Immune Network No. 1, Vol. 1, 2001

류마티스양 관절염 환자 활막 T 세포의 T 세포수용체 β쇄 분석

연세대학교 의과대학 미생물학교실 및 면역질환연구소[1], 내과학교실[2]

권대호[1] · 이수곤[2] · 김세종[1] · 최인홍[1]

Usage of T Cell Receptor Repertoire is Restricted in Synovial Lymphocytes in Rheumatoid Arthritis

Dae-ho Kwon[1], Soo-Kon Lee[2], Se-Jong Kim[1], In-Hong Choi[1]

Department of Microbiology and Institute for Immunology and Immunological Diseases[1], Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine[2]

= Abstract =

Background: Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease characterized by a chronic inflammatory process, primarily involving the synovial membrane of peripheral joints, where T cell activation is found. To address the superantigen stimulation in rheumatoid arthritis, T cell clonality and the expression of activation markers were analyzed. **Methods:** To detect *TCRBV* usage, inverse PCR and sequencing were done. Monoclonal antibodies were used for flow cytometric analysis of *TCRBV8* or *TCRBV5*. As results, a restricted usage of *TCRBV3* gene was detected in synovial lymphocytes from one rheumatoid arthritis patient. However, preferential usage for *TCRBV8*, which may be one indicator for stimulation by staphylococcal superantigen, was not obvious although general activation of T cells was found as high DR+ percentage in synovial T cells. These data show specific antigen rather than superantigen might involve the pathogenesis of rheumatoid arthritis.

Key Words: 류마티스양 관절염, 관절활막. T 세포수용체 β Chain

서 론

류마티스양 관절염은 관절활막에 만성 염증 반응이 일어나서 관절을 파괴하는 질병으로 성인의 1%에서 발병하고 있다(1). 환자의 80%에서 류마티스양 인자가 발견되고 류마티스양 인자를 생성하는 형질세포가 관절활막에서 발견되며, 류마티스양 인자가 환자의 혈액 및 활액에서 면역복합체를 형성하여 염증을 유발한다(2). 이와 같이 체액성 면역이 류마티스양 관절염의 병리에 기여하는 것은 분명하지만 T 세포도 류마티스양 관절염과 밀접한 관련이 있다고 추정되고 있어 TCR (T cell receptor)에 관한 연구가 활발하다.

류마티스양 관절염의 활막의 sublining layer에 림프구가 주로 모여 있다. 총활막세포의 40-50%가 T 세포이며 CD4+ 세포가 많아서 CD4:CD8 비율이 4:1부터 14:1까지 다양하게 보고되었다. 조직에서 CD4+ 세포가 비교적 많고 lymphoid aggregate 주변에 존재하는 것으로 미루어 보아 lymphoid aggregate 내에서는 대식세포와 수상

책임저자: 최인홍, 연세대학교 의과대학 미생물학교실
120-752, 서울 서대문구 신촌동 134
Tel: 02-361-5283, Fax: 02-392-7088
E-mail: inhong@yumc.yonsei.ac.kr

* 본 연구는 1994년도 연세대학교 의과대학 CMB-유한연구비로 이루어졌음.

돌기세포가 CD4+ 세포로 항원을 전달하여 병을 진행시키는 것으로 추측된다(3). 1990년 이후 류마티스양 관절염 환자의 활액 및 활막에 존재하는 림프구들이 특정클론으로 구성되어 있으며 T 세포 수용체의 가변부위 유전자인 V gene repertoire를 제한적으로 사용한다고 보고(4)하면서부터 병변 부위에 모여든 T 세포의 TCR 특성과 그 역할에 강한 의문이 제기되었다. 실험적으로 자가면역질환을 일으킨 마우스와 랫트를 통하여 특정한 TCR을 가진 T 세포와 자가면역질환과의 동물 모델에서는 확인(5)하였으나 사람의 자가면역질환에서는 이와 유사한 기능을 하는 T 세포가 아직까지 확인되지 않았다.

