

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 破骨細胞與內質網壓力在僵直性脊椎炎致病機制中所扮演的角色

### 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型  
計畫編號：NSC 95-2314-B-040-005-  
執行期間：95年08月01日至96年07月31日  
執行單位：中山醫學大學醫學系

計畫主持人：魏正宗  
共同主持人：詹明修  
計畫參與人員：碩士班研究生-兼任助理：魏郁玲

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

中華民國 96年11月01日

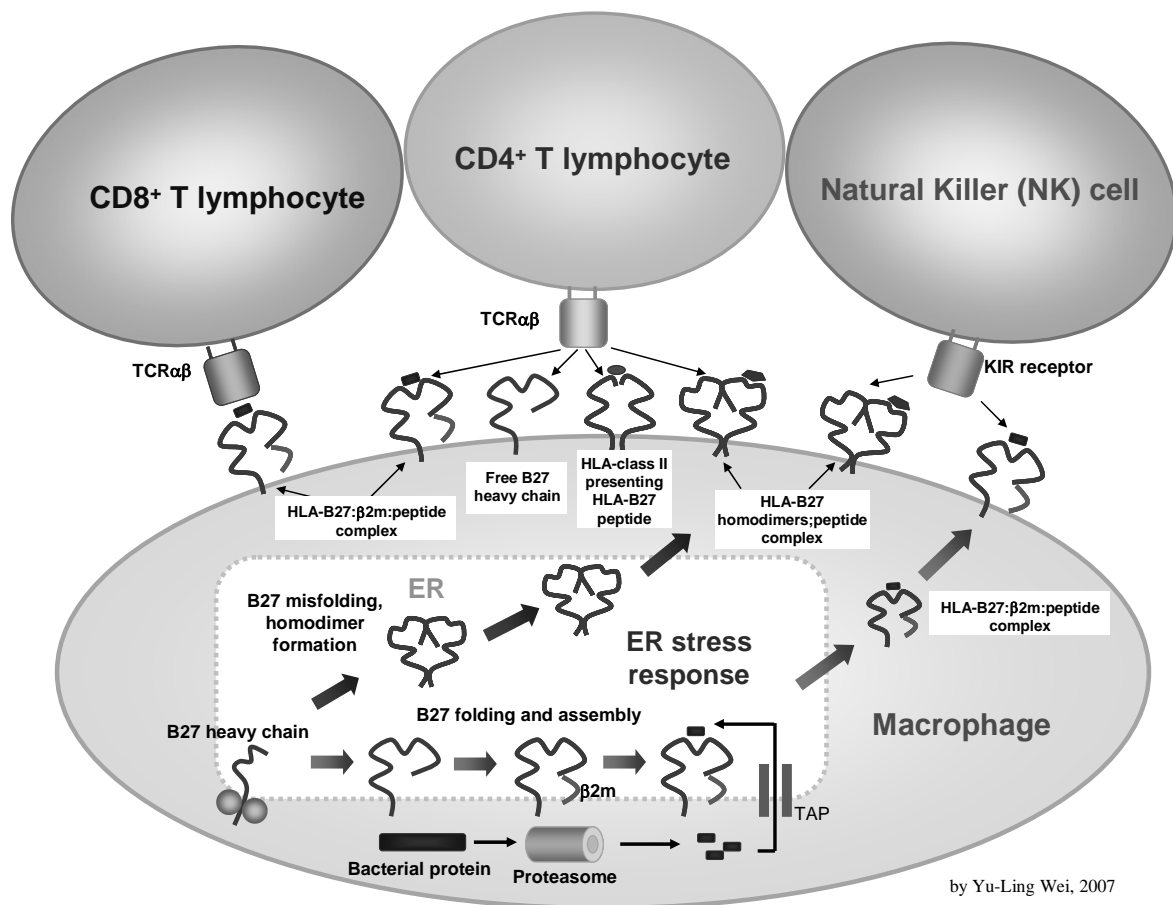
## 目錄

前言.....	Page 2
研究目的.....	Page 3
結果與討論.....	Page 4
結論.....	Page 7
結果自評.....	Page 7
參考文獻.....	Page 7

## 前言

HLA-B27 已被認為與僵直性脊椎炎 AS 高度的關聯性，HLA-B27 的結構是由一條重鏈 (heavy chain, HC) 與  $\beta_2$  微球蛋白 ( $\beta_2$ -microglobulin,  $\beta_2m$ ) 共價鍵結組合而成。近幾年一些研究指出 HLA-B27 的重鏈 heavy chains 會形成異常的特徵，包括錯誤構型 [Colbert, 2004]。此 HLA-B27 H chains 異常構型主要是在內質網錯誤摺疊造成，由於  $\beta_2m$  延遲結合上重鏈，導致新的重鏈再合成，此高分子量雙硫鍵

