

Received: 2004.10.14
Accepted: 2004.11.25
Published: 2004.12.09

Epitopy na białkach mieliny rozpoznawane przez autoprzeciwciała obecne u chorych na stwardnienie rozsiane

Epitopes on myelin proteins recognized by autoantibodies present in multiple sclerosis patients

Ewa Jaśkiewicz

Zakład Immunochemii, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Stwardnienie rozsiane (SM) jest chroniczną chorobą ośrodkowego układu nerwowego, o podłożu autoimmunologicznym. Pomimo niewątpliwego udziału prozapalnych limfocytów T w patogenezie SM, coraz częściej sugeruje się również znaczenie odpowiedzi humoralnej. Przemawiają za tym m.in. wyniki badań przedstawiające udział przeciwciał o swoistości anti-MOG w rozwoju EAE, zwierzęcego modelu SM, u gryzoni, a także u naczelnych. W chronicznych i aktywnych ogniskach demielinizacyjnych pacjentów z SM stwierdza się obecność limfocytów B, komórek plazmatycznych i autoprzeciwciał reagujących z białkami mieliny. W płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy osób chorych znaleziono przeciwciała rozpoznające: MBP, PLP, MAG, MOG, OSP, TAL i CNP. Dotychczas szczegółowo scharakteryzowano epitopy dla przeciwciał o swoistości anti-MBP, anti-MOG oraz anti-OSP. Epitopy te częściowo pokrywają się z encefalogennymi epitopami rozpoznawanymi przez limfocyty T, obecnymi u chorych na SM. Pytanie o rolę autoprzeciwciał rozpoznających białka mieliny w rozwoju SM, pozostaje wciąż otwarte. Bezpośredni udział w procesie demielinizacji, poprzez aktywację komplementu i komórek cytotoksycznych, wykazano jedynie dla przeciwciał rozpoznających MOG. Identyfikacja antygenów i epitopów, stanowiących cel ataku immunologicznego w SM, ma znaczenie nie tylko dla wyjaśnienia etiologii choroby, lecz również ze względu na ich potencjalne wykorzystanie w terapii. Ostatnio podejmowane są próby terapii antygenowej u pacjentów z SM. Wydaje się jednak, że tylko poznanie indywidualnego obrazu odpowiedzi immunologicznej u każdego pacjenta, dotyczącego rodzaju rozpoznawanych autoantygenów i subswoistości autoreaktywnych limfocytów T i B, pozwoli na zastosowanie bardziej efektywnych metod do walki z tą wyniszczającą chorobą.

Słowa kluczowe:

stwardnienie rozsiane • białka mieliny • autoprzeciwciała • epitopy

Summary

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory disease of the central nervous system (CNS). It is thought that autoimmunity plays a major role in the development of the disease. Despite understanding MS as the cell-mediated autoimmune disease, recent studies suggest a role of humoral response in MS pathogenesis. The contribution of antibodies with anti-MOG specificity in the pathology of EAE (experimental allergic encephalomyelitis), an animal model of MS, in rodents and recently in primates has been demonstrated. B lymphocytes, plasma cells, and autoantibodies reacting with myelin proteins are present in the chronic and active plaques of MS patients. These antibodies, which recognize myelin basic protein (MBP), proteolipid protein (PLP), myelin-associated glycoprotein (MAG), myelin-oligodendrocyte glycoprotein (MOG), oligoden-

drocyte-specific protein (OSP), 2',3' cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNP), and transaldolase (TAL), have been identified mostly in cerebrospinal fluid and in serum. So far, the antibodies directed against MBP, MOG, and OSP have been characterized in detail. However, the role of autoantibodies in MS pathogenesis is still controversial. A direct role in the demyelination process, by the activation of complement and cytotoxic cells, has been shown only for the anti-MOG antibodies. Identification of the antigens and epitopes targeting the autoimmune response in MS is of great importance, not only for understanding of MS pathology, but also for potential therapeutic use. Recently, antigen therapy trials have been conducted in MS patients. It seems, however, that only the recognition of the individual immunological response in each MS patient, including autoantigens and the subspecificity of autoreactive T and B lymphocytes, can allow for an effective fight against this destructive disease.

Key words: multiple sclerosis • myelin proteins • autoantibodies • epitopes

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/6681.pdf

Word count: 5067

Tables: –

Figures: –

References: 118

Adres autorki: doc.dr hab. Ewa Jaśkiewicz, Zakład Immunochemii, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda, ul Weigla 12, 54114 Wrocław, e-mail: jaskiew@iitd.pan.wroc.pl

WPROWADZENIE

Stwardnienie rozsiane (sclerosis multiplex – SM) jest chroniczną chorobą ośrodkowego układu nerwowego (o.u.n.), charakteryzującą się infiltracją zapalnych komórek do o.u.n., obecnością ognisk demielinizacyjnych, degeneracją aksonów oraz destrukcją komórek gleju [70,72]. Uważa się, że SM jest chorobą autoimmunologiczną. Opierając się na podobieństwach do doświadczalnego, alergicznego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego u myszy (experimental allergic encephalomyelitis – EAE), szczególnie istotne znaczenie w rozwoju choroby przypisuje się roli limfocytów CD4+Th1 rozpoznających białka mieliny, które zapoczątkowują proces zapalny. Wiele dowodów wskazuje jednak na złożoność procesu chorobowego i udział również limfocytów CD8+ [53,90]. W chronicznych i aktywnych ogniskach demielinizacyjnych chorych na SM stwierdza się również obecność limfocytów B, komórek plazmatycznych oraz przeciwciał rozpoznających białka mieliny [25,32,33]. Zwróciło to uwagę na możliwy udział odpowiedzi humoralnej w patogenezie SM. Przemawiają za tym i inne wyniki przedstawiające rolę przeciwciał rozpoznających glikoproteinę oligodendrocytów (myelin oligodendrocyte glycoprotein – MOG) w rozwoju EAE u gryzoni [56,57] oraz naczelnych [31,77].

Jednym z najczęściej stwierdzanych zaburzeń, u ponad 90% pacjentów z klinicznie potwierdzonym SM, jest wzrost stężenia immunoglobulin (Ig) obecnych w płynie mózgowo-rdzeniowym (cerebrospinal fluid – CSF) [2]. Analiza elektroforetyczna tych immunoglobulin wykazała obecność oligoklonalnych prążków [23,55,65]. Oligoklonalny charakter Ig występujących w CSF chorych na SM został ostatnio potwierdzony technikami molekularnymi. W kilku laboratoriach badano repertuar regionów zmiennych łańcuchów ciężkich immunoglobulin (VH), obecnych w ogni-

skach zapalnych i CSF pacjentów z SM [7,22,74,76,92]. Uzyskane wyniki potwierdziły oligoklonalną ekspansję limfocytów B, zgodną z ograniczoną różnorodnością wytwarzanych przez nie immunoglobulin. Ponadto, wyraźnie świadczyły o syntezie przeciwciał w odpowiedzi na stymulację antygenem.

Od dawna podejmuje się próby ustalenia swoistości antygenowej immunoglobulin obecnych w CSF, ogniskach zapalnych lub w surowicy chorych na SM. Wcześniejsze badania koncentrowały się na poszukiwaniu przeciwciał, skierowanych przeciwko antygenom zewnętrznym, głównie czynnikiem zakaźnym, takim jak wirusy i bakterie, zgodnie z istniejącą hipotezą o infekcyjnym charakterze SM. Znaleziono, między innymi, przeciwiacina reagujące z wirusem odry, świnki, opryszczki (HSV-1), ospy wietrznej (VZV), cytomegalii (CMV), Epsteina-Barr (EBV) [14,29,84]. Zidentyfikowano również przeciwiacina rozpoznające bakterie *Hemophilus influenzae B*, *Escherichia coli* [100], *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* [44] oraz *Chlamydia pneumoniae* [116]. Przeciwiacina te stanowią jednak niewielki procent immunoglobulin obecnych w płynach ustrojowych i nie wiadomo czy są związane z SM. Przypuszczenie, że przeciwiacina obecne w o.u.n. chorych na SM są skierowane przeciwko antygenom własnym, a w szczególności białkom osłonki mieliny, zostało doświadczalnie potwierdzone. Autoprzeciwiacina reagujące z wieloma białkami, w tym: zasadowym białkiem mieliny (myelin basic protein – MBP), lipofiliną (myelin proteolipid protein – PLP), glikoproteiną oligodendrocytów (myelin-oligodendrocyte glycoprotein – MOG), MAG (myelin-associated protein), OSP (oligodendrocyte-specific protein), transaldolazą (TAL), fosfodiesterazą 2',3' cyklicznych nukleotydów (CNP) zostały znalezione głównie w płynie mózgowo-rdzeniowym, ogniskach zapalnych, a także w surowicy pacjentów z SM [25,26,87]. Podobnie

jak poprzednio, udział tych przeciwciał we frakcji immunoglobulin CSF był niewielki i nie odpowiadał głównym prądkom oligoklonalnym. Obecność w o.u.n. chorych na SM przeciwciał rozpoznających tak dużą liczbę różnych białek może odgrywać bezpośrednią rolę w rozwoju choroby. Może być jednak także rezultatem pierwotnej destrukcji mieliny, w wyniku której dochodzi do ekspozycji nowych antygenów i wtórnej odpowiedzi immunologicznej.

METODY IDENTYFIKACJI EPITOPÓW DLA PRZECIWCIAŁ

Autoprzeciwciała obecne w płynach ustrojowych (CSF i surowicy) oraz ogniskach zapalnych chorych na SM były od dawna charakteryzowane, poprzez wiązanie do białek mieliny, z użyciem standardowych technik. Należą do nich: absorpcja antygenami, chromatografia powinowactwa, rozdział elektroforetyczny, a następnie swoista identyfikacja na membranie (Western blotting), test immunoenzymoadsorbpcyjny (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA), ELISPOT (enzyme-linked immunosorbent spot-forming cell assay) oraz test radioimmunologiczny (radioimmunoassay – RIA) [23,26]. Ze względu na użycie oczyszczonych, zdenaturowanych białek bądź peptydów, metody te pozwalają głównie na identyfikację liniowych epitopów. Inną metodą również nadającą się do identyfikacji liniowych epitopów jest wiązanie przeciwciał do syntetycznych peptydów o wybranej długości (od 8 do 20 reszt aminokwasowych), związanych ze stałym nośnikiem (PepsScan analysis) [34].