한편 superantigen에 의하여 활성화된 T 세포가 류마티스양 관절염의 기전에 기여한다는 보고(6-8)가 있고 항산성균 항원이 관여하리라는 일부 보고(9,10)도 있으나 아직 확인되지는 않았다. 그러므로 류마티스양 관절염의 기전과 관련있는 T 세포 활성화가 전형적인 항원에 의한 것인지 superantigen에 의한 것인지 규명되지 않았다. 본 연구자는 류마티스양 관절염 환자의 말초혈액 림프구의 TCR repertorie와 활액 T 세포의 TCR repertoire가 다르다는 것을 제시하면서 전형적인 항원이 류마티스양 관절염과 더 연관성이 있으리라고 보고한 바 있다(11). 실험동물에서는 자가면역반응 또는 자가면역질환을 유발하는 항원이 분명하기 때문에 연관된 면역학적 연구를 하기가 용이하지만 사람에서는 류마티스양 관절염의 원인 항원이 밝혀져 있지 않아 특정 TCR을 가진 T 세포와 류마티스양 관절염간의 연관성도 분명히 밝혀진 바가 없다. 단지 류마티스양 관절염 환자의 관절조직에서 CD25+ 림프구, 즉 IL-2 수용체 (CD25: low affinity IL-2 receptor) 양성 림프구가 많이 발견되고 이러한 활성화 상태의 림프구가 MHC class II 항원을 많이 표현하는 대식세포 등과 가까이 모여있기 때문에(12) T 세포가 류마티스양 관절염의 병리기전에 중요한 역할을 한다는 것은 분명하다. 류마티스양 관절염 환자의 활액에서 *TCRBV14*+ T 세포의 빈도가 높은데(13) 이러한 *TCRBV14*+ T 세포가 특정 항원에 반응하는 단클론에서 유래한 것인지 또는 superantigen에 의하여 활성화된 다클론에서 유래된 것인지는 밝혀지지 않았다. 이와는 달리 *TCRBV2*+ T 림프구 또는 CD57+ CD8+ CD3+ T 림프군의 *TCRBV1, 3, 4, 6, 8, 18* family에서 클론성 증식이 관찰되었다(14-16). 그러나 이와 같은 TCR repertoire에 관한 연구는 지극히 단편적이기 때문에 더 많은 보고가 축적되어야 할 것으로 생각된다.

그러므로 본 연구에서는 활막조직에 류마티스양 관절염의 병인기전과 관련된 T 세포가 모여있을 것이라는 가설을 확인하기 위하여 활막 부위에 모여든 림프구의 TCR Vβ family의 특성을 확인하고자 하였다.

실험재료 및 방법

림프구 분리

류마티스양 관절염 환자의 활막조직의 림프구 분리는 Ficoll-hypaque density gradient 방법으로 실시하였다. 활막조직 림프구를 분리하기 위해서는 활막조직을 잘게 조각낸 후 Dispase (1.5㎎/㎖, Grade II, Boehringer Manaheim Biochemiclas, Indianapolis, IN)가 포함된 RPMI 1640 배지로 30분간 37℃에서 진탕처리하고 상층액을 회수하여 동량의 RPMI 1640 배지(5% FCS 포함)와 섞었다. 시험관내 림프구를 배양하기 위해서 recombinant IL-2 (Genzyme, Cambridge, MA) 50U/㎖을 일주일마다 한번씩 새배지에 첨가하여 3개월간 배양하였다.

