

Revisión

Micropartículas como sustrato antigénico en lupus eritematoso sistémico

Carolina Muñoz Grajales^{a,*} y Gloria María Vásquez Duque^{b,c}

^a Sección de Reumatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

^b Sección de Reumatología, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

^c Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 31 de enero de 2012

Aceptado el 27 de abril de 2012

On-line el 8 de julio de 2012

Palabras clave:

Micropartículas

Autoantígenos

Lupus eritematoso sistémico

Keywords:

Microparticles

Autoantigens

Systemic lupus erythematosus

R E S U M E N

Las micropartículas (MP) son un grupo heterogéneo de vesículas derivadas de la membrana plasmática de diferentes tipos de células durante la apoptosis y la activación celular, que participan en la comunicación intercelular, hemostasia, angiogénesis, reactividad vascular e inflamación. En pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) se ha observado incremento en algunos tipos de MP circulantes. Recientemente se ha propuesto que estas estructuras pueden participar como fuente de autoantígenos en LES.

© 2012 Sociedad Española de Inmunología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Microparticles as antigenic substrate in Systemic lupus erythematosus

A B S T R A C T

Microparticles (MPs) are a heterogeneous group of vesicles generated from the plasma membranes of different cell types during apoptosis and cell activation. They are involved in intercellular communication, haemostasis, angiogenesis, vascular reactivity and inflammation. An increase in some types of circulating MPs has been observed in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). It has recently been proposed that these structures may act as a source of autoantigens in SLE.

© 2012 Sociedad Española de Inmunología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La cromatina, sus componentes individuales (ADN de doble cadena e histonas) y diversos tipos de ARN son sustrato antigénico en LES, induciendo la producción de autoanticuerpos

y complejos inmunes implicados en la patogenia de esta enfermedad¹. El reconocimiento de micropartícula (MP) generadas durante la activación o muerte celular con capacidad de transportar en su superficie ADN y en su interior ADN y ARN, sugiere que las MP pueden, por receptores tipo Toll en linfocitos B autorreactivos y células dendríticas plasmacitoides

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: carito_mg_sp@yahoo.com (C. Muñoz Grajales).

0213-9626/\$ – see front matter © 2012 Sociedad Española de Inmunología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.inmuno.2012.04.001>

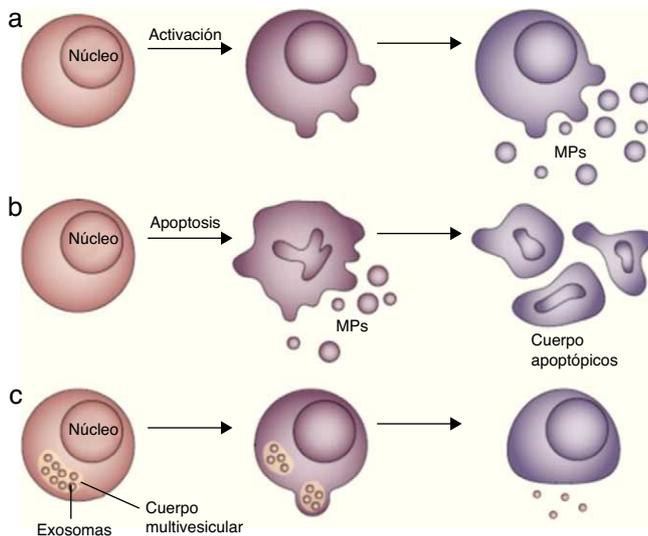


Figura 1 - Los cuerpos apoptóticos (b) a diferencia de las MP (a), se producen durante las fases tardías de la apoptosis, son de mayor tamaño (1-4 μm) y generalmente son fagocitados sin generar inflamación; por su parte los exosomas (c) se forman intracelularmente por vesiculación interna de compartimientos endosómicos, se almacenan en cuerpos multivesiculares y se secretan por exocitosis. Modificada de: Beyers C, Pisetsky DS³.

(CDp), comportarse como adyuvantes antigénicos y participar en la patogenia del lupus eritematoso sistémico (LES)². Adicionalmente las partículas derivadas de membrana plasmática tienen propiedades protrombóticas y proinflamatorias³ que pudieran tener implicación en algunas de las complicaciones de esta enfermedad.

Definición, producción, composición y funciones

Las MP son pequeñas vesículas (0,1 a 1 μm) intactas, liberadas de la membrana plasmática de diferentes tipos de células (plaquetas, monocitos, linfocitos, eritrocitos, neutrófilos y células endoteliales, principalmente) durante los procesos de activación celular o de apoptosis⁴⁻⁷. Fueron identificadas por primera vez en 1967 como residuos celulares inertes («polvo de plaquetas») pero estudios y observaciones posteriores permitieron reconocerlas como estructuras subcelulares funcionalmente activas⁸. En el plasma de individuos sanos se encuentra una concentración basal de MP de $10^5 - 10^6$ PMV/ml (vesículas derivadas de membrana plasmática por ml)⁹.

