مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ،
سال یازدهم ، شماره‌های ۳ و ۴ صفحه ۱۲۲

مقالات مروری
REVIEW ARTICLES

تولید و بررسی ویژگیهای اتوآنتی بادی مونوکلونال در بیماری لوپوس

دکتر ربابه رضایی پور*

خلاصه

وجود اتو پادتن‌های ضد اسیدهای نوکلئیک یکی از ویژگیهای بیماری خودایمن (اتوایمون) لوپوس(Systemic Lupus Erythematous) در انسان و برخی از سویه‌های موش و حیوانات است. مسائل موجود در اتیولوژی بیماری لوپوس، بررسی دقیق ویژگیهای پادگنی (آنتی‌ژنی) اتوآنتی بادی‌ها را ایجاب می‌کند. به عبارت دیگر تعیین ماده ایمنی‌زای (ایمونوژن) اختصاصی این اتوآنتی‌بادی‌ها و بررسی نشانه‌ها یا شاخصهای پادگنی (Antigenic determinants) مورد شناسایی آنها ، شاید مهمترین قدم در شناخت اتیولوژی این بیماری باشد. با توجه به این امر و با در نظرگرفتن این مسئله که انجام چنین تحقیقاتی در یک گروه ناهمگن (هتروژن) از اتوآنتی بادی‌ها غیرممکن است ، استفاده از روش جدید و ارزندهٔ مونوکلونال هیبریدوما (Monoclonal Hybridoma در این بررسیها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌شود. در این مقاله نیز ویژگیهای پادگنی و فیزیکو شیمیایی سه نوع اتوآنتی بادی مونوکلونال ، که قبلا" توسط نگارنده به روش هیبریدوما تولید شده است (۲۴) مورد بررسی قرار می‌گیرد.

* استادیار گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

مقدمه

به رغم تحقیقات گسترده‌ای که پیرامون جنبه‌های مختلف بیماری لوپوس صورت گرفته است، هنوز مسائل ناشناختهٔ بسیاری در مورد اتیولوژی این بیماری باقی است که می‌باید مورد تحقیق قرار گیرند.

برخی از تحقیقات نقش عوامل ژنتیکی و وراثت را در ایجاد بیماری لوپوس موءثر دانسته‌اند و دلیل آن را بروز بیماری لوپوس در افراد یک خانواده یا یک فامیل و یا بروز همزمان بیماری در تعدادی از دوقلوهای یک تخمی (Monozygotic twins) می‌دانند. نقش وراثت را می‌توان از بررسی موشهای نسل اول (F_1) حاصل از آمیزش موشهای NZB (new Zealand Black) مبتلا به بیماری کمخونی همولیتیک خودایمن Autoimmune hemolytic anemia با موشهای NZW (new Zealand White) سالم نیز استنباط نمود. موشهای F_1 چنین آمیزشی بیماری خود ایمنی شبیه به لوپوس انسانی خواهند داشت (۲۹). اخیرا" نیز امکان وجود رابطه‌ای بین سیستم HLA بخصوص $HLA\text{-}DR_3$ و ایجاد شدن این بیماری مورد بررسی قرارگرفته است (۴، ۵، ۲۲).

به نظر می‌رسد ویروس‌های خاصی از تیپ C-Type (C Viruses) نیز بیش از سایر ویروس‌ها در بروز بیماری لوپوس دخالت داشته باشند (۲۷). با استفاده از روش ایمونوفلورسانس وجود این ویروس‌ها را در بافت کلیهٔ بیماران دچار لوپوس نشان داده‌اند (۲۱).

داروهایی که مانند هیدرالازین (Hydralazine)، پروکائین آمید (Procainamide) و فنیل بوتازون (Phenyl butazone) از شناخته شده ترین داروها هستند که موجب پیدا شدن سندرم شبه لوپوس (Syndrome Drug Induced Lupus Like) می‌شوند (۱۹).

براساس مطالعات مختلف ثابت شده است که در موشهای F_1 NZB/NZW به هنگام بروز علائم بیماری، فعالیت لنفوسیت‌های T (T-Supperror=Ts) کاهش می‌یابد (۴). به‌دنبال کاهش فعالیت Ts ها، یک هیپرگاماگلوبولینمی Hyper gammaglobulinemia و فعالیت غیرطبیعی و پلی کلونال سیستم ایمنی نیز در بیماران ایجاد می‌شود (۱۸). همچنین بروز اختلال ایمنی یاخته‌ای نیز در این بیماران گزارش شده است (۳۲).