鍵結的 HLA-B27 複合體包括有重鏈雙體 (homodimers) 或是寡體 (oligomers)。已有研究指出此 HLA-B27 錯誤摺疊的構型與內質網伴護蛋白 BiP/Grp78 的增加具有相關性，並在從 HLA-B27/human  $\beta_2$ -microglobulin- 轉殖基因大鼠 (transgenic rats) 分離出的巨噬細胞 (macrophages) 中發現有內質網壓力 (ER stress) 產生以及未折疊蛋白反應 (UPR) 活化的現象 [Tran et al., 2004; Turner et al., 2005]。[圖一]

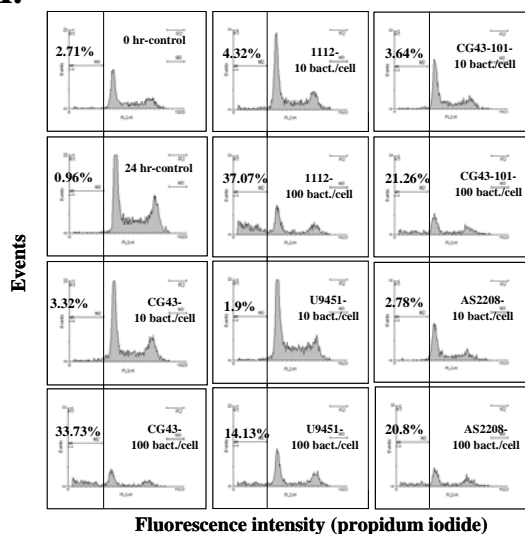


圖一. 正常及錯誤構型 HLA-B27 與 ER stress 與產生自體免疫疾病僵直性脊椎炎之可能機制。

目前的研究發現 HLA-B27 重鏈異常的合成或錯誤摺疊，會影響到：A. 可能會增加 BiP 的表現並啟動 UPR 反應，導致 NF- $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B) 的活化趨向發炎反應，B. HLA-B27 的錯誤構型堆積可能參與了與 HLA-B27 相關的疾病致病機轉，C. HLA-B27 不正常的型態特別在關節處及發炎的組織部位，主要會與 HLA-B27 限制的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴細胞 (CD4<sup>+</sup>T cells) 或自然殺手細胞 (natural killer cells, NK cells) 反應，而與 CD8<sup>+</sup> T 淋巴細胞 (CD8<sup>+</sup> T cells) 的反應並沒有這麼強烈 [Reveille and Arnett, 2005; Dangoria et al., 2002]。再加上近幾年研究指出，依據細胞種類的不同對於 HLA-B27 錯誤摺疊構型會有不同的敏感性，從轉殖基因鼠分離出的巨噬細胞其 HLA-B27 與 UPR 活化有相關並會造成錯誤摺疊的重鏈堆積，但是在 HLA-B27 轉殖老鼠分離出的脾臟細胞其 UPR 標的基因只表現微量而且也只有極微的 HLA-B27 會高度表現 [Turner et al., 2007]。

在僵直性脊椎炎的臨床特徵中除了典型的脊椎僵硬以及薦腸關節被侵犯外，其他器官如週邊脊椎與接骨點 (entheses) 也會遭受侵犯，近幾年有報告指出發炎反應會漸進性地造成鈣化 (ossification) 可

A.