Inverse PCR

총RNA는 RNeasy kit (Qiagen, Santa Claris, CA)을 이용하여 분리하였다. First strand cDNA는 random primer (pd(N)$_6$, Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden)를 이용하여 생성하였다. 총 RNA 1㎍에 random primer 0.1U, dNTP 200 mM, 반응완충액 및DTT 800mM와 reverse transcriptase (Gibco BRL, Gaithersburg, MD) 400U를 혼합한 후 42℃에서 60분간 반응시켜 일차 cDNA를 생성한 후 DNA polymerase를 첨가하여 16℃에서 2 시간 반응하여 이차 cDNA를 합성하였다. 그 후 T4 DNA ligase를 첨가하여 생성된 second stranded cDNA를 circularization하고 PCR을 실시하였다. PCR은 degenerate primer를 사용하였는데 forward primer로 5'-GGG TCG ACC TGT GCA CCT CCT TCC CAT T-3'이며, inverse primer는 5'-GCA TGC GGC CGC ATG GCC ATG GTC AAG AGA-3'이다. 각 primer 20pM, dNTP 200mM, $MgCl_2$ 2mM, KCl 50mM 및 0.001% gelatin이 포함된 10mM Tris-HCl (pH; 8.3) 반응완충액과 Taq polymerase (Bioneer, 대전, 한국) 2.5unit를 첨가하여 실시하였다. PCR 조건은 94℃ 1분, 55℃ 1분, 72℃ 2분간씩 30회이었다. 30회 반응 후 72℃에서

10분간 elongation시켰다. PCR 후 1.5% agarose gel에 PCR 산물 10㎕를 전기영동하였다. Inverse PCR의 도식은 Fig. 1에 설명하였다.

Gene cloning

50ng pT7Blue T-vector (Novagen, Madison, WI)에 PCR 산물 0.2 pM을 혼합하여 DNA ligase (Gibco BRL, Gaithersburg, MD) 2U를 첨가하여 16℃에서 2시간 반응하여 ligation시켰다. Competent cell (genotype : endA1 hsdR17 (rk-, mk+) supE44 thi-1 gyrA96 relA1 lac [F', proAB, lacqZDM15, Tn10(tetr) recA]을 transformation시켜 50㎍/㎖ ampicillin, 15㎎/㎖ tetracycline, X-gal 및 IPTG (이상 Gibco BRL, Gaithersburg, MD)가 첨가된 LB agar plate에서 흰 집락을 생성하는 clone을 선택하였다. 선택된 clones을 Sal I 및 Not I로 잘라서 원하는 크기의 insert (약 300 bp)가 있는 clone을 골라 automatic sequencer (모델명; ALFexpress, Amersham Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden)를 이용하여 염기서열을 확인한 후 National Center for Biotechnology Information의 GenBank 자료를 비교하여 β chain family를 결정하였다.

림프구 표면 표식자 측정

단클론 항체를 이용하여 CD3, CD4, CD8 및 DR (Becton Dickinson, San Jose, CA)과 TCR β 쇄 중 *TCRBV5*와 *TCRBV8* (T Cell Diagnostics, Cambridge, MA) 표현율을 측정하였다. 염색방법은 단클론 항체 5㎕ 또는 10㎕을 첨가하여 30분간 4℃에서 반응시킨 후 0.1% bovine serum albumin이 포함된 PBS로 2회 세척한 후 유세포측정기 (FACstar, Becton Dickinson, San Diego, CA)로 분석하였다.

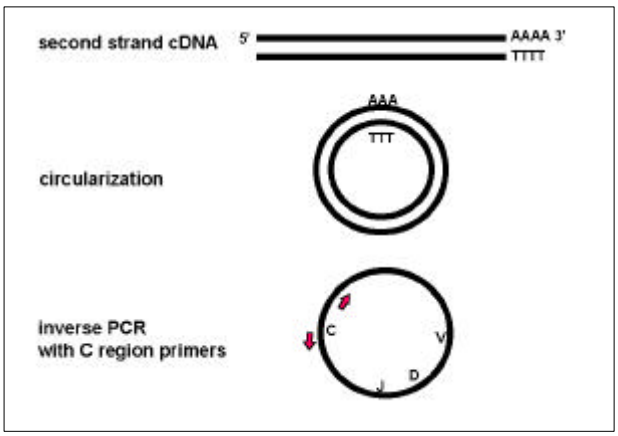

Fig. 1. Scheme of inverse PCR

결 과

1. *TCRB V* 유전자 분석

두 환자 (RA-1 및 RA-2)의 말초혈액 림프구와 활막림프구를 대상으로 inverse PCR을 실시하여 300 bp에 해당하는 PCR 산물을 확인하였다 (Fig. 2). 그러나 RA-1 환자에서 분리한 활막림프구에서만 성공적으로 18 클론을 얻었으며 이들의 염기서열을 분석한 결과 *TCRBV3* 유전자를 사용하는 클론이 10개로 다수를 차지하였다. 이를 통하여 이 환자의 활막에는 주로 *TCRBV3* 유전자를 사용하는 T 세포 클론이 침윤하였음을 관찰하였다 (Table 1).