یافته های ایمنی شناختی مهم در این بیماری عبارتند از:

۱. یاختهٔ LE (Lupus Erythematous) که درحقیقت نوتروفیلی است که هستهٔ استحاله یافته (دژنره) و هوموژنیزه‌ای را که با پادتنهای اختصاصی پوشیده شده است، اپسونیزه کرده است.

۲. کاهش اجزای مختلف سیستم مکمل، بخصوص C_3، بر اثر مصرف بیش از حد این پروتئین‌های آنزیمی توسط مجتمع (کمپلکس) ایمنی. کاهش ژنتیکی C_4 و C_2 این سیستم نیز اخیرا" توسط دانشمندان مختلف گزارش شده است (۷ و ۳۰).

۳. رسوب مجتمع ایمنی در بافتهای مختلف با روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم به اثبات رسیده است. رسوب این مجتمع ها در کلیه ها نارسایی کلیه‌ای، در سیستم عصبی مرکزی، اختلالات و در قلب ناراحتیهای قلبی را موجب می‌شود. با توجه به اینکه رسوب مجتمع ایمنی در کلیهٔ پیوند شده بندرت صورت می‌گیرد اخیرا" جهت درمان نارسایی کلیه‌ای ناشی از این رسوب، پیوند کلیه پیشنهاد شده است (۳).

۴. در بیماری لوپوس اتوآنتی بادی‌های بسیار متنوعی علیه مواد هسته‌ای ریبوزوم ها (۲۶)، میتوکندری‌ها، نوکلئو ـ پروتئین‌ها، هیستون‌ها (۲۸) و لنفوسیت‌های T (۱۹) تولید می‌شود. در واقع وجود اتوآنتی‌بادی‌های ضد مواد هسته‌ای یا اسیدهای نوکلئیک مهمترین مشخصهٔ این بیماری است. این اتوآنتی بادی‌ها به سه گروه مشخص تقسیم‌بندی شده‌اند (۲) که در هر گروه شاخص پادگنی اختصاصی نیز مشخص شده است (۸):

الف) پادتنهایی که فقط با DNA تک رشته‌ای (Single Stranded DNA=ssDNA) واکنش نشان می‌دهند. شاخص پادگنی مورد شناسایی این گروه قبلا" نوکلئوتید فرض شده بود که بعدا" نیز توسط دیگران به اثبات رسید (۲۴). وجود این پادتنها اختصاص به لوپوس ندارد و در سایر بیماریها مانند روماتیسم مفصلی، نیز تولید می‌شود. تولید تجربی این پادتنها با تزریق کونژوگهٔ حاصل از ترکیب اسید نوکلئیک تک رشته‌ای و یک پروتئین حامل (Carrier) مناسب نیز امکانپذیر است.

ب) پادتنهایی که فقط با DNA دو رشته‌ای (Double

(Stranded DNA=dsDNA) ترکیب می‌شوند . شاخص پادگنی مورد شناسایی توسط این گروه احتمالا "مارپیچ dsDNA (Helix- ∝) یا شکل فضایی مولکول DNA است . تیترهای بالای این نوع اتوآنتی بادی فقط در بیماری لوپوس گزارش شده است و تولید تجربی این نوع پادتنها در حیوانات تا کنون موفقیتی نداشته است .

ج) اتوآنتی بادی‌هایی که با هر دو DNA تک‌رشته‌ای و دو رشته‌ای ترکیب می‌شوند . شاخص پادگنی در این حالت احتمالا "گروههای قند و فسفات (Sugar-Phosphate) (Backbone مشترک در هر دو نوع DNA است . اتوآنتی ـ بادی‌های ضد DNA در لوپوس که به‌طور عمده از ایزوتایپهای IgM و IgG هستند از نظر ویژگی و میل ترکیبی (affinity) جمعیتی پلی‌کلونال و ناهمگن (هتروژن) می‌باشند (۱۶، ۱۷) . تعیین این اتوآنتی بادی‌ها با روش‌های RIA و با استفاده از DNA نشان‌دار شده با مواد رادیواکتیو امکانپذیر است . هر چند که روش جدید ایمونوفلورسانس در فاز مایع نیز با استفاده از نوکلئوتیدهای فلورسانسی اخیرا "به سایر روشهای مطالعهٔ این اتوآنتی بادی‌ها اضافه شده است (۲۳) .

