminant lymphoid apoptosis, polycystic kidneys, and hypopigmented hair. *Cell.* 1993;75:229-240.
198. Cascino I, Fucci G, Papoff G, Ruberti G. Three functional soluble forms of the human apoptosis-inducing Fas molecule are produced by alternative splicing. *J Immunol.* 1995;154:2706-2713.
199. Krammer PH. CD95's deadly mission in the immune system. *Nature.* 2000;407:789-795.

200. Nagata S. Human autoimmune lymphoproliferative syndrome, a defect in the apoptosis-inducing Fas receptor: a lesson from the mouse model. *J Hum Genet.* 1998;43:2-8
201. Martínez-Valdés H, Guret C, de Bouteiller O, Fugier-Vivier I, Banchereau J, Liu YJ. Human germinal center B cells express the apoptosis inducing genes Fas, c-myc, P53 and Bax but not the survival gene bcl-2. *J Exp Med.* 1996;183:971-977
202. Kondo E, Yoshino T, Nishiuchi R, Sakuma I, Nishizaki K, Kayagaki N, Yagita H, Akagi T. Expression of Fas ligand mRNA in germinal centres of the human tonsil. *J Pathol.* 1997;183:75-79.
203. Mitsiades N, Poulaki V, Kotoula V, Mastorakos G, Tseleni-Balafouta S, Koutras DA, Tsokos M. Fas/Fas ligand up-regulation and Bcl-2 down-regulation may be significant in the pathogenesis of Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:2199-2203
204. Giordano C, De Mana R, Stassi G, Todaro M, Richiusa P, Giordano M, Testi R, Galluzzo A. Defective expression of the apoptosis-inducing CD95 (Fas/APO-1) molecule on T and B cells in IDDM. *Diabetologia.* 1995;38:1449-1454
205. Allen RC, Armitage RJ, Conley ME, Rosenblatt H, Jenkins NA, Copeland NG, Bedell MA, Edelhoff S, Disteché CM, Simoneaux DK, et al. CD40 ligand gene defects responsible for X-linked hyper-IgM syndrome. *Science.* 1993;259:990-993.
206. Aruffo A, Farmington M, Hollenbaugh D, Lu X, Milatovich A, Nonoyama S, Bajorath J, Grosmaire LS, Stenkamp R, Neubauer M, et al. The CD40 ligand, gp39, is defective in activated T cells from patients with X-linked hyper-IgM syndrome. *Cell.* 1993;72:291-300.
207. DiSanto JP, Bonnefoy JY, Gauchat JF, Fischer A, de Saint Basile G. CD40 ligand mutations in x-linked immunodeficiency with hyper-IgM. *Nature.* 1993;361:541-543.
208. Fuleihan R, Ramesh N, Loh R, Jabara H, Rosen RS, Chatila T, Fu SM, Stamenkovic I, Geha RS. Defective expression of the CD40 ligand in X chromosome-linked immunoglobulin deficiency with normal or elevated IgM. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:2170-2173.
209. Kroczeck RA, Graf D, Brugnani D, Giliani S, Korthuer U, Ugazio A, Senger G, Mages HW, Villa A, Notarangelo LD. Defective expression of CD40 ligand on T cells causes "X-linked immunodeficiency with hyper-IgM (HIGM1)". *Immunol Rev.* 1994;138:39-59.
210. Weller S, Faili A, Garcia C, Braun MC, Le Deist FF, de Saint Basile GG, Hermine O, Fischer A, Reynaud CA, Weill JC. CD40-CD40L independent Ig gene hypermutation suggests a second B cell diversification pathway in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:1166-1170.
211. de Saint Basile G, Tabone MD, Durandy A, Phan F, Fischer A, Le Deist F. CD40 ligand expression deficiency in a female carrier of the X-linked hyper-IgM syndrome as a result of X chromosome lyonization. *Eur J Immunol.* 1999;29:367-373.
212. Muramatsu M, Sankaranand VS, Anant S, Sugai M, Kinoshita K, Davidson NO, Honjo T. Specific expression of activation-induced cytidine deaminase (AID), a novel member of the RNA-editing deaminase family in germinal center B cells. *J Biol Chem.* 1999;274:18470-18476.
213. Callard RE, Smith SH, Herbert J, Morgan G, Padayachee M, Lederman S, Chess L, Kroczeck RA, Fanslow WC, Armitage RJ. CD40 ligand (CD40L) expression and B cell function in agammaglobulinemia with normal or elevated levels of IgM (HIM). Comparison of X-linked, autosomal recessive, and non-X-linked forms of the disease, and obligate carriers. *J Immunol.* 1994;153:3295-3306.
214. Durandy A, Hivroz C, Mazerolles F, Schiff C, Bernard F, Jouanguy E, Revy P, DiSanto JP, Gauchat JF, Bonnefoy JY, Casanova JL, Fischer A. Abnormal CD40-mediated activation pathway in B lymphocytes from patients with hyper-IgM syndrome and normal CD40 ligand expression. *J Immunol.* 1997;158:2576-2584.
215. Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, Yamada S, Shinkai Y, Honjo T. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell.* 2000;102:553-563.
216. Bross L, Fukita Y, McBlane F, Demoliere C, Rajewsky K, Jacobs H. DNA double-strand breaks in immunoglobulin genes undergoing somatic hypermutation. *Immunity.* 2000;13:589-597.
217. Papavasiliou FN, Schatz DG. Cell-cycle-regulated DNA double-stranded breaks in somatic hypermutation of immunoglobulin genes. *Nature.* 2000;408:216-221.
218. Wabl M, Cascalho M, Steinberg C. Hypermutation in antibody affinity maturation. *Curr Opin Immunol.* 1999;11:186-189.
219. Rolink A, Melchers F, Andersson J. The SCID but not the RAG-2 gene product is required for S mu-S epsilon heavy chain class switching. *Immunity.* 1996;5:319-330.
220. Casellas R, Nussenzweig A, Wuerffel R, Pelanda R, Reichlin A, Suh H, Qin XF, Besmer E, Kenter A, Rajewsky K, Nussenzweig MC. Ku80 is required for immunoglobulin isotype switching. *Embo J.* 1998;17:2404-2411.
221. Schubart DB, Rolink A, Kosco-Vilbois MH, Botter F, Matthias P. B-cell-specific coactivator OBF-1/OCA-B/Bob1 required for immune response and germinal centre formation. *Nature.* 1996;383:538-542.
222. Schatz DG, Oettinger MA, Baltimore D. The V(D)J recombination activating gene, RAG-1. *Cell.* 1989;59:1035-1048.
223. Oettinger MA, Schatz DG, Gorka C, Baltimore D. RAG-1 and RAG-2, adjacent genes that synergistically activate V(D)J recombination. *Science.* 1990;248:1517-1523.
224. Lewis SM. The mechanism of V(D)J joining: lessons from molecular, immunological, and comparative analyses. *Adv Immunol.* 1994;56:27-150
225. Mombaerts P, Iacomini J, Johnson RS, Herrup K, Tonegawa S, Papaioannou VE. RAG-1-deficient mice have no mature B and T lymphocytes. *Cell.* 1992;68:869-877.
226. Shinkai Y, Rathbun G, Lam KP, Oltz EM, Stewart V, Mendelsohn M, Charron J, Datta M, Young F, Stall AM, et al. RAG-2-deficient mice lack mature lymphocytes owing to inability to initiate V(D)J rearrangement. *Cell.* 1992;68:855-867.
227. Schwarz K, Gauss GH, Ludwig L, Pannicke U, Li Z, Lindner D, Friedrich W, Seger RA, Hansen-Hagge TE, Desiderio S, Lieber MR, Bartram CR. RAG mutations in human B cell-negative SCID. *Science.* 1996;274:97-99.
228. Wilson A, Held W, MacDonald HR. Two waves of recombinase gene expression in developing thymocytes. *J Exp Med.* 1994;179:1355-1360.
229. Grawunder U, Leu TM, Schatz DG, Werner A, Rolink AG, Melchers F, Winkler TH. Down-regulation of RAG1 and RAG2 gene expression in preB cells after functional immunoglobulin heavy chain rearrangement. *Immunity.* 1995;3:601-608.

230. Collins C, Norris S, McEntee G, Traynor O, Bruno L, von Boehmer H, Hegarty J, O'Farrelly C. RAG1, RAG2 and pre-T cell receptor alpha chain expression by adult human hepatic T cells: evidence for extrathymic T cell maturation. *Eur J Immunol.* 1996;26:3114-3118
231. Giachino C, Padovan E, Lanzavecchia A. Re-expression of RAG-1 and RAG-2 genes and evidence for secondary rearrangements in human germinal center B lymphocytes. *Eur J Immunol.* 1998;28:3506-3513
232. Han S, Zheng B, Schatz DG, Spanopoulou E, Kelsoe G. Neoteny in lymphocytes: Rag-1 and Rag-2 expression in germinal center B cells. *Science.* 1996;374:2094-2097.