2. *TCRB V8*와 *TCRB V5* 유전자의 표현

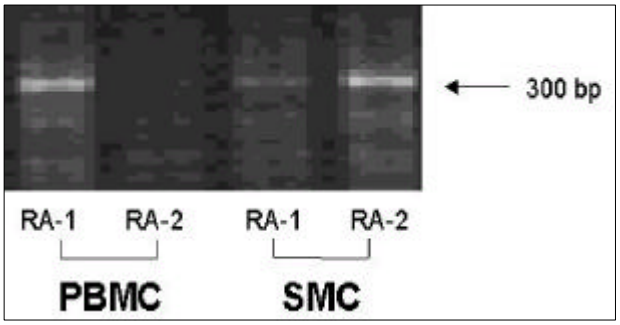

Fig. 2. Inverse PCR product. PCR was done with degenerate primers of TCRBC. PCR products were loaded on 1% agarose gel. PBMC; peripheral blood mononuclear cells. SMC; synovial mononuclear cells.

Table 1. Distribution of *TCRBV* family among T cell cDNA clones

	TCRB V	No. of positive clones
Patient (RA-1)	*TCRB V1*	1
	TCRB V3	10
	TCRB V5	4
	TCRB V7	1
	TCRB V21	2

Inverse PCR using C region primers was done to identify V region genes. Total 18 clones were tained and sequencing was done.

Staphylococcal toxin의 superantigen 작용에 의하여 증식하는 것으로 알려진 *TCRBV8* T 세포의 양성율을 측정하였다. 그 결과 *TCRBV8* 유전자를 표현하는 비율은 활막 T 세포 (4.7 ± 1.7%)에서 말초혈액 T 세포(2.3 ± 1.8%)에 비하여 높았으나 통계적 의의는 없었다 (Table 2). 단지 한 환자 (RA-2)의 경우 활액에서 *TCRBV5* 유전자를 표현하는 비율이 6.0%으로 다소 높게 검출되었다. 대조실험으로 superantigen과는 무관한 *TCRBV5* 유전자를 표현율을 측정하였는데 활막 T 세포 (4.1 ± 1.9%)에서 말초혈액 T 세포 (2.9 ± 2.4%)에 비하여 높았으며 통계적 의의는 없었다 (Table 2).

3. 활액림프구의 시험관내 배양

2예의 류마티스양 관절염 환자의 활막 림프구를 rIL-2 50 U/ml을 첨가하여 3개월 동안 배양한 후 림프구 활성정도 및 *TCRBV* 유전자 표현율을 관찰하였다. 배양하기 전에는 CD8+ 세포가 많았으나 배양 후에는 CD4+ 세포가 증가한 것은 공통된 소견이었다 (Table 3). TCR β 쇄에 대한 단클론 항체 중 anti-*TCRBV5* 및 anti-*TCRBV8*를 사용하여 각 림프구 아군을 측정한 결과 RA-1에서 배양 전에는 *TCRBV5*+ 세포가 0.8%, *TCRBV8*+ 세포가 1.2%로, 배양 후에는 *TCRBV5*+ 세포가 1.8%, *TCRBV8*+ 세포가 1.0%로 관찰되었다. RA-2의 경우, *TCRBV5*+와 *TCRBV8*+ 세포 비율은 배양하기 전에는 각각6.0% 및 7.8%로 관찰되었는데 배양 후 1.9%와 4.6%로 관찰되었다 (Table 3). CD3+ 세포 중 DR+ 세포의 비율은 RA-1 환자 림프구에서는 배양 후 증가하였고 RA-2 환자에서는 배양 전부터 높았다가 그 비율을 유지하였다 (Table 3).