Identyfikację epitopów dla przeciwciał ułatwiło znacznie wprowadzenie technik molekularnych, w tym zastosowanie fagowej biblioteki peptydowej, zawierającej wszystkie możliwe sekwencje aminokwasowe o wybranej długości (zwykle 6 lub więcej r.a.). Do tej pory dwie grupy badaczy zidentyfikowały krótkie, 4–6 aminokwasowe sekwencje rozpoznawane przez autoprzeciwciała obecne w CSF i surowicy chorych na SM [24,78]. Jeden z zidentyfikowanych motywów występuje w sekwencji aminokwasowej $\alpha\beta$ krystaliny oraz białka jądrowego wirusa Epsteina-Barr. Jednak, jak pokazują wyniki otrzymane z użyciem kombinatorycznych bibliotek peptydowych, identyfikacja krótkich sekwencji aminokwasowych, rozpoznawanych przez przeciwciała ma ograniczone znaczenie. Technika ta bowiem umożliwia jedynie, jak wspomniano, identyfikację liniowych epitopów lub co istotniejsze – mimotopów, czyli sekwencji krzyżowo reagujących z przeciwciałami, ale niewystępujących w natywnych białkach.

Identyfikację konformacyjnych epitopów na natywnych antygenach, umożliwia natomiast zastosowanie biblioteki ekspresyjnej cDNA otrzymanej z tkanek lub linii komórkowych [35]. Stosując ekspresyjną bibliotekę z linii prekursorowej oligodendrocytów stwierdzono, że przeciwciała obecne w CSF i surowicy pacjentów z SM rozpoznają 7-aminokwasową sekwencję, odpowiadającą powszechnej, powtórzonej sekwencji Alu [4].

Wszystkie wymienione metody stosowane do charakterystyki swoistości immunoglobulin, obecnych w płynach ustrojowych chorych na SM, napotykają jednak na liczne trudności. Są one związane przede wszystkim z małym stężeniem lub niewielkim powinowactwem przeciwciał oraz z tworzeniem kompleksów i wiązaniem się do

tkanek [23,73]. Wykorzystanie fagowej, kombinatorycznej biblioteki immunoglobulinowej pozwala na uniknięcie tych ograniczeń [35]. Technika ta polega na klonowaniu fragmentów Fab przeciwciał i ich ekspresji na powierzchni faga. Umożliwia to teoretycznie otrzymanie pełnego repertuaru przeciwciał obecnych w o.u.n. lub w surowicy pacjentów z SM. Swoistość tak otrzymanych monoklonalnych przeciwciał charakteryzuje się następnie poprzez wiązanie do oczyszczonych natywnych i rekombinacyjnych białek lub peptydów, metodą ELISA, RIA lub PepsScan. Wiązanie do odpowiednich linii komórkowych i tkanek identyfikuje się w cytofluorymetrii przepływową lub immunohistochemicznie. Niedawno otrzymano kombinatoryczną bibliotekę przeciwciał obecnych w surowicy naczelnych (*C. jacchus*) z EAE indukowanym MOG [20] oraz pochodzących z CSF i ognisk zapalnych pacjentów z SM [109]. Pozwoliło to na stwierdzenie, że w przypadku SM, większość frakcji immunoglobulin obecnych w o.u.n. stanowią przeciwciała rozpoznające dwuniciowy DNA.

SZCZEGÓŁOWA CHARAKTERYSTYKA SWOISTOŚCI AUTOPRZECIWCIAŁ ROZPOZNAJĄCYCH BIAŁKA MIELINY

W przypadku SM przyjmuje się, że potencjalnym autoantygenu może być własne białko, które spełnia dwa kryteria: wywołuje komórkową i/lub humoralną odpowiedź immunologiczną w przebiegu choroby oraz jest zdolne do indukcji EAE, zwierzęcego modelu SM. Jak wspomniano wcześniej, w CSF, ogniskach zapalnych i w surowicy chorych na SM zidentyfikowano wiele autoprzeciwciał rozpoznających białka osłonki mieliny. Spośród nich na największą uwagę zasługują przeciwciała rozpoznające: MBP, PLP i MOG, białka o dobrze poznanej zdolności do indukcji EAE u gryzoni i naczelnych. Jak do tej pory szczegółowo scharakteryzowano epitopy dla przeciwciał o swoistości anti-MBP [106,113], anti-MOG [16,38,64] i anti-OSP [18].

1. Przeciwciała o swoistości anti-MBP

Zasadowe białko mieliny (MBP) jest umiejscowione w cytoplazmie oligodendrocytów i stanowi około 30% białek osłonki mieliny ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego [19]. MBP może występować w postaci czterech głównych izoform (21,5, 20,2, 18,5, 17,3 kDa) powstających w wyniku odmiennego składowania RNA [83]. Postać o masie 21,5 kDa kodowana jest przez gen zawierający 7 eksonów i pojawia się w procesie tworzenia się mieliny, podczas rozwoju płodowego i remielinizacji [71]. Postać klasyczna (18,5 kDa) powstaje w wyniku delekcji eksonu 2 i jest charakterystyczna dla dojrzałej mieliny. Łańcuch polipeptydowy klasycznej postaci ludzkiego MBP składa się ze 180 reszt aminokwasowych, w tym wielu o zasadowym charakterze (12 Lys, 19 Arg). Niektóre reszty argininy mogą ulegać potranslacyjnej modyfikacji – enzymatycznej deiminacji do cytruliny, co prowadzi do powstania mikroheterogenności cząsteczek MBP (izomery C1–C8, różniące się ładunkiem elektrycznym) [110]. Dotychczas nie uzyskano struktury krystalicznej MBP, lecz na podstawie trójwymiarowej rekonstrukcji obrazów w mikroskopii elektronowej zaproponowano, że MBP jest elastyczną cząsteczką w kształcie litery C, której trzon stanowi struktura β -kartki [80,81]. Uważa się, że cząsteczka MBP łącząc w cytoplazmie, oddziałuje z dwiema przeciwnymi

mi błonami lipidowymi „spinając” je ze sobą, i tym samym stabilizuje i upakuje warstwy osłonki mieliny. Stwierdzono, że za oddziaływanie z dwuwarstwą lipidową odpowiedzialny jest region cząsteczki MBP obejmujący reszty aminokwasowe 85-96 (82-93 u myszy), tworzący amfipatyczną α -helisę, która „zanurza” się w błonie [8,9]. Przypuszcza się, że reszta Lys91 odgrywa główną rolę w interakcji z fosfolipidami. Wykazano, że łańduzek cząsteczki jest czynnikiem decydującym o umiejscowieniu MBP i zdolności do interakcji z lipidami [8,110]. Izomer C1 (19Arg), o najbardziej kationowym charakterze, wykazuje dużą zdolność do agregacji i porządkowania warstwy lipidowej, i jest umiejscowiony wewnątrz warstw osłonki mieliny (major dense line). Izomer C8 (13Arg), w którym 6 reszt argininy zastąpionych jest przez cytrulinę, ma największą ruchliwość w błonie lipidowej i został zlokalizowany w przestrzeni między warstwami osłonki mieliny (intraperiod dense line). Wyniki te mogą tłumaczyć, jak białko cytoplazmatyczne – jakim jest MBP, może przenikać przez błonę lipidową, co sprawia, że staje się podatne na atak proteolityczny, potranslacyjne modyfikacje oraz rozpoznanie przez układ immunologiczny.

Okazało się, że w mielinie pacjentów z SM udział cytrulinowanej postaci MBP (izomer C8) wynosi około 45% całkowitego MBP, w porównaniu do 20% w prawidłowej mielinie [68]. Przyczyna ani mechanizm zwiększonej obecności cytrulinowanej postaci MBP w SM nie są znane. Jedną z koncepcji zakłada, że u osób chorych na SM mielina jest zatrzymana w rozwoju, inaczej „niedojrzała” [68]. Stwierdzono bowiem, że przewaga postaci cytrulinowej MBP jest charakterystyczna dla rozwijającej się osłonki mieliny u dzieci poniżej 6 roku życia. Koncepcja „niedojrzałej mieliny” jest niezwykle interesująca, lecz wymaga potwierdzenia. Jest możliwe, że zwiększony udział cytrulinowanej postaci MBP u pacjentów z SM jest efektem wtórnym, związanym z ciągłym procesem remielinacji, wywołanym destrukcją mieliny.

Obecność autoprzeciwciał rozpoznających MBP stwierdza się w CSF 90–95% pacjentów z aktywnym SM [104]. Z przeprowadzonych na dużą skalę badań porównawczych wynika, że przeciwciała te są ściśle związane z chorobą, ponieważ w CSF grupy kontrolnej obejmującej pacjentów z innymi chorobami neurologicznymi nie zidentyfikowano przeciwciał o swoistości anti-MBP [107]. Również w surowicy osób chorych na SM stwierdza się obecność przeciwciał anti-MBP, chociaż wyniki te nie są jednoznaczne i w dużym stopniu zależą od techniki użytej do ich detekcji [73,88]. Rozbieżności te można wytłumaczyć m.in. niskim powinowactwem przeciwciał rozpoznających MBP [73]. Szczegółowo scharakteryzowano epitopy dla oczyszczonych przez chromatografię powinowactwa, wolnych i związanych przeciwciał pochodzących z CSF i tkanki mózgowej chorych na SM [106]. Metodą RIA na stałym nośniku, w wyniku hamowania wiązania do MBP przez syntetyczne peptydy, zidentyfikowano liniowy, immunodominujący epitop na cząsteczce MBP rozpoznawany przez wolne i związane przeciwciała. Jest on umiejscowiony pomiędzy dwiema resztami proliny w poz. 86 i 96, w regionie, który – jak wspomniano wcześniej – ma strukturę amfipatycznej α -helisy i jest prawdopodobnie odpowiedzialny za interakcje MBP z błoną lipidową [8,9]. Ustalono, że bezpośredni udział w wiązaniu (epitopie) przeciwciał biorą reszty ami-

nokwasowe: 88His-Phe-Phe-Lys-Asp-Ile93, z decydującą rolą reszt Phe89 i Phe90 oraz Lys91 [113]. Jak wykazano wcześniej, ta sama 10-aminokwasowa sekwencja jest również rozpoznawana przez autoreaktywne limfocyty T, pochodzące od pacjentów z SM o haplotypie HLA DR2a i 2b [99,111]. W przypadku epitopu dla limfocytów T główną rolę odgrywają reszty Phe89 i Lys91, natomiast Phe 90 stanowi resztę wiążącą się do MHC i może być zastąpiona innymi resztami o hydrofobowym charakterze. Sekwencje aminokwasowe homologiczne do zidentyfikowanego epitopu zostały znalezione w wielu białkach pochodzenia bakteryjnego i wirusowego [113]. Stwierdzono najsilniejsze wiązanie przeciwciał anti-MBP do peptydu pochodzącego z białka L2 otoczki ludzkiego wirusa *Papilloma*. Sugeruje to, że krzyżowa reaktywność z powszechnie występującymi czynnikami infekcyjnymi jest jednym z prawdopodobnych mechanizmów patogenezы SM [112].

