

REUMATISMO

Giornale ufficiale della Società Italiana di Reumatologia

Analisi dei linfociti circolanti nella sindrome di Sjögren primitiva

M. ROSADA*, L. COZZI*, G. DE SILVESTRO**, A. CALLIGARO*, F. GENCO*, P. OSTUNI*
U. FIOCCO*, P. GAMBARI*

Estratto dal Volume 42, 4 - 1990

Analisi dei linfociti circolanti nella sindrome di Sjögren primitiva

M. ROSADA*, L. COZZI*, G. DE SILVESTRO**, A. CALLIGARO*, F. GENCO*, P. OSTUNI*, U. FIOCCO*, P. GAMBARI*

Parole chiave: sindrome di Sjögren primitiva - linfociti circolanti - T e B linfociti.

Circulating lymphocytes in primary Sjögren syndrome

Key words: primary Sjögren syndrome - circulating lymphocytes - T and B lymphocytes

Summary

Sjögren's syndrome is an autoimmune disease characterized by overt immunological abnormalities, such as polyclonal B lymphocyte activation, probably T-cell induced. These findings are more evident in the sites of inflammation, like in the salivary and lacrimal glands.

In the peripheral blood of 15 patients affected with primary Sjögren's syndrome and 10 healthy controls, we evaluated the B and T cell subpopulations by cytofluorographic analysis, performed with various monoclonal antibodies (OKT3, OKT4, OKT8, OKDR, OKB7, TecMLR4).

In comparison with controls we found low B-cell counts (168 ± 95 versus 274 ± 67 , $p < 0.01$) as well as T-cell counts (1385 ± 550 versus 1842 ± 357 , $p < 0.05$), along with a decrease in CD8 cytotoxic/suppressor cells (386 ± 160 versus 831 ± 223 , $p < 0.001$), and an increased expression of MLR4 surface antigens on T lymphocytes (138 ± 101 versus 42 ± 31 , $p < 0.05$). Therefore, the expression of the MLR4 molecule, usually present on 5% of the resting T cells, in our patients was increased as is usually found after incubation in autologous mixed lymphocyte reaction.

Our findings suggest that in primary Sjögren's syndrome T-cell abnormalities along with activated T lymphocytes could be responsible for oligo-policlonal B cell-activation.

* *Cattedra e Divisione di Reumatologia, Istituto di Medicina Interna, Università di Padova.*

** *Servizio di Immunoematologia e Trasfusionale, O.C. di Padova.*

Introduzione

La sindrome di Sjögren (SS) è una malattia infiammatoria cronica del tessuto connettivo a patogenesi autoimmune, caratterizzata dall'impegno elettivo del tessuto ghiandolare esocrino, in particolare dalle ghiandole salivari e lacrimali, e dalla aumentata incidenza di linfomi (19) generalmente a cellule B (35) e talora a cellule T (18, 33). Accanto a segni di iperattività dei B linfociti — come la presenza di fattore reumatoide (9, 10), di anticorpi antinucleo con specificità anti-La (SSB) ed anti-Ro (SSA) (1, 2) ed anti-duttuli salivari (11) — alcuni dati sperimentali indicano un'alterata risposta immune T-cellulare.

Sono state infatti descritte una ridotta ipersensibilità ritardata cutanea ed una ridotta risposta a mitogeni, mentre nei tessuti colpiti dalla malattia si trovano abbondanti infiltrati linfocitari (13, 23). Queste anomalie hanno indotto vari Autori ad un'analisi quantitativa e qualitativa del fenotipo di membrana dei linfociti circolanti e presenti negli infiltrati ghiandolari della SS, allo scopo di mettere in luce significativi disordini della immunoregolazione.

I risultati emersi dalle analisi quantitative dei linfociti circolanti non sono stati sempre univoci. La maggior parte degli studiosi concorda nel rilevare una riduzione significativa della frazione CD8+ (3, 12, 22), mentre la percentuale dei linfociti CD4+ sarebbe normale secondo alcuni Autori (12, 21, 22) e diminuita secondo altri (3). Anche la determinazione dei B linfociti ha recato risultati variabili: mentre numerosi studiosi riportano valori normali (24), altri ne rilevano un aumento significativo (3, 17, 22). Queste discordanze possono solo in parte essere spiegate dalla disomogeneità delle casistiche cliniche, comprendenti spesso soggetti in terapia steroidea e/o affetti da SS sia primitiva sia associata ad altre malattie autoimmuni. In questo studio è stata effettuata, in un gruppo di soggetti affetti da SS primitiva, una valutazione quantitativa di alcune sottopopolazioni linfocitarie del sangue periferico, al fine di verificare le principali anomalie nella distribuzione delle stesse sottopopolazioni ed in particolare per rilevare segni di attivazione T-linfocitaria.