고 찰

TCR β chain family를 우선적으로 관찰하는 이유는 첫째 류마티스양 관절염에서 α chain family보다는 β chain family 유전자를 제한적으로 사용한다는 보고가 있으며, 둘째 α chain에서는 allelic exclusion이 엄격하지 않아서(17) 두 allele에서 유전자 재배합이 일어난 후 서로 다른 두 종류의 α chain이 동일한 β chain과 각각 결합하여 동시에 T 세포 표면에 표현된다는 보고(18)가 있어 PCR을 이용한 semi-quantitation법으로 RNA 양을 측정하거나 유전자 클로닝하여 결과를 얻더라도 현재로서는 해석에 어려움이 많기 때문이다. 류마티스양 관절염 환자의 17% (주로 HLA-DQ2를 가지는 환자)에서 말초혈액 CD8+ 세포 중 20-40%가 *TCRAV12.1*을 가지며 이들 림프구가 단클론 또는 소수 클론으로 구성되었을 가능성을 시사하는 보고(19, 20)도 있으나 활막조직에서는 말초혈액만큼 *TCRAV12.1*+ CD8+ 세포의 비율이 높지 않아서 *TCRAV12.1*+ 림프구가 류마티스양 관절염의 병

Table 2. *TCRBV5* or *TCRBV8* positive T cells in rheumatoid arthritis patients

Lymphocytes		*TCRBV5* positive %	*TCRBV8* positive %
Rheumatoid arthritis	PBMC	2.9 +2.4*	2.3 +1.8***
	SMC	4.1 +1.9**	4.7 +1.7****
Healthy control	PMBC	3.7 +1.0	3.7 +0.7

Cells were reacted with anti-*TCRBV5* or anti-*TCRBV8* monoclonal antibodies and a total of 10,000 to 20,000 cells were analyzed by FACstar. N= 21 for rheumatoid arthristis and 15 for healthy control. Data are expressed as mean + S.D.. PBMC; peripheral blood mononuclear cells. SMC; synovial mononuclear cells. Student's T test was done. *, **, ***, **** ; not significant at the p>0.01 level versus PBMC from healthy control group.

Table 3 Surface markers of synovial T cells of rheumatoid arthritis after *in vitro* culture

	Fresh					3 months after culture				
positive %	CD8	CD4	DR/CD3	*TCRBV5*	*TCRBV8*	CD8	CD4	DR/CD3	*TCRBV5*	*TCRBV8*
RA-1	50.3	27.9	14.3	0.8	1.2	11.3	64.5	29.8	1.8	1.0
RA-2	48.6	30.1	26.4	6.0	7.8	16.8	55.9	35.9	1.9	4.6

Cells were stained with each monoclonal antibodies and a total of 5,000 to 20,000 cells were analyzed by FACstar.

리와 관련있는 림프구인지가 분명하지 않다.

