

# Ruolo delle chemochine nella patogenesi della sinovite cronica in corso di artrite reumatoide

## *Role of chemokines in the pathogenesis of rheumatoid synovitis*

F. Ingegnoli, A. Manzo, F. Fantini, R. Caporali, C. Montecucco, N. Pipitone, C. Pitzalis

Rheumatology Unit, Thomas Guy House, GKT School of Medicine,  
Guy's Campus, London SE1 9RT, UK. Responsabile: Prof. Costantino Pitzalis

### SUMMARY

*Chemokines play a central role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) synovitis which is characterised by new blood vessel formation, thickening of the lining layer and infiltration of immune cells. The inflammatory infiltrate is generated by a series of events which include the recruitment of leukocytes from the blood stream into the tissue, their local retention and activation to effector cells. All these processes are finely regulated by the interplay of different cell adhesion molecules (CAMs) and chemoattractant factors called chemokines (CK). CK are a superfamily of small proteins that play a crucial role in immune and inflammatory reactions. These chemoattractant cytokines share structural similarities including four conserved cysteine residues which form disulphide bonds in the tertiary structure of the proteins. CK mediate their effects by binding specific receptors (CK-R) characterised by a domain structure which spans the cell membrane seven times and signal through heterotrimeric GPT-binding proteins. Activation of the CK network results in an amplification of the inflammatory cascade and consequently in the progressive destruction of RA joints. The recognition of the central role of CK in inflammation has paved the way to the development of new agents capable of interfering with CK and CK-R. This review will focus in particular on the role of CK in regulating leukocyte trafficking in RA joints.*

Reumatismo, 2002; 54(1):12-18

### INTRODUZIONE

L'artrite reumatoide (AR) è una patologia infiammatoria caratterizzata da una polisinovite cronica. La membrana sinoviale (MS) delle articolazioni affette presenta fenomeni ipertrofico-proliferativi e una tendenza invasiva locale nei confronti delle adiacenti strutture osteo-cartilaginee, ed è responsabile direttamente ed indirettamente delle tipiche complicanze erosive. Dal punto di vista istopatologico è possibile evidenziare fenomeni di neoangiogenesi, ipertrofia del lining ed un importante accumulo cellulare a livello del sublining caratterizzato prevalentemente da: macrofagi, linfociti T, linfociti B, plasmacellule e cellule dendritiche (DC). I fattori responsabili di questa au-

mentata cellularità, ritenuta basilare nell'insorgenza e nella progressione della malattia, sono molteplici e non del tutto conosciuti. Fondamentali sembrano essere sia i fenomeni di homing leucocitario e di ritenzione locale attraverso interazioni con la matrice extracellulare (1), sia un'alterazione dei fenomeni di proliferazione cellulare e dei meccanismi di apoptosi (2). Un ruolo chiave nella regolazione di questi processi viene attribuito alle chemochine (CK), piccole molecole dotate di una elevata omologia strutturale, capaci di attrarre i leucociti, partecipando al reclutamento e all'organizzazione degli infiltrati infiammatori. Attualmente si stanno compiendo notevoli progressi nella comprensione dei meccanismi d'azione delle CK e si sta evidenziando come alla base della "chemoattrazione" esista un complesso sistema di numerose e differenti molecole caratterizzate da specificità d'azione e in alcuni casi da organo-specificità. Quindi lo studio delle CK si pone in primo piano per la comprensione dei processi infiammatori ed in prospettiva di future innovazioni terapeutiche.

Indirizzo per la corrispondenza:

Prof. Costantino Pitzalis, Rheumatology Unit,  
Thomas Guy House, 5th Floor, GKT School of Medicine,  
Guy's Campus, London SE1 9RT, UK,  
Email: costantino.pitzalis@klc.ac.uk

## CHEMOCHINE E I LORO RECETTORI

Le CK sono piccole proteine (8-10 Kd), caratterizzate da un'omologia nella sequenza degli aminoacidi variabile dal 20 al 70% (3). Queste molecole svolgono molteplici azioni che spaziano dal mantenimento dell'omeostasi immunologica, in particolare della linfopoiesi e dell'organizzazione funzionale degli organi linfoidi secondari (4, 5), alla genesi e al mantenimento della risposta infiammatoria (3) (Tab. I). Queste attività sono rese possibili dalla capacità delle CK di attrarre diverse sottopopolazioni cellulari, favorendone la migrazione sia dai vasi sanguigni ai tessuti sia all'interno dei tessuti stessi, dove vie di migrazione specifiche sono determinate dall'incontro sequenziale con gradienti chemotattici. Il mantenimento di tali gradienti è facilitato dalla forte azione basica delle CK, che interagiscono in modo stabile con i proteoglicani solfati, presenti nella matrice extracellulare e sulla superficie luminale dei vasi sanguigni (6).