Materiali e metodi

1. Casistica clinica

Sono stati studiati 15 pazienti, tutti di sesso femminile, con età media di 47,6 anni (range 33-67) e durata media di malattia di 7,1 anni (range 0,7-20). In accordo con i criteri diagnostici proposti da Fox et al. nel 1986 (14), la diagnosi di SS è stata formulata in base alla presenza di sintomi e segni clinici di xerofthalmia e di xerostomia, la prima confermata dalle anomalie dei tests lacrimali (Schirmer I < 9mm, Rosa Bengala positivo), la seconda coadiuvata da scintigrafia e/o scialografia parotidea. La scintigrafia si considerava positiva quando la concentrazione parotidea di TC 99 pertecnetato era nettamente ritardata e/o ridotta in accordo al grado 2 dei criteri di Schall

modificati (28); mentre la scialografia veniva considerata positiva quando erano presenti dotti assottigliati e microectasie iniziali, in base al grado 1 dello score suggerito da Rubin e Holt (26). Sempre in accordo con i criteri diagnostici succitati, in tutti i pazienti è stata eseguita la biopsia delle ghiandole salivari minori per una valutazione quantitativa degli infiltrati linfocitari, secondo la scala di Chisholm e Mason (5) e sono state eseguite le determinazioni del fattore reumatoide al nefelometro (positività con titolo >60 UI/ml), degli anticorpi antinucleo con tecnica di immunofluorescenza indiretta su tessuto, degli anticorpi anti-ENA (antigeni nucleari estraibili) mediante controimmunolettroforesi (Tabella I).

In tutti i pazienti studiati erano assenti requisiti clinici e bioumorali rispondenti ai criteri classificativi dell'artrite reumatoide (30), del lupus eritematoso sistemico (32) e della sclerodermia (31). Al momento dello studio una paziente era in terapia con 10 mg/die di prednisone da 6 mesi.

Come gruppo di controllo sono stati esaminati 10 soggetti apparentemente sani, comparabili per età e sesso.

Tabella I - Profilo clinico e bioumorale di 15 pazienti affetti da sindrome di Sjögren primitiva.

Pazienti n.	15	Sesso M/F	0/15
Durata malattia (anni): media	7,1	Età (anni): media	47,6
range	0,7-20	range	33-67
Xeroftalmia	14	Anticorpi antinucleo: su tessuto	12
Alterazioni dei tests lacrimali:		anti-Ro (SSA)	9
Shirmer I (<9 mm)	14	anti-La (SSB)	8
Rosa Bengala positivo	13	Fattore Reumatoide (positivo >60 UI/ml)	14
Xerostomia	14	Terapia in atto:	
Scintigrafia e/o scialografia parotídeae positive	15	nessuna	14
		prednisone	1
Biopsia ghiandole salivari minori (stadio G4**)	15		

Legenda: R.B.: test al Rosa Bengala;

** : stadiazione istologica degli infiltrati linfocitari secondo Chisholm e Mason (5).

2. Anticorpi Monoclonali

Sono stati utilizzati i seguenti anticorpi monoclonali del commercio: OKT3, OKT4, OKT8, OKT7 ed OKDR già coniugati con isotiocianato di fluorescina (ITCF), (Orthodiagnostic System, Spa Milano); Tec-MLR4 purificato (Techno Genetics, Srl Milano) e, come secondo reagente, anti-mouse ITCF-coniugato.