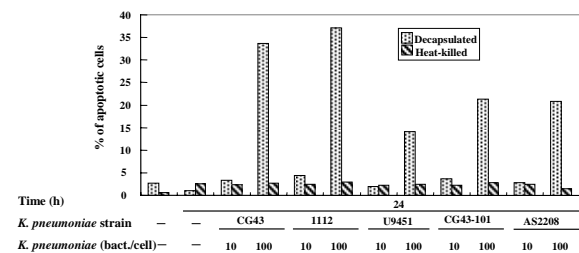


B

能參與了 AS 的致病機制，Dr. El 等學者在西元 1999 年發現 AS 患者骨質疏鬆 (osteoporosis) 的症狀是很常見並且在 AS 發病的早期便可觀察得到，再者這些患者如果其身體質量值 (Body Mass Index, BMI) 低下以及脂肪含量也低的情況下會使得其骨質疏鬆的病症更為加劇，會有骨質疏鬆成因一般認為是由於骨骼溶蝕作用增加而骨骼生成作用減低所導致，間接反應出這些患者其蝕骨細胞的量或是活性遠大於造骨細胞 [Sarikaya et al., 2007] 而且在 AS 疾病接骨點的發炎反應會分泌出一些促發炎反應細胞激素，像是 TNF- $\alpha$ ，interleukin-1 (IL-1) 和 interleukin-6 (IL-6)，這些激素皆可能會導致骨骼代謝失調而發展成為骨質疏鬆 [El et al., 2004]。我們先前的研究發現去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激 CA46 B 淋巴母細胞後會造成內質網壓力及細胞凋亡 [圖二]。

### 研究目的

我們於此計畫中想進一步了解 *K. pneumoniae* 是否普遍對免疫細胞與腸道細胞刺激可造成內質網壓力及細胞凋亡？對於蝕骨細胞是否也有同樣的現象？

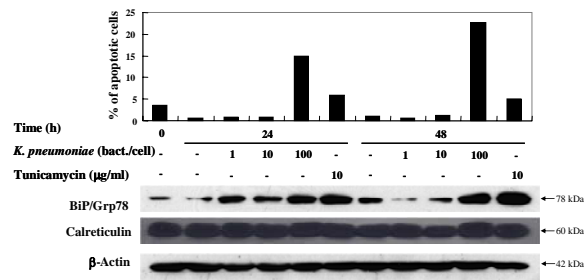


圖二. 不同去莢膜或熱殺菌後的 *K. pneumoniae* 菌株 (CG43, 1112, U9451, CG43-101, AS2208) 誘導 CA46 B 淋巴母細胞產生凋亡的程度。CA46 B 淋巴母細胞分別與去莢膜或是熱殺菌後的菌株共同培養後，收集細胞，藉由染上 propidium iodide 利用流式細胞儀分析去偵測凋亡細胞的百分比數，(A) 去莢膜 *K. pneumoniae* 處理細胞後的流式細胞儀分析圖，數值表示凋亡細胞的百分比數；(B) 凋亡細胞百分比數的量化圖。

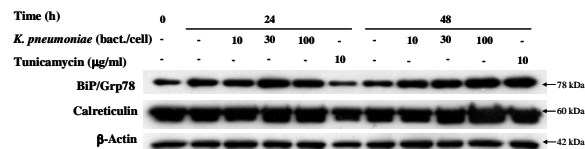
#### 四、結果與討論

U937 單核球細胞給予去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激會引發內質網壓力和細胞凋亡 [圖三]。另一方面，Jurkat T 淋巴母細胞同樣也發現隨菌數及時間的增加可引發細胞產生內質網壓力和細胞凋亡 [圖四]。但同樣經由去莢膜 *K. pneumoniae* 處理後，在不同類型細胞株其內質網壓力相關蛋白質的表現量會有所不同：U937 單核球細胞主要是 BiP 蛋白質表現量較顯著，而在 Jurkat T 淋巴母細胞則主要在 Calreticulin 的表現量增加較為顯著。去莢膜 *K. pneumoniae* 並不會造成會表現 HLA-B27 的 SW48 腸上皮細胞引發內質網壓力，另一株腸上皮細胞 Caco-2 同樣不會造成內質網壓力 [圖五]。

#### A.



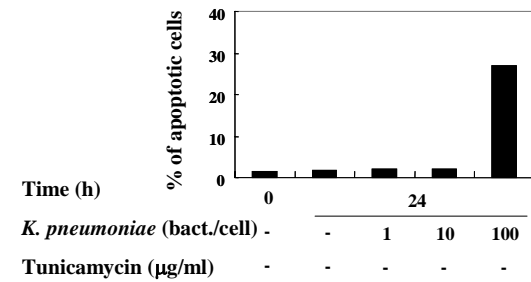
#### B.