Le CK esplicano la loro azione attraverso l'interazione con specifici recettori di membrana (CK-R) appartenenti alla superfamiglia dei recettori, composti da sette eliche transmembrana associati alla proteina G. Questa proteina eterotrimerica media la traduzione del segnale recettoriale generando una serie di attivazioni intracellulari, coinvolgenti la produzione di inositolo trifosfato, l'ingresso di calcio nella cellula e l'attivazione di alcune proteine leganti GPT, appartenenti alle famiglie Ras, Rac e Rho. Queste vie di trasduzione mediano a livello di specifiche popolazioni cellulari fenomeni molecolari quali: 1) l'attivazione delle integrine di superficie (tappa fondamentale per la stabilizzazione dell'adesione endoteliale), 2) la modificazione del-

le proteine del citoscheletro (polimerizzazione dell'actina), importante per la motilità della cellula nell'ambito del gradiente chemochinico e 3) la produzione di mediatori chimici (7).

Le interazioni tra le CK ed i CK-R sono caratterizzate da una elevata ridondanza; CK differenti si possono infatti legare allo stesso CK-R e diversi CK-R possono legare la stessa CK (Fig. 1).

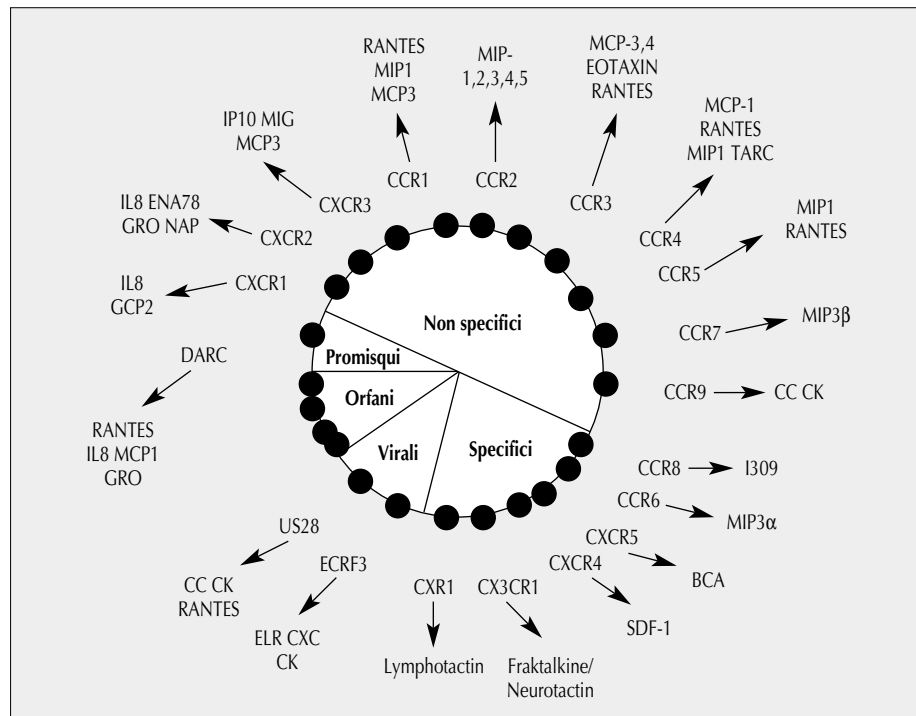
Questo comportamento può essere parzialmente ridimensionato analizzando la distribuzione dei geni per le CK, localizzati in tre raggruppamenti cromosomici principali (4q12-13, 4q21.21, 17q11.2). Il maggiore grado di omologia nell'interazione recettoriale esiste all'interno dei tre raggruppamenti principali; se consideriamo questi come singole entità funzionali, possiamo concludere che la ridondanza sia minima e la specificità d'azione sia più definita. È probabile infatti che gran parte dei geni delle CK siano comparsi più recentemente nel corso dell'evoluzione per duplicazione di un gene ancestrale al fine di sopperire ad esigenze quantitative (8).