본 연구에서는 inverse PCR 기법을 통하여 활막 T 세포의 *TCRBV* 유전자 표현을 측정하였는데 그 결과 *TCRBV3*의 사용이 높았다. 그러나 이 연구에서는 CDR3 유전자 서열을 확인하지 못하였기 때문에 이 현상이 TCRBV3 유전자를 사용한 단클론 T 세포의 증식인지 또는 *TCRBV3*를 사용하였다고 할지라도 다클론 T 세포 증식으로 인한 것인지는 확인할 수 없었다. 본 연구에서는 한 환자를 대상으로 분석하였으므로 *TCRBV3*가 류마티스양 관절염과 관련있는 T 세포 수용체 β chain family라고 단정지을 수는 없다. 단지 현재까지는 *TCRVB3*가 superantigen에 의하여 활성화되는 유전자라는 보고가 없기 때문에 이 환자의 경우에서는 류마티스양 관절염의 병인과 직접 연관이 있는 항원이나 또는 병의 진행 도중에 자가항원 등에 의하여 증식한 T 세포군, 즉 전형적인 항원자극에 의하여 증식한 T 세포군일 가능성이 높다. 이를 뒷받침하는 보고로서 본 연구자는 활액 T 세포에서 주로 클론성 팽창을 관찰한 바 있다(11). Superantigen 중의 하나인 staphylococcal toxin의 superantigen 작용에 의하여 증식하는 것으로 알려진 *TCRBV8* T 세포의 양성율을 측정하였다. 그 결과 *TCRBV8* 유전자를 표현하는 비율은 활막 T 세포에서 말초혈액 림프구에 높았으나 통계적 의의는 없었다. 그리고 superantigen과는 무관하기 때문에 대조군으로 사용한 *TCRBV5* 유전자를 표현하는 비율 역시 활막 T 세포에서 말초혈액 T 세포에 비하여 높았으나 통계적 의의는 없었다. 이상의 결과를 통하여 류마티스양 관절염에서는 특이항원에 의하여 T 세포 증식이 유발될 가능성이 높다. 이는 관절낭에서 T 세포의 클론성 증식을 관찰한 결과 동일환자에서는 초기에서 관찰된 일부의 T 세포 클론이 만성진행 후 활막에서도 관찰되었다는 보고(20)와도 일치한다. 그러나 환자마다 T 세포클론의 TCR 특성은 달랐다(20). 아울러 동일한 환자에서는 여러 관절 활막에서 분리한 T 세포군이라고 할지라도 40% 이상의 클론이 동일한 TCR β chain 특성을 가진다고 보고(21)되었다. 이때의 항원은 cartilage proteoglycan (22, 23) 이나 type II collagen(24) 등의 자가항원일 가능성도 제시되어 있다.

시험관 내에서 T 세포를 클로닝할 때는 적절한 항원자극을 반복하여야만 그 항원에 고유한 T 세포를 클로닝하기가 용이하다. 류마티스양 관절염의 경우 원인 항원이 규명되지 않은 상태이므로 적절한 항원을 재차 투여할 수 없어서 T 세포 클로닝이 용이하지 않았다. 그러나 2예의 류마티스양 관절염 환자의 활막조직에서 분리한 림프구를 recombinant IL-2를 첨가하여 3개월 동안 배양한 결과 CD4+ 세포가 증가하고 DR+ 세포의 비율이 증가함을 관찰하였으나 특정 TCR 유전자 사용은 관찰할 수 없었다. 이들 T 세포는 배양 초기부터 recombinant IL-2를 첨가한 배지에서 배양하였으므로 환자의 염증 활막조직에 모여든 림프구 중 IL-2 수용체를 가진 림프구 즉 활성화 상태의 림프구가 선택적으로 자라는 것으로 추정된다. 본 연구의 결과에 따르면 CD4+ T 세포가 더 우세하다는 보고와는 상반(3)되게 배양 시작하기 전에는 CD8+ 세포의 비율이 높았다. 이는 다른 연구자들은 비교적 질병 초기환자의 활액에서 림프구를 분리하였기 때문에 만성으로 진행된 환자의 활막 림프구과는 다른 소견을 나타낼 가능성도 있다. 본 연구에서 그러나 3개월간 배양한 후에는 CD4+ T 세포의 비율이 높아지는데 이는 활막조직에는 활성화된 CD8+ T 세포보다 활성화된 CD4+ T 세포가 더 많이 존재할 가능성을 제시한다. 즉 활성화되어 IL-2 수용체를 표현하던 CD4+ T 세포가 시험관 내 배양하는 동안 IL-2에 더욱 잘 반응하여 증식할 가능성이 있다. 본 결과에서도 활막에서 갓 분리한 T 세포의 DR 표현율이 증가되어 있는 것은 본 연구자가 이미 발표한 것처럼 말초혈액 T 세포의 분석결과인 2.2 ± 1.0과 비교(11)하여 알 수 있었다. 그리고 배양 후에 DR+ T 세포의 비율이 현저하게 증가함을 통하여 배양 후에는 활성화된 T 세포의 비율이 증가함을 알 수 있었다. 그러나 본 연구에서는 DR+ 세포가 CD4+ T 세포인지 CD8+ T 세포인지는 확인하지 않았다. 활성화된 CD4+ 림프구들은 류마티스양 관절염의 병인기전에 적극적으로 참여하는 림프구일 가능성이 높지만 항원이 알려지지 않은 상태이기 때문에 TCR repertoire 분석만을 통하여 병인기전과 관련된 T 세포를 확인하기는 한계가 있었다. 최근에는 류마티스양 관절염 환자 활막에서 분리한 림프구 중에서도 IL-2에 반응하는 T 세포군과 IL-15에 반응하여 증식하는 T 세포군이 다르며 각각 병인론에 다른 역할로 관여할 가능성도 제시되었다(25).