Nie jest wiadomo, czy autoprzeciwciała skierowane przeciwko MBP mają znaczenie w powstaniu choroby, czy są jedynie wynikiem pierwotnej destrukcji mieliny, zapoczątkowanej działaniem innych czynników. Ponieważ ich obecność wydaje się ściśle związana z aktywną fazą choroby, sugeruje się, że mogą one mieć wartość prognostyczną [10]. Stwierdzono bowiem, że pojawienie się przeciwciał anti-MBP oraz anti-MOG w surowicy pacjentów z pierwszymi, izolowanymi objawami choroby, wyprzedza i wskazuje na rozwój klinicznie zdefiniowanego SM.

2. Przeciwciała o swoistości anti-PLP

Lipofilina (PLP) jest integralnym białkiem błonowym oligodendrocytów i stanowi około 50% białek osłonki mieliny o.u.n. [95]. Występują dwie główne izoformy PLP: forma klasyczna (26 kDa) oraz forma DM20 (23,5 kDa), kodowane przez jeden gen składający się z 7 eksonów i powstające w wyniku alternatywnego składowania RNA [27,52,69]. Łańcuch polipeptydowy ludzkiego PLP składa się z 277 reszt aminokwasowych, tworzących 4 hydrofobowe domeny transbłonowe oraz 5 zewnątrzbłonowych regionów hydrofilowych [95]. Izoforma DM20 powstaje w wyniku delekcji 35 r.a. (116-150) znajdujących się w obrębie jednego z hydrofilowych regionów, który jest kodowany przez ekson 3 [69]. Cechą charakterystyczną obu białek jest potranslacyjna acylacja reszt cysteiny, długołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi, z utworzeniem wiązań tioesterowych. Stwierdzono, że 6 reszt cysteiny może ulegać modyfikacji, przy czym Cys108 jest głównym miejscem acylacji [108]. Wykazano, że palmitylacja PLP zwiększa odpowiadź komórkową i humoralną oraz zdolność do indukcji EAE [36]. Zarówno PLP jak i DM20 biorą udział w powstawaniu i utrzymywaniu warstwowej, upakowanej struktury mieliny. U myszy pozbawionych genu dla PLP/DM20 występują zaburzenia w tworzeniu osłonki mieliny wokół aksonów, przejawiające się występowaniem luźnej, nieregularnej osłonki lub jej brakiem [13].

Badania dotyczące odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko PLP, koncentrują się głównie na charakterystyce epitopów rozpoznawanych przez limfocyty T. W obrębie łańcucha polipeptydowego PLP znaleziono immunodominujące sekwencje aminokwasowe rozpoznawane przez autoreaktywne limfocyty T, pochodzące z krwi obwodowej osób chorych na SM i zdrowych.

Wszystkie zidentyfikowane epitopy T były zlokalizowane w zewnętrznych hydrofilowych regionach cząsteczki PLP i obejmowały m.in. reszty aminokwasowe: 30-49 i 180-199 [59] oraz 40-60, 95-117, 185-206 [97]. Rozpoznawane sekwencje różniły się między poszczególnymi pacjentami. Stwierdzono ponadto, że w miarę rozwoju choroby obserwuje się stopniowy zanik pierwotnej odpowiedzi skierowanej przeciwko tym immunodominującym epitopom na rzecz nowych epitopów kryptycznych (zjawisko „epitope spreading”). Jest to najprawdopodobniej wynikiem wtórnej odpowiedzi związanej z postępującą degradacją mieliny [59,98]. Najnowsze wyniki z wykorzystaniem myszy transgenicznymi z ekspresją antygenów HLA klasy II (DR2, DR3, DR4, DQ6 i DQ8) – związanych ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na SM u ludzi, umożliwiły charakterystykę immunodominujących sekwencji w łańcuchu polipeptydowym PLP, rozpoznawanych przez limfocyty T w kontekście poszczególnych MHC [58]. Stosując immunizację myszy 20-aminokwasowymi peptydami, pokrywającymi pełną sekwencję PLP, zidentyfikowano epitopy uniwersalne, a także charakterystyczne dla poszczególnych haplotypów. Wśród sekwencji uniwersalnych znalazły się peptydy zawierające reszty aminokwasowe: 41-60, 91-110, 178-197, 208-227, zlokalizowane wyłącznie w zewnętrznych regionach cząsteczki PLP i rozpoznawane, jak wspomniano wcześniej, u pacjentów z SM i osób zdrowych. Peptyd zawierający r.a. 139-155, który stanowi immunodominujący i encefalogeny epitop u myszy [79], miał natomiast mniejsze znaczenie i był rozpoznawany jedynie w kontekście antygenów DQ6 i DQ8. Wyniki te uporządkowały i wyjaśniły dotychczasowe informacje dotyczące rozpoznawanych epitopów T, wiążąc je bezpośrednio z haplotypem osoby badanej.

Jak już wspomniano, większość badań obejmujących PLP dotyczy limfocytów T. Nieliczne prace wykazują obecność w surowicy lub CSF osób chorych i zdrowych, komórek wytwarzających przeciwciała lub przeciwciał rozpoznających PLP [91,96]. Istnieją sugestie, że przeciwciała o swoistości anty-PLP nie występują jednocześnie z przeciwciałami anty-MBP u jednego pacjenta, co może wskazywać na istnienie przynajmniej dwóch postaci SM [105]. W przeciwieństwie do przeciwciał anty-MBP swoistość przeciwciał anty-PLP nie została dotychczas scharakteryzowana i nie jest wiadomo, czy jest ona zgodna ze swoistością autoreaktywnych limfocytów T.

3. Przeciwciała o swoistości anty-MOG

W odróżnieniu od MBP i PLP, które są głównymi białkami strukturalnymi osłonki mielinowej, **glikoproteina oligodendrocytów** (MOG) stanowi tylko 0,01–0,05% białek mieliny i występuje wyłącznie w o.u.n. [1]. MOG jest integralnym białkiem błony komórkowej oligodendrocytów, umiejscowionym jedynie w zewnętrznej warstwie osłonki mielinowej, co czyni go idealnym celem ataku immunologicznego.

Łańcuch polipeptydowy ludzkiego MOG składa się z 218 r.a. i jest kodowany przez gen złożony z 8 eksonów [41]. Istnieje kilka izoform ludzkiego MOG, wynikających z alternatywnego składowania RNA. Analiza sekwencji aminokwasowej wykazała, że w łańcuchu polipeptydowym MOG można wyróżnić zewnętrzną, N-końcową domenę immu-

noglobulinową (r.a. 1-121) oraz dwie domeny hydrofobowe obejmujące r.a. 122-150 i 174-200 [42,51]. Przypuszcza się, że jedynie pierwsza domena hydrofobowa przebija błonę komórkową, natomiast druga (zlokalizowana bliżej C-końca) oddziałuje z warstwą lipidową od strony cytoplazmatycznej. Z resztą Asn31 łańcucha polipeptydowego MOG (o masie 25 kDa) związany jest N-glikozydowy łańcuch cukrowy [74]. Otrzymano strukturę krystaliczną zewnętrznej domeny immunoglobulinowej MOG [16,21]. Przyjmuje ona typową dla domeny zmiennej immunoglobulin strukturę „kanapki”, składającej się z dwóch naprzeciwległych β -kardek. Zlokalizowano sekwencje aminokwasowe odpowiedzialne za tworzenie homodimerów między cząsteczkami MOG, wiązanie składnika C1q komplementu (r.a. 64-68) oraz wyeksponowane do środowiska regiony cząsteczki decydujące o jej antygenowości. Funkcjonalne znaczenie MOG nie jest znane. Na podstawie lokalizacji i struktury typowej dla rodziny białek immunoglobulinowych, o dobrze poznanej funkcji adhezyjnej i receptorowej, można jednak przypuszczać, że również i MOG pełni rolę receptora/adhezyny w o.u.n. Dodatkowo, ze względu na wysoką międzygatunkową homologię sekwencji aminokwasowej C-końcowej domeny cytoplazmatycznej, sugeruje się udział MOG w oddziaływaniach z cytoszkieletem lub nawet przekazywaniu sygnału [51].

MOG jest jedynym antygenem zdolnym do jednoczesnej indukcji odpowiedzi komórkowej i humoralnej w przebiegu EAE u gryzoni [12,86] i naczelnych (*C. jacchus*) [31]. Wykazano, że obecność przeciwciał o swoistości anty-MOG jest bezpośrednio związana z procesem demielinizacji [20,32,86]. Stwierdzono, że pasywny transfer przeciwciał o swoistości anty-MOG u gryzoni [86] i naczelnych [31], z EAE pierwotnie indukowanym z użyciem MBP, prowadzi do zaostrzenia objawów chorobowych i zmiany charakteru zmian z zapalnych na demielinizacyjne. Ustalono, że przeciwciała anty-MOG mogą brać udział w destrukcji mieliny w wyniku aktywacji komplementu oraz komórek cytotoksycznych [15,67].