I leucociti possono modulare l'espressione dei CK-R a seconda del grado di attivazione; questo fenomeno porta alla diversificazione delle proprietà migratorie e del tropismo tissutale, in base allo stato funzionale e al fabbisogno cellulare. Un esempio paradigmatico è la modulazione del pattern recettoriale dei linfociti e delle cellule dendritiche; allo stato "naive" i linfociti T esprimono i recettori CCR7 e CXCR4, che permettono la loro ricircolazione dal torrente ematico agli organi linfoidi secondari, grazie all'azione di chemochine specifiche (SLC, ELC, SDF-1) prodotte costitutivamente in tali tessuti. Le cellule B presentano un recettore addizionale, il CXCR5, che permette loro di aggregarsi nelle aree follicolari, sede di produzio-

**Tabella I** - Classificazione delle chemochine e dei loro recettori in infiammatorie e costitutive.

Infiammatorie		Costitutive	
CK	CK-R	CK	CK-R
MIP-1 $\alpha$	CCR1, CCR5	MDC, TARC	CCR4
MIP-1 $\beta$	CCR5	ELC, SLC	CCR7
RANTES	CCR1, CCR3, CCR5	SDF-1 $\alpha$ , -1 $\beta$	CXCR4
MCP-1	CCR2	BCA-1	CXCR5
MCP-2,-3	CCR1, CCR2, CCR3		
MCP-4	CCR2, CCR3		
Eotaxin, Eotaxin-2	CCR3		
LARC	CCR6		
IL-8, GCP-2	CXCR1, CXCR2		
GRO, ENA78, NAP-2	CXCR2		
IP-10, Mig, ITAC	CXCR3		

**Figura 1** - Chemochine e i loro recettori.



ne della chemochina BCA-1 (B cell-attracting chemokine-1). Una volta attivati dall'antigene, parte dei linfociti T (cellule effettrici) perdono l'espressione del CCR7 ed incrementano l'espressione di recettori specifici per chemochine normalmente prodotte in sede di flogosi cambiando così la loro via di migrazione (9). I linfociti B, una volta differenziatisi in plasmacellule, perdono il recettore CXCR5, che li manteneva in sede follicolare, e sono in grado di lasciare l'organo linfoide e recarsi prevalentemente in sede periferica attratti da stimoli non ancora completamente chiariti (10). Le DC immature esprimono, a differenza dei linfociti, vari recettori per le CK "infiammatorie", per poter essere reclutate nei tessuti periferici sede di flogosi e svolgere la loro fondamentale azione di cattura e presentazione dell'antigene. Una volta attivate (o maturate) le DC modificano il loro pattern recettoriale, diminuiscono l'espressione dei recettori per le CK "infiammatorie" e esprimono recettori (come il CCR7 e il CXCR4) per CK prodotte a livello degli organi linfoidi, e sono quindi in grado di migrare tramite i vasi linfatici afferenti in tali sedi per svolgere il loro ruolo di cellule presentanti l'antigene (11). Quanto descritto permette una fine integrazione delle vie di migrazione linfocitaria e delle DC, facilitando la presentazione dell'antigene e la risposta immune specifica.

La modulazione dei CK-R in seguito ad attivazione T cellulare può essere coordinata ad altri due livelli; un primo livello (funzionale), comporta l'espressione preferenziale di particolari recettori a seconda della polarità (Th1 o Th2) della cellula, che condiziona la sua migrazione in aree specifiche (reazioni tipo DTH o di tipo allergico). In particolare la polarizzazione Th1 (caratteristica dell'infiltrato sinoviale reumatoide) sembra associata all'espressione preferenziale dei recettore CCR5 e CXCR3, mentre alla polarità Th2 si associano l'espressione dei recettori CCR3 e CCR4 (11). Il secondo livello di modulazione (tissutale), comporta l'espressione di CK-R selettivi per molecole prodotte in determinati tessuti, condizionando l'orientamento migratorio delle cellule. Un esempio di questo meccanismo viene fornito a livello cutaneo ed intestinale dove le coppie TARC-CCR4 e TECK-CCR9 mediano la migrazione di diversi subsets linfocitari nei rispettivi tessuti (12) (Tab. II). Non esiste attualmente prova di una via di migrazione CK-mediata specifica per la MS e questo potrebbe costituire, a nostro parere, un interessante spunto per la ricerca reumatologica. Attualmente sono state caratterizzate circa 40 CK suddivise in 2 famiglie principali, sulla base del numero e della posizione dei due residui cisteinici amino terminali, che possono essere adiacenti (CC