한편 본 연구에서 대상으로 한 류마티스양 관절염 환자는 만성환자로서 관절낭을 제거할 정도로 병이 진행된 환자이기 때문에 질병의 초기 진행에 관여하는 T 세포는 본 연구 결과와는 다른 양상을 나타낼 가능성도 있다. 이는 배양함에 따라 초기에는 제한된 TCR repertoire

가 표현되었다가 병이 진행함에 따라 broad spectrum을 가지는 T 세포군으로 변한다는 보고(26)와도 일치한다. 그러므로 류마티스양 관절염의 비교적 초기 병변에서 생검을 통하여 활막 T 세포를 얻는다면 훨씬 의의있는 정보를 제시할 수 있으리라고 생각한다.

이상의 결과를 종합하면 활막 T 세포는 활성화 표지자를 가지며 특이항원에 의한 T 세포 증식에 의한 T 세포 수용체 양상을 나타내었다.

참 고 문 헌

1. Weisman MH : Prognosis in rheumatoid arthritis : Curr Opin Rheumatol 2;458-462, 1990
2. Pope RM, Teller DC, Mannik M : The molecular basis of self-association of antibodies to IgG (rheumatoid factors) in rheumatoid arthritis. Proc Natl Acad Sci 71; 517-521, 1974
3. Preble OT, Black RJ, Friedman RM : Systemic lupus erythematosus ; presence in human serum of an unusual acid-labile leukocyte interferon. Science 216; 429-431, 1982
4. Marguerie C, Lunardi C, So A : PCR-based analysis of the TCR repertoire in human autoimmune disease. Immunol Today 13;336-338, 1992
5. Doncarli A, Chiocchia G, Stasiuk LM, Herbage D, Boutillon MM, Fournier C, Abehsira-Amar O : A recurrent valpha17/vbeta10 TCR-expressing T cell clone is involved in the pathogenicity of collagen-induced arthritis in DBA/1 mice. Eur J Immunol 29;3636-3642, 1999
6. Paliard X, West SG, Lafferty JA, Clements JR, Kappler JW, Marrack P, Kotzin BL : Evidence for the effects of a superantigen in rheumatoid arthritis. Science 253; 325-329, 1991
7. Howell MD, Diveley JP, Lundeen KA, Dusty A, Winters ST, Carlo DJ, Brostoff SW : Limited T-cell receptor β -chain heterogeneity among interleukin 2 receptor-positive synovial T cells suggests a role for superantigen in rheumatoid arthritis. Proc Natl Acad Sci USA 88;10921-10925, 1991
8. Kraft M, Filsinger S, Kramer KL, Kabelitz D, Hansch GM, Schoels M : Synovial fibroblasts as target cells for staphylococcal enterotoxin-induced T-cell cytotoxicity. Immunology 93; 20-25, 1998
9. McCulloch J, Lydyard PM, Rook GA : Rheumatoid arthritis : How well do the theories fit the evidence? Clin Exp Immunol 92; 1-6, 1993
10. Rook GAW, Lydyard PM, Stanford JL : A repparisal of the evidence that rheumatoid arthritis and several other idiopathic disease are slow bacterial infections. Ann Rheum Dis 52 ; s30-s38, 1993
11. Choi IH, Chwae Y, Lee SK, Chu MK, Kim JD, Kim SJ : Discrepancy in T cell clonal expansions in synovial fluid and peripheral blood from rheumatoid arthritis. Yonsei Med J 36; 68-76, 1995
12. Paliard X, West SG, Lafferty JA, Clements JR, Kappler JW, Marrack P, Kotzin BL : Evidence for the effects of a superantigen in rheumatoid arthritis. Science 253; 325-329, 1991
13. Scottini A, Imberti L, Gorla R, Cattaneo R, Primi D : Restricted expression of T cell receptor Vβ but not Vα genes in rheumatoid arthritis. Eur J Immunol 21; 461-466, 1991
14. Jenkins RN, McGinnis DE : T-cell receptor Vβ gene utilizayion in rheumatoid arthritis. Annal New York Acad Sci 756; 159-172, 1995
15. Cooper SM, Roessner KD, Naito-Hoopes M, Dobbs C, Nicklas JA, Howard DB, Gaur LK, Budd RC : Unstimulated rheumatoid synovial T-cells have a consistent Vβ gene bias when compared to peripheral blood T-cells. Annal New York Acad Sci 756; 186-189, 1995
16. Hingorani R, Monterio J, Pergolizzi R, Furie R, Chartash E, Gregersen PK : CDR3 length restriction of T cell receptor β chain in CD8+ T cells of rheumatoid arthritis patients. Annal New York Acad Sci 756; 179-182, 1995
17. Marche PN, Six A, Gahery H, Gris-Liebe C, Cazenave P, Jouvin-Marche E : T cell receptor Vα gene segemnt with alternate splicing in the junctional region. J Immunol 151; 5319-5327, 1993
18. Heath WR, Miller JFAP : Expression of two α chains on the surface of T cells in T cell receptor transgenic mice. J Exp Med 178; 1807-1811, 1993
19. DerSimonian H, Sugita M, Glass DN, Maier AL, Weinblatt ME, Remes T, Brenner M : Clonal Vα12.1+ T cell expansions in the peripheral blood of rheumatoid