Przeciwciała rozpoznające MOG zostały znalezione w ogniskach demielinizacyjnych, CSF oraz surowicy chorych na SM [32,38,46]. Stosując wiązanie do syntetycznych peptydów metodą ELISA, stwierdzono znaczną różnorodność epitopów rozpoznawanych przez autoprzeciwciała obecne w surowicy pacjentów z SM, a także u osób zdrowych. Rozpoznawane sekwencje koncentrowały się głównie w 2 regionach domeny immunoglobulinowej MOG, obejmujących r.a. 1-26 oraz 63-87 [32,38] i częściowo pokrywały się z epitopami dla limfocytów T, rozpoznających sekwencje r.a.: 1-22, 34-56 i 64-96 [47,50]. Szczegółowa charakterystyka epitopów dla limfocytów T i B została przeprowadzona u naczelnych. Podobnie, jak u pacjentów z SM, u *Callithrix jacchus* immunizowanych ludzką mielina, stwierdzono znaczną różnorodność rozpoznawanych sekwencji zlokalizowanych w obrębie zewnętrznej domeny MOG. Przeciwciała anty-MOG rozpoznawały epitopy umiejscowione w dwóch regionach obejmujących r.a. 4-40 i 44-76, natomiast peptyd zawierający r.a. 14-36 okazał się immunodominujący w przypadku limfocytów T [17]. Podobnie, u *Rhesus monkeys* immunizowanych ludzkim rekombinacyjnym MOG, znaleziono autoprzeciwciała reagujące z peptydami zawierającymi r.a.: 4-26, 24-46 i 44-66/54-76 oraz limfocyty T rozpoznające głównie

sekwencje aminokwasowe: 4-20, 35-50 i 94-116 [48]. Niedawno również u *C. jacchus* immunizowanych szczurzą, rekombinacyjną domeną immunoglobulinową MOG (r.a. 1-125), scharakteryzowano dwa immunodominujące epitopy dla limfocytów B obejmujące r.a.: 13ArgAlaLeuValGlyAspGluAlaGlu21 i 65TyrArgGlyArgThrGluLeuLeuLysGluSer75 oraz immunodominujący epitop dla limfocytów T, zawierający r.a. 28ProGlyLysAsnAlaThrGlyMetGluVal37 [64]. Jak można zauważyć, zidentyfikowane u naczelnych epitopy dla limfocytów T i B zgadzały się z epitopami znalezionymi u pacjentów z SM. Podobnie jak u ludzi, mniejsze znaczenie miała sekwencja r.a. 35-55, stanowiąca immunodominujący epitop dla limfocytów T u gryzoni [87]. Nie wiadomo, czy autoprzeciwciała rozpoznające wymienione liniowe epitopy na cząsteczce MOG biorą bezpośredni udział w procesie demielinizacji. Na modelu EAE u gryzoni i naczelnych wykazano bowiem, że jedynie przeciwciała anti-MOG, które rozpoznają epitopy konformacyjne są odpowiedzialne za tworzenie typowych dla SM rozsianych ognisk demielinizacyjnych oraz do aktywacji komplementu [15,20,61,67,101]. Otrzymana ostatnio struktura krystaliczna kompleksu domeny immunoglobulinowej MOG z mysim przeciwciałem monoklonalnym (MoAb) 8-18C5 [86], o własnościach demielinizacyjnych, potwierdziła te wyniki. Stwierdzono, że przeciwciała to rozpoznaje konformacyjny epitop obejmujący N-koniec i 3 najbardziej wysunięte na zewnątrz obszary cząsteczki MOG, przy czym największy udział w wiązaniu (65%) miała liniowa sekwencja r.a. 101AspHisSerTyrGlnGluGlu108 [16]. Wykazano również, że regiony cząsteczki zawierające immunodominujące epitopy T i B, zidentyfikowane u pacjentów z SM, są wyeksponowane do środowiska, a więc dostępne dla ataku immunologicznego. Poszukiwanie sekwencji homologicznych, do sekwencji rozpoznawanej w kompleksie MoAb/MOG, zaowocowało identyfikacją peptydu pochodzącego z białka CT863 *Chlamydia trachomatis*. Sekwencja ta występuje również u *Chlamydia pneumoniae*, organizmu od dawna związanego z patogenezą SM [93]. Jak dotąd, jest to jedyny poznany epitop konformacyjny na cząsteczce MOG. Ostatnio wykazano, że autoprzeciwciała o swoistości anti-MOG, pochodzące z CSF i surowicy pacjentów z SM, krzyżowo reagują z N-końcową immunoglobulinową domeną (r.a. 76-100) butyryfiliny, białka mleka krowiego [37].

4. Inne białka mieliny i oligodendrocytów jako autoantygeny w SM

Białko **MOBP** sklonowano ze szczurzego rdzenia kręgowego, jako białko występujące w dużej ilości w cytoplazmie oligodendrocytów [115]. Poziom mRNA dla MOBP był tylko nieco niższy niż dla MBP i PLP. Znaleziono dwie izoformy ludzkiego MOBP wynikające z alternatywnego składania RNA, różniące się długością łańcucha polipeptydowego (odpowiednio 71 i 170 r.a.). Analiza sekwencji aminokwasowej wykazała, że MOBP jest małym, rozpuszczalnym białkiem o zasadowym charakterze zlokalizowanym w upakowanej mielinie, w czym przypomina MBP. Występuje jednak wyłącznie w o.u.n. Przypuszcza się, że pełni ono podobną do MBP funkcję, stabilizując strukturę osłonki mieliny.

Stwierdzono, że MOBP może indukować EAE u myszy i scharakteryzowano encefalogeny epitop dla limfocytów T obejmujący r.a. 37-65 [43]. Wykazano obecność limfocytów T rozpoznających MOBP u pacjentów z SM.

Odpowiedź była skierowana głównie przeciwko peptydom zawierającym r.a. 1-19 i 21-39 [43]. Ostatnio potwierdzono również immunogenność sekwencji r.a. 1-23, 15-36 oraz 65-87 rozpoznawanych przez limfocyty T, pochodzące od pacjentów z SM i osób zdrowych. Zidentyfikowano również drugi, pokrywający się z ludzkim, encefalogeny epitop T u myszy obejmujący r.a. 15-36 [47]. Jak na razie, nie ma informacji na temat humoralnej odpowiedzi skierowanej przeciwko MOBP.

Białko **OSP** występuje w mielinie o.u.n. i stanowi około 7% białek osłonki mieliny. Jest to hydrofobowe, integralne białko błony oligodendrocytów o długości 207 r.a., mające przypuszczalnie 4 domeny transbłonowe [94]. Wykazano, że OSP indukuje EAE u myszy i scharakteryzowano immunogenne i encefalogenne epitopy T na cząsteczce OSP. Szczególnie efektywny w indukcji EAE okazał się peptyd zawierający r.a. 52-71 [66,94]. Limfocyty T rozpoznające OSP zostały znalezione u pacjentów z SM i osób zdrowych [102]. U 80% badanych osób chorych na SM, metodą ELISA, w CSF zidentyfikowano przeciwciała o swoistości anti-OSP, rozpoznające immunodominujący epitop obejmujący r.a. 114-120 [18]. Sekwencja ta jest homologiczna do wielu białek pochodzących od powszechnych patogenów.

Glikoproteina **MAG** należy, podobnie jak MOG, do rodziny immunoglobulinowej i jest transbłonowym białkiem oligodendrocytów. Stanowi mniej niż 1% białek osłonki mieliny i jest umiejscowiona wyłącznie od strony aksonu [89]. Łańcuch polipeptydowy MAG może występować w dwóch izoformach: L-MAG (72 kDa) i S-MAG (67 kDa), zawierających odpowiednio 626 i 582 r.a. [85]. Zewnętrzna część cząsteczki MAG składa się z 5 domen immunoglobulinowych i jest silnie glikozylowana. MAG jest lektyną wiążącą glikokoniuagaty zawierające kwas sialowy (głównie gangliozyd) i pełni funkcję adhezyny w oddziaływaniach mielina-neuron [89].

Wykazano, że sekwencja r.a. 97-112 MAG stanowi encefalogeny epitop T u myszy [66]. Obecność limfocytów T i B rozpoznających MAG została stwierdzona we krwi i CSF pacjentów z SM [3, 5]. Metodą ELISPOT wykazano, że głównie dwa peptydy zawierające r.a. 596-612 oraz 609-626 MAG są rozpoznawane przez komórki B i T. Peptydy te były jednak rozpoznawane również u chorych na polineuropatię, co świadczy, że nie są to epitopy charakterystyczne dla SM [3].

Fosfodiesteraza nukleotydowa (CNP), która hydrolizuje 2', 3' cykliczne nukleotydy, jest ekspresjonowana w oligodendrocytach, a także w limfocytach i siatkówce, stanowi 3–4% białek mieliny ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego [87]. Stwierdzono, że CNP jest białkiem umiejscowionym w cytoplazmie oligodendrocytów, głównie w wewnętrznej warstwie osłonki mieliny, od strony aksonu. Występują dwie izoformy CNPI (46 kDa) oraz CNPII (48 kDa), powstające w wyniku alternatywnego składania RNA. Łańcuch polipeptydowy izoformy CNPII (421 r.a.) ma 20 dodatkowych aminokwasów na N-końcu [11].

Przeciwciała rozpoznające CNPI zostały nieoczekiwanie znalezione metodą blotingu w surowicy i CSF u 74% bada-

nych pacjentów z SM. Stwierdzono, że stanowiły one główny składnik frakcji immunoglobulin [103]. Wykazano, że obie izoformy CNP wiążą składnik C3 komplementu, co może przypuszczalnie odgrywać rolę w procesie demielinizacji. Znalezione również limfocyty T, pochodzące od pacjenta z SM i osoby zdrowej, rozpoznające rekombinacyjną postać ludzkiego CNP [82]. Dotąd nie udało się scharakteryzować immunodominujących epitopów T i B u pacjentów z SM. Zidentyfikowano natomiast immunodominujące epitopy na cząsteczce CNP u myszy, lecz żaden z nich nie indukował EAE [66].