بررسی دقیق ویژگیهای این اتوآنتی بادی‌ها با ابداع روش مونوکلونال هیبریدوما امکانپذیر شد (۱۲) . این روش که توسط بسیاری از محققین به‌کار گرفته شد . (۱۳، ۲۴، ۲۵، ۳۱، ۳۴) موجبات تولید مقادیر کافی از یک نوع پادتن همگن و مونوکلونال را با یک ایدیوتایپ اختصاصی فراهم آورده است .

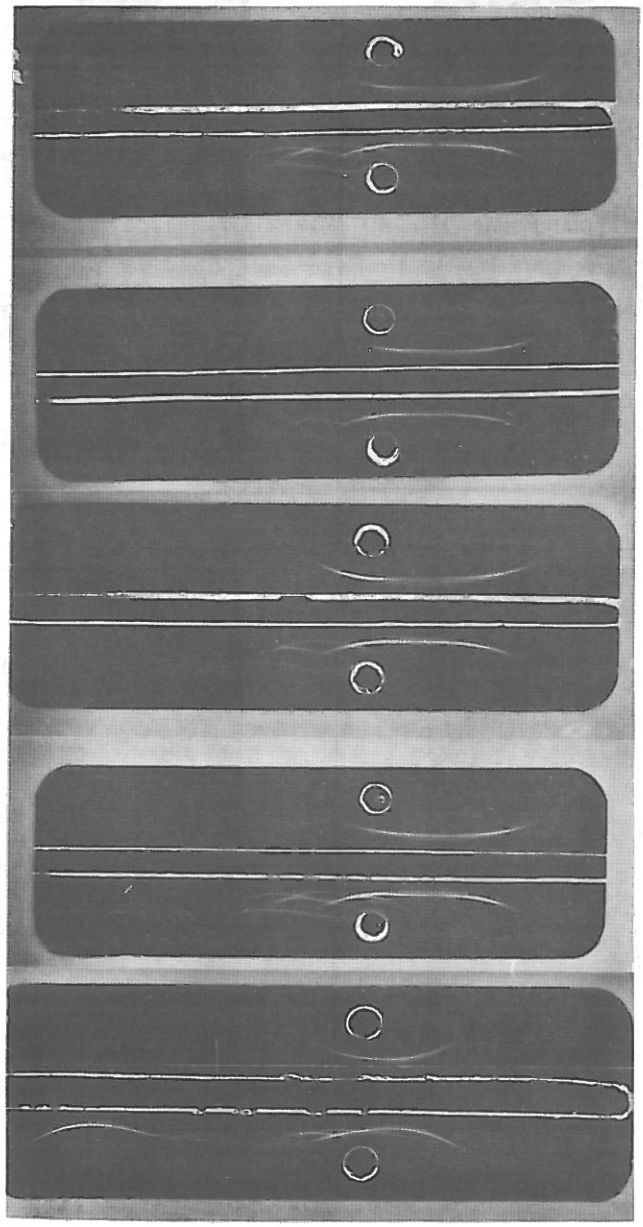
نتایج و بحث

پاسخ به سئوالات بسیاری که در زمینهٔ اتیولوژی بیماریهای خود ایمن (اتوایمون) بخصوص لوپوس مطرح می‌شود ، مستلزم شناخت دقیق ویژگیها و شاخصهای پادگنی اتوآنتی بادی‌های تولید شده در این بیماری است . با توجه به این که اتو ـ آنتی بادی‌های تولید شده در بیماری لوپوس ، به دنبال فعالیت پلی کلونال لنفوسیت‌ها ، یک جمعیت ناهمگن (هتروژن) را تشکیل می‌دهند ، بررسی اپی تایپ اختصاصی این جمعیت و شناخت بیشتر محل فعال این مولکول‌ها غیر ممکن است . اما امروزه با روش جالب مونوکلونال هیبریدوما ، تولید یک نوع ایدیوتایپ به مقدار زیاد امکانپذیر شده است . توسط نگارنده نیز لنفوسیت‌های طحال موش $NZW/NZB\ F_1$ با یاخته های میلومایی $sP_2/0\ Ag_{14}$ ادغام شد که سه نوع کلون هیبریدومای تولیدکنندهٔ اتوآنتی بادی‌های ضد ssDNA به دست آمد ؛ سپس هر یک از این اتوآنتی بادی‌های مونو ـ کلونال از نظر شاخص پادگنی به‌طور کامل مورد مطالعه قرار گرفت .