233. Hayakawa S, Saito S, Nemoto N, Chishima F, Akiyama K, Shiraiishi H, Hayakawa J, Karasaki-Suzuki M, Fujii KT, Ichijo M, Sakurai Y, Satoh K. Expression of Recombinase-Activating Genes (RAG-1 and 2) in Human Decidual Mononuclear Cells. *J Immunol.* 1994;153:4934-4939.
234. Hikida M, Mori M, Takai T, Tomochika K, Hamatani K, Ohmon H. Reexpression of Rag-1 and Rag-2 genes in activated mature mouse B cells. *Science.* 1996;274:2092-2094.
235. McMahan CJ, Fink PJ. RAG reexpression and DNA recombination at T cell receptor loci in peripheral CD4+ T cells [In Process Citation]. *Immunity.* 1998;9:637-647
236. Bemark M, Sale JE, Kim HJ, Berek C, Cosgrove RA, Neuberger MS. Somatic hypermutation in the absence of DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (DNA-PK(cs)) or recombination-activating gene (RAG)1 activity. *J Exp Med.* 2000;192:1509-1514.
237. Pierce AJ, Jasin M. NHEJ deficiency and disease. *Mol Cell.* 2001;8:1160-1161.
238. Nakamura M, Yagi H, Kayaba S, Ishii T, Gotoh T, Ohtsu S, Itoh T. Death of germinal center B cells without DNA fragmentation. *Eur J Immunol.* 1996;26:1211-1216
239. Gilfillan S, Dierich A, Lemeur M, Benoist C, Mathis D. Mice lacking TdT: mature animals with an immature lymphocyte repertoire. *Science.* 1993;261:1175-1178.
240. Gilfillan S, Bachmann M, Trembleau S, Adorini L, Kalinke U, Zinkernagel R, Benoist C, Mathis D. Efficient immune responses in mice lacking N-region diversity. *Eur J Immunol.* 1995;25:3115-3122.
241. Verkoczy LK, Bernstein NL. Isolation of genes negatively or positively co-expressed with human recombination activating gene 1 (RAG1) by differential display PCR (DD RT-PCR). *Nucleic Acids Research.* 1998;26:4497-4507
242. Wang JH, Nichogiannopoulou A, Wu L, Sun L, Sharpe AH, Bigby M, Georgopoulos K. Selective defects in the development of the fetal and adult lymphoid system in mice with an Ikaros null mutation. *Immunity.* 1996;5:537-549.
243. Molnar A, Georgopoulos K. The Ikaros gene encodes a family of functionally diverse zinc finger DNA-binding proteins. *Mol Cell Biol.* 1994;14:8292-8303.
244. Morgan B, Sun L, Avitahl N, Andrikopoulos K, Ikeda T, Gonzales E, Wu P, Neben S, Georgopoulos K. Aiolos, a lymphoid restricted transcription factor that interacts with Ikaros to regulate lymphocyte differentiation. *Embo J.* 1997;16:2004-2013.
245. Winandy S, Wu L, Wang JH, Georgopoulos K. Pre-T cell receptor (TCR) and TCR-controlled checkpoints in T cell differentiation are set by Ikaros. *J Exp Med.* 1999;190:1039-1048.
246. Claassen E, Kors N, Dijkstra CD, Van Rooijen N. Marginal zone of the spleen and the development and localization of specific antibody-forming cells against thymus-dependent and thymus-independent type-2 antigens. *Immunology.* 1986;57:399-403
247. Jacob J, Kassir R, Kelsoe G. In situ studies of the primary immune response to (4-hydroxy-3-nitrophenyl)acetyl. I. The architecture and dynamics of responding cell populations. *J Exp Med.* 1991;173:1165-1175
248. Liu YJ, Zhang J, Lane PJ, T. CYE, McLennan IC. Sites of specific B cell activation in primary and secondary responses to T cell-dependent and T cell-independent antigens [published erratum appears in *Eur J Immunol* 1992 Feb;22(2):615]. *Eur J Immunol.* 1991;21:2951-2962.
249. Foy TM, Laman JD, Ledbetter JA, Aruffo A, Claassen E, Noelle RJ. gp39-CD40 interactions are essential for germinal center formation and the development of B cell memory. *J Exp Med.* 1994;180:157-163
250. Gray D, Dullforce P, Jainandusing S. Memory B cell development but not germinal center formation is impaired by in vivo blockade of CD40-CD40 ligand interaction. *J Exp Med.* 1994;180:141-155
251. Han S, Hathcock K, Zheng B, Kepler TB, Hodes R, Kelsoe G. Cellular interaction in germinal centers. Roles of CD40 ligand and B7-2 in established germinal centers. *J Immunol.* 1995;155:556-567
252. Ferguson SE, Han S, Kelsoe G, Thompson CB. CD28 is required for germinal center formation. *J Immunol.* 1996;156:4576-4581
253. Facchetti F, Appiani C, Salvi L, Levy J, Notarangelo LD. Immunohistologic analysis of ineffective CD40-CD40 ligand interaction in lymphoid tissues from patients with X-linked immunodeficiency with hyper-IgM. Abortive germinal center cell reaction and severe depletion of follicular dendritic cells. *J Immunol.* 1995;154:6624-6633
254. Zhang J, MacLennan IC, Liu YJ, Lane PJ. Is rapid proliferation in B centroblasts linked to somatic mutation in memory B cell clones? *Immunol Lett.* 1988;18:297-299
255. Croix DA, Ahearn JM, Rosengard AM, Han S, Kelsoe G, Ma M, Carroll MC. Antibody response to a T-dependent antigen requires B cell expression of complement receptors. *J Exp Med.* 1996;183:1857-1864
256. Matsumoto M, Lo SF, CJL C, Min J, Mariathasan S, Huang G, Plas DR, Martin SM, Geha RS, Nahm MH, Chaplin DD. Affinity maturation without germinal centres in lymphotoxin-alpha-deficient mice. *Nature.* 1996;382:462.
257. Berek C, Berger A, Apel M. Maturation of the immune response in the germinal centres. *Cell.* 1991;67:1121-1129.
258. Wilson PC, de Bouteiller O, Liu YJ, Potter K, Banchereau J, Capra JD, Pascual V. Somatic hypermutation introduces insertions and deletions into immunoglobulin V genes. *Journal Of Experimental Medicine.* 1998;187:59-70
259. McHeyzer-Williams MG, McLean MJ, Lalor PA, Nossal GJ. Antigen-driven B cell differentiation in vivo. *J Exp Med.* 1993;178:295-307
260. Liu YJ, Joshua DE, Williams GT, Smith CA, Gordon J, MacLennan IC. Mechanism of antigen-driven selection in germinal centres. *Nature.* 1989;342:929-931
261. Holder MJ, Liu YJ, Defrance T, Flores-Romo L, MacLennan IC, Gordon J. Growth factor requirements for the stimulation of germinal center B cells: evidence for an IL-2-dependent pathway of development. *Int Immunol.* 1991;3:1243-1251
262. Zhang X, Li L, Jung J, Xiang S, Hollmann C, Choi YS. The distinct roles of T cell-derived cytokines and a novel follicular dendritic cell-signaling molecule 8D6 in germinal center-B cell differentiation. *J Immunol.* 2001;167:49-56

263. Gray D, Siepmann K, van Essen D, Poudrier J, Wykes M, Jainandunsing S, Bergthorsdottir S, Dullforce P. B-T lymphocyte interactions in the generation and survival of memory cells. *Immunol Rev.* 1996;150:45-61
264. Han S, Zheng B, Dal Porto J, Kelsoe G. In situ studies of the primary immune response to (4-hydroxy-3-nitrophenyl)acetyl. IV. Affinity-dependent, antigen-driven B cell apoptosis in germinal centers as a mechanism for maintaining self-tolerance. *Journal of Experimental Medicine.* 1995;182:1635-1644
265. Krenacs T, Rosendaal M. Gap-junction communication pathways in germinal center reactions. *Developmental Immunology.* 1998;6:111-118
266. Liu YJ, Maisan F, de Bouteiller O, Guret C, Lebecque S, Banchereau J, Mills FC, Max EE, H M-V. Within germinal centers, isotype switching of immunoglobulin genes occurs after the onset of somatic mutation. *Immunity.* 1996;4:241-250
267. Wilson PC, Wilson K, Liu YJ, Banchereau J, Pascual V, Capra JD. Receptor revision of immunoglobulin heavy chain variable region genes in normal human B lymphocytes. *J Exp Med.* 2000;191:1881-1894
268. Itoh K, Meffre E, Albesiano E, Farber A, Dines D, Stein P, Asnis SE, Furie RA, Jain RI, Chiorazzi N. Immunoglobulin Heavy Chain Variable Region Gene Replacement As a Mechanism for Receptor Revision in Rheumatoid Arthritis Synovial Tissue B Lymphocytes. *J Exp Med.* 2000;192:1151-1164
269. Han S, Dillon SR, Zheng B, Shimoda M, Schlissel MS, Kelsoe G. V(D)J recombinase activity in a subset of germinal center B lymphocytes. *Science.* 1997;278:301-305.
270. Papavasiliou F, Casellas R, Suh H, Qin XF, Besmer E, Pelanda R, Nemazee D, Rajewsky K, Nussenzweig MC. V(D)J recombination in mature B cells: a mechanism for altering antibody responses. *Science.* 1997;278:298-301.