Las MP se diferencian estructural y funcionalmente de los cuerpos apoptóticos y de los exosomas (fig. 1). Los primeros, en contraste con las MP, se producen durante las fases tardías de la apoptosis, son de mayor tamaño (1-4 μm) y generalmente son fagocitados sin generar inflamación; sin embargo, cuando se alteran los mecanismos de depuración pueden ser fuente de autoantígenos. Por su parte, el término exosoma se restringe para las vesículas más pequeñas que las MP (≤ 100 nm) que son liberadas extracelularmente como consecuencia de fusión de cuerpos multivesiculares con la membrana plasmática.

Los exosomas son abundantes en líquidos corporales y al igual que las MP son secretados por muchos tipos de células^{10,11}. Recientemente se ha demostrado que los exosomas provenientes de CDp contienen distintos tipos de microARN que pueden transferir a células blanco interfiriendo con su ARN mensajero¹¹⁻¹⁴. También se ha descrito que los exosomas expresan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I y II y moléculas coestimuladoras^{5,10}. Al igual que las MP, se ha propuesto que los exosomas tienen diferentes funciones fisiológicas que varían según la célula de origen: coagulación, regulación inmune, migración celular, diferenciación celular, entre otros y se han implicado en la patogénesis de diferentes enfermedades como tumores, enfermedad cardiovascular, enfermedades neurodegenerativas e infecciones virales, pero hasta el momento no se ha estudiado su participación en LES¹⁰⁻¹⁴.

Por su parte, las MP se generan durante la activación celular o la apoptosis temprana mediante la formación de proyecciones en la membrana celular que pueden desprenderse de la célula por escisión de su tallo de unión. Este proceso es debido a la reorganización del citoesqueleto. Durante la activación celular esta reorganización es secundaria a enzimas dependientes de calcio como calpaína que degrada proteínas estructurales del citoesqueleto. En la apoptosis se produce por activación de cinasas intracelulares (ROCK) que fosforilan las cadenas ligeras de miosina permitiendo el desarrollo de fuerzas de contracción y de deslizamiento^{12,15}. En ambos procesos el incremento del calcio citosólico altera las enzimas que mantienen la asimetría de la bicapa lipídica (scramblasa, floppasa, flippasa) permitiendo la exteriorización de fosfolípidos aniónicos, principalmente fosfatidilserina^{8,16}.

Las MP pueden contener en su superficie receptores de quimioquinas, moléculas de adhesión, marcadores como MHC clase II y algunas moléculas coestimuladoras, factor tisular, diferentes tipos de ligandos, ADN, fosfolípidos (fosfatidilserina), entre otros; y en su interior, proteínas derivadas del citosol, el retículo endoplásmico y el núcleo, incluyendo las histonas, y ARN (ARN mensajero, microARN, ARN de cadena sencilla), de la célula origen^{11,17,18}. Los marcadores de superficie que expresan permiten reconocer la célula de procedencia¹⁹⁻²¹.

Las MP participan en hemostasia, angiogénesis (induciendo la producción de factor de crecimiento de endotelio vascular), regulación del tono vascular (mediante liberación de prostaciclina, favoreciendo la inhibición o la producción de óxido nítrico y expresando tromboxano A2), comunicación intercelular (funcionando como vectores de información entre diferentes tipos de células) y en respuesta inflamatoria^{19,22,23}. Como mediadores inflamatorios tienen la capacidad de aumentar la sensibilidad de las células a nuevos estímulos por medio de la transferencia intercelular de receptores de quimioquinas, inducir la expresión de moléculas de adhesión y la producción de IL6, IL1 β y proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1) en células endoteliales, favorecer el rodamiento de leucocitos y el contacto célula-célula, transferir ácido araquidónico a leucocitos y células endoteliales, y activar la vía clásica del complemento. También pueden participar transportando Fas ligando hasta su receptor celular, adquiriendo una capacidad proapoptótica mayor que el Fas ligando soluble; y ser fuente de aminofosfolípidos que a su vez

son sustrato de la fosfolipasa A2 soluble para la producción de ácido lisofosfatídico^{3,4,24-26}.

Las MP tienen diferentes mecanismos para interactuar con otras células, transferir su contenido y ejercer las funciones descritas, como son: unión de las moléculas que contienen en la superficie con receptores de membrana de la célula blanco, fusión directa con la membrana plasmática o pueden ser endocitadas. Las MP endocitadas pueden fusionarse con la membrana del endosoma o sufrir transcistosis^{5,27}.

Participación en patología

Se ha observado incremento en el número de MP en diferentes enfermedades; principalmente neoplasias, diabetes mellitus, enfermedad cardiovascular y enfermedades autoinmunes (artritis reumatoide, síndrome antifosfolípido, síndrome de Sjögren y LES)^{4,24,28,29}. La participación de las MP en la patología de estas enfermedades se ha relacionado con su potencial proinflamatorio y protrombótico, este último dado por la expresión en su superficie de factor tisular, múltiples de von Willebrand y de aminofosfolípidos que ofrecen sitios de unión a los factores de la coagulación IXa, VIII, Va y IIa, favoreciendo el ensamblaje del complejo protrombinasa¹⁹. Los mecanismos por los cuales las MP se incrementan y escapan a su regulación, perdiendo su papel fisiológico convirtiéndose en agentes de daño, pueden ser diferentes para cada enfermedad.