پادتن مونوکلونال حاصل از کلون هیبرید* E-4-1، IgG-1 بازنجیرهٔ سبک و برای کلون‌های* E-4-4 و E-11-1، IgG-2 بازنجیرهٔ سبک κ بود (شکل ۱ و ۲) . همگن (هموژن) بودن مونوکلونال تولید شده به وسیله IEF به اثبات رسید . همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود پادتن‌های منوکلونال در مقایسه با یک جمعیت پلی‌کلونال (ناهمگن) باندهای محدودتری را نشان می‌دهند . علت ایجاد چند باند در یک جمعیت همگن را ناشی از اختلاف ساختمانی قسمت کربو هیدراتهٔ این نوع ایمونوگلوبولین‌ها می‌دانند و آن را microheterogeneity می‌نامند (۱۱) .

همان‌طور که در جدولهای ۱ و ۲ نشان داده شده است هر سه نوع پادتن مونوکلونال تمایل بیشتری به ترکیب با ssDNA داشتند . همچنین ثابت شد که این اتوآنتی‌بادی‌ها با هوموپلی مرهای نوکلئوتیدی بهتر از دی نوکلئوتیدها واکنش نشان می‌دهند . این خاصیت مغایر با خصوصیات پادتنهایی است که به‌طور تجربی علیه نوکلئوتیدها تولید می‌شوند . به‌عنوان مثال پادتن‌های ضد TMP با مونونوکلئوتید T بیش از پلی T ترکیب می‌شوند (جدول ۳) . توجیه این مطلب به این ترتیب است که اتوآنتی‌بادی‌های مونوکلونال بیشتر توالی (سکانسی) از نوکلئوتیدها را شناسایی می‌کنند ، در نتیجه شاخص پادگنی اصلی برای محل فعال (اکتیو سایت) این اتوآنتی بادی‌ها بزرگتر از یک نوکلئوتید است . در ضمن احتمال دارد که اتوآنتی بادی‌های تولید شده در لوپوس به طریقهٔ avidity به پادگنهای پلی مریک متصل شوند که این خود در بیماریزایی (پاتوژنز) این اتوآنتی بادی‌ها بسیار موثر است . در حالیکه پادتنهای ضد نوکلئوتید که به‌طور تجربی تولید شده‌اند به طریقهٔ affinity با شاخص

* سه کلون هیبرید تولید شده به ترتیب با حروف E-4-1, E-4-4 و E-11-1 نشان داده شدند . این علائم اختصاری نشاندهندهٔ دفعات هیبریداسیون ، شماره چاهک‌های پلیت‌های مخصوص کشت یاخته و در نهایت شماره کلون‌های حاصل از این کشت‌ها است .