271. Hikida M, Ohmori H. Rearrangement of lambda light chain genes in mature B cells in vitro and in vivo. Function of reexpressed recombination-activating gene (RAG) products. *J. Exp. Med.* 1998;187:795-799.
272. Hikida M, Mori M, Kawabata T, Takai T, Ohmori H. Characterization of B cells expressing recombination activating genes in germinal centers of immunized mouse lymph nodes. *J Immunol.* 1997;158:2509-2512
273. Hikida M, Nakayama Y, Yamashita Y, Kumazawa Y, Nishikawa SI, Ohmori H. Expression of recombination activating genes in germinal center B cells: involvement of interleukin / (IL-7) and the IL-7 receptor. *The Journal of Experimental Medicine.* 1998;188:365-372
274. Fink PJ, McMahan CJ. Lymphocytes rearrange, edit and revise their antigen receptors to be useful yet safe. *Immunol Today.* 2000;21:561-566.
275. Revy P, Muto T, Levy Y, Geissmann F, Plebani A, Sanal O, Catalan N, Forveille M, Dufourcq-Labeolouse R, Gennery A, Tezcan I, Ersoy F, Kayserili H, Ugazio AG, Brousse N, Muramatsu M, Notarangelo LD, Kinoshita K, Honjo T, Fischer A, Durandy A. Activation-induced cytidine deaminase (AID) deficiency causes the autosomal recessive form of the Hyper-IgM syndrome (HIGM2). *Cell.* 2000;102:565-575.
276. Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Kramer PH, Peter ME. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *Embo J.* 1995;14:5579-5588.
277. Arch RH, Thompson CB. Lymphocyte survival--the struggle against death. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 1999;15:113-140
278. Nossal GJ, Karvelas M, Pulendran B. Soluble antigen profoundly reduces memory B-cell numbers even when given after challenge immunization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:3088-3092
279. Galibert L, Burdin N, De Saint-Vis B, Garrone P, Van Kooten C, Banchereau J, Rousset F. CD40 and B cell antigen receptor dual triggering of resting B lymphocytes turns on a partial germinal center phenotype. *J Exp Med.* 1996;183:77-85
280. Noella RJ. CD40 and its ligand in host defense. *Immunity.* 1996;4:415-419
281. Lederman S, Yellin MJ, Inghirami G, Lee JJ, Knowles DM, Chess L. Molecular interactions mediating T-B lymphocyte collaboration in human lymphoid follicles. Roles of T cell-B-cell-activating molecule (5c8 antigen) and CD40 in contact-dependent help. *J Immunol.* 1992;149:3817-3826
282. Mackay F, Browning JL. BAFF: a fundamental survival factor for B cells. *Nature reviews.* 2002;2:465-475
283. Lindhout E, Mevissen ML, Kwekkeboom J, Tager JM, De-Groot C. Direct evidence that human follicular dendritic cells (FDC) rescue germinal center cells from death by apoptosis. *Clin. Exp. Immunol.* 1993;91:330-336
284. Soderstrom N, Björklund A. Organization of the invading lymphoid tissue in human lymphoid thyroiditis. *Scand J Immunol.* 1974;3:295-301
285. Knecht H, Saremaslani P, Hedinger C. Immunohistological findings in Hashimoto's thyroiditis, focal lymphocytic thyroiditis and thyroiditis de Quervain. Comparative study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol.* 1981;393:215-231
286. Kabel PJ, Voorbij HA, de Haan-Meulman M, Pals ST, Drexhage HA. High endothelial venules present in lymphoid cell accumulations in thyroids affected by autoimmune disease: a study in men and BB rats of functional activity and development. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;68:744-751.
287. Randen I, Mellbye OJ, Forre O, Natvig JB. The identification of germinal centres and follicular dendritic cell networks in rheumatoid synovial tissue. *Scand J Immunol.* 1995;41:481-486
288. Meijer CJ, van de Putte LB, Eulerink F, Kleinjan R, Lafeber G, Bots GT. Characteristics of mononuclear cell populations in chronically inflamed synovial membranes. *J Pathol.* 1977;121:1-8.
289. Freemont AJ, Jones CJ, Bromley M, Andrews P. Changes in vascular endothelium related to lymphocyte collections in diseased synovia. *Arthritis Rheum.* 1983;26:1427-1433.
290. Young CL, Adamson TC, 3rd, Vaughan JH, Fox RI. Immunohistologic characterization of synovial membrane lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1984;27:32-39.
291. Iguchi T, Ziff M. Electron microscopic study of rheumatoid synovial vasculature. Intimate relationship between tall endothelium and lymphoid aggregation. *J Clin Invest.* 1986;77:355-361.
292. van Dinther-Janssen AC, Pals ST, Scheper R, Breedveld F, Meijer CJ. Dendritic cells and high endothelial venules in the rheumatoid synovial membrane. *J Rheumatol.* 1990;17:11-17.
293. Watson WC, Tooms RE, Carnesale PG, Dutkowsky JP. A case of germinal center formation by CD45RO T and CD20 B lymphocytes in rheumatoid arthritic subchondral bone: proposal for a two-compartment model of immune-mediated disease with implications for immunotherapeutic strategies. *Clin Immunol Immunopathol.* 1994;73:27-37.
294. Lindhout E, van Eijk M, van Pel M, Lindeman J, Dinant HJ, de Groot C. Fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis patients have intrinsic properties of follicular dendritic cells. *J Immunol.* 1999;162:5949-5956.

295. Krenn V, Souto-Carneiro MM, Kim HJ, Berek C, Starostik P, König A, Harms H, Müller-Hermelink HK. Histopathology and molecular pathology of synovial B-lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Histol Histopathol.* 2000;15:791-798.
296. Voswinkel J, Weisgerber K., Pfreundschuh M., A. G. B lymphocyte involvement in ankylosing spondylitis: the heavy chain variable segment gene repertoire of B lymphocytes from germinal center-like foci in the synovial membrane indicates antigen selection. *Arthritis Research.* 2001;3:189-195
297. Schroder AE, Greiner A, Seyfert C, Berek C. Differentiation of B cells in the nonlymphoid tissue of the synovial membrane of patients with rheumatoid arthritis. *PNAS USA.* 1996;93:221-225.
298. Kim HJ, Krenn V, Steinhauser G, Berek C. Plasma cell development in synovial germinal centers in patients with rheumatoid and reactive arthritis. *J Immunology.* 1999;162:3053-3062
299. Wagner UG, Kurtin PJ, Wahner A, Brackertz M, Berry DJ, Goronzy JJ, Weyand CM. The role of CD8+CD40L+ T cells in the formation of germinal centers in rheumatoid synovitis. *Journal Of Immunology.* 1998;161:6390-6397.
300. Aziz KE, McCluskey PJ, Montanaro A, Wakefield D. Vascular endothelium and lymphocyte adhesion molecules in minor salivary glands of patients with Sjogren's syndrome. *J Clin Lab Immunol.* 1992;37:39-49.
301. Xanthou G, Tapinos NI, Polihronis M, Nezis IP, Margantis LH, Moutsopoulos HM. CD4 cytotoxic and dendritic cells in the immunopathologic lesion of Sjogren's syndrome. *Clin Exp Immunol.* 1999;118:154-163.
302. Aziz KE, McCluskey PJ, Wakefield D. Characterisation of follicular dendritic cells in labial salivary glands of patients with primary Sjogren syndrome: comparison with tonsillar lymphoid follicles. *Ann Rheum Dis.* 1997;56:140-143.
303. Stott D, Hiepe F, Hummel M, Steinhauser G, Berek C. Antigen-driven clonal proliferation of B cell within the target tissue of an autoimmune disease. *J of Clin Invest.* 1998;102:938-943
304. Freimark B, Fantozzi R, Bone R, Bordin G, Fox R. Detection of clonally expanded salivary gland lymphocytes in Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 1989;32:859-869.
305. Leprince C, Cohen-Kaminsky S, Bernh-Aknin S, Vernet-Der Garabedian B, Treton D, Galanaud P, Richard Y. Thymic B cells from myasthenia gravis patients are activated B cells. Phenotypic and functional analysis. *J Immunol.* 1990;145:2115-2122.
306. Murai H, Hara H, Hatae T, Kobayashi T, Watanabe T. Expression of CD23 in the germinal center of thymus from myasthenia gravis patients. *J Neuroimmunol.* 1997;76:61-69.
307. Shiono H, Fujii Y, Okumura M, Takeuchi Y, Inoue M, Matsuda H. Failure to down-regulate Bcl-2 protein in thymic germinal center B cells in myasthenia gravis. *Eur J Immunol.* 1997;27:805-809.
308. Gronseth GS, Barohn RJ. Practice parameter: thymectomy for autoimmune myasthenia gravis (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2000;55:7-15.
309. Kaiserling E. Newly-formed lymph nodes in the submucosa in chronic inflammatory bowel disease. *Lymphology.* 2001;34:22-29.