L'OKT3 (anti-CD3) evidenzia i T linfociti maturi del sangue periferico tramite legame con la molecola CD3 che è strettamente associato al recettore T (TCR) per il riconoscimento antigenico MHC-ristretto; l'OKT4 (anti-CD4) reagisce con la frazione T-linfocitaria

a funzione amplificatrice nella sintesi immunoglobulinica ed induttrice dei precursori soppressivi e citotossici; l'OKT8 (anti-CD8) riconosce i T linfociti effettori di soppressione e di citotossicità; l'OKB7 (anti-CD21) riconosce il recettore per il C3d e per l'EBV dei B linfociti maturi del sangue periferico; l'OKDR è rivolto verso gli antigeni di classe II del complesso maggiore di istocompatibilità presenti su tutti i B linfociti, sui monociti e sulla frazione T-linfocitaria attivata (20). Infine l'anticorpo Tec-MLR4 è diretto contro un antigene di membrana non ancora definito come cluster di designazione. Le cellule MLR4+ rappresentano il 5% dei linfociti T circolanti, mentre dopo attivazione in reazione mista linfocitaria autologa (AMLR) le stesse diventano il 20-30% dei linfociti T. La frazione MLR4+ è dotata di attività helper per la produzione di immunoglobuline indotta dal pokeweed, mentre non prolifera in risposta ad antigeni solubili. Dopo attivazione in AMLR acquisisce funzione effettrice soppressiva (6, 7).

3. *Analisi citofluorimetrica*

La valutazione del fenotipo di membrana dei linfociti circolanti è stata eseguita mediante citometria a flusso. In sintesi: singole aliquote di sangue venoso periferico eparinato o in EDTA venivano incubate, per 20' a 4°C, con i diversi anticorpi monoclonali in esame; seguiva lisi eritrocitaria con soluzione di cloruro di ammonio. Successivamente veniva effettuata la lettura delle diverse sospensioni cellulari al citofluorimetro (Ortho Cytoron).

4. *Analisi statistica*

I dati percentuali delle frazioni linfocitarie sono stati elaborati mediante test non parametrico di Mann-Whitney, mentre i valori numerici mediante calcolo della t di Student per campioni non appaiati.

Risultati

Nella valutazione dei valori percentuali non si rilevano, rispetto ai controlli, variazioni dei T linfociti CD3+, mentre l'analisi del numero assoluto evidenzia una linfopenia T (1385 ± 550 versus 1842 ± 357 ; $p < 0,05$). La riduzione percentuale dei linfociti a fenotipo CD8+ ($23,8 \pm 6,2$ versus $31,9 \pm 6,5$; $p < 0,005$) è confermata dal calcolo del numero assoluto (386 ± 160 versus 831 ± 223 ; $p < 0,001$). Non sono emerse differenze significative nelle cellule a fenotipo CD4+, mentre i linfociti MLR4+ mostrano un incremento sia nel valore assoluto (138 ± 101 versus 42 ± 31 ; $p < 0,05$) sia nel valore percentuale ($6,5 \pm 3,8$ versus $1,6 \pm 1,0$; $p < 0,01$). I B linfociti circolanti risultano ridotti solo nel confronto numerico (168 ± 95 versus 274 ± 67 ; $p < 0,01$); mentre i linfociti DR+ non mostrano variazioni significative rispetto ai controlli (Tabella II).

Tabella II - Numeri assoluti e percentuali delle frazioni linfocitarie ($m \pm ds$) nel sangue periferico della sindrome di Sjögren primitiva (SS). Confronto con 10 soggetti sani (C).

		CD3+	CD4+	CD8+	MLR4+	CD21 ⁺	HLA-DR+
VALORI ASSOLUTI							
SS	m	1385	850	386	138	168	258
	$\pm ds$	550	441	160	101	95	125
C	m	1842	983	831	42	274	235
	$\pm ds$	357	210	223	31	67	84
1)	p	<0,05	ns	<0,001	<0,05	<0,01	ns
VALORI PERCENTUALI							
SS	m	75,9	45,8	23,8	6,5	9,7	14,6
	$\pm ds$	7,8	12,8	6,2	3,8	5,4	6,1
C	m	71,3	38,2	31,9	1,6	10,5	12,9
	$\pm ds$	6,9	5,9	6,5	1,0	1,5	1,9
2)	p	ns	ns	<0,005	<0,01	ns	ns

Legenda: analisi statistica effettuata mediante test di Student (1) e mediante test di Mann-Whitney (2).