**Tabella II** - Espressione dei recettori delle chemochine nelle diverse patologie infiammatorie.

Patologia	Tipo di cellule	CK-R
Infiammazione acuta	Neutrofili	CXCR1, CXCR2
HIV	T cellule, macrofagi	CXCR4, CCR5
Aterosclerosi	Foam cell, monociti	CCR2
Patologie allergiche	Eosinofili, linfociti Th2	CCR3, CCR4
Artrite reumatoide	Linfociti Th1	CCR5, CXCR3, CCR1
Sclerosi multipla	Linfociti Th1	CXCR3, CCR5

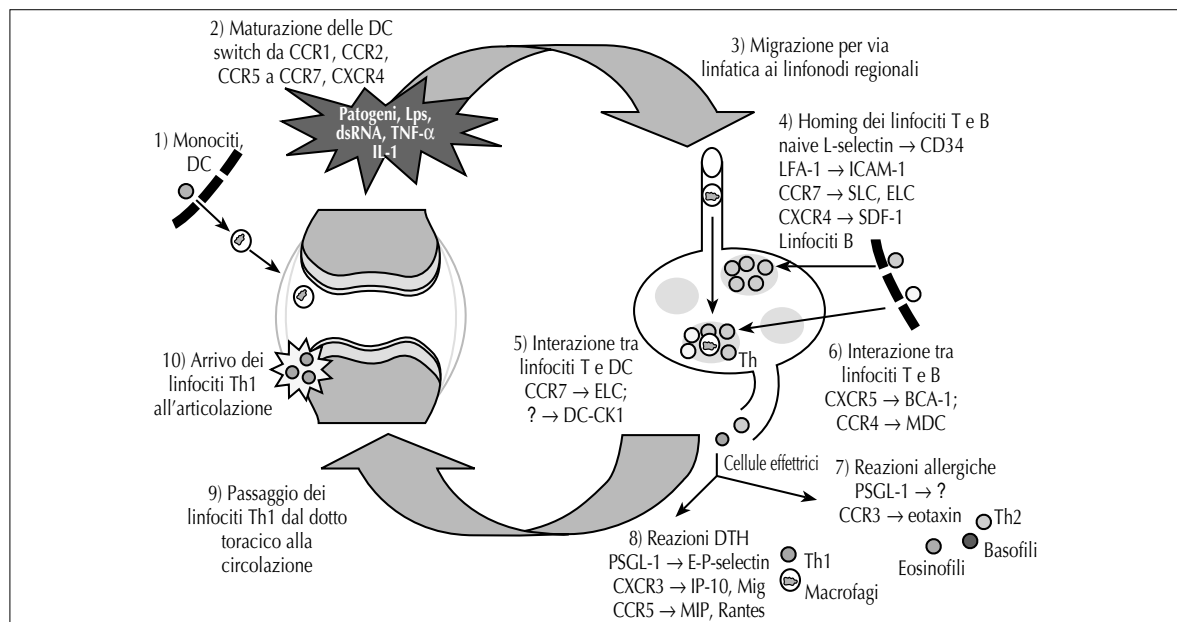
chemochine) o separati da un aminoacido (CXC chemochine). Esistono altre due CK, che non rientrano in questa classificazione: la linfotattina, che presenta un solo residuo cisteinico (C chemochina) e la fractalchina, unica chemochina di membrana, caratterizzata da due cisteine separate da tre aminoacidi (CXXXC chemochina) (3). Le CXC chemochine possono a loro volta essere suddivise in due gruppi, a seconda della presenza della sequenza aminoacidica glutamina-leucina-arginina (motivo ELR) prima del primo residuo aminoterminale. Questo comporta alcune caratteristiche funzionali comuni, quali: la specificità d'azione sui neutrofili e attività angiogeniche (13).

## CHEMOCHINE ED ARTRITE REUMATOIDE

L'importanza delle CK nella patogenesi dell'AR è indicata dal riscontro di una elevata produzione di numerose CK a livello sinoviale, tra cui: MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES, MCP-1, IL-8, ENA-78, IP-10 e MIG (14-19), che giustificano per buona parte l'attività chemotattica del liquido sinoviale e l'eterogeneità dell'infiltrato infiammatorio. Gli studi riguardanti il ruolo di specifiche CK nei processi di migrazione leucocitaria hanno suscitato grande interesse. L'evidenza dell'espressione, a livello delle cellule T dell'infiltrato infiammatorio, di particolari CK-R quali, il CXCR3 e il CCR5 (20, 21), associata al riscontro di una elevata produzione, a livello della MS, dei loro ligandi (IP-10, MIG, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , RANTES), suggerisce infatti come queste interazioni possano promuovere il reclutamento di specifici subset linfocitari (Th1), ritenuti fondamentali nel processo patogenetico dell'AR. In particolare, IP-10 e MIG, molecole inducibili dall'IFN- $\gamma$ , citochina prodotta dai linfociti Th1, potrebbero costituire gli effettori di un circuito a feed-back positivo, in quanto reclutano gli stessi linfociti Th1, tramite il recettore specifico CXCR3. In effetti una delle caratteristiche dell'infiltrato reumatoide è pro-