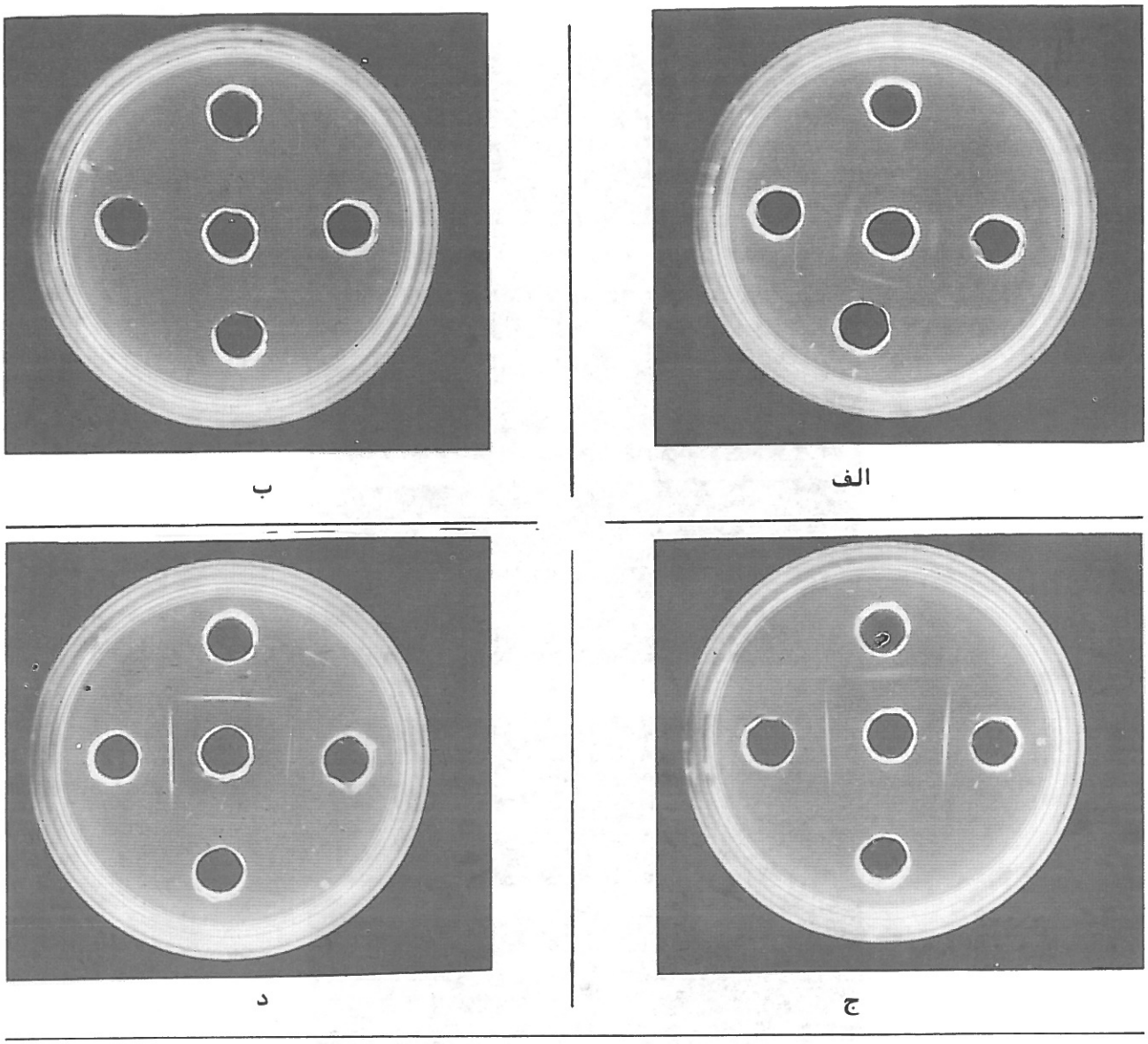


شکل ۱. روش ایمونوالکتروفورز

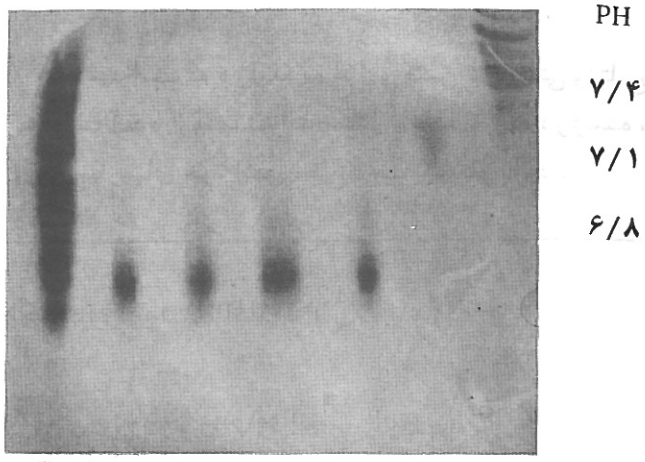
الف، ب و ج) IgG خالص شدهٔ انسانی به حفرات بالا و سرم‌های طبیعی انسانی به حفرات پایینی اضافه شد. پس از انجام الکتروفورز، در V 220 به مدت ۲ ساعت در شیار وسط آنتی‌سرم انسانی قرار داده شد. به دنبال این عمل خطوط رسوبی در محفظه مرطوب تشکیل گردید، در حرارت اتاق و پس از ۲۴ ساعت.

د) IgG خالص شدهٔ خرگوش، که به طور تجربی علیه UMP-KLH تولید شده بود، در حفرهٔ بالا و سرم طبیعی خرگوش در حفرهٔ پایینی پلیت قرار داده شد و مطابق روش بالا الکتروفورز صورت گرفت و بالاخره به شیار وسط پادتن ضد سرم خرگوش اضافه شد.