Transaldolaza (TAL), enzym szlaku pentozofosforanowego, jest ekspresjonowana w oligodendrocytach. Stosując monoklonalne przeciwciała wykazano, że TAL jest zlokalizowana w osłonce mielinowej [6]. Enzym ten, poprzez biosyntezę NADPH, bierze pośredni udział w redukcji glutationu, który jest odpowiedzialny za eliminację wolnych rodników i ochronę komórek.

W surowicy i CSF znacznej liczby badanych pacjentów z SM, znaleziono – metodą blotingu – autoprzeciwciała rozpoznające rekombinacyjną postać ludzkiego TAL. Zidentyfikowano również limfocyty T reagujące z TAL [6,22]. Ze względu na homologię sekwencji aminokwasowej TAL z białkami ludzkich retrowirusów, sugeruje się udział krzyżowej reaktywności w indukcji odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko TAL i patogenezie SM [6].

PODSUMOWANIE

Mimo rosnącej wiedzy o czynnikach biorących udział w patogenezie SM, pytanie o przypuszczalny antygen odpowiedzialny za zapoczątkowanie procesu odpowiedzi autoimmunologicznej, pozostaje nadal otwarte. Identyfikacja tak wielu potencjalnych autoantygenów nie tylko nie wyjaśniła problemu, ale wręcz dowiodła złożoności procesu chorobowego SM. Wiele przesłanek, w tym głównie indywidualny przebieg choroby, może sugerować, że nie istnieje uniwersalny antygen, lecz jedynie wspólny mechanizm rozwoju choroby, zapoczątkowanej przez różne autoantygeny, u różnych osób. Obecnie proponowana koncepcja zakłada, że pierwszym etapem choroby jest infiltracja do o.u.n. zaktwowanych na obwodzie komórek cytotoksycznych, skierowanych przeciwko białkom mieliny. Wydaje się, że proces aktywacji limfocytów T ma tutaj decydujące znaczenie [72]. Wszystkie wyniki doświadczalne dowodzą bowiem, że limfocyty T rozpoznające antygeny własne są obecne również u osób zdrowych. Sugeruje się zatem, że u osób podatnych genetycznie może dochodzić do aktywacji autoreaktywnych klonów komórek T, w oparciu o mechanizm krzyżowej reaktywności lub inaczej „molekularnej mimikry”, w wyniku infekcji organizmu patogenem (wirusowym lub bakteryjnym) [114]. Koncepcja infekcyjnego podłoża SM ma swoje uzasadnienie epidemiologiczne. Niedawno ukazały się prace potwierdzające wcześniejsze sugestie przypuszczalnego udziału retrowirusa MSRv (multiple sclerosis related virus) w patogenezie SM [75,117]. Rozważa się przy tym możliwość bezpośredniej aktywacji komórek cytotoksycznych lub aktywacji jako efektu ubocznego infekcji („bystander activation”) i wytwarzania prozapalnych cytokin.

Jeśli przyjmiemy, że zjawisko „molekularnej mimikry” jest odpowiedzialne za zapoczątkowanie procesu chorobowe-

go w SM, stanie się zrozumiałe, jak ważne dla identyfikacji potencjalnych czynników infekcyjnych, jest poznanie epitopów rozpoznawanych przez komórki T i B, które jak wykazały badania pokrywają się wzajemnie. W oparciu o znajomość immunodominującego epitopu B i T, na cząsteczce MBP (r.a. 86-96), znaleziono wiele peptydów wirusowych i bakteryjnych zdolnych do aktywacji komórek T pochodzących od pacjentów z SM [40,114]. Wykazano przy tym, że sekwencja aminokwasowa tych peptydów nie musi być identyczna z poznanym epitopem, a ponadto, że epitop ten nie jest najefektywniejszy w aktywacji wybranego klonu limfocytów T. Dopuszczalna jest znaczna tolerancja wobec sekwencji rozpoznawanych przez receptor antygenowy limfocytów T (T cell receptor – TCR) i nawet peptydy niemające żadnej wspólnej r.a. z immunodominującym epitopem na MBP, były zdolne do aktywacji badanych klonów komórek T [40,60]. Doświadczenia te dowiodły, że wobec dużej liczby peptydów rozpoznawanych przez wybrany TCR, zjawisko krzyżowej reaktywności może być powszechne, a jej udział w rozwoju SM – wysoce prawdopodobny. Potwierdzeniem przypuszczalnego udziału zjawiska „molekularnej mimikry” w patogenezie SM są prace wykazujące, że peptydy pochodzące z wirusa *Hepatitis B* [30] i *Chlamydia pneumoniae* [54], które są rozpoznawane przez limfocyty T i przeciwciała o swoistości anti-MBP, są encefalogenne u gryzoni.

Charakterystyczną cechą SM jest obecność rozsianych ognisk demielinizacyjnych głównie w mózgu, nerwach wzrokowych i rdzeniu kręgowym. Z omówionych wyników doświadczalnych wynika, że główną rolę w procesie demielinizacji, przynajmniej u znacznej części pacjentów, mogą odgrywać przeciwciała rozpoznające MOG [61,101]. Udowodniono, że przeciwciała o swoistości anti-MOG biorą udział w destrukcji mieliny u gryzoni i naczelnych oraz występują w ogniskach demielinizacyjnych pacjentów z SM. Stwierdzono, że przeciwciała te mają zdolność aktywacji komplementu i komórek cytotoksycznych. Wykazano ponadto, że własności demielinizacyjne mają tylko przeciwciała rozpoznające konformacyjne epitopy na cząsteczce MOG. Nie wiadomo, czy autoprzeciwciała skierowane przeciwko innemu białkom mieliny, a w szczególności MBP i PLP, biorą bezpośredni udział w procesie demielinizacji, czy też jest to unikalna cecha przeciwciał rozpoznających MOG.

Identyfikacja epitopów stanowiących cel ataku immunologicznego w SM ma znaczenie nie tylko dla wyjaśnienia mechanizmu choroby, lecz również ze względu na ich potencjalne wykorzystanie w terapii antygenowej. Od dawna podejmuje się próby polegające na hamowaniu rozwoju EAE u zwierząt doświadczalnych, przez podawanie autoantygenów lub peptydów zawierających poznane epitopy dla limfocytów T i B [39]. Szczególnie obiecujące wydaje się zastosowanie białek hybrydowych, zawierających więcej niż jeden autoantigen, takich jak MP4, które jest złożone z MBP (izoformy 21,5 kDa) i 3 wybranych immunodominujących regionów PLP [28]. Białko to okazało się nietoksyczne i skuteczne w hamowaniu rozwoju EAE zarówno u gryzoni [28], jak i naczelnych [63]. Jeszcze dalej idącym pomysłem było otrzymanie syntetycznego białka składającego się z 142 r.a., które zawierało znane immunodominujące i encefalogenne epitopy na cząsteczkach: MBP, PLP i MOG [118]. Wykazano skuteczność tego biał-

ka w hamowaniu rozwoju EAE, indukowanego PLP u myszy. Wydaje się, że taka wieloantygenowa lub wieloepitopowa terapia budzi największe nadzieje i może okazać się skuteczna również u ludzi, jak sugerują badania na naczelnych (*C. jacchus*) [63]. Przewaga jednoczesnego zastosowania kilku antygenów wynika przede wszystkim z tego, że SM w chwili diagnozy jest już zazwyczaj długo trwającą chorobą i jak pokazują badania odpowiedź autoimmunologiczna jest złożona i skierowana przeciwko wielu białkom mieliny. Stwierdzono ponadto, że odpowiedź na poszczególne antygeny (epitopy) jest ze sobą ściśle związana i zmienia się w czasie. Obserwuje się nie tylko pojawianie reaktywności z nowymi epitopami, w obrębie jednego białka („intermolecular spreading”), lecz również indukcję odpowiedzi wobec innych białek („intramolecular spreading”). Wykazano, że u naczelnych z EAE indukowanym chimerą MBP/PLP, obserwuje się pojawienie przeciwciał o swoistości anti-MOG [62].

Wobec tak złożonej sytuacji, trudno jest oczekiwać sukcesów w terapii antygenowej SM. Od ponad 10 lat stosuje się u chorych na SM – kopolimer 1, który jest mieszaniną przypadkowych polipeptydów zawierających: L-Tyr,