prio la cospicua presenza di cellule T effettrici, polarizzate in senso Th1. Le CK infiammatorie espresse a livello della MS reumatoide potrebbero giocare un ruolo sia nella ritenzione dell'infiltrato nel tessuto sinoviale sia nel processo di adesione endoteliale. Recentemente è stata infatti dimostrata la capacità di alcune CK infiammatorie (MIP-1 $\alpha$  e MIP-1 $\beta$ ), espresse a livello dei vasi sanguigni della MS, di mediare il processo di adesione endoteliale tramite attivazione delle integrine leucocitarie (22) (Fig. 2).

Oltre alle cosiddette CK "infiammatorie", a livello della MS è stata riportata la presenza di CK di tipo "costitutivo", normalmente espresse in condizioni fisiologiche in altri tessuti; tra queste meritano particolare attenzione l'SDF-1 e il BCA-1, CK fondamentali nella regolazione funzionale e nell'organizzazione cellulare degli organi linfoidi secondari. Il riscontro, nella MS, di elevati livelli di SDF-1 associati alla marcata espressione del CXCR4 sui linfociti T fa supporre l'esistenza di un'altra via di migrazione specifica, condizionata dall'interazione SDF-1-CXCR4 (23, 24). Il nostro gruppo ha dimostrato il ruolo importante per questa coppia di CK/CK-R anche nella localizzazione di linee monocitarie a livello del tessuto sinoviale (Arthritis & Rheum. in press). I sinoviociti di tipo B (di natura fibroblastica) sono ritenuti una sorgente fondamentale di SDF-1 a livello sinoviale; proprio mediante questa CK e attraverso l'azione diretta di alcune molecole di adesione (VCAM-1), essi sono in grado di inibire i fenomeni di apoptosi dei linfociti B, prolungandone la sopravvivenza e favorendo la formazione di centri germinativi con la differenziazione in plasmacellule (25, 26). A questo proposito è importante sottolineare il ruolo della BCA-1; questa molecola è espressa costitutivamente a livello degli organi linfoidi secondari dove assume un ruolo centrale nell'organizzazione dei follicoli linfoidi attraendo i linfociti B, tramite lo specifico recettore CXCR5 (27). Come accennato, la MS può assumere in determinati casi le



**Figura 2** - Ruolo delle chemochine nella regolazione del traffico leucocitario a livello articolare e degli organi linfoidi secondari: (1) migrazione di monociti e cellule dendritiche (DC) immature nell'articolazione; (2) contatto con patogeni (LPS, TNF, ecc.) e maturazione delle DC con cambio nell'espressione dei CK-R; (3) migrazione per via linfatica delle DC dall'articolazione ai linfonodi regionali; (4) linfociti naive T e B, raggiungono il linfonodo dalla circolazione sanguigna attraverso il passaggio attraverso le HEV; (5-6) incontro e maturazione delle DC, linfociti T e B; (7-8) produzione delle cellule effetttrici che si differenziano in linfociti Th2 o Th1; (9-10) i linfociti Th1 ritornano, passando dal dotto toracico alla circolazione, all'articolazione dove contribuiscono alla progressione della malattia.

caratteristiche strutturali e funzionali degli organi linfoidi secondari, essendo sede di processi di linfopoiesi, con la formazione di strutture follicolari e centri germinativi. Recentemente è stato evidenziato, in sede sinoviale, come lo sviluppo di queste strutture sia associato alla neoproduzione di CK costitutivamente espresse a livello degli organi linfoidi come la CK BCA-1, potenziale fattore favorente, tramite il reclutamento B cellulare CXCR5 mediato, della formazione di strutture follicolari ectopiche (28, 29). La CK BCA-1 costituisce inoltre l'esempio più paradigmatico di come la distinzione tra le CK "costitutive" e "infiammatorie" debba essere in un certo qual modo superata. La BCA-1 viene prodotta non solo costitutivamente a livello degli organi linfoidi secondari condizionando i fisiologici processi di homing B cellulare, ma anche in sede di flogosi cronica. In questo caso, contribuisce alla formazione di un tessuto che viene in alcuni casi paragonato ad un "organo linfoide terziario"; agisce inoltre sia sul CXCR5 sia come recentemente dimostrato, sul recettore CXCR3 (30) espresso sulla superficie delle cellule T dopo attivazione, potendo quindi fungere da "chemoattraente" anche per cellule effetttrici. Differen-