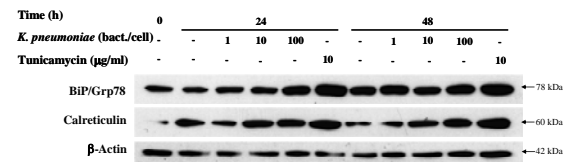
圖三. 去莢膜 *K. pneumoniae* CG43 菌株引發 U937 單核球細胞產生內質網壓力及細胞凋亡。U937 單核球細胞與去莢膜 *K. pneumoniae* 處理 24 及 48 小時後，(A) 細胞染上 propidium iodide 後利用流式細胞儀去偵測凋亡細胞的百分比數 (上)，利用西方墨點法去觀察蛋白質 BiP/Grp78, 和 Calreticulin 的表現，以  $\beta$ -actin 表現量當作對照比較 (下)；(B) U937 單核球細胞依指定與不同菌數的去莢膜 *K. pneumoniae* 處理後，同樣利用西方墨點法去觀察蛋白質 BiP/Grp78 和 Calreticulin 的表現，以  $\beta$ -actin 表現量當作對照比較。Tunicamycin, 誘導內質網壓力藥物。

綜合以上這些結果，去莢膜 *K. pneumoniae* 特別是會造成免疫細胞產生內質網壓力和細胞凋亡，在實驗中發現具 HLA-B27 基因的 CA46 B 淋巴母細胞，U937 單核球細胞以及 Jurkat T 淋巴母細胞這些免疫細胞受刺激後會啟動內質網壓力。

#### A.

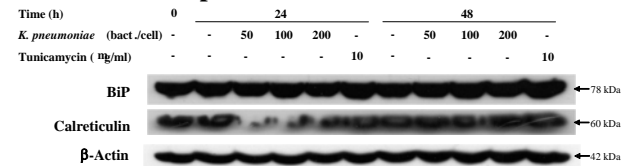


#### B.

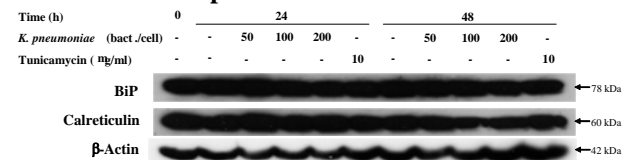


圖四. 去莢膜 *K. pneumoniae* CG43 菌株引發 Jurkat T 淋巴母細胞產生內質網壓力及細胞凋亡。Jurkat T 淋巴母細胞與指定菌數的去莢膜 *K. pneumoniae* 處理 24 及 48 小時後，(A) 細胞染上 propidium iodide 後利用流式細胞儀去偵測凋亡細胞的百分比數；(B) 利用西方墨點法去觀察蛋白質 BiP/Grp78 和 Calreticulin 的表現，以  $\beta$ -actin 表現量當作對照比較。Tunicamycin, 誘導內質網壓力藥物。

#### A. SW48 colon epithelial cell



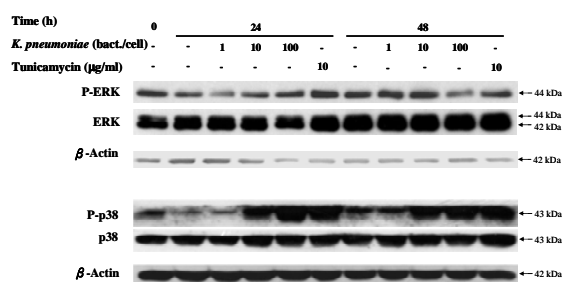
#### B. Caco-2 colon epithelial cell



圖五. 去莢膜 *K. pneumoniae* CG43 菌株並不會引發腸上皮細胞 SW48 和 Caco-2 細胞株產生內質網壓力。(A) SW48 腸上皮細胞和 (B) Caco-2 腸上皮細胞與指定菌數的去莢膜 *K. pneumoniae* 處理 24 及 48 小時後，收集細胞，利用西方墨點法去觀察蛋白質 BiP/Grp78 和 Calreticulin 的表現，以  $\beta$ -actin 表現量當作對照比較。Tunicamycin, 誘導內質網壓力藥物。

由我們的結果得知，去莢膜 *K. pneumoniae* 會引發 CA46 B 淋巴母細胞產生內質網壓力，我們接著觀察其下游路徑是否也會活化。當內質網壓力發生時，BiP 會從三個穿膜蛋白 (PERK, ATF6, IRE-1) 游離出來去幫助摺疊蛋白質，導致這三個穿膜蛋白開始活化而啟動下游路徑，其中 IRE-1 可能會活化 MAPK 路徑，則 p38, 和 JNK 及 ERK 會磷酸化。從結果發現不

論在哪一個時間點，細胞在受到去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激後都會活化 p38；而至於 ERK 在細胞受刺激後到了 48 小時發現到活化的現象會有菌數依存性減少的情形 [圖六]。此發現顯示了去莢膜 *K. pneumoniae* 引發 CA46 B 淋巴母細胞誘導內質網壓力後，接下來會活化下游導致 p38 活化以及 ERK 減少活化，可能導致細胞繼續走向下游啟動發炎反應或走向細胞凋亡。