310. Carlsen HS, Baekkevold ES, Johansen FE, Haraldsen G, Brandtzaeg P. B cell attracting chemokine 1 (CXCL13) and its receptor CXCR5 are expressed in normal and aberrant gut associated lymphoid tissue. *Gut.* 2002;51:364-371
311. Prineas JW. Multiple sclerosis: presence of lymphatic capillaries and lymphoid tissue in the brain and spinal cord. *Science.* 1979;203:1123-1125.
312. Qin Y, Duquette P, Zhang Y, Olek M, Da RR, Richardson J, Antel JP, Talbot P, Cashman NR, Tourtellotte WW, Wekerle H, Van Den Noort S. Intrathecal B-cell clonal expansion, an early sign of humoral immunity, in the cerebrospinal fluid of patients with clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Laboratory Investigation.* 2003;83:1081-1088
313. Murakami J, Shimizu Y, Kashii Y, Kato T, Minemura M, Okada K, Nambu S, Takahara T, Higuchi K, Maeda Y, Kumada T, Watanabe A. Functional B-cell response in intrahepatic lymphoid follicles in chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1999;30:143-150
314. Mosnier JF, Degott C, Marcellin P, Henin D, Erlinger S, Benhamou JP. The intraportal lymphoid nodule and its environment in chronic active hepatitis C: an immunohistochemical study. *Hepatology.* 1993;17:366-371
315. Freni MA, Artuso D, Gerken G, Spantl C, Marafioti T, Alessi N, Spadaro A, Ajello A, Ferrau O. Focal lymphocytic aggregates in chronic hepatitis C: occurrence, immunohistochemical characterization, and relation to markers of autoimmunity. *Hepatology.* 1995;22:389-394
316. Steere AC, Duray PH, Butcher EC. Spirochetal antigens and lymphoid cell surface markers in Lyme synovitis. Comparison with rheumatoid synovium and tonsillar lymphoid tissue. *Arthritis Rheum.* 1988;31:487-495
317. Sears MR, Burrows B, Flannery EM, Herbisson GP, Hewitt CJ, Holdaway MD. Relation between airway responsiveness and serum IgE in children with asthma and in apparently normal children. *N Engl J Med.* 1991;325:1067-1071
318. Chvatchko Y, Kosko-Vilbois MH, Herren S, Lefort J, Bonnefoy JY. Germinal center formation and local IgE production in the lung following an airway antigenic challenge. *J Exp Med.* 1996;184:2353-2360
319. Zaitoun AM. The prevalence of lymphoid follicles in Helicobacter pylori associated gastritis in patients with ulcers and non-ulcer dyspepsia [see comments]. *J Clin Pathol.* 1995;48:325-329
320. Mazzucchelli L, Blaser A, Kappeler A, Scharli P, Laissue JA, Baggiolini M, M. U. BCA-1 is highly expressed in Helicobacter pylori-induced mucosa-associated lymphoid tissue and gastric lymphoma. *J Clin Invest.* 2000;104:R49-R54
321. Hayakawa K, Hardy RR, Parks DR, Herzenberg LA. The "Ly-1 B" cell subpopulation in normal immunodeficient, and autoimmune mice. *J Exp Med.* 1983;157:202-218
322. Kasalan MT, Ikematsu H, Casali P. Identification and analysis of a novel human surface CD5- B lymphocyte subset producing natural antibodies. *J Immunol.* 1992;148:2690-2702.
323. Kipps TJ, Vaughan JH. Genetic influence on the levels of circulating CD5 B lymphocytes. *J Immunol.* 1987;139:1060-1064.
324. Youinou P, Mackenzie L, Katsikis P, Merdignac G, Isenberg DA, Tuaille N, Lamour A, Le Goff P, Jouquan J, Drogou A, et al. The relationship between CD5-expressing B lymphocytes and serologic abnormalities in rheumatoid arthritis patients and their relatives. *Arthritis Rheum.* 1990;33:339-348.
325. Hayakawa K, Hardy RR, Herzenberg LA. Progenitors for Ly-1 B cells are distinct from progenitors for other B cells. *J Exp Med.* 1985;161:1554-1568.
326. Arnold LW, Spencer DH, Clarke SH, Houghton G. Mechanisms that limit the diversity of antibody: three sequentially acting mechanisms that favor the spontaneous production of germline encoded anti-phosphatidyl choline. *Int Immunol.* 1993;5:1365-1373.

327. Lam KP, Rajewsky K. B cell antigen receptor specificity and surface density together determine B-1 versus B-2 cell development. *J Exp Med.* 1999;190:471-477.
328. Sato S, Miller AS, Inaoki M, Bock CB, Jansen PJ, Tang ML, Tedder TF. CD22 is both a positive and negative regulator of B lymphocyte antigen receptor signal transduction: altered signaling in CD22-deficient mice. *Immunity.* 1996;5:551-562.
329. Gobbi M, Caligaris-Cappio F, Janossy G. Normal equivalent cells of B cell malignancies: analysis with monoclonal antibodies. *Br J Haematol.* 1983;54:393-403.
330. Hannel I, Erkeller-Yuksel F, Lydyard P, Deneys V, DeBruyere M. Developmental and maturational changes in human blood lymphocyte subpopulations. *Immunol Today.* 1992;13:215, 218.
331. Caligaris-Cappio F, Gottardi D, Alfarano A, Stacchini A, Gregoretti MG, Ghia P, Bertero MT, Novanno A, Bergui L. The nature of the B lymphocyte in B-chronic lymphocytic leukemia. *Blood Cells.* 1993;19:601-613
332. Broker BM, Klajman A, Youinou P, Jouquan J, Worman CP, Murphy J, Mackenzie L, Quartey-Papaflo R, Blaschek M, Collins P, et al. Chronic lymphocytic leukemic (CLL) cells secrete multispecific autoantibodies. *J Autoimmun.* 1988;1:469-481.
333. Watanabe N, Ikuta K, Nisitani S, Chiba T, Honjo T. Activation and differentiation of autoreactive B-1 cells by interleukin 10 induce autoimmune hemolytic anemia in Fas-deficient antierythrocyte immunoglobulin transgenic mice. *J Exp Med.* 2002;196:141-146.
334. Van de Velde H, von Hoegen I, Luo W, Parnes JR, Thielemans K. The B-cell surface protein CD72/Lyb-2 is the ligand for CD5. *Nature.* 1991;351:662-665.
335. Biancone L, Bowen MA, Lim A, Aruffo A, Andres G, Stamenkovic I. Identification of a novel inducible cell-surface ligand of CD5 on activated lymphocytes. *J Exp Med.* 1996;184:811-819.
336. Atkinson MA, Bowman MA, Campbell L, Darrow BL, Kaufman DL, Maclaren NK. Cellular immunity to a determinant common to glutamate decarboxylase and coxsackie virus in insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest.* 1994;94:2125-2129.
337. von Herrath MG, Oldstone MB. Virus-induced autoimmune disease. *Curr Opin Immunol.* 1996;8:878-885.
338. Hausmann S, Wucherpfennig KW. Activation of autoreactive T cells by peptides from human pathogens. *Curr Opin Immunol.* 1997;9:831-838.
339. Wucherpfennig KW, Strominger JL. Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. *Cell.* 1995;80:695-705.
340. Salemi S, Caporossi AP, Boffa L, Longobardi MG, Barnaba V. HIVgp120 activates autoreactive CD4-specific T cell responses by unveiling of hidden CD4 peptides during processing. *J Exp Med.* 1995;181:2253-2257.
341. Vidard L, Rock KL, Benacerraf B. Heterogeneity in antigen processing by different types of antigen-presenting cells. Effect of cell culture on antigen processing ability. *J Immunol.* 1992;149:1905-1911.
342. Opdenakker G, Van Damme J. Cytokine-regulated proteases in autoimmune diseases. *Immunol Today.* 1994;15:103-107.
343. Lehmann PV, Forsthuber T, Miller A, Sercarz EE. Spreading of T-cell autoimmunity to cryptic determinants of an autoantigen. *Nature.* 1992;358:155-157.
344. Tisch R, Yang XD, Singer SM, Liblau RS, Fugger L, McDevitt HO. Immune response to glutamic acid decarboxylase correlates with insulinitis in non-obese diabetic mice. *Nature.* 1993;366:72-75.
345. ter Meulen V. Autoimmune reactions against myelin basic protein induced by corona and measles viruses. *Ann N Y Acad Sci.* 1988;540:202-209
346. Fleischer B, Schrezenmeier H. T cell stimulation by staphylococcal enterotoxins. Clonally variable response and requirement for major histocompatibility complex class II molecules on accessory or target cells. *J Exp Med.* 1988;167:1697-1707.
347. Torres BA, Johnson HM. Modulation of disease by superantigens. *Curr Opin Immunol.* 1998;10:465-470.
348. Conrad B, Weidmann E, Trucco G, Rudert WA, Behboo R, Ricordi C, Rodriguez-Rilo H, Finegold D, Trucco M. Evidence for superantigen involvement in insulin-dependent diabetes mellitus aetiology. *Nature.* 1994;371:351-355.
349. Conrad B, Weissmahr RN, Boni J, Arcari R, Schupbach J, Mach B. A human endogenous retroviral superantigen as candidate autoimmune gene in type I diabetes. *Cell.* 1997;90:303-313.