ti sottopopolazioni cellulari sono coinvolte nella produzione delle CK nella sinovite reumatoide; tra queste non rientrano soltanto i sinoviociti e le cellule dell'infiltrato infiammatorio, ma anche cellule presenti a livello cartilagineo (31), dell'osso subcondrale (32) e cellule del midollo osseo (33), che nel loro insieme costituiscono un complesso sistema di regolazione del processo infiammatorio sinoviale.

## NUOVE PROSPETTIVE TERAPEUTICHE

I numerosi studi svolti sulle CK e i loro recettori hanno permesso di chiarire i meccanismi d'azione e il ruolo chiave di queste molecole nei processi infiammatori. Sono emersi infatti numerosi dati a favore dell'importanza che assumerebbe il controllo diretto dell'espressione di queste molecole pro-infiammatorie ed è proprio in questa direzione che le industrie farmaceutiche hanno rivolto le loro attenzioni negli ultimi anni. Risorse e speranze per un corretto approccio terapeutico delle malattie infiammatorie croniche derivano infatti dallo sfruttamento dell'enorme potenziale terapeutico, che potrebbero avere so-

stanze in grado di antagonizzare le CK o i loro recettori, capaci pertanto di regolare il richiamo dei leucociti nei tessuti sede di infiammazione.

Vari modelli animali di artrite sono stati utilizzati per testare l'efficacia di questi prodotti terapeutici, ancora in fase sperimentale. Ogata et al. (34) hanno dimostrato che a due settimane dall'esordio della malattia, in un modello sperimentale di artrite provocata immunizzando i topi con collagene di tipo II, era possibile riscontrare elevati livelli di MCP-1 sia nel liquido sia nella MS; iniettando negli animali un anticorpo monoclonale anti-MCP-1 si assisteva ad una significativa riduzione sia del danno sia della tumefazione articolare.

In un successivo esperimento eseguito da Gong et al. (35) è stato iniettato un antagonista dell'MCP-1; questa sostanza inoculata giornalmente in animali in grado di sviluppare spontaneamente un'artrite cronica simile all'AR (topi MRL-lpr) è risultata capace di prevenire l'esordio della malattia e di diminuire

significativamente l'iperplasia della MS, la formazione del panno, le erosioni cartilaginee ed ossee.

Un'altra molecola particolarmente studiata è RANTES, in grado di attrarre: monociti, T cellule ed eosinofili; modificando la parte N-terminale di RANTES con l'aggiunta di un residuo di metionina (MetRANTES) si ottiene un potente antagonista di questa sostanza. L'inoculazione di MetRANTES in topi DBA/1, in cui è stata provocata un'artrite indotta da collagene, provoca una diminuzione dose dipendente dell'incidenza della malattia e negli animali che sviluppano un'artrite, la malattia si manifesta con gravità significativamente minore rispetto al gruppo di controllo (36).

Sebbene queste sostanze siano ancora in fase sperimentale potrebbero dimostrarsi una importante alternativa terapeutica in patologie, come l'AR, nelle quali il processo immunoinfiammatorio, regolato dalle CK, gioca un ruolo centrale nel mantenimento e nella progressione della malattia.

## RIASSUNTO

Le chemochine (CK) rivestono un ruolo centrale nella patogenesi della sinovite in corso di artrite reumatoide (AR), caratterizzata dalla formazione di nuovi vasi, dall'ispessimento del layer superficiale e dall'infiltrazione di cellule immunocompetenti. L'infiltrato infiammatorio è causato da una serie di eventi fra cui il reclutamento di leucociti dal torrente circolatorio verso i tessuti, la loro ritenzione locale ed attivazione in cellule effettrici. Tutti questi processi sono finemente regolati da un'interazione fra differenti molecole d'adesione e fattori chemotattici chiamati CK.