Discussione

La sindrome di Sjögren è contrassegnata da evidenti disordini immunologici, con alterata funzione sia dei B che dei T linfociti.

Le caratteristiche biumorali depongono per un'iperattività B-linfocitaria che secondo vari Autori sarebbe di tipo policlonale (22) e probabilmente T-indotta, vista l'alta percentuale di cellule CD4+ presenti nelle sedi di attività di malattia (14, 29).

In accordo con i dati della letteratura, il nostro studio ha messo in evidenza un calo numerico dei T linfociti, con effettivo deficit dei CD8+ circolanti ad attività soppressiva-citotossica. Questo deficit era stato considerato in precedenza marker aspecifico di autoimmunità, mentre attualmente alcuni Autori lo rivalutano in un ruolo immunopatogenetico di malattia. A questo proposito Rodriguez et al. (25) hanno descritto nella SS primitiva una ridotta funzione soppressiva di queste cellule e più di recente Horsfall et al. (16) hanno ipotizzato nella stessa un difetto del network idiotipico e considerato il linfocita CD8+ come la cellula principalmente deputata al controllo anti-idiotipico. Inoltre già nel 1987 Sato et al (27), mediante doppia colorazione, avevano dimostrato nel sangue periferico della SS un difetto quantitativo dei T linfociti CD4+ 2H4+ (CD4+ CD45R+) ad attività induttrice di soppressione.

Dai nostri risultati non sono emerse variazioni significative della frazione CD4+, mentre segni di attivazione T-linfocitaria sembrano presenti nel sangue periferico come è evidenziato in particolare dall'aumento delle cellule MLR4+ rispetto al gruppo di controllo (7); anche la discrepanza osservabile nella SS tra cellule DR+ e linfociti B, notoriamente DR+, può indirettamente indicare una aumentata espressione dell'antigene DR di classe II sulle cellule T e quindi alla riduzione numerica dei B linfociti identificati mediante il marcatore CD21; infatti l'espressione di tale antigene sembra ridursi in modo

concomitante ad un loro stato di attivazione (15), come sarebbe stato evidenziato nel lupus eritematoso sistemico (34). D'altra parte l'evidente espansione di cellule DR + , oltre che indicare uno stato di attivazione di cellule T, può avvalorare questa ipotesi dal momento che non vi sono altri segni indiretti di riduzione dei B linfociti. Tale aspetto non contrasta con le evidenze già riportate da altri Autori di una possibile espansione di particolari cloni di cellule B contraddistinti dalla espressione di CD5. Questo antigene di membrana, normalmente associato alle cellule T mature, è presente sulle cellule dei linfomi, delle leucemie a cellule T e B, e su un piccolo subset B-linfocitario (2-3%) capace di sintesi anticorpale superiore a quella della restante quota dei B linfociti (4, 8).

Pertanto i nostri risultati, sia pur preliminari, ribadiscono il probabile ruolo della disregolazione T-cellulare nella attivazione anomala delle cellule B. Ulteriori indagini sui T e sui B linfociti di sangue periferico si rendono necessarie al fine di definire preponderanti anomalie di specifici subsets funzionali.

Riassunto

In considerazione delle alterazioni immunologiche cellulo-mediate della sindrome di Sjögren (SS) gli Autori hanno effettuato un preliminare esame quantitativo di alcune sottopopolazioni T e B linfocitarie in 15 pazienti affetti da SS primitiva e, per controllo, in 10 soggetti sani. L'analisi è stata effettuata su campioni di sangue periferico mediante citometria a flusso, con l'impiego di un panel di anticorpi monoclonali comprendente OKT3, OKT4, OKT8, OKB7, OKDR, TecMLR4.

In questo studio è stata confermata in accordo con altri Autori la riduzione dei linfociti T citotossici/suppressor; inoltre è stato messo in evidenza un aumento nell'espressione di un marcatore di attivazione dei T linfociti (TecMLR4), mentre si è rilevata riduzione della frazione B-linfocitaria CD21 + .

Pertanto questa analisi mette in luce la presenza di una quota T-cellulare già attivata in circolo, che potrebbe avere un ruolo importante nella attivazione e proliferazione anomala dei B linfociti.