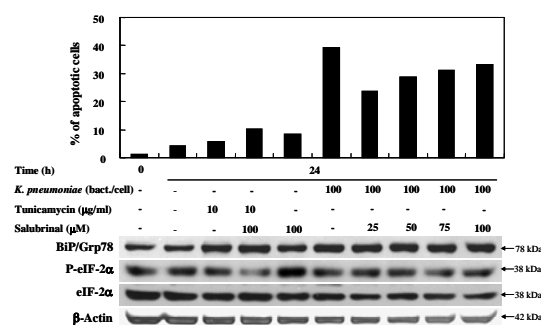


圖六. 去莢膜 *K. pneumoniae* CG43 菌株誘導 CA46 B 淋巴母細胞活化 p38 以及不活化 ERK 的表現。CA46 B 淋巴母細胞依照所指定菌數的去莢膜 *K. pneumoniae* 處理 24 及 48 小時後，收集培養後的細胞，利用西方墨點法去觀察蛋白質 ERK，Phospho-ERK，p38 和 Phospho-p38 的表現，各自以  $\beta$ -actin 表現量當作對照比較；Tunicamycin，內質網壓力誘導藥物。

我們於是進一步觀察可抑制內質網壓力引發之凋亡的新藥 salubrinal 是否可以抑制細胞凋亡的程度。實驗結果發現到 salubrinal 確實有低幅度的抑制受去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激後所引發的細胞凋亡程度，在 salubrinal 濃度為 25  $\mu$ M 時提供的保護細胞作用較為顯著，至於蛋白表現的部份，不管是受到細菌刺激還是 tunicamycin 藥物處理其細胞內的 BiP 蛋白表現都有增加。而在 CA46 B 淋巴母細胞 P-eIF-2 $\alpha$  蛋白質表現部分，觀察到：(1) 在細胞受到細菌刺激後的 P-eIF-2 $\alpha$  表現量比對照組的表現來得小，可能促成細胞無法減少蛋白質的持續堆積導致走向死亡之途；(2) 在 salubrinal 濃度為 100  $\mu$ M 時處理後的确會增加細胞的 P-eIF-2 $\alpha$  表現量；(3) 在都有受到去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激下，salubrinal 濃度為 25 及 50  $\mu$ M 時其 P-eIF-2 $\alpha$  表現量會有些微比沒給予藥物的細胞來的高，但是在 75 及 100  $\mu$ M 時細胞

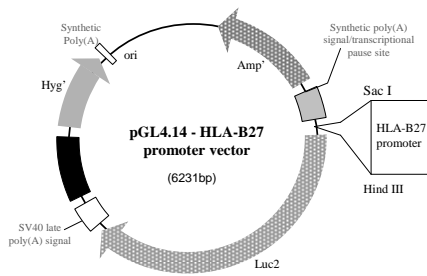
其 P-eIF-2 $\alpha$  表現量以及抗凋亡的程度都並不明顯 [圖七]。也許是因為高濃度的 salubrinal 會具有些微的毒性而可能無法抵禦在高菌量細菌處理下產生嚴重的細胞凋亡程度。

在我們的研究中已發現去莢膜 *K. pneumoniae* 會引發 U937 單核球細胞產生內質網壓力以及細胞凋亡，但是 U937 細胞株並不具有 HLA-B27 的基因，因此將 pGL4.14-HLA-B27 promoter vector 這個載體轉染進去到 U937 單核球細胞，經由 TESS 去分析這段 HLA-B27 啟動子所可能含有的轉錄因子，發現主要有 NF- $\kappa$ B，Sp1，c/EBP，IRF-1，和 EBP-1 等等。首先先將這 pGL4.14-HLA-B27 promoter vector 利用電穿孔方式送進去 U937 單核球細胞裡表現後，再給予去莢膜 *K. pneumoniae* 的刺激 (菌數與細胞數比分別為 1, 3, 10 bact./cell) 或 tunicamycin (10  $\mu$ g/ml) 處理 16 個小時後，結果發現到有細菌的刺激下 HLA-B27 promoter 會被活化，但在給予 tunicamycin 的處理並無此現象，而其冷光增強的程度在給予菌數為 10 bact./cell 時相對於對照組來說高於將近 2.7 倍 [圖八]。