Le CK sono una superfamiglia di piccole proteine che esplicano un ruolo cruciale nelle reazioni immunitarie ed antiinfiammatorie. Queste citochine chemotattiche esibiscono similitudini strutturali fra cui quattro residui di cisteina che formano legami disolfuro nella struttura terziaria delle proteine. Le CK mediano i loro effetti utilizzando il legame con recettori specifici (CK-R) caratterizzati da una struttura che attraversa la membrana cellulare sette volte e con un segnale che sfrutta proteine eterometriche GPT-binding. L'attivazione del network delle CK risulta in un'amplificazione della cascata infiammatoria e conseguentemente nella distruzione progressiva delle articolazioni nell'AR. Lo studio del ruolo centrale delle CK nell'infiammazione ha aperto la strada per lo sviluppo di nuovi agenti capaci di interferire con le CK e i CK-R. Questa rassegna si focalizza in particolare sul ruolo delle CK nel regolare il traffico dei leucociti nelle articolazioni delle AR.

**Parole chiave:** Chemochine, migrazione cellulare, artrite reumatoide.

**Key words:** Chemokines, cell migration, rheumatoid arthritis

## BIBLIOGRAFIA

- Pitzalis C. Adhesion, migration and cell trafficking. In Firestein GS, Panayi GS, Wollheim FA. Rheumatoid Arthritis: new frontiers in pathogenesis and treatment, Oxford University Press 2000; 137-46.
- Firestein GS, Yeo M, Zvaifler NJ. Apoptosis in rheumatoid arthritis synovium. J Clin Invest 1995; 96: 1631-8.
- Luster AD. Chemokines: chemotactic cytokines that mediate inflammation. N Engl J Med 1998; 338: 436-45.
- Kim CH, Broxmeyer HE. Chemokines: signal lamps for trafficking of T and B cells for development and effector function. J Leukoc Biol 1999; 65: 6-15.
- Cyster JG. Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. Science 1999; 286: 2098-102.
- Kuschert GS, Coulin F, Power CA, Proudfoot AE, Hubbard RE, Hoogewerf AJ, et al. Glycosaminoglycans interact selectively with chemokines and modulate receptor binding and cellular responses. Biochem 1999; 38: 12959-68.
- Premack BA, Schall TJ. Chemokine receptors: gateways to inflammation and infection. Nature Medicine 1996; 2: 1174-8.
- Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. Immunity 2000; 12: 121-7.