350. Davies TF, Concepcion ES, Ben-Nun A, Graves PN, Tarjan G. T-cell receptor V gene use in autoimmune thyroid disease: direct assessment by thyroid aspiration. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76:660-666.
351. Falcone M, Sarvetnick N. Cytokines that regulate autoimmune responses. *Curr Opin Immunol.* 1999;11:670-676
352. Seder RA, Gazzinelli R, Sher A, Paul WE. Interleukin 12 acts directly on CD4+ T cells to enhance priming for interferon gamma production and diminishes interleukin 4 inhibition of such priming. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:10188-10192
353. Mueller R, Krahl T, Sarvetnick N. Pancreatic expression of interleukin-4 abrogates insulinitis and autoimmune diabetes in nonobese diabetic (NOD) mice. *J Exp Med.* 1996;184:1093-1099
354. Feldmann M, Brennan F. M. Cytokines and Disease. In: Oppenheim JJ, Feldmann M, eds. *Cytokine Reference.* Vol. 1. San Diego: Academic Press; 2001:35-51
355. Brod SA, Benjamin D, Hafler DA. Restricted T cell expression of IL-2/IFN-gamma mRNA in human inflammatory disease. *J Immunol.* 1991;147:810-815.
356. Radford-Smith G, Jewel DP. Cytokines and inflammatory bowel disease. *Baillière's Clin. Gastroenterol.* 1996;10:151
357. Belperio JA, Keane MP, Arenberg DA, Addison CL, Ehlert JE, Burdick MD, Strieter RM. CXC chemokines in angiogenesis. *J Leukoc Biol.* 2000;68:1-8.
358. Koch AE, Volin MV, Woods JM, Kunkel SL, Connors MA, Harlow LA, Woodruff DC, Burdick MD, Strieter RM. Regulation of angiogenesis by the C-X-C chemokines interleukin-8 and epithelial neutrophil activating peptide 78 in the rheumatoid joint. *Arthritis Rheum.* 2001;44:31-40.
359. Franciotta D, Martino G, Zardini E, Furlan R, Bergamaschi R, Andreoni L, Cosi V. Serum and CSF levels of MCP-1 and IP-10 in multiple sclerosis patients with acute and stable disease and undergoing immunomodulatory therapies. *J Neuroimmunol.* 2001;115:192-198.
360. Boven LA, Montagne L, Nottet HS, De Groot CJ. Macrophage inflammatory protein-1alpha (MIP-1alpha), MIP-1beta, and RANTES mRNA semiquantification and protein expression in active demyelinating multiple sclerosis (MS) lesions. *Clin Exp Immunol.* 2000;122:257-263.

361. Zang YC, Samanta AK, Halder JB, Hong J, Tejada-Simon MV, Rivera VM, Zhang JZ. Aberrant T cell migration toward RANTES and MIP-1 alpha in patients with multiple sclerosis. Overexpression of chemokine receptor CCR5. *Brain*. 2000;123:1874-1882.
362. Simpson J, Rezale P, Newcombe J, Cuzner ML, Male D, Woodroffe MN. Expression of the beta-chemokine receptors CCR2, CCR3 and CCR5 in multiple sclerosis central nervous system tissue. *J Neuroimmunol*. 2000;108:192-200.
363. Olszewski WL, Pazdur J, Kubasiewicz E, Zaleska M, Cooke CJ, Miller NE. Lymph draining from foot joints in rheumatoid arthritis provides insight into local cytokine and chemokine production and transport to lymph nodes. *Arthritis Rheum*. 2001;44:541-549.
364. Patel DD, Zachariah JP, Whichard LP. CXCR3 and CCR5 ligands in rheumatoid arthritis synovium. *Clin Immunol*. 2001;98:39-45.
365. Kraan MC, Patel DD, Haringman JJ, Smith MD, Weedon H, Ahern MJ, Breedveld FC, Tak PP. The development of clinical signs of rheumatoid synovial inflammation is associated with increased synthesis of the chemokine CXCL8 (interleukin-8). *Arthritis Res*. 2001;3:65-71.
366. Ellingsen T, Buus A, Stengaard-Pedersen K. Plasma monocyte chemoattractant protein 1 is a marker for joint inflammation in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2001;28:41-46.
367. Hayashida K, Nanki T, Girschick H, Yavuz S, Ochi T, Lipsky PE. Synovial stromal cells from rheumatoid arthritis patients attract monocytes by producing MCP-1 and IL-8. *Arthritis Res*. 2001;3:118-126.
368. Shi K, Hayashida K, Kaneko M, Hashimoto J, Tomita T, Lipsky PE, Yoshikawa H, Ochi T. Lymphoid chemokine B-cell attracting chemokine-1 (CXCL13) is expressed in germinal center of ectopic lymphoid follicles within the synovium of chronic arthritis patients. *The Journal of Immunology*. 2001;166:650-655.
369. Katschke KJ, Jr., Rottman JB, Ruth JH, Qin S, Wu L, LaRosa G, Ponath P, Park CC, Pope RM, Koch AE. Differential expression of chemokine receptors on peripheral blood, synovial fluid, and synovial tissue monocytes/macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2001;44:1022-1032.
370. Garcia-Lopez MA, Sanchez-Madrid F, Rodriguez-Prado JM, Mellado M, Acevedo A, Garcia MI, Albar JP, Martinez C, Marazuela M. CXCR3 chemokine receptor distribution in normal and inflamed tissues: expression on activated lymphocytes, endothelial cells, and dendritic cells. *Lab Invest*. 2001;81:409-418.
371. Kim CH, Kunkel EJ, Boisvert J, Johnston B, Campbell JJ, Genovese MC, Greenberg HB, Butcher EC. Bonzo/CXCR6 expression defines type 1-polarized T-cell subsets with extralymphoid tissue homing potential. *J Clin Invest*. 2001;107:595-601.
372. Nanki T, Lipsky PE. Cytokine, activation marker, and chemokine receptor expression by individual CD4(+) memory T cells in rheumatoid arthritis synovium. *Arthritis Res*. 2000;2:415-423.
373. Buckley CD, Amft N, Bradfield PF, Pilling D, Ross E, Arenzana-Seisdedos F, Amara A, Curnow SJ, Lord JM, Scheel-Toellner D, Salmon M. Persistent induction of the chemokine receptor CXCR4 by TGF-beta 1 on synovial T cells contributes to their accumulation within the rheumatoid synovium. *J Immunol*. 2000;165:3423-3429.
374. Nanki T, Hayashida K, H. E-G, Suson S, Shi K, Girschick HJ, Yavuz S, Lipsky PE. Stromal cell-derived factor-1-CXC chemokine receptor 4 interactions play a central role in CD4+ T cell accumulation in rheumatoid arthritis synovium. *The Journal of Immunology*. 2000;165:6590-6598.
375. Redondo MJ, Eisenbarth GS. Genetic control of autoimmunity in Type I diabetes and associated disorders. *Diabetologia*. 2002;45:605-622.
376. Bech K, Lumpholtz B, Nerup J, Thomsen M, Platz P, Ryder LP, Svejgaard A, Siersbaek-Nielsen K, Hansen JM, Larsen JH. HLA antigens in Graves' disease. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1977;86:510-516.
377. Sospedra M, Tolosa E, Armengol P, Ashhab Y, Urlinger S, Lucas-Martin A, Foz-Sala M, Jaraquemada D, Pujol-Borrell R. Hyperexpression of transporter in antigen processing-1 (TAP-1) in thyroid glands affected by autoimmunity: a contributing factor to the breach of tolerance to thyroid antigens? *Clin Exp Immunol*. 1997;109:98-106.
378. Ratanachaiyavong S, Demaine AG, Campbell RD, McGregor AM. Heat shock protein 70 (HSP70) and complement C4 genotypes in patients with hyperthyroid Graves' disease. *Clin Exp Immunol*. 1991;84:48-52.
379. Badenhop K, Schwarz G, Schleusener H, Weetman AP, Recks S, Peters H, Bottazzo GF, Usadel KH. Tumor necrosis factor beta gene polymorphisms in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1992;74:287-291.
380. Rau H, Nicolay A, Usadel KH, Finke R, Donner H, Walfish PG, Badenhop K. Polymorphisms of TAP1 and TAP2 genes in Graves' disease. *Tissue Antigens*. 1997;49:16-22.
381. Badenhop K. CTLA4 variants in type 1 diabetes: some stirrups serve better backing endocrine autoimmunity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2000;52:139-140.
382. Rottman JB, Smith T, Tonra JR, Ganley K, Bloom T, Silva R, Pierce B, Gutierrez-Ramos JC, Ozkaynak E, Coyle AJ. The costimulatory molecule ICOS plays an important role in the immunopathogenesis of EAE. *Nat Immunol*. 2001;2:605-611.
383. Vogel A, Liermann H, Harms A, Strassburg CP, Manns MP, Obermayer-Straub P. Autoimmune regulator AIRE: evidence for genetic differences between autoimmune hepatitis and hepatitis as part of the autoimmune polyglandular syndrome type 1. *Hepatology*. 2001;33:1047-1052.