圖七. Salubrinal 可以提供保護作用對抗受到去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激 CA46 B 淋巴母細胞所造成的細胞死亡。CA46 B 淋巴母細胞依照所指定菌數的去莢膜 *K. pneumoniae* 處理和/或所指定的 salubrinal 和 tunicamycin 的劑量作用 24 小時後，收集培養後的細胞，細胞染上 propidium iodide 後利用流式細胞儀去偵測凋亡細胞的百分比數(上)；利用西方墨點法去觀察蛋白質 BiP/Grp78，eIF-2 $\alpha$  和 P-eIF-2 $\alpha$  的表現，以  $\beta$ -actin 表現量當作對照比較(下)。Tunicamycin，內質網壓力誘導藥物；Salubrinal，內質網壓力抑制藥物。

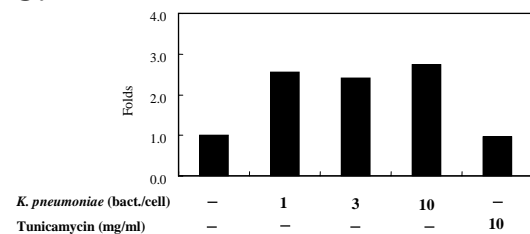
A.



B.

```
TGGCAATCCGGTACTGTTGGTAAAGCCACCATGGAAGATGCCAAAAACATTAAGAAGG
GCCAGCGCCATTCTACCCACTCGAAGACGGGACCGCCGGCGAGCAGCTGCACAAA
GCCATGAAGCGCTACGCCCTGGTGCCGGCACCATCGCCTTACCGACGCACATATC
GAGGTGGACATTACCTACGCCGAGTACTTCGAGATGAGCGTTCCGGCTGGCAGAAGCT
ATGAAGCGCTATGGGCTGAATACAACCACCGATCGGATCGTGGTGTGCAGCGAGAATAGC
TTGCAGTCTTCATGCCCGTGTGGGTGCCCTGTTTCATCGGTGTGGCTGTGGCCCA
GCTAACGACATCTACAACGAGCGCGAGCTGCTGAACAGCATGGGCATCAGCCAGCCC
ACCGTCTATTTCGTAGCAAGAAAGGGCTGCAAAAGATCCTCAACGTCGAAAAGAG
CTACCGATACACAAGATCATCATCGATGATGACAGGACGACTACGAGGCTTCCA
AAGCATGTACACCTTTGTGACTTCCATTTGCCACCCGGTTCACGAGTACGACTTC
GTGCCGAGAGCTTCGACCGGGACAAAACCATCGCCCTGATCATGAACAGTAGTGGC
AGTACCGGGATGGCCAA
```

C.



圖八. 已轉染 pGL4.14-HLA-B27 promoter vector 的 U937 單核球細胞在受到去莢膜 *K. pneumoniae* CG43 菌株刺激後會活化 HLA-B27 的啟動子。(A) pGL4.14-HLA-B27 promoter vector 的結構；(B) HLA-B27 promoter 的序列；(C) 利用電穿孔方法共同轉染 pGL4.14-HLA-B27 promoter vector 和 pCMVβ vector 到 U937 單核球細胞後 6 個小時，給予去莢膜 *K. pneumoniae* 或 tunicamycin 再處理 16 個小時後，待細胞裂解後收集上清液去偵測冷光的強度，以 pCMVβ vector 當做對照比較，以沒經過任何處理的細胞冷光表現當做對照，依此定量訂出在不同菌數刺激下其冷光表現的各自倍數。

許多研究指出支持單核球細胞作為抗原呈獻細胞將外來肽呈獻給免疫細胞 T 淋巴細胞執行其功能，通常會活化輔助性 T 細胞 [Boyle et al., 2001]。近幾年發現除了需要 CD4 T cell 的協助外，要產生 T 細胞依賴性抗原專一性抗體尚需要活化 B 淋巴細胞的 TLRs。此外，記憶性 B 淋巴細胞的訊號對於終生血清記憶 (serological memory) 扮演重要角色 [Pasare and Medzhitov, 2005; Bernasconi et al., 2002]。另一方面，B 淋巴細胞在一些自體免疫疾病中像是類風濕性關節炎 (rheumatoid arthritis) 和多發性硬化症 (multiple sclerosis) 以及紅斑性狼瘡 (systemic lupus erythematosus) 等當作一個標記細胞 [Edwards and Cambridge, 2006]，且在 B