Bibliografia

1. ALSPAUGH M.A., TALAL N., TAN E.M.: Differentiation and characterization of autoantibodies and their antigens in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* **19**: 216, 1976.
2. ALSPAUGH M.A., TAN E.M.: Antibodies to cellular antigens in Sjögren's syndrome. *J. Clin. Invest.* **55**: 1067, 1975.
3. BAKHSHI A., MIYASAKA N., KAVATHAS P., DANIELS T.E., STRAND C.V., HERZENBERG L.A., TALAL N.: Lymphocyte subsets in Sjögren's syndrome: a quantitative analysis using monoclonal antibodies and the fluorescence-activated cell sorter. *J. Clin. Lab. Immunol.* **10**: 63, 1983.

4. BRENNAN F., PLATER-ZYBERK C., MAINI R.N., FELDMANN M.: Coordination expansion of «fetal type» lymphocytes (TCR yk + T and CD5 + B) in rheumatoid arthritis and primary Sjögren syndrome. *Clin. Exp. Immunol.* **77**: 175, 1989.
5. CHISHOLM D.M., MASON D.K.: Labial salivary gland biopsy in Sjögren's disease. *J. Clin. Pathol.* **21**: 656, 1968.
6. CORTE G., MORETTA L., DAMIANI G., MINGARI M.C., BARGELLES A.: Surface antigens specifically expressed by activated T cells in humans. *Eur. J. Immunol.* **11**: 162, 1981.
7. COSULICH M.E., RISSO A., CANONICA G.W., BARGELLES A.: Functional characterization of a regulatory human T-cell subpopulation increasing during autologous MLR. *Immunology* **57**: 265, 1986.
8. DAUPHINEE M., TOVAR Z., TALAL N.: B cells expressing CD5 are increased in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* **31**: 642, 1988.
9. DUNNE J.V., CARSON D.A., SPIEGELBERG H.L., ALSPAUGH M.A., VAUGHAN J.H.: IgA rheumatoid factor in the sera and saliva of patients with rheumatoid arthritis and Sjögren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* **38**: 161, 1979.
10. ELKON K.B., GHAVARI A.E., PATEL B.M., HUGHES G.R.V., FRANKEL A.: IgA and IgM rheumatoid factors in serum, saliva and other secretions: relationship to immunoglobulin ratios in systemic sicca syndrome and rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* **52**: 75, 1983.
11. FELTKAMP T.E.W., VAN ROSSUM A.L.: Antibodies to salivary duct cells and other autoantibodies in patients with Sjögren's syndrome and other idiopathic autoimmune diseases. *Clin. Exp. Immunol.* **3**: 1, 1968.
12. FOX R.I., CARSTENS S.A., FONG S., ROBINSON S.A., HOWELL F., VAUGHAN J.H.: Use of monoclonal antibodies to analyse peripheral blood and salivary gland lymphocyte subsets in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* **25**: 419, 1982.
13. FOX R.I., HOWELL F.V., BONE R.C., MICHELSON P.: Primary Sjögren's syndrome. Clinical and immunopathological features. *Semin. Arthritis Rheum.* **14**: 77, 1984.
14. FOX R.I., ROBINSON C.A., CURD J.G., KOZIN F., HOWELL F.V.: Sjögren's syndrome. Proposed criteria for classification. *Arthritis Rheum.* **29**: 577, 1986.
15. HILDEBRANDT S., VON DER HEYDT I., VON WICHERT P.: Expression of CD21, CD22, and the mouse erythrocyte receptor on peripheral B lymphocytes in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* **47**: 588, 1988.
16. HORSFALL A.C., MUMFORD P.A., VENABLES P.J.W., MAINI R.N.: Anti-idiotypic induced suppression of Sjögren's syndrome associated anti-La autoantibody secretion in vitro. *Clin. Exp. Immunol.* **71**: 62, 1988.
17. ICHIKAWA Y., SHIMIZU H., TAKAHASHI K., YOSHIDA M., MORIUCHI J., TAKAYA M., ARIMORI S.: Lymphocyte subsets of peripheral blood in Sjögren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Immunol.* **7**: 55, 1989.
18. ISENBERG D.A., GRIFFITHS M.H., RUSTIN M., WEBB F.W.S., SOUHAMI R.L.: T cell lymphoma in a patient with longstanding rheumatoid arthritis and Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* **30**: 115, 1987.
19. KASSAN S.S., THOMAS T.L., MOUTSOPOULOS H.M., HOOVER R., KIMBERLY R.P., BUDMAN D.R., COSTA J., DECKER J.L., CHUSED T.M.: Increased risk of lymphoma in sicca syndrome. *Ann. Intern. Med.* **89**: 888, 1978.
20. LAMPSON L.A., LEVY R.: Two population of Ia-like moleculars on a human B cell line. *J. Immunol.* **25**: 293, 1980.
21. MELENDRO E.L., SALDATE C., RIVERO S.J., ALARCON-SEGOVIA D.: T-cell subpopulations in the peripheral blood of patients with connective tissue diseases as determined by flow cytometry using monoclonal antibodies. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **27**: 340, 1983.
22. MORIMOTO C., REINHERZ E.L., NADLER L.M., DISTASO J.A., STEINBERG A.D., SCHLOSSMAN S.F.: Comparison in T- and B-cell markers in patients with Sjögren's syndrome and Systemic Lupus Erythematosus. *Clin. Immunol. Immunopathol.* **22**: 270, 1982.