384. Kumar PG, Laloraya M, Wang CY, Ruan QG, Davoodi-Semiromi A, Kao KJ, She JX. The autoimmune regulator (AIRE) is a DNA-binding protein. *J Biol Chem*. 2001;276:41357-41364.
385. Pitkanen J, Doucas V, Sternsdorf T, Nakajima T, Aratani S, Jensen K, Will H, Vahamurto P, Ollila J, Vihinen M, Scott HS, Antonarakis SE, Kudoh J, Shimizu N, Krohn K, Peterson P. The autoimmune regulator protein has transcriptional transactivating properties and interacts with the common coactivator CREB-binding protein. *J Biol Chem*. 2000;275:16802-16809.
386. Zuklys S, Balciunaitė G, Agarwal A, Fasler-Kan E, Palmer E, Hollander GA. Normal thymic architecture and negative selection are associated with Aire expression, the gene defective in the autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED). *J Immunol*. 2000;165:1976-1983.
387. Derbinski J, Schulte A, Kyewski B, Klein L. Promiscuous gene expression in medullary thymic epithelial cells mirrors the peripheral self. *Nat Immunol*. 2001;2:1032-1039.
388. Ramsey C, Winqvist O, Puhakka L, Halonen M, Moro A, Kampe O, Eskelin P, Pelto-Huikko M, Peltonen L. Aire deficient mice develop multiple features of APECED phenotype and show altered immune response. *Hum Mol Genet*. 2002;11:397-409.

389. Davies TF. Autoimmune thyroid disease genes come in many styles and colors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3391-3393
390. Tomer Y, Greenberg DA, Concepcion E, Ban Y, Davies TF. Thyroglobulin is a thyroid specific gene for the familial autoimmune thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:404-407.
391. Braley-Mullen H, Sharp GC, Medling B, Tang H. Spontaneous autoimmune thyroiditis in NOD.H-2h4 mice. *J Autoimmun.* 1999;12:157-165.
392. Damotte D, Colomb E, Cailleau C, Brousse N, Charreire J, Carnaud C. Analysis of susceptibility of NOD mice to spontaneous and experimentally induced thyroiditis. *Eur J Immunol.* 1997;27:2854-2862.
393. Costagliola S, Many MC, Deneff JF, Pohlenz J, Refetoff S, Vassart G. Genetic immunization of outbred mice with thyrotropin receptor cDNA provides a model of Graves' disease. *J Clin Invest.* 2000;105:803-811
394. Shimojo N, Kohno Y, Yamaguchi K, Kikuoka S, Hoshioka A, Niimi H, Hirai A, Tamura Y, Saito Y, Kohn LD, K. T. Induction of Graves-like disease in mice by immunization with fibroblasts transfected with the thyrotropin receptor and a class II molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996;93:11074-11079
395. Kita M, Ahmad L, Mariani RC, Vlase H, Unger P, Graves PN, Davies TF. Regulation and transfer of a murine model of thyrotropin receptor antibody mediated Graves' disease. *Endocrinology.* 1999;140:1392-1398.
396. Adorini L, Gregori S, Harrison LC. Understanding autoimmune diabetes: insights from mouse models. *Trends Mol Med.* 2002;8:31-38.
397. Weetman AP, McGregor AM. Autoimmune thyroid disease: further developments in our understanding. *Endocrine Rev.* 1994;15:788-830
398. Bottazzo GF, Doniach D. Autoimmune thyroid disease. *Annu Rev Med.* 1986;37:353-359
399. Todd I, Pujol-Borrell R, Hammond LJ, Bottazzo GF, Feldmann M. Interferon-gamma induces HLA-DR expression by thyroid epithelium. *Clin Exp Immunol.* 1985;61:265-273
400. Hamilton F, Black M, Farquharson MA, Stewart C, Foulis AK. Spatial correlation between thyroid epithelial cells expressing class II MHC molecules and interferon-gamma-containing lymphocytes in human thyroid autoimmune disease. *Clin Exp Immunol.* 1991;83:64-68
401. Gossage A.A.R., Munro D.S. The pathogenesis of Graves disease. In: AD T, ed. *Hyperthyroidism. Clinics in Endocrinology and Metabolism.* Vol. 14. London.: WB Saunders.; 1985:299-330
402. Drexhage H.A., Van der Gaag R.D., Wulffraat N.M. The multiplicity of stimulating and blocking autoantibodies in relation to thyroid and extrathyroid tissues. In: Doniach GB, ed. *Endocrine and other organ-oriented autoimmune disorders.* Vol. 1. London: Bailliere's Tindall; 1987:125
403. Weetman A.P. Thyroid-associated ophthalmopathy. *Autoimmunity.* 1992;12:215-222
404. Lucas-Martin A, Foz-Sala M, Todd I, Bottazzo GF, Pujol-Borrell R. Occurrence of thyrocyte HLA class II expression in a wide variety of thyroid diseases: relationship with lymphocytic infiltration and thyroid autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988;66:367-375
405. Dietrich HM, Oliveira-dos-Santos AJ, Wick G. Development of spontaneous autoimmune thyroiditis in Obese strain (OS) chickens. *Vet Immunol Immunopathol.* 1997;57:141-146
406. Wright JR Jr, Senhauser DA, Yates AJ, Sharma HM, Thibert P. Spontaneous thyroiditis in BB Wistar diabetic rats. *Vet Pathol.* 1983;20:522-530
407. Rasooly L, Burek CL, Rose NR. Iodine-induced autoimmune thyroiditis in NOD-H-2h4 mice. *Clinical Immunology and Immunopathology.* 1996;81:287-292
408. Tomazic V, Rose NR. Autoimmune murine thyroiditis. VIII. Role of different thyroid antigens in the induction of experimental autoimmune thyroiditis. *Immunology.* 1976;30:63-68
409. Romball CG, Weigle WO. Transfer of experimental autoimmune thyroiditis with T cell clones. *J Immunol.* 1987;138:1092-1098
410. Knight SC, Farrant J, Chan J BA, Bedford PA, Bateman C. Induction of autoimmunity with dendritic cells: studies on thyroiditis in mice. *Clin Immunol Immunopathol.* 1988;48:277-289
411. Shimojo N, Arima T, Yamaguchi K, Kikuoka S, Kohn LD, Kohno Y. A novel mouse model of Graves' disease: implications for a role of aberrant MHC class II expression in its pathogenesis. *Int Rev Immunol.* 2000;19:19-31
412. Malthiery Y, Lissitzky S. Primary structure of human thyroglobulin deduced from the sequence of its 8448-base complementary DNA. *European Journal of Biochemistry.* 1987;165:491-498
413. Kimura S, Kotan T, Bride OW, Umeki K, Hirai K, Nakayama T, Ohtaki S. Human thyroid peroxidase: complete cDNA and protein sequence, chromosome mapping and identification of two alternatively spliced mRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;86:5555-5559
414. McLachlan SM, Rapoport B. Autoimmune response to the thyroid in humans: Thyroid peroxidase the common autoantigenic denominator. *Intern. Rev. Immunol.* 2000;in press
415. Kajita Y, Rickards CR, Buckland PR, Howells RD, Rees Smith B. Analysis of thyrotropin receptors by photoaffinity labelling: orientation of receptor subunits in the cell membrane. *Biochemical Journal.* 1985;227:413-420
416. Tanaka K, Chazenbalk GD, McLachlan SM, Rapoport B. Subunit structure of thyrotropin receptors expressed on the cell surface. *J Biol Chem.* 1999;274:33979-33984
417. Ajjan RA, Kemp EH, Waterman EA, Watson PF, Endo T, Onaya T, Weetman AP. Detection of binding and blocking autoantibodies to the human sodium-iodide symporter in patients with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:2020-2027
418. Joba W, Spitzweg C, Schnever K, Heufelder AE. Analysis of human sodium/iodide symporter, thyroid transcription factor-1, and paired-box-protein-8 gene expression in benign thyroid diseases. *Thyroid.* 1999;9:455-466
419. Suzuki K, Mori A, Saito J, Moryama E, Ullianich L, Kohn LD. Follicular thyroglobulin suppresses iodide uptake by suppressing expression of the sodium/iodide symporter gene. *Endocrinology.* 1999;140:5422-5430
420. Raspe E, Costagliola S, Ruf J, Mariotti S, Dumont JE, Ludgate M. Identification of the thyroid Na⁺/I⁻ cotransporter as a potential autoantigen in thyroid autoimmune disease. *Eur J Endocrinol.* 1995;132:399-405
421. McLachlan SM, Pegg CA, Atherton MC, Middleton SL, Clark F, Rees Smith B. TSH receptor antibody synthesis by thyroid lymphocytes. *Clin Endocrinol.* 1986;24:223-230.

422. McLachlan SM, Pegg CA, Atherton MC, Middleton SL, Dickinson A, Clark F, Proctor SJ, Proud G, Rees Smith B. Subpopulations of thyroid autoantibody secreting lymphocytes in Graves' and Hashimoto thyroid glands. *Clin Exp Immunol.* 1986;65:319-328.