ه) اتوآنتی بادی خالص شده از کلون E-4-4 به روش affinity کروماتوگرافی در حفره بالا قرار داده شد و در حفرهٔ پایینی ایمونوگلوبولین مایع آسیتی به دست آمده از تزریق همان کلون E-4-4 که با سولفات آمونیوم رسوب داده شده بود، ریخته شد. پس از الکتروفورز و با افزودن پادتن ضد ایمونوگلوبولین به شیار وسط، خطوط رسوبی ــ مشابه روش فوق ــ تشکیل شد.



شکل ۲ . روش Ouchterlony با پادتن‌های مونوکلونال خالص شده از کلون‌های E-4-4 و E-11-1 .
مواد زیر به ترتیب به حفرات پلیت‌ها اضافه شد :
* ایمونوگلوبولین خالص شده از کلون E-4-4 به روش affinity کروماتوگرافی به حفره بالایی .
* ایمونوگلوبولین خالص شده به روش سولفات آمونیوم از مایع آسیتی به دست آمده از تزریق کلون E-4-4 به حفرهٔ چپ .
* ایمونوگلوبولین خالص شده از کلون E-11-1 به روش affinity کروماتوگرافی به حفرهٔ پایینی .
* ایمونوگلوبولین خالص شده به روش سولفات آمونیوم از مایع آسیتی به دست آمده از تزریق کلون E-11-1 به حفرهٔ راست .
الف) در حفرهٔ مرکزی پادتن ضد زنجیرهٔ سبک K موش ،
ب) در حفرهٔ مرکزی پادتن ضد زنجیرهٔ سبک λ موش ،
ج) در حفرهٔ مرکزی پادتن ضد زنجیرهٔ سنگین IgG_1 موش ،
د) و بالاخره در حفرهٔ مرکزی آخرین پلیت پادتن ضد زنجیرهٔ سنگین IgG_2 موش قرار داده شد .

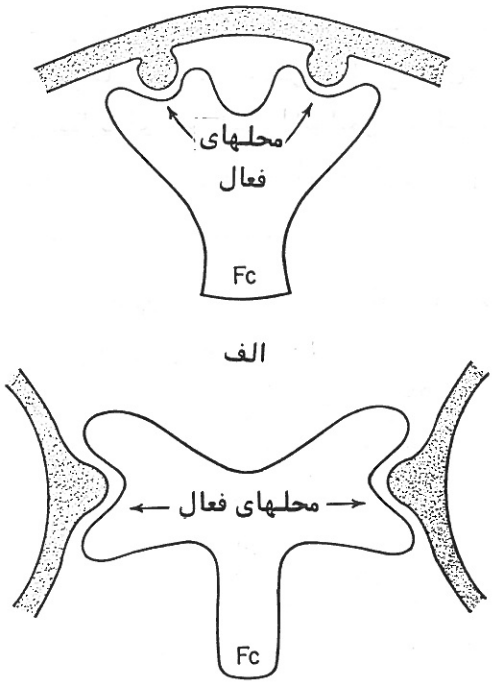


شکل ۳. روش Isoelectrofocusing (IEF)

در شکل ۳ ــ الف . IgG ضد هاپتن فلوروسئین و در شکل ۳ ــ ب ایمونوگلوبولین خالص شده به روش affinity کروماتوگرافی از کلون E-4-4 به ژل افزوده شده‌اند .

پادگنی اختصاصی واکنش نشان می‌دهند (شکل ۴) . این اختلاف می‌تواند ناشی از طرز قرار گرفتن محل فعال این دو نوع پادتن باشد . در بررسیهای موءلف ، پادتن‌های مونوکلونال تولید شده خواصی را در مقابل نوکلئوتیدها نشان دادند . برای مثال کلون *E-4-1 بیشتر با مشتقات منو ، دی‌وپلی G ترکیب شد ، درحالی‌که ، کلون‌های *E-11-1 و *E-4-4 با مشتقات T واکنش بهتری نشان دادند (جدول ۲) . با بررسی میل ترکیبی (affinity) کلون *E-4-1 برای منو و دی نوکلئوتید G و با در نظرگرفتن این موضوع که میل ترکیبی پادتنهای حاصل از کلون فوق برای دی ــ نوکلئوتید G ده برابر منونوکلئوتید G است ، ثابت می‌شود که شاخص مورد شناسایی اتوآنتی بادی‌های منوکلونال ، از یک نوکلئوتید بزرگتر است . واس (woss) در سال ۱۹۷۶ (۳۳) حجم محل فعال پادتن‌های ضد هاپتنی را A^3 ۲۵۰۰ گزارش نمود . حال با فرض بر اینکه محل فعال پادتن‌ها تقریبا" یک اندازه‌اند و با مقایسهٔ این رقم با حجم یک دی

نشانه یا شاخصهای پادگنی



شکل ۴. مقایسهٔ شکل فضایی محل فعال (اکتیو سایت) پادتنهای مختلف .