23. MOUTSOPOULOS H.M., CHUSED T.M., MANN D.L., KLIPPEL J.H., FAUCI A.S., FRANK M.M., LAWLEY T.J., HAMBURGER M.I.: Sjögren's syndrome (Sicca Syndrome) current issues. *Ann. Intern. Med.* **92**: 212, 1980.
24. MOUTSOPOULOS H.M., FAUCI A.S.: Immunoregulation in Sjögren's syndrome. Influence of serum factors on T-cell subpopulations. *J. Clin. Invest.* **65**: 519, 1980.
25. RODRIGUEZ M.A., BAROJA M.L., LEON-PONTE M., ABADI I.: Abnormal immunoglobulin and rheumatoid factor synthesis by blood lymphocytes in patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* **29**: 1446, 1986.
26. RUBIN P., HOLT J.F.: Secretory sialography in diseases of major salivary glands. *Am. J. Roentgenol.* **77**: 575, 1957.
27. SATO K., MIYASAKA N., YAMAOKA K., OKUDA M., YATA J., NISHIOKA K.: Quantitative defect of CD4+ 2H4+ cells in systemic lupus erythematosus and Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* **30**: 1407, 1987.
28. SCHALL G.L., ANDERSON L.G., WOLF R.O.: Xerostomia in Sjögren's syndrome: evaluation by sequential salivary scintigraphy. *J.A.M.A.* **216**: 2109, 1972.
29. SEGERBERG-KONTTINEN M., BERGROTH V., JUNGELL P., MALMSTROMM M., NORDSTROM D., SANE J., IMMONEN I., KONTTINEN Y.T.: T lymphocyte activation state in the minor salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *Ann. Rheum. Dis.* **46**: 649, 1987.
30. SUBCOMMITTEE FOR RHEUMATOID ARTHRITIS CRITERIA OF THE DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC CRITERIA COMMITTEE OF THE AMERICAN RHEUMATISM ASSOCIATION: Revised criteria for the classification of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum.* **31**: 315, 1988.
31. SUBCOMMITTEE FOR SCLERODERMA CRITERIA OF THE AMERICAN RHEUMATISM ASSOCIATION DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC CRITERIA COMMITTEE: Preliminary criteria for the classification of Systemic Sclerosis (scleroderma). *Arthritis Rheum.* **23**: 581, 1980.
32. TAN E., COHEN A.S., FRIES J.F.: The 1982 criteria for the classification of Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum.* **25**: 1271, 1986.
33. WILKE W.S., TUBBS R.R., BUKOWSKI R.M. et al.: T-cell lymphoma occurring in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* **27**: 951, 1984.
34. WILSON J.G., RATNOFF W.D., SCHUR P.H., FEARON D.T.: Decreased expression of the C3b/C4b receptor (CR1) and the C3d receptor (CR2) on B lymphocytes and of CR1 on neutrophils of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **29**: 739, 1986.
35. ZULMAN J., RAFFE R., TALAL N.: Evidence that the malignant lymphoma of Sjögren's syndrome is a monoclonal B-cell neoplasm. *N. Engl. J. Med.* **299**: 1215, 1978.