L-Glu, L-Ala, L-Lys. Reszty te zostały wybrane, jako najczęściej występujące w immunodominujących epitopach [45]. Niestety efektywność działania kopolimeru 1 okazała się niezadawalająca. Obiecujące wydawało się natomiast zastosowanie do indukcji tolerancji, alternatywnych peptydów (alternative peptide ligands – APL) zawierających immunodominujące epitopy T, w których zmienione zostały r.a. odpowiedzialne za kontakt z TCR. Najnowsze próby kliniczne na pacjentach z SM, z wykorzystaniem APL zawierającego zmieniony, w zakresie dwóch reszt aminokwasowych, immunodominujący epiteton na MBP (r.a. 83-99), dowiodły ograniczonego znaczenia tego rodzaju terapii [60]. Próby te zostały przerwane z powodu zaostrzenia choroby u części pacjentów, wynikającego prawdopodobnie z indukcji krzyżowej reaktywności wobec podawanego APL. Należy jednak mieć nadzieję, że postępy w zakresie badań podstawowych pozwolą w niedługim czasie na indywidualną charakterystykę odpowiedzi immunologicznej, która będzie obejmować poznanie swoistości limfocytów T i B u poszczególnych pacjentów. Z pewnością, przyczyni się to do podniesienia trafności diagnozy, a w konsekwencji również i efektywności terapii SM.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Amiguet P., Gardinier M.V., Zanetta J.P., Matthieu J.M.: Purification and partial structural and functional characterization of mouse myelin/oligodendrocyte glycoprotein. *J. Neurochem.*, 1992; 58: 1676–1682
- [2] Anderson M., Alvarez-Cermeno J., Bernardi G.: Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1994; 57: 897–902
- [3] Andersson M., Yu M., Soderstrom M., Weerth S., Baig S., Solders G., Link H.: Multiple MAG peptides are recognized by circulating T and B lymphocytes in polyneuropathy and multiple sclerosis. *Eur. J. Neurol.*, 2002; 9: 243–251
- [4] Archelos J.J., Trotter J., Previtali S., Weissbrich B., Toyka K.V., Hartung H.P.: Isolation and characterization of an oligodendrocyte precursor-derived B-cell epitope in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 1998; 43: 15–24
- [5] Baig S., Olsson T., Yu-Ping J., Hojeberg B., Cruz M., Link H.: Multiple sclerosis: cells secreting antibodies against myelin-associated glycoprotein are present in cerebrospinal fluid. *Scand. J. Immunol.*, 1991; 33: 73–79
- [6] Banki K., Colombo E., Sia F., Halladay D., Mattson D.H., Tatum A.H., Massa P.T., Phillips P.E., Perl A.: Oligodendrocyte-specific expression and autoantigenicity of transaldolase in multiple sclerosis. *J. Exp. Med.*, 1994; 180: 1649–1663
- [7] Baranzini S.E., Jeong M.C., Butunoi C., Murray R.S., Bernard C.C.A., Oksenberg J.R.: B cell repertoire diversity and clonal expansion in multiple sclerosis brain lesions. *J. Immunol.*, 1999; 163: 5133–5144
- [8] Bates I.R., Boggs J.M., Feix J.B., Harauz G.: Membrane-anchoring and charge effects in the interaction of myelin basic protein with lipid bilayers studied by site-directed spin labeling. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 9041–9047
- [9] Bates I.R., Boggs J.M., Feix J.B., Harauz G.: An immunodominant epitope of myelin basic protein is an amphipathic alpha-helix. *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 5757–5764. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 9041–9047
- [10] Berger T., Rubner P., Schautzer F., Egg R., Ulmer H., Mayringer I., Dilitz E., Deisenhammer F., Reindl M.: Antimyelin antibodies as a predictor of clinically definite multiple sclerosis after a first demyelinating event. *New Engl. J. Med.*, 2003; 349: 139–145
- [11] Bernier L., Alvarez F., Norgard E.M., Raible D.W., Mentaberry A., Schembri J.G., Sabatini D.D., Colman D.R.: Molecular cloning of a 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase: mRNAs with different 5' ends encode the same set of proteins in nervous and lymphoid tissues. *J. Neurosci.*, 1987; 7: 2703–2710
- [12] Bischof F., Bins A., Durr M., Zevering Y., Melms A., Kruisbeek A.M.: A structurally available encephalitogenic epitope of myelin oligodendrocyte glycoprotein specifically induces a diversified pathogenic autoimmune response. *J. Immunol.*, 2004; 173: 600–606
- [13] Boison D., Stoffel W.: Disruption of the compacted myelin sheath of axons of the central nervous system in proteolipid protein-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 11709–11713
- [14] Bray P.F., Luka J., Culp K.W., Schlicht J.P.: Antibodies against Epstein-Barr nuclear antigen (EBNA) in multiple sclerosis CSF, and two pentapeptide sequence identifies between EBNA and myelin basic protein. *Neurology*, 1992; 42: 1798–1804
- [15] Brehm U., Piddlesden S.J., Gardinier M.V., Linington C.: Epitope specificity of demyelinating monoclonal autoantibodies directed against the human myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG). *J. Neuroimmunol.*, 1999; 97: 9–15
- [16] Breihaupt C., Schubart A., Zander H., Huber R., Linington C., Jacob U.: Structural insight into the antigenicity of myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100, 9446–9451.
- [17] Brok H.P., Uccelli A., Kerlero De Rosbo N., Bontrop R.E., Roccatagliata L., de Groot N.G., Capello E., Laman J.D., Nicolay K., Mancardi G.L., Ben-Nun A., Hart B.A.: Myelin/oligodendrocyte glycoprotein-induced autoimmune encephalomyelitis in common marmosets: the encephalitogenic T cell epitope pMOG24–36 is presented by a monomorphic MHC class II molecule. *J. Immunol.*, 2000; 165: 1093–1101
- [18] Bronstein J.M., Lallone R.L., Steitz R.S., Ellison G.W., Myers L.W.: A humoral response to oligodendrocyte-specific protein in MS – a potential molecular mimic. *Neurology*, 1999; 53: 154–161
- [19] Brunner C., Lassman H., Waehndt T.V., Mattieu J.M., Linington C.: Differential ultrastructural localization of myelin basic protein, myelin/oligodendroglial glycoprotein, and 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase in the CNS of adult rats. *J. Neurochem.*, 1989; 52: 296–304
- [20] Budingen H.C., Hauser S.L., Fuhrman A., Nabavi C.B., Lee J.I., Genain C.P.: Molecular characterization of antibody specificities against myelin/oligodendrocyte glycoprotein in autoimmune demyelination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 8207–8212
- [21] Clements C.S., Reid H.H., Beddoe T., Tynan F.E., Perugini M.A., Johns T.G., Bernard C.C., Rossjohn J.: The crystal structure of myelin oligodendrocyte glycoprotein, a key autoantigen in multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 11059–11064
- [22] Colombo E., Banki K., Tatum A.H., Daucher J., Ferrante P., Murray R.S., Phillips P.E., Perl A.: Comparative analysis of antibody and cell mediated autoimmunity to transaldolase and myelin basic protein in patients with multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.*, 1997; 99: 1238–1250
- [23] Correale J., Bassani-Molinari M.: Oligoclonal bands and antibody responses in multiple sclerosis. *J. Neurol.*, 2002; 249: 375–389
- [24] Cortese I., Tafi R., Grimaldi L.M.E., Martino G., Nicosia A., Cortese R.: Identification of peptides specific for cerebrospinal fluid antibodies in multiple sclerosis by using phage libraries. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1996; 93: 11063–11067