الف) اتوآنتی بادی تولید شده در لوپوس احتمالا" به شکل Avidity با یک پادتن پلی‌مری مثل DNA واکنش نشان می‌دهد .

ب) پادتنهای تجربی تولید شده علیه نوکلئوتیدها احتمالا" به شکل affinity به پادگنهای پلی‌مری متصل می‌شوند .

نوکلئوتید که برابر A^3 ۲۰۰۰ است ، مشخص می‌شود که محل فعال مولکول پادتن حداقل دونوکلئوتید را می‌تواند دربر گیرد ، به احتمال یک واکنش ضعیف دیگر با نوکلئوتید سوم . نتایجی مشابه این مطالعه توسط سایر پژوهندگان نیز ارائه شده است (۱ ، ۱۰ و ۱۵) .

در این مطالعه ثابت شد که میل ترکیبی هر سه نوع پادتن مونوکلونال کم بوده است (حدود 10^4 ــ 10^5 M-1 جدول ۴) . این امر بروز یک واکنش تقاطعی (cross reaction) را در این بیماری محتمل می‌سازد ، به عبارت

دیگر، یک عامل بیگانه، شاخص اصلی برای این اتوآنتی‌بادی‌ها تصور می‌شود. میل ترکیبی این پادتن‌ها با پادگن خودی (cross reacting Antigen) چندان زیاد نیست اما در برابر شاخص اصلی چندین برابر خواهد بود.

به هر حال مطالعهٔ دقیقتر اتو آنتی بادی‌های تولید شده در بیماریهای خود ایمن (اتو ایمن) انسانی، بخصوص به روش مونوکلونال هیبریدوما، شاید موثرترین گام در تلاشی است که سالیان متمادی برای پی بردن به اتیولوژی این بیماریها صورت گرفته است و چون تحقیقات سایرین نیز آن را تائید کرده لذا همچنان ادامه دارد (۶، ۱۴، ۲۰).

امید است که در آینده، ادامه چنین تحقیقاتی ونتایج به دست آمده از آنها بتواند مسائل مختلفی را که در زمینه، بروز بیماریهای خود ایمن مطرح است پاسخگو باشد.

جدول ۱. درصد اتصال پادتنهای منوکلونال با ^{125}I-ssDNA و ^{125}I-dsDNA در روش Farr :

پادتن مونوکلونال*	^{125}I-ssDNA	درصد انتقال ^{125}I-dsDNA
E-4-1	32.7±5.6	10.0±4.5
E-4-4	35.0±3.0	27.9±2.9
E-11-1	37.7±1.7	14.0±6.3

* در هر آزمایش ۰/۰۶ میلی‌گرم ایمونوگلوبولین خالص شده به کار برده شده است.

جدول ۲. واکنش پادتنهای مونوکلونال با ^{125}I-ssDNA و بررسی اثر مواد رقابتی (Inhibitors) مختلف بر این اتصال

Inhibitors	Inhibitor* Concentration	Percent Inhibition E-4-1**	E-4-4**	E-11-1**
ssDNA	10μg	100	92	100
dsDNA	10μg	60	28	42
RNA	10μg	0	0	0
Poly G	10^{-4}M	100	10	34
Poly T	10^{-4}M	57	65	81
Poly C	10^{-4}M	0	0	18
Poly A	10^{-4}M	34	0	31
Poly U	10^{-4}M	0	0	28
GPG	10^{-4}M	100	3	6
TPT	10^{-4}M	0	36	51
APA	10^{-4}M	33	6	6
TpdG	10^{-4}M	0	13	30
GpA	10^{-4}M	65	0	0
dCpdG	10^{-4}M	0	8	31
TpdA	10^{-4}M	9	6	38

* غلظت نهایی مواد رقابتی در ۱۰۰ μl حجم نهایی آزمایش محاسبه شد.