淋巴細胞上的 TLRs 也許可幫助去辨識外來微生物抗原，並會誘導或/和共同刺激 B 淋巴細胞繼續分化，種類轉換和分化成分泌性抗體細胞 [Peng, 2005] 由這些文獻加上我們實驗結果提供一項假設，當去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激 CA46 B 淋巴母細胞後，B 淋巴細胞當作一個 reservoir 將抗原呈獻給 T 淋巴細胞，且當外在感染源持續存在時 B 淋巴細胞與 T 淋巴細胞彼此間會不斷的有交互作用，B 淋巴細胞呈獻抗原給 T 淋巴細胞；而 T 淋巴細胞則幫助 B 淋巴細胞活化，當感染源持續存在時這樣的循環會不斷的進行，進而進一步活化下游 MAPK 路徑或產生內質網壓力造成發炎反應。我們發現受到細菌刺激後細胞會活化 p38 [圖六]，可能是經由 BiP 高度調節後而活化 p38，這樣的情形可以藉由活化 PERK 使得細胞生長暫時停止而抵抗細胞凋亡來保護細胞，雖然有此條保護路徑，但 p38 還是有可能誘導細胞走向凋亡 [Ranganathan et al., 2006]。另外當細胞受到去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激 24 小時後，其 MAPK 蛋白 ERK 的表現量是增加的表示細胞有受到保護可抵抗細胞凋亡，但是到了 48 小時 ERK 表現量開始減少，顯示了細胞無法再經由 ERK 來調控自己避免走向凋亡 [Urano et al., 2000]。至於另一個內質網壓力的感受器 PERK 活化路徑部分，於我們的實驗中發現細胞受到去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激後其 eIF2α 蛋白質的磷酸化程度是減少的 [圖七]，因此推想細胞無法再避免過多的蛋白質堆積在內質網，可能導致細胞走向凋亡。由於實驗中發現 MAPK 蛋白質 p38 被活化 [圖六]，顯示上游的內質網壓力感受器 IRE1 可能是被活化的，因此 IRE1 可能會招集 proapoptotic BAX 和 BAK 與 IRE1 直接結合而作用 [Hetz et al., 2006]，而導致細胞走向凋亡。

在近期一篇文獻發現在具有 HLA-B27 基因的淋巴細胞中會藉由內質網壓力感受器 ATF6 而剪切 XBP-1mRNA [Lemin et al., 2007]，至於在我們的實驗中，CA46 B 淋巴母細胞不管有無受到去莢膜 *K.*

*pneumoniae* 刺激其 XBP-1 mRNA 剪切的情形並無差異 [data not shown]。推測細胞經由細菌刺激後並不會調控 XBP-1 mRNA 而讓細胞多產生伴護蛋白質保護細胞去維持內質網的穩定。

綜合以上闡述，我們推測去莢膜 *K. pneumoniae* CG43 菌株引發 CA46 B 淋巴母細胞產生內質網壓力並伴隨著的調控是趨向於凋亡路徑的。

圖八顯示去莢膜 *K. pneumoniae* 會增強 HLA-B27 promoter 的表現。文獻發現 NF- $\kappa$ B 和 IRF-1 受到 TLRs 而活化，其中 IRF-1 會經由 MyD88 在 TLR 依賴性基因誘導路徑中而活化，進而產生第一型 interferon；而 NF- $\kappa$ B 會受到 TLRs 活化而增強發炎性細胞激素的產生，另外的轉錄因子 Sp1 會受到 p38 所活化而誘導出 IL-10 的表現，從這些猜測去莢膜 *K. pneumoniae* 會經由 TLRs 路徑去活化 HLA-B27 基因而導致發炎反應。至於是何基因是最與 *K. pneumoniae* 相關並且真正參與了僵直性脊椎炎的致病機轉，是值得深入探討的方向。去莢膜 *K. pneumoniae* 是否是經由 TLR 走向 NF- $\kappa$ B 等路徑而活化 HLA-B27 基因的表現，以及往下游繼續活化造成後續的發炎反應可再做進一步研究。

## 五、結論

去莢膜 *K. pneumoniae* CG43 菌株會誘導免疫細胞高度調節 BiP 和 Calreticulin 而啟動內質網壓力，這免疫細胞包括有 CA46 B 淋巴母細胞和 Jurkat T 淋巴母細胞以及 U937 單核球細胞，先前結果顯示具有 HLA-B27 基因的 CA46 B 淋巴母細胞受到去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激後會有 HLA-B27 雙體產生以及 Caspase12、p38 活化與 ERK 不活化的現象。另外將 HLA-B27 promoter 載體轉染送進 U937 單核球細胞後，給予去莢膜 *K. pneumoniae* 刺激會增強 HLA-B27 promoter 的強度。綜合結果，我們假設 *K. pneumoniae* 可能可以導致免疫系統辨認自體抗原及調節細胞