- [25] Cross A.H., Trotter J.L., Lyons J.-A.: B-cells and antibodies in CNS demyelinating disease. *J. Neuroimmunol.*, 2001; 112: 1–14
- [26] Dharmasaroja P.: Specificity of autoantibodies to epitopes of myelin proteins in multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.* 2003; 206: 7–16
- [27] Diehl H.J., Schaich M., Budzinski R.M., Stoffel W.: Individual exons encode the integral membrane domains of human myelin proteolipid protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 9807–9811
- [28] Elliott E.A., McFarland H.I., Nye S.H., Cofield R., Wilson T.M., Wilkins J.A., Squinto S.P., Matis L.A., Mueller J.P.: Treatment of experimental encephalomyelitis with a novel chimeric fusion protein of myelin basic protein and proteolipid protein. *J. Clin. Invest.* 1996; 98: 1602–1612
- [29] Flegenhauer K., Schadlich H., Nekić M., Ackerman R.: Cerebrospinal fluid virus antibodies. A diagnostic indicator for multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.*, 1985; 71: 292–299
- [30] Fujinami R.S., Oldstone M.B.: Amino acid homology between the encephalitogenic site of myelin basic protein and virus: mechanism for autoimmunity. *Science*, 1985; 230: 1043–1045
- [31] Genain C.P., Nguyen M.P., Letvin N.L., Pearl R., Davin R.L., Adelman M., Lees M.B., Linington C., Hauser S.L.: Antibody facilitation of multiple sclerosis-like lesions in nonhuman primate. *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 2966–2974
- [32] Genain C.P., Cannella B., Hauser S.L., Raine C.S.: Identification of autoantibodies associated with myelin damage in multiple sclerosis. *Nat. Med.*, 1999; 5: 170–175
- [33] Gerritse K., Deen C., Fasbenderm., Ravid R., Boersma W., Claassen E.: The involvement of specific anti-myelin basic protein antibody-forming cells in multiple sclerosis immunopathology. *J. Neuroimmunol.*, 1994; 49: 153–159
- [34] Geysen H.M., Rodda S.L., Mason T.J., Trbbick G., Schoofs P.G.: Strategies for epitope analysis using peptide synthesis. *J. Immunol. Methods*, 1987; 102: 259
- [35] Gildea D.H., Burgoon M.P., Kleinschmidt-DeMasters B.K., Williamson A., Ghausi O., Burton D.R., Owens G.P.: Molecular immunologic strategies to identify antigens and B-cell responses unique to multiple sclerosis. *Arch. Neurol.*, 2001; 58: 43–48
- [36] Greer J.M., Denis B., Sobel R.A., Trifilieff E.: Thiopalmitoylation of myelin proteolipid protein epitopes enhances immunogenicity and encephalitogenicity. *J. Immunol.*, 2001; 166: 6907–6913
- [37] Guggenmos J., Schubart A.S., Ogg S., Andersson M., Olsson T., Mather I.H., Linington C.: Antibody cross-reactivity between myelin oligodendrocyte glycoprotein and the milk protein butyrophilin in multiple sclerosis. *J. Immunol.*, 2004; 172: 661–668
- [38] Haase C.G., Guggenmos J., Brehm U., Andersson M., Olsson T., Reindl M., Schneidewind J.M., Zettl U.K., Heidenreich F., Berger t., Wekerle H., Hohfeld R., Linington C.: The fine specificity of the myelin oligodendrocyte glycoprotein autoantibody response in patients with multiple sclerosis and normal healthy controls. *J. Neuroimmunol.*, 2001; 114: 220–225
- [39] Harrison L.C., Hafler D.A.: Antigen-specific therapy for autoimmune disease. *Curr. Opin. Immunol.*, 2000; 12: 704–711
- [40] Hemmer B., Fleckenstein B.T., Vergelli M., Jung G., McFarland H., Martin R., Wiesmuller K.H.: Identification of high potency microbial and self ligands for a human autoreactive class II-restricted T cell clone. *J. Exp. Med.*, 1997; 185: 1651–1659
- [41] Hilton A.A., Slavin A.J., Hilton D.J., Bernard C.C.: Characterization of cDNA and genomic clones encoding human myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J. Neurochem.*, 1995; 65: 309–318
- [42] Hjelmstrom P., Penzotti J.E., Henne R.M., Lybrand TP.: A molecular model of myelin oligodendrocyte glycoprotein. *J. Neurochem.*, 1998; 71: 1742–1749
- [43] Holz A., Bielekova B., Martin R., Oldstone M.B.: Myelin-associated oligodendrocytic basic protein: identification of an encephalitogenic epitope and association with multiple sclerosis. *J. Immunol.*, 2000; 164: 1103–1109
- [44] Hughes L.E., Smidth P.A., Bonell S., Natt R.S., Wilson C., Rashid T., Amor S., Thompson E.J., Crocker J., Ebringer A.: Cross-reactivity between related sequences found in *Acinetobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, myelin basic protein and myelin oligodendrocyte glycoprotein in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 2003; 144: 105–115
- [45] Illes Z., Stern J.N., Reddy J., Waldner H., Mycko M.P., Brosnan C.F., Ellmerich S., Altmann D.M.: Santambrogio L., Strominger J.L., Kuchroo V.K. Modified amino acid copolymers suppress myelin basic protein 85-99-induced encephalomyelitis in humanized mice through different effects on T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 11749–11754
- [46] Kennel De March A., De Bouwerie M., Kolopp-Sarda M.N., Faure G.C., Bene M.C., Bernard C.C.: Anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein B-cell responses in multiple sclerosis. *Neuroimmunol.*, 2003; 135: 117–125
- [47] Kerlero de Rosbo N., Hoffman M., Mendel I., Yust I., Kaye J., Bakimer R., Flechter S., Abramsky O., Milo R., Karni A., Ben-Nun A.: Predominance of the autoimmune response to myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) in multiple sclerosis: reactivity to the extracellular domain of MOG is directed against three main regions. *Eur. J. Immunol.*, 1997; 27: 3059–3069
- [48] Kerlero de Rosbo N., Brok H.P., Bauer J., Kaye J.F., 't Hart B.A., Ben-Nun A.: Rhesus monkeys are highly susceptible to experimental autoimmune encephalomyelitis induced by myelin oligodendrocyte glycoprotein: a characterisation of immunodominant T- and B-cell epitopes. *J. Neuroimmunol.*, 2000; 110: 83–96
- [49] Kerlero de Rosbo N., Kaye J.F., Eisenstein M., Mendel I., Hoeflberger R., Lassmann H., Milo R., Ben-Nun A.: The myelin-associated oligodendrocytic basic protein region MOBP15-36 encompasses the immunodominant major encephalitogenic epitope(s) for SJL/J mice and predicted epitope(s) for multiple sclerosis-associated HLA-DRB1*1501. *J. Immunol.*, 2004; 173: 1426–1435
- [50] Koehler N.K., Genain C.P., Giesser B., Hauser S.L. The human T cell response to myelin oligodendrocyte glycoprotein: a multiple sclerosis family-based study. *J. Immunol.*, 2002; 168: 5920–5927
- [51] Kroepfl J.F., Viise L.R., Charron A.J., Linington C., Gardinier M.V. Investigation of myelin/oligodendrocyte glycoprotein membrane topology. *J. Neurochem.*, 1996; 67: 2219–2222
- [52] Kronquist K.E., Crandall B.F., Macklin W.B., Campagnoni A.T.: Expression of myelin proteins in the developing human spinal cord: cloning and sequencing of human proteolipid protein cDNA. *J. Neurosci Res.*, 1987; 18: 395–401
- [53] Lassmann H., Ransohoff R.M.: The CD4-TH1 model for multiple sclerosis: a crucial re-appraisal. *Trends Immunol.*, 2004; 25: 132–137
- [54] Lenz D.C., Lu L., Conant S.B., Wolf N.A., Gerard H.C., Whittum-Hudson J.A., Hudson A.P., Swanborg R.H.: A *Chlamydia pneumoniae* – specific peptide induces experimental autoimmune encephalomyelitis in rats. *J. Immunol.*, 2001; 167: 1803–1808
- [55] Link H., Kostulas V.: Utility of isoelectrofocusing of cerebrospinal fluid and serum on agarose evaluated for neurological patients. *Clin. Chem.*, 1983; 29: 287–298
- [56] Linington C., Engelhardt B., Kapocs G., Lasman H.: Induction of persistently demyelinated lesions in the rat following the repeated adoptive transfer of encephalitogenic T cells and demyelinating antibody. *J. Neuroimmunol.*, 1992; 40: 219–224
- [57] Linington C., Bradl M., Lassman H., Brunner C., Vass K.: Augmentation of demyelination in rat acute allergic encephalomyelitis by circulating mouse monoclonal antibodies directed against a myelin/oligodendrocyte glycoprotein. *Am. J. Pathol.*, 1998; 130: 443–454
- [58] Mangalam A.K., Khare M., Krco C., Rodriguez M., David C.: Identification of T cell epitopes on human proteolipid protein and induction of experimental autoimmune encephalomyelitis in HLA class II-transgenic mice. *Eur. J. Immunol.*, 2004; 34: 280–290
- [59] Markovic-Plese S., Fukaura H., Zhang J., al-Sabbagh A., Southwood S., Sette A., Kuchroo V.K., Hafler D.A.: T cell recognition of immunodominant and cryptic proteolipid protein epitopes in humans. *J. Immunol.*, 1995; 155: 982–992
- [60] Martin R., Gran B., Zhao Y., Markovic-Plese S., Bielekova B., Marques A., Sung M.H., Hemmer B., Simon R., McFarland H.F., Pinnilla C.: Molecular mimicry and antigen-specific T cell responses in multiple sclerosis and chronic CNS Lyme disease. *J. Autoimmun.*, 2001; 16: 187–192
- [61] Mathey E., Breithaupt C., Schubart A.S., Linington C.: Commentary: Sorting the wheat from the chaff: identifying demyelinating components of the myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)-specific autoantibody repertoire. *Eur. J. Immunol.*, 2004; 34: 2065–2071
- [62] McFarland H.I., Lobito A.A., Johnson M.M., Nyswaner J.T., Frank J.A., Palardy G.R., Tresser N., Genain C.P., Mueller J.P., Matis L.A., Lenardo M.J.: Determinant spreading associated with demyelination in a nonhuman primate model of multiple sclerosis. *J. Immunol.*, 1999; 162: 2384–2390
- [63] McFarland H.I., Lobito A.A., Johnson M.M., Palardy G.R., Yee C.S., Jordan E.K., Frank J.A., Tresser N., Genain C.P., Mueller J.P., Matis L.A., Lenardo M.J.: Effective antigen-specific immunotherapy in the marmoset model of multiple sclerosis. *J. Immunol.*, 2001; 166: 2116–2121
- [64] Mesleh M.F., Belmar N., Lu C., Krishnan V.V., Maxwell R.S., Genain C.P., Cosman M.: Marmoset fine B cell and T cell epitope specificities mapped onto homology model of the extracellular domain of human myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Neurobiol. Dis.*, 2002; 9: 160–172