9. Sallusto F, Lenig D, Forster R, Lipp M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999; 401: 708-12.
10. Wehrli N, Legler DF, Finke D, Toellner KM, Loetscher P, Baggiolini M, et al. Changing responsiveness to chemokines allows medullary plasmablasts to leave lymph nodes. *Eur J Immunol* 2001; 31: 609-16.
11. Sallusto F, Lanzavecchia A, Mackay CR. Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2-mediated responses. *Immunol Today* 1998; 19: 568-74.
12. Campbell JJ, Butcher EC. Chemokines in tissue-specific and microenvironment-specific lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 336-41.
13. Strieter RM, Polverini PJ, Kunkel SL, Arenberg DA, Burdick MD, Kasper, J, et al. The functional role of the ELR motif in CXC chemokine-mediated angiogenesis. *J Biol Chem* 1995; 270: 27348-57.
14. Robinson E, Keystone EC, Schall TJ, Gillett N, Fish EN. Chemokine expression in rheumatoid arthritis (RA): evidence of RANTES and macrophage inflammatory protein (MIP)-1 beta production by synovial T cells. *Clin Exp Immunol* 1995; 101: 398-407.
15. Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, Mazarakis GK, Burdick MD, Pope RM, et al. Macrophage inflammatory protein-1alpha: a novel chemotactic cytokine for macrophages in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1994; 93: 921-8.
16. Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, Johnson B, Evanoff HL, Haines GK, et al. Enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest* 1992; 90: 772-9.
17. Walz A, Schmutz P, Mueller C, Schnyder-Candrian S. Regulation and function of the CXC chemokine ENA-78 in monocytes and its role in disease. *J Leukoc Biol* 1997; 62: 604-11.
18. Kraan MC, Patel DD, Haringman JJ, Smith MD, Weedon H, Ahern MJ, et al. The development of clinical signs of rheumatoid synovial inflammation is associated with increased synthesis of the chemokine CXCL8 (interleukin-8). *Arthritis Res* 2001; 3: 65-71.
19. Patel DD, Zachariah JP, Whichard LP. CXCR3 and CCR5 ligands in rheumatoid arthritis synovium. *Clin Immunol* 2001; 98: 39-45.
20. Qin S, Rottman JB, Myers P, Kassam N, Weinblatt M, Loetscher M, et al. The chemokine receptors CXCR3 and CCR5 mark subsets of T cells associated with certain inflammatory reactions. *J Clin Invest* 1998; 101: 746-54.
21. Loetscher P, Uguccioni M, Bordoli L, Baggiolini M, Moser B, Chizzolini C, et al. CCR5 is characteristic of Th1 lymphocytes. *Nature* 1998; 391: 344-5.
22. Tanaka Y, Fujii K, Hubscher S, Aso M, Takazawa A, Saito K, et al. Heparan sulfate proteoglycan on endothelium efficiently induces integrin-mediated T cell adhesion by immobilizing chemokines in patients with rheumatoid synovitis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1365-77.
23. Nanki T, Hayashida K, El Gabalawy HS, Suson S, Shi K, Girschick HJ, et al. Stromal cell-derived factor-1-CXC chemokine receptor 4 interactions play a central role in CD4(+) T cell accumulation in rheumatoid arthritis synovium. *J Immunol* 2000; 165: 6590-8.
24. Buckley CD, Amft N, Bradfield PF, Pilling D, Ross E, Arenzana-Seisdedos F, et al. Persistent induction of the chemokine receptor CXCR4 by TGF-beta1 on synovial T cells contributes to their accumulation within the rheumatoid synovium. *J Immunol* 2000; 165: 3423-9.
25. Burger JA, Zvaifler NJ, Tsukada N, Firestein GS, Kipps TJ. Fibroblast-like synoviocytes support B-cell pseudoemperipolesis via a stromal cell-derived factor-1- and CD106 (VCAM-1)-dependent mechanism. *J Clin Invest* 2001; 107: 305-15.
26. Reparon-Schuijt CC, van Esch WJ, Van Kooten C, Rozier BC, Levarht EW, Breedveld FC, et al. Regulation of synovial B cell survival in rheumatoid arthritis by vascular cell adhesion molecule 1 (CD106) expressed on fibroblast-like synoviocytes. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1115-21.
27. Legler DF, Loetscher M, Roos RS, Clark-Lewis I, Baggiolini M, Moser B. B cell-attracting chemokine 1, a human CXC chemokine expressed in lymphoid tissues, selectively attracts B lymphocytes via BLR1/CXCR5. *J Exp Med* 1998; 187: 655-60.
28. Shi K, Hayashida K, Kaneko M, Hashimoto J, Tomita T, Lipsky PE, et al. Lymphoid chemokine B cell-attracting chemokine-1 (CXCL13) is expressed in germinal center of ectopic lymphoid follicles within the synovium of chronic arthritis patients. *J Immunol* 2001; 166: 650-5.
29. Takemura S, Braun A, Crowson C, Kurtin PJ, Cofield RH, O'Fallon WM, et al. Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis. *J Immunol* 2001; 167: 1072-80.
30. Jenh CH, Cox MA, Hipkin W, Lu T, Pugliese-Sivo C, Gonsiorek W, et al. Human b cell-attracting chemokine 1 (bca-1; cxcl13) is an agonist for the human cxcr3 receptor. *Eur Cytokine Netw* 2001; 15: 113-21.
31. Borzi RM, Mazzetti I, Macor S, Silvestri T, Bassi A, Cattini L, et al. Flow cytometric analysis of intracellular chemokines in chondrocytes in vivo: constitutive expression and enhancement in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *FEBS Lett* 1999; 455: 238-42.
32. Lisignoli G, Toneguzzi S, Pozzi C, Piacentini A, Riccio M, Ferruzzi A, et al. Proinflammatory cytokines and chemokine production and expression by human osteoblasts isolated from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *J Rheumatol* 1999; 26: 791-9.
33. Lisignoli G, Toneguzzi S, Pozzi C, Piacentini A, Grassi F, Ferruzzi A, et al. Chemokine expression by subchondral bone marrow stromal cells isolated from osteoarthritis (OA) and rheumatoid arthritis (RA) patients. *Clin Exp Immunol* 1999; 116: 371-8.
34. Ogata H, Takeya M, Yoshimura T, Takagi K, Takahashi K. The role of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in the pathogenesis of collagen-induced arthritis in rats. *J Pathol* 1997; 182: 106-14.
35. Gong JH, Ratkay LG, Waterfield JD, Clark-Lewis I. An antagonist of monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) inhibits arthritis in the MRL-lpr mouse model. *J Exp Med* 1997; 186: 131-7.
36. Plater-Zyberk C, Hoogewerf AJ, Proudfoot AE, Power CA, Wells TN. Effect of a CC chemokine receptor antagonist on collagen induced arthritis in DBA/1 mice. *Immunol Letters* 1997; 57: 117-20.