** ۰/۰۶ میلی‌گرم خالص شده در هر آزمایش به کار رفت.

جدول ۳. مطالعات رقابتی با استفاده از پادتن ضد TMP-KLH به روش ایمونوفلورسانس فاز مایع :

نوکلئوتید فلورسانسی *	مادهٔ رقابتی **	درصد رقابت با نوکلئوتید فلورسانسی
AmNs-TDP	TMP	۵۴
AmNs-TDP	TPT	۵۶
AmNs-TDP	Poly T	۲۰

* غلظت نوکلئوتید فلورسانسی برابر $۶/۸ \times ۱۰^{-۶}$ M بود .
** مادهٔ رقابتی با غلظت $۱۰^{-۴}$ M به کار برده شد .

جدول ۴. اندازه‌گیری ضریب ثابت تعادلی (KA) و ضریب a در سه پادتن مونوکلونال خالص شده ، با استفاده از نوکلئوتیدهای فلورسانسی در روش ایمونوفلورسانس فاز مایع :

پادتن مونوکلونال	AmNS-GDP	AmNS-TDP	AmNS-GPG	ضرایب *
	ضرایب KA (M^{-1}) نوکلئوتیدهای فلورسانسی			
E-4-1	1.1×10^5	--	1.7×10^6	0.98
E-4-4	--	5.6×10^4	--	0.96
E-11-1	--	2.0×10^5	--	0.90

* این ضرایب که در منحنی sips با محاسبهٔ شیب منحنی محاسبه شده است همگن بودن جمعیت پادتن منوکلونال را نشان می‌دهند .

مراجع

1. Andrezejewski C Jr et al: J.Immunol 126:226-231, 1981

2. Arana R, seligmann M: J.Clin.Invest 46, 1867

3. Balow J E: clinics in immunology and allergy 6:2,1986

4. Batchelor Jr et al: Lancet 1:1107, 1980

5. Bell DA et al: J.Rheumatol 11:475,1984

6. Bernardo, E.DE et al: J.of clin.Immunol 7.No 1:71-77,1987

7. Bevra Hannaks Hahn: Harrison's 11th edition, 1987,p.1418

8. Cohen S A, Hughes G R V, Neel G L and Christian C L: Clin. Exp.Immunol 8: 551, 1971

9. Condemi J J, Moore-Jones D, Vaughan J H and Perry H M: N Engl J Med 276: 486, 1967

10. Eilat D et al: J.Immunol 124:766-768, 1980

11. Hoffman D R: in Biological and Biomedical Applications of Insoelectric Focusing. Drysdale J, Castsimopoolas N (eds),1977

12. Kohler G,Milstein C: Nature 256: 495, 1975

13. Kozbor D et al: J Immunol 133: 3001-3005, 1984

14. Kuroki T et al: Clin Exp Immunol 62:361-370, 1985

15. Lee J S et al: Nucleic Acids Pes 9:1707-1711,1981

16. Manak,R C, Voss E W Jr: Immunochemistry 15, 1978

17. Manak R C, Voss E W J: Immunochemistry 15:633,1978

18. Morimoto C: Clin Exp Immunol 32:125,1978

19. Morimoto C,Relinherz E L Abe T,Homma M, Schlossman S F: Clin Immunol Immunopathol 16: 474, 1980

20. Normannsell DE, et al: Ann Clin, Lab Sci 14:64-68,1984

21. Panem S, Ordonez N G, Kirsten, W H: N Engl,J Med 295:470,1976

22. Reveille JD et al: Immunogenetics.21:299-311. 1985

23. Rezaei Poor Kardost R, et al: Mol Immunol.19: 159-170,1981

24. Rezaei Poor Kardoost R,Billing P A, Voss E W Jr: Molecular Immunology 19, No.8 963, 1982

25.Ruf J et al: EMBO,J 2: 1821-1826, 1983

26.Schur P H, Moroz L A, Kunhel H G:Immunochemistry 4:447,1967

27. Schwartz R S: New Engl, J Med 293:132, 1975

28. Stollar B D: Arth Rheum 14: 485, 1971

29. Talal N, steingerg A D: Curr Top Microbiol, Immunol 64:79,1974

30. Tappeiner G. J Am, Acad, Dermatol 7:66,1982

31. Tron F,Charron D, Bach J F, Talal N: J Immunol 125:2807,1980

32. Tsokos G C et al: The American Journal of Medicine 81: 1981, 1986

33. Voss E W Jr et al: Immunochemistry 13: 447,1976

34. Weetman AP et al: Clin Chim Acta 138:237-244, 1983