Sustrato antigénico en lupus eritematoso sistémico

El LES se caracteriza por la producción de anticuerpos dirigidos contra autoantígenos nucleares y citoplasmáticos, principalmente: ADN de doble cadena, nucleosoma, histonas y ARN³⁰⁻³³. Las MP pueden contener estas moléculas, constituyendo una fuente de autoantígenos en este grupo de pacientes.

Algunos estudios han observado que la concentración y composición de las MP en pacientes con LES es diferente. Los trabajos iniciales reportaban incremento en el número de MP en pacientes con LES^{3,34-37}, sin embargo, estudios más recientes han demostrado disminución en el recuento de MP derivadas de plaquetas y leucocitos en pacientes con LES, cuando hay concentraciones elevadas de IgG unida a MP, e incremento de las MP derivadas de células endoteliales³⁸⁻⁴⁰. Se ha encontrado aumento en la concentración de C1q, IgG e IgM unidas a MP, en pacientes con LES respecto a controles sanos³⁹.

La presencia de IgG en la superficie de la MP, se ha asociado con aumento en antiADN, anticuerpos contra antígenos extractables del núcleo y anticuerpos antiC1q, así mismo con consumo del complemento³⁹.

La alteración en la depuración y el aumento en la actividad celular y la apoptosis pueden ser los mecanismos responsables de los cambios en la concentración y composición de las MP en LES⁴¹⁻⁴⁴.

Dado la posibilidad de contener autoantígenos en su interior o en la superficie, Pisetsky y Lipsky han propuesto a estas vesículas derivadas de membrana plasmática como probables mediadores de interacción entre ADN y ARN con componentes del sistema inmune, principalmente CDp y linfocitos B autorreactivos². Las MP pudieran comportarse como

adyuvantes potenciando la capacidad inmunogénica del ADN (inactivo en forma libre) y el ARN que contienen, al facilitar la interacción con receptores de linfocitos B (BCR) y con receptores de reconocimiento de patrones (PRR) ubicados intracelularmente^{2,45}.

En el modelo planteado por Pisetsky y Lipsky, las MP participan como sustrato antigénico y adyuvantes tanto en activación celular como en tolerancia central. Respecto a la participación en tolerancia central se propone que en médula ósea el BCR de linfocitos B inmaduros reconoce moléculas de ADN localizadas en la superficie de las MP con mayor avidéz, lo cual promueve la delección o selección negativa de estos linfocitos^{2,46,47}. En la periferia, el modelo postula que en pacientes con LES en quienes confluyen diferentes alteraciones en los puntos de control de la regulación de la tolerancia, favoreciendo la presencia de linfocitos autoreactivos⁴¹, estos pueden reconocer el ADN expresado en la superficie de las MP. El linfocito B que ha unido la MP por medio de su BCR la endocita y una vez en su interior el ADN y el ARN contenidos en la microvesícula interactúa con receptores endosomales tipo Toll 9 y 7 (TLR9 y TLR7)⁴⁸⁻⁵¹, y con receptores de reconocimiento de patrones no Toll. La activación de los TLR genera las señales intracelulares necesarias para la activación y diferenciación de linfocitos B, constituyendo un mecanismo de producción de autoanticuerpos independiente de linfocitos T^{49,50,52}.

Por otra parte, las CDp que expresan constitutivamente TLR 7 y 9, pueden reconocer MP a través de CD32 y endocitarlas, facilitando el contacto de su contenido con estos receptores⁵³. La activación de TLR en estas CDp conduce a su maduración y a la producción de IL6, quimioquinas e interferón alfa (INF- α) que a su vez aumenta la expresión de TLR7 en CDp e induce su maduración convirtiéndolas en presentadoras de antígenos más eficientes debido al incremento en los niveles de moléculas coestimuladoras en su superficie y favoreciendo la producción de factores de supervivencia para linfocitos B⁵⁴.

Este nuevo concepto, basado en el contenido de ácidos nucleicos en las MP, las presenta como una rica fuente de autoantígenos y mediadores de interacción con linfocitos B y con células dendríticas plasmacitoides, en pacientes con LES (fig. 2).

Conclusiones

Las MP son estructuras pleiotrópicas que interactúan con diferentes tipos de células. Pueden participar en la patología de diversas enfermedades debido a sus propiedades proinflamatorias y protrombóticas.

Estudios recientes han encontrado diferencias en la composición y concentración de MP en pacientes con LES, resaltando el aumento en la concentración de IgG en la superficie de las MP, y su correlación con antiADN y otros autoanticuerpos importantes en la patogénesis del lupus y sus manifestaciones clínicas.

La presencia de ácidos nucleicos en la superficie y el interior de las MP las convierte en una rica fuente de autoantígenos; en el contexto del LES, el cual se caracteriza por la formación de autoanticuerpos dirigidos contra estos antígenos, las MP desempeñarían un papel fundamental como sustrato antigénico.