423. Afeltra A, Ferri GM, Amoroso A, Leri O, Pellegrino C, Guido F, Garzia P, Paggi A. CD5 B cells in autoimmune and non immune-mediated thyroid dysfunctions. *Endocr Res.* 1997;23:81-94
424. Walfish PG, Tseng KH. Intrathyroidal activated (Ia+) T-lymphocyte CD+ subsets and B cells in Graves' hyperthyroidism respond rapidly to propylthiouracil therapy: demonstration using fine needle aspirates and two-colour laser flow cytometry. *Autoimmunity.* 1992;13:35-41
425. Wilson R, Pearson C, McKillop JH, Thomson JA. B cell number and function in Graves' disease. *Autoimmunity.* 1994;17:251
426. Saboori AM, Rose NR, Yuhasz SC, Amzel LM, Burek CL. Peptides of human thyroglobulin reactive with sera of patients with autoimmune thyroid disease. *J Immunol.* 1999;163:6244-6250
427. Ludgate M, Swillens S, Mercken L, Vassart G. Homology between thyroglobulin and acetylcholinesterase: an explanation for the pathogenesis of Grave's opthalmopathy. *Lancet.* 1986;ii:219
428. Bresler HS, Burek CL, Hoffman WH, Rose NR. Autoantigenic determinants on human thyroglobulin. II. Determinants recognized by autoantibodies from patients with chronic autoimmune thyroiditis compared to autoantibodies from healthy subjects. *Clinical Immunology and Immunopathology.* 1990;54:76
429. Chazenbalk GD, Costante G, Portolano S, McLachlan SM, Rapoport B. The immunodominant region on human thyroid peroxidase recognized by autoantibodies does not contain the monoclonal antibody 47/c21 linear epitope. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;77:1715-1718
430. Ruf J. Relationship between immunological structure and biochemical properties of human thyroid peroxidase. *Endocrinology.* 1989;125:1211-1218
431. Guo J, Jaume JC, Rapoport B, McLachlan SM. Recombinant thyroid peroxidase-specific Fab converted to immunoglobulin G (IgG) molecules: evidence for thyroid cell damage by IgG1, but not IgG4, autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:925-931
432. Guo J, Rapoport B, McLachlan SM. Thyroid peroxidase autoantibodies of IgE class in thyroid autoimmunity. *Clin Immunol Immunopathol.* 1997;82:157-162
433. Rapoport B, McLachlan S. Thyroid autoimmunity. *J. Clin. Invest.* 2001;108:1253-1259
434. Rapoport B, Chazenbalk GD, Jaume JC, McLachlan SM. The thyrotropin receptor: interaction with thyrotropin and autoantibodies. *Endocrinological Reviews.* 1998;19:673-716
435. Tahara K, Ban T, Minegishi T, Kohn LD. Immunoglobulins from Graves' disease patients interact with different sites on TSHreceptor/LH-CG receptor chimeras than either TSH or immunoglobulins from idiopathic myxedema patients. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991;179:70-77
436. Chazenbalk GD, Pichunn P, Chen Ch-R, Latrofa F, Johnstone AP, McLachlan SM, Rapoport B. Thyroid-stimulating autoantibodies in Graves disease preferentially recognize the free A subunit, not the thyrotropin holoreceptor. *Journal of Clinical Investigation.* 2002;110:209-217
437. Ruf J, Ferrand M, Durand-Gorde JM, De Micco C, Carayon P. Significance of thyroglobulin antibodies cross-reactive with thyroperoxidase (TGPO antibodies) in individual patients and immunized mice. *Clin Exp Immunol.* 1993;92:65-72
438. Kalderon AE, Bogaars HA. Immune complex deposits in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *Am J Med.* 1977;63:729-734.
439. Khoury EL, Hammond L, Bottazzo GF, Doniach D. Presence of the organ-specific 'microsomal' autoantigen on the surface of human thyroid cells in culture: its involvement in complement-mediated cytotoxicity. *Clin Exp Immunol.* 1981;45:316-328
440. Bogner U, Hegedus L, Hansen JM, Finke R, Schleusener H. Thyroid cytotoxic antibodies in atrophic and goitrous autoimmune thyroiditis. *Eur J Endocrinol.* 1995;132:69-74
441. Weetman AP, Tandon N, Morgan BP. Antithyroid drugs and release of inflammatory mediators by complement-attacked thyroid cells. *Lancet.* 1992;340:633-636.
442. Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease states. *Annu Rev Immunol.* 1994;12:227-257
443. Heuer M, Aust G, Ode-Hakim S, Scherbaum WA. Different cytokine mRNA profiles in Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis, and nonautoimmune thyroid disorders determined by quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *Thyroid.* 1996;6:97-106
444. Roura-Mir C, Catalfamo M, Sospedra M, Alcalde L, Pujol-Borrell R, Jaraquemada D. Single-cell analysis of intrathyroidal lymphocytes shows differential cytokine expression in Hashimoto's and Graves' disease. *Eur J Immunol.* 1997;27:3290-3302
445. Matsumura M, Banba N, Motohashi S, Y H. Interleukin-6 and transforming growth factor-beta regulate the expression of monocyte chemoattractant protein-1 and colony-stimulating factors in human thyroid follicular cells. *Life Science.* 1999;65:129-135
446. Kasal K, Banba N, Motohashi S, Hattori Y, Manaka K, SI S. Expression of monocyte chemoattractant protein-1 mRNA and protein in cultured human thyrocytes. *FEBS Lett.* 1996;394(2):137-140
447. García-López MA, Sancho D, Sánchez-Madrid F, Marazuela M. Thyrocytes from autoimmune thyroid disorders produce the chemokines IP-10 and Mig and attract CXCR3+ lymphocytes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2001;88:5008-5016
448. Aust G, Scherbaum WA. Expression of cytokines in the thyroid: thyrocytes as potential cytokine producers. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 1996;104 Suppl 4:64-67
449. Wu Z, Podack ER, McKenzie JM, Olsen KJ, Zakarija M. Perforin expression by thyroid-infiltrating T cells in autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol.* 1994;98:470-477.
450. Kagi D, Vignaux F, Ledermann B, Burki K, Depraetere V, Nagata S, Hengartner H, Golstein P. Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science.* 1994;265:528-530.
451. Lowin B, Hahne M, Mattmann C, Tschopp J. Cytolytic T-cell cytotoxicity is mediated through perforin and Fas lytic pathways. *Nature.* 1994;370:650-652.
452. MacKenzie WA, Schwartz AE, Friedman EW, Davies TF. Intrathyroidal T cell clones from patients with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 1987;64:818-824.

453. Mackenzie WA, Davies TF. An intrathyroidal T-cell clone specifically cytotoxic for human thyroid cells. *Immunology*. 1987;61:101-103.
454. Sugihara S, Fujiwara H, Niiimi H, Shearer GM. Self-thyroid epithelial cell (TEC)-reactive CD8+ T cell lines/clones derived from autoimmune thyroiditis lesions. They recognize self- thyroid antigens directly on TEC to exhibit T helper cell 1-type lymphokine production and cytotoxicity against TEC. *J Immunol*. 1995;155:1619-1628.
455. Leithauser F, Dhein J, Mechtersheimer G, Koretz K, Bruderlein S, Henne C, Schmidt A, Debatin KM, Krammer PH, Moller P. Constitutive and induced expression of APO-1, a new member of the nerve growth factor/tumor necrosis factor receptor superfamily, in normal and neoplastic cells. *Lab Invest*. 1993;69:415-429.
456. Stassi G, De Maria R. Response to Thyrocytes - not Innocent bystanders in autoimmune disease'. 2001;2:183
457. Bretz JD, Rymaszewski M, Arscott PL, Myc A, Ain KB, Thompson NW, Baker JR, Jr. TRAIL death pathway expression and induction in thyroid follicular cells. *J Biol Chem*. 1999;274:23627-23632.
458. Belfiore A, Mauerhoff T, Pujol-Borrell R, Badenhoop K, Buscema M, Mirakian R, Bottazzo GF. De novo HLA class II and enhanced HLA class I molecule expression in SV40 transfected human thyroid epithelial cells. *J Autoimmunity*. 1991;4:397-414
459. Jaraquemada D, Martin R, Rosen-Bronson S, Flierlage M, McFarland HF, Long EO. HLA-DR2a is the dominant restriction molecule for the cytotoxic T cell response to myelin basic protein in DR2Dw2 individuals. *J Immunol*. 1990;145:2880-2885
460. Reth MG, Ammirati P, Jackson S, Alt FW. Regulated progression of a cultured pre-B-cell line to the B-cell stage. *Nature*. 1985;317:353-355
461. Kwekkeboom J, de Groot C, Tager JM. Efficient electric field-induced generation of hybridomas from human B lymphocytes without prior activation in vitro. *Hum Antibodies Hybridomas*. 1992;3:48-53
462. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate- phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987;162:156-159.