- [65] Metha P.D., Metha S.P., Patrick B.A.: Silver staining of unconcentrated CSF in agarose gel (Panagel) electrophoresis. *Clin. Chem.*, 1984; 30: 735–736
- [66] Morris-Downes M.M., Mc Cormack K., Baker D., Sivaprasad D., Natkunarajah J., Amor S.: Encephalitogenic and immunogenic potential of myelin-associated glycoprotein (MAG), oligodendrocyte-specific glycoprotein (OSP) and 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNPase) in ABH and SJL mice. *J. Neuroimmunol.*, 2002; 122: 20–33
- [67] Morris-Downes M.M., Smith P.A., Rundle J.L., Piddlesden S.J., Baker D., Pham-Dinh D., Heijmans N., Amor S.: Pathological and regulatory effects of anti-myelin antibodies in experimental allergic encephalomyelitis in mice. *J. Neuroimmunol.*, 2002; 125: 114–124
- [68] Moscarello M.A., Wood D.D., Ackerley C., Boulias C.: Myelin in multiple sclerosis is developmentally immature. *J. Clin. Invest.*, 1994; 94: 146–154
- [69] Nave K.A., Lai C., Bloom F.E., Milner R.J.: Splice site selection in the proteolipid protein (PLP) gene transcript and primary structure of the DM-20 protein of central nervous system myelin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987; 84: 5665–5669
- [70] Noseworthy J.H., Lucchinetti C., Rodriguez M., Weinshenker B.G.: Multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 343: 938–952
- [71] Nye S.H., Pelfrey C.M., Burkwit J.J., Voskuhl R., Lenardo M.J., Mueller J.P.: Purification of immunologically active recombinant 21.5 kDa isoform of human myelin basic protein. *Mol. Immunol.*, 1995; 32: 1131–1141
- [72] O'Connor K.C., Bar-Or A., Hafler D.A.: The neuroimmunology of Multiple Sclerosis: possible roles of T and B lymphocytes in immunopathogenesis. *J. Clin. Immunol.*, 2001; 21: 81–92
- [73] O'Connor K.C., Chitnis T., Griffin D.E., Piyasirisilp S., Bar-Or A., Khoury S., Wucherpfennig K.W., Hafler D.A.: Myelin basic protein-reactive autoantibodies in the serum and cerebrospinal fluid of multiple sclerosis patients are characterized by low-affinity interactions. *J. Neuroimmunol.*, 2003; 136: 140–148
- [74] Owens G.P., Kraus H., Burgoon M.P., Smith-Jensen T., Devlin M.E., Gilden D.H.: Restricted use of VH4 germline segments in acute MS brain. *Ann. Neurol.*, 1998; 43: 236–243
- [75] Perron H., Firouzi R., Rolland A., Michel M., Jouvin-Marche E., Hauw J.J., Malcus-Vocanson C., Lazarini F., Gebuhrer L., Seigneurin J.M., Touraine J.L., Sanhadji K., Marche P.N.: Multiple sclerosis-associated retrovirus particles cause T lymphocyte-dependent death with brain hemorrhage in humanized SCID mice model. *J. Neurovirol.*, 2003; 9: 79–93
- [76] Qin Y., Duquette P., Zhang Y., Talbot P., Poole R., Antel J.: Clonal expansion and somatic hypermutation of Vh genes of B cells from cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.*, 1998; 102: 1045–1050
- [77] Raine C.S., Cannella B., Hauser S.L., Genain C.P.: Demyelination in primate autoimmune encephalomyelitis and acute multiple sclerosis lesions: A case for antigen-specific antibody mediation. *Ann. Neurol.*, 1999; 46: 144–160
- [78] Rand K.H., Houck H.: Improved methods for the application of random peptide phage libraries to the study of the oligoclonal bands in cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *J. Neurosci. Meth.*, 2000; 101: 131–139
- [79] Reddy J., Bettelli E., Nicholson L., Waldner H., Jang M.H., Wucherpfennig K.W., Kuchroo V.K.: Detection of autoreactive myelin proteolipid protein 139-151-specific T cells by using MHC II (IAs) tetramers. *J. Immunol.*, 2003; 170: 870–877
- [80] Ridsdale R., Beniac D.R., Tompkins T., Moscarello M.A., Harauz G.: Three-dimensional structure of myelin basic protein. Reconstruction via angular reconstruction of randomly oriented single particles. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 4261–4268
- [81] Ridsdale R., Beniac D.R., Tompkins T., Moscarello M.A., Harauz G.: Three-dimensional structure of Myelin basic protein. Molecular modeling and considerations of predicted structures in multiple sclerosis. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 4269–4275
- [82] Rosener M., Muraro P.A., Riethmuller A., Kalbus M., Sappeler G., Thompson R.J., Lichtenfels R., Sommer N., McFarland H.F., Martin R.: 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase: a novel candidate autoantigen in demyelinating diseases. *J. Neuroimmunol.*, 1997; 75: 28–34
- [83] Roth H.J., Kronquist K.E., Kerlero de Rosbo N., Crandall B.F., Campagnoni A.T.: Evidence for the expression of four myelin basic protein variants in the developing human spinal cord through cDNA cloning. *J. Neurosci. Res.*, 1987; 17: 321–328
- [84] Sandberg-Wollheim M., Vandvik B., Nadj C., Norrby E.: The intrathecal immune response in the early stage of multiple sclerosis. *J. Neurol. Sci.*, 1987; 81: 45–53
- [85] Sato S., Fujita N., Kurihara T., Kuwano R., Sakimura K., Takahashi Y., Miyatake T.: cDNA cloning and amino acid sequence for human myelin-associated glycoprotein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989; 24: 137–142
- [86] Schluesener H.J., Sobel R.A., Linington C., Weiner H.L.: A monoclonal antibody against a myelin oligodendrocyte glycoprotein induces relapses and demyelination in central nervous system autoimmune disease. *J. Immunol.*, 1987; 139: 4016–4021
- [87] Schmidt S.: Candidate autoantigens in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis*, 1999; 5: 147–160
- [88] Schmidt S., Haase C.G., Bezman L., Moser H., Schmidt M., Kohler W., Linington C., Klockgether T.: Serum autoantibody responses to myelin oligodendrocyte glycoprotein and myelin basic protein in X-linked adrenoleukodystrophy and multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 2001; 119: 88–94
- [89] Schmaar R.L., Collins B.E., Wright L.P., Kiso M., Tropak M.B., Roder J.C., Crocker P.R.: Myelin-associated glycoprotein binding to gangliosides. Structural specificity and functional implications. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1998; 845: 92–105
- [90] Sculina C., Schidt S., Dornmair K., Babbe H., Roers A., Rajewsky K., Wekerle H., Hohlfeld R., Goebels N.: Multiple sclerosis: Brain infiltrating CD8+ T cells persist as clonal expansions in the cerebrospinal fluid and blood. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2004; 101: 2428–2433
- [91] Sellebjerg F., Jensen C.V., Christiansen M.: Intrathecal IgG synthesis and autoantibody-secreting cells in multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 2000; 108: 207–215
- [92] Smith-Jensen T., Burgoon M.P., Anthony J., Kraus H., Gilden D.H., Owens G.P.: Comparison of IgG heavy chain sequences in MS and SSPE brains reveals an antigen driven response. *Neurology*, 2000; 54: 1227–1232
- [93] Sriram S., Stratton C.W., Yao S., Tharp A., Ding L., Bannan J.D., Mitchell W.M.: *Chlamydia pneumoniae* infection of the central nervous system in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 1999; 46: 6–14
- [94] Stevens D.B., Chen K., Seitz R.S., Sercarz E.E., Bronstein J. M.: Oligodendrocyte-specific protein peptides induce experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL/J mice. *J. Immunol.*, 1999; 162: 7501–7509
- [95] Stoffel W., Hollen H., Giersiefen H.: Structure and molecular arrangement of proteolipid protein of central nervous system myelin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984; 81: 5012–5016
- [96] Sun J.B., Olsson T., Wang W.Z., Xiao B.G., Kostulas V., Fredrikson S., Ekre H.P., Link H.: Autoreactive T and B cells responding to myelin proteolipid protein in multiple sclerosis and controls. *Eur. J. Immunol.*, 1991; 21: 1461–1468
- [97] Trotter J.L., Pelfrey C.M., Trotter A.L., Selvidge J.A., Gushleff K.C., Mohanakumar T., McFarland H.F.: T cell recognition of myelin proteolipid protein and myelin proteolipid protein peptides in the peripheral blood of multiple sclerosis and control subjects. *J. Neuroimmunol.*, 1998; 84: 172–178
- [98] Tuohy V.K., Yu M., Yin L., Kawczak J.A., Kinkel R.P.: Spontaneous regression of primary autoreactivity during chronic progression of experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *J. Exp. Med.*, 1999; 189: 1033–1042
- [99] Ucelli A., Giunti D., Mancardi G., Caroli F., Fiorone M., Seri M., Hauser S.L., Genain C.P.: Characterization of the response to myelin basic protein in a non human primate model for multiple sclerosis. *Eur. J. Immunol.*, 2001; 31: 474–479
- [100] Vartdal F., Vandvik B., Norrby E.: Viral and bacterial antibody responses in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 1980; 8: 248–255
- [101] von Budingen H.C., Hauser S.L., Ouallet J.C., Tanuma N., Menge T., Genain C.P.: Frontline: Epitope recognition on the myelin/oligodendrocyte glycoprotein differentially influences disease phenotype and antibody effector functions in autoimmune demyelination. *Eur. J. Immunol.*, 2004; 34: 2072–2083
- [102] Vu T., Myers L.W., Ellison G.W., Mendoza F., Bronstein J.M.: T-cell responses to oligodendrocyte-specific protein in multiple sclerosis. *J. Neurosci. Res.*, 2001; 66: 506–509
- [103] Walsh M.J., Murray J.M.: Dual implication of 2',3'-cyclic nucleotide 3' phosphodiesterase as major autoantigen and C3 complement-binding protein in the pathogenesis of multiple sclerosis. *J. Clin. Invest.*, 1998; 101: 1923–1931
- [104] Waren K.G., Catz I.: Autoantibodies to myelin basic protein within multiple sclerosis central nervous system tissue. *J. Neurol. Sci.*, 1993; 115: 169–176
- [105] Warren K.G., Catz I., Johnson E., Mielke B.: Anti-myelin basic protein and anti-proteolipid protein specific forms of multiple sclerosis. *Ann. Neurol.*, 1994; 35: 280–289

- [106]Warren K.G., Catz I., Steinmam L.: Fine specificity of antibody response to myelin basic protein in the central nervous system in multiple sclerosis: The minimal B-cell epitope and model of its features. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 11061–11065
- [107]Warren K.G., Catz I.: An extensive search for autoantibodies to myelin basic protein in cerebrospinal fluid of non-multiple-sclerosis patients: Implication for the pathogenesis of multiple sclerosis. *Eur. Neurol.*, 1999; 42: 95–104
- [108]Weimbs T, Stoffel W.: Protein (PLP) of CNS myelin: positions of free, disulfide-bonded, and fatty acid thioester-linked cysteine residues and implications for the membrane topology of PLP. *Biochemistry.*, 1992; 31: 12289–12296
- [109]Williamson R.A., Burgoon M.M., Owens G.P., Gausi O., Leclerc E., Firme L., Carlson S., Corboy J., Parren P. W. H. I., Sanna P.P, Gildea D.H., Burton D.R.: Anti-DNA antibodies are a major component of the intrathecal B cell response in multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 98: 1798–1798
- [110]Wood D.D., Moscarello M.A.: The isolation, characterization, and lipid-aggregating properties of a citrulline containing myelin basic protein. *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 5121–5127
- [111]Wucherpfennig K.W., Sette A., Southwood S., Oseroff C., Matsui M., Strominger J.L., Hafler D.A.: Structural requirements for binding of an immunodominant myelin basic protein peptide to DR2 isotypes and for its recognition by human T cell clones. *J. Exp. Med.*, 1994; 179: 279–290
- [112]Wucherpfennig K.W., Strominger J.L.: Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: Viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. *Cell*, 1995; 80: 695–705
- [113]Wucherpfennig K.W., Catz I., Hausmann S., Strominger J.L., Steiman L., Warren K.G.: Recognition of the immunodominant myelin basic protein peptide by autoantibodies and HLA-DR2-restricted T cell clones from multiple sclerosis patients. *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 1114–1122
- [114]Wucherpfennig K.W.: Structural basis of molecular mimicry. *J. Autoimmun.*, 2001; 16: 293–302
- [115]Yamamoto Y., Mizuno R., Nishimura T., Ogawa Y., Yoshikawa H., Fujimura H., Adachi E., Kishimoto T., Yanagihara T., Sakoda S.: Cloning and expression of myelin-associated oligodendrocytic basic protein. A novel basic protein constituting the central nervous system myelin. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 31725–31730
- [116]Yao S.Y., Stratton C.W., Mitchell W.M., Sriram S.: CSF oligoclonal bands in MS include antibodies against Chlamydomonas antigens. *Neurology*, 2001; 56: 1168–1176
- [117]Zawada M., Liwien I., Pernak M., Januszkiewicz-Lewandowska D., Nowicka-Kujawska K., Rembowska J., Lewandowski K., Hertmanowska H., Wender M., Nowak J.: MSR-V pol sequence copy number as a potential marker of multiple sclerosis. *Pol. J. Pharmacol.*, 2003; 55: 869–875
- [118]Zhong M.C., Kerlero de Rosbo N., Ben-Nun A.: Multiantigen/multi-epitope-directed immune-specific suppression of “complex autoimmune encephalomyelitis” by a novel protein product of a synthetic gene. *J. Clin. Invest.*, 2002; 110: 81–90