激素之表現，進而造成慢性發炎反應。

## 六、計畫成果自評

過去對於造成免疫疾病的發生，細菌等微生物所扮演的角色多是提供模擬自體抗原而誘導自體免疫疾病的發生。我們的研究中發現，*K. pneumoniae* 可誘導免疫細胞產生 ER stress 並進一步影響 HLA-B27 的表現。此現象將可做為除分子模擬學說之外，另一種誘導僵直性脊椎炎的重要機制。

## 七、參考文獻

- Bernasconi NL, Traggiai E, and Lanzavecchia A. Maintenance of serological memory by polyclonal activation of human memory B cells. *Science*. 2002 Dec 13;298(5601):2199-2202.
- Boyle LH, Goodall JC, Opat SS, and Gaston JS. The recognition of HLA-B27 by human CD4(+) T lymphocytes. *J Immunol*. 2001 Sep 1;167(5):2619-2624.
- Colbert RA. The immunobiology of HLA-B27: variations on a theme. *Curr Mol Med*. 2004 Feb; 4(1):21-30.
- Dangoria NS, DeLay ML, Kingsbury DJ, Mear JP, Uchanska-Ziegler B, Ziegler A, and Colbert RA. HLA-B27 misfolding is associated with aberrant intermolecular disulfide bond formation (dimerization) in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem*. 2002 Jun 28;277(26):23459-23468.
- El Maghraoui A, Borderie D, Cherruau B, Edouard R, Dougados M, and Roux C. Osteoporosis, body composition, and bone turnover in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*. 1999 Oct;26(10):2205-2209.
- Edwards JC and Cambridge G. B-cell targeting in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol*. 2006 May;6(5):394-403.
- El Maghraoui A. Osteoporosis and ankylosing spondylitis. *Joint Bone Spine*. 2004 Jul;71(4):291-295.
- Hetz C, Bernasconi P, Fisher J, Lee AH, Bassik MC, Antonsson B, Brandt GS, Iwakoshi NN, Schinzel A, Glimcher LH, and Korsmeyer SJ. Proapoptotic BAX and BAK modulate the unfolded protein response by a direct interaction with IRE1alpha. *Science*. 2006 Apr 28;312(5773):572-576.
- Lemin AJ, Saleki K, van Lith M, and Benham AM. Activation of the unfolded protein response and alternative splicing of ATF6alpha in HLA-B27 positive lymphocytes. *FEBS Lett*. 2007 May 1;581(9):1819-1824.



- Pasare C and Medzhitov. Control of B cell responses by Toll-like receptors. *Nature* 2005, Nov; 438(17): 364-368.
- Peng SL. Signaling in B cells via Toll-like receptors. *Curr Opin Immunol.* 2005 Jun;17(3):230-236.
- Reveille JD and Arnett FC. Spondyloarthritis: update on pathogenesis and management. *Am J Med.* 2005 Jun; 118(6):592-603.
- Sarikaya S, Basaran A, Tekin Y, Ozdolap S, and Ortancil O. Is osteoporosis generalized or localized to central skeleton in ankylosing spondylitis? *J Clin Rheumatol.* 2007 Feb;13(1):20- 24.
- Tran TM, Satumtira N, Dorris ML, May E, Wang A, Furuta E, and Taurog JD. HLA-B27 in transgenic rats forms disulfide-linked heavy chain oligomers and multimers that bind to the chaperone BiP. *J Immunol.* 2004 Apr 15;172(8):5110-5119.
- Turner MJ, Sowders DP, DeLay ML, Mohapatra R, Bai S, Smith JA, Brandewie JR, Taurog JD, and Colbert RA. HLA-B27 misfolding in transgenic rats is associated with activation of the unfolded protein response. *J Immunol.* 2005 Aug 15;175(4): 2438-2448.
- Turner MJ, Delay ML, Bai S, Klenk E, and Colbert RA. HLA-B27 up-regulation causes accumulation of misfolded heavy chains and correlates with the magnitude of the unfolded protein response in transgenic rats: Implications for the pathogenesis of spondylarthritis - like disease. *Arthritis Rheum.* 2007 Jan; 56(1):215-223.
- Urano F, Wang X, Bertolotti A, Zhang Y, Chung P, Harding HP, and Ron D. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science.* 2000 Jan 28;287(5453):664-666.