463. Aust G, Steinert S, Kiessling S, Kamprad M, C. S. Reduced expression of Stromal-derived factor 1 in autonomous thyroid adenomas and its regulation in thyroid-derived cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2001;86:3368-3376
464. MacLennan IC. Germinal centers. *Annu Rev Immunol*. 1994;12:117-139
465. McHeyzer-Williams LJ, Driver DJ, Mc-Heyzer-Williams MG. Germinal center reaction. *Curr Opin Hematol*. 2001;8:52-59
466. Berek C, Kim HJ. B-cell activation and development within chronically inflamed synovium in rheumatoid and reactive arthritis. *Semin Immunol*. 1997;9:261-268
467. Harris NL. Lymphoid proliferations of the salivary glands. *Am J Clin Pathol* 1999, 111:S94-S103
1996, 87:1037-1047. *Am J Clin Pathol*. 1999;111:1037-1047
468. Pellegriti G, Belfiore A, Giuffrida D, Lupo L, Vigneri R. Outcome of differentiated thyroid cancer in Grave's patients. *J Clin Endocrinol Metabolism*. 1998;83:2805-2809
469. Tew JG, Phipps RP, Mandel TE. The maintenance and regulation of the humoral immune response: persisting antigen and the role of follicular antigen-binding dendritic cells as accessory cells. *Immunol Rev*. 1980;53:175-201
470. Mattsson A, Quiding-Jarbrink M, Lonroth H, Hamlet A, Ahlstedt I, Svennerholm A. Antibody-secreting cells in the stomachs of symptomatic in B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Am J Infect Immun*. 1998;66:2705-2712
471. Perry M, Whyte A. Immunology of the tonsils [see comments]. *Immunol Today*. 1998;19:414-421
472. Hykek E, Isaacson PG. Primary B cell lymphoma of the thyroid and relationship to Hashimoto thyroiditis. *Human Pathol*. 1988;9:1315-1326.
473. Isaacson PG, Wotherspoon AC, Diss T, Pan LX. Follicular colonization in B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Am J Surg Pathol*. 1991;15:819-828
474. Weyand CM, Kurtin PJ, Goronzy JJ. Ectopic lymphoid organogenesis: a fast track for autoimmunity. *Am J Pathol*. 2001;159:861-873
475. Nemazee D. Receptor selection in B and T lymphocytes. *Annu Rev Immunol*. 2000;18:19-51
476. Meffre E, Papavasiliou F, Cohen P, de Bouteiller O, Bell D, Karasuyama H, Schiff C, Banchereau J, Liu YJ, Nussenzweig MC. Antigen receptor engagement turns off the V(D)J recombination machinery in human tonsil B cells. *Journal Of Experimental Medicine*. 1998;188:765-772
477. Yu W, Nagaoka H, Jankovic M, Misulovin Z, Suh H, Rolink A, Melchers F, Meffre E, Nussenzweig M C. Continued RAG expression in late stages of B cell development and no apparent re-induction after immunization [see comments]. *Nature*. 1999;400:682-687
478. Monroe RJ, Seidl KJ, Gaertner F, Han S, Chen F, Sekiguchi J, Wang J, Ferrini R, Davidson L, Kelsoe G, Alt FW. RAG2:GFP knockin mice reveal novel aspects of RAG2 expression in primary and peripheral lymphoid tissues. *Immunity*. 1999;11:201-212
479. Dorner T, Foster SJ, Farner NL, Lipsky PE. Immunoglobulin kappa chain receptor editing in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest*. 1998;102:688-694
480. Fu YX, Huang G, Matsumoto M, Molina H, Chaplin DD. Independent signals regulate development of primary and secondary follicle structure in spleen and mesenteric lymph node. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:5739-5743
481. Gunn MD, Kyuwa S, Tam C, Kakiuchi T, Matsuzawa A, Williams LT, H N. Mice lacking expression of secondary lymphoid organ chemokine have defects in lymphocyte homing and dendritic cell localization. *J Exp Med*. 1999;189:451-460
482. Bleul CC, Schultze JL, TA. S. B lymphocyte chemotaxis regulated in association with microanatomic localization, differentiation state, and B cell receptor engagement. *J Exp Med*. 1998;187:753-762
483. Katou F, Ohtani H, Nakayama T, Ono K, Matsushima K, Saaristo A, Nagura H, Yoshie O, Motegi K. Macrophage-Derived Chemokine (MDC/CCL22) and CCR4 Are Involved in the Formation of T Lymphocyte-Dendritic Cell Clusters in Human Inflamed Skin and Secondary Lymphoid Tissue. *American Journal of Pathology*. 2001;158:1263-1270
484. Grant AJ, Goddard S, Ahmed-Choudhury J, Reynolds G, Jackson DG, Briskin M, Wu L, Hubscher SG, Adams DH. Hepatic expression of secondary lymphoid chemokine (CCL21) promotes the development of portal-associated lymphoid tissue in chronic inflammatory liver disease. *Am J Pathol*. 2002;160:1445-1455.

485. Chen SC, Leach MW, Chen Y, Cai XY, Sullivan L, Wiekowski M, Dovey-Hartman BJ, Zlotnik A, SA. L. Central nervous system inflammation and neurological disease in transgenic mice expressing the CC chemokine CCL21 in oligodendrocytes. *J Immunology*. 2002;168:1009-1017
486. Chen SC, Vassileva G, Kinsley D, Holzmann S, Manfra D, Wiekowski MT, Romani N, SA. L. Ectopic expression of the murine chemokines CCL21a and CCL21b induces the formation of lymph node-like structures in pancreas, but not skin, of transgenic mice. *J Immunology*. 2002;168:1001-1008
487. Fan L, Reilly CR, Luo Y, Dorf ME, D. L. Ectopic expression of the chemokine TCA4/SLC is sufficient to trigger lymphoid neogenesis. *J. Immunol*. 2000;164:3955-3959
488. Schaerli P, Willmann K, Lang AB, Lipp M, Loetscher P, B. M. CXC Chemokine Receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper functions. *J Exp Med*. 2000;192:1553-1562
489. Breitfeld D, Ohi L, Kremmer E, Ellwart J, Sallusto F, Lipp M, R. F. Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B cell follicles, and support immunoglobulin production. *J Exp Med*. 2000;192:1545-1551
490. Jordan NJ, Kolios G, Abbot SE, Sinai MA, Thompson DA, Petraki K, JJ. W. Expression of functional CXCR4 chemokine receptors on human colonic epithelial cells. *J. Clin Invest*. 1999;104:1061-1069
491. Coulomb-L'Hermin A, Amara A, Schiff C, Durand-Gasselin J, Delaunay T, Chaouat G, Capron F, Ledee N, Galanaud P, Arenzana-Seisdedos F, D. E. Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) and antenatal human B cell lymphopoiesis: expression of SDF-1 by mesothelial cells and biliary ductal plate epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:8585-8590
492. Piovani E, Indraccolo S, Tosello V, Trentin L, Cabrelle A, Baesso I, Miorin M, Semenzato G, Chieco-Bianchi L, Amadori A. Chemokine receptor expression in Epstein-Barr virus (EBV)-associated lymphoproliferative disease in the Scid mouse: implications for the SDF-1/CXCR4 axis in lymphoma generation. *Euresco Conference on B cells in health and disease Acquafredda di Maratea: European Science Foundation; 2002*
493. Chen MC, Schuit FC, Eizink DL. Identification of IL1b-induced messenger RNAs in rat pancreatic beta cells by differential display of messenger RNA. *Diabetologia*. 1999;42:1199-1203
494. Flugel A, Berkowicz T, Ritter T, Labeur M, Jenne DE, Li Z, Ellwart JW, Willem M, Lassmann H, Wekerle H. Migratory activity and functional changes of green fluorescent effector cells before and during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Immunity*. 2001;14:547-560
495. Hjelmstrom P, Fjell J, Nakagawa T, Sacca R, Cuff CA, NH R. Lymphoid tissue homing chemokines are expressed in chronic inflammation. *Am J Pathol*. 2000;156(4):1133-1138
496. Kratz A, Campos-Neto A, Hanson MS, Ruddle NH. Chronic inflammation caused by lymphotoxin in lymphoid neogenesis. *Journal of Experimental Medicine*. 1996;183:1461
497. Takemura S, Braun A, Crowson C, Kurtin PJ, Cofield RH, O'Fallon WM, Goronzy JJ, Weyand CM. Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis. *Journal of Immunology*. 2001;167:1072-1080
498. Mackay F, Browning JL. Turning off follicular dendritic cells. *Nature*. 1998;395:26-27
499. Tang HL, Cyster JG. Chemokine up-regulation and activated T cell attraction by maturing dendritic cells. *Science*. 1999;284:819-822
500. Pujol-Borrell R, Hanafusa T, Chiovato L, Bottazzo GF. Lectin-induced expression of DR antigen on human cultured follicular thyroid cells. *Nature*. 1983;303:71-73
501. Verma S, Hutchings P, Guo J, McLachlan S, Rapoport B, Cooke A. Role of MHC class I expression and CD8(+) T cells in the evolution of iodine-induced thyroiditis in NOD-H2(h4) and NOD mice. *Eur J Immunol*. 2000;30:1191-1202
502. Bottazzo GF, Pujol-Borrell R, Hanafusa T, Feldmann M. Role of aberrant HLA-DR expression and antigen presentation in induction of endocrine autoimmunity. *Lancet*. 1983;2:1115-1119