arthritis patients. J Exp Med 177; 1623-1631, 1993

20. VanderBorght A, Geusens P, Vandevyver C, Raus J, Stinissen P : Skewed T-cell receptor variable gene usage in the synovium of early and chronic rheumatoid arthritis patients and persistence of clonally expanded T cells in a chronic patient. Rheumatology 39; 1189-1201, 2000
21. Kurokawa M, Kato T, Masuko-Hongo K, Ueda S, Kobata T, Okubo M, Nishimaki T, Akaza T, Yoshino S, Kasukawa R, Nishioka K, Yamamoto K : Characterisation of T cell clonotypes that accumulated in multiple joints of patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 58; 546-553, 1999
22. Fang Q, Sun YY, Cai W, Dodge GR, Lotke PA, Williams WV : Cartilage-reactive T cells in rheumatoid synovium. Int Immunol 12:659-69, 2000
23. Li NL, Zhang DQ, Zhou KY, Cartman A, Leroux JY, Poole AR, Zhang YP : Isolation and characteristics of autoreactive T cells specific to aggrecan G1 domain from rheumatoid arthritis patients. Cell Res 10; 39-49, 2000
24. Sekine T, Kato T, Masuko-Hongo K, Nakamura H, Yoshino S, Nishioka K, Yamamoto K : Type II collagen is a target antigen of clonally expanded T cells in the synovium of patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 58; 446-450, 1999
25. Masuko-Hongo K, Kurokawa M, Kobata T, Nishioka K, Kato T : Effect of IL15 on T cell clonality *in vitro* and in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 59; 688-694, 2000
26. Elewaut D, De Keyser F, Van den Bosch F, Verbruggen G, Veys EM : Broadening of the T cell receptor spectrum among rheumatoid arthritis synovial cell-lines in relation to disease duration. Clin Exp Rheumatol 18; 201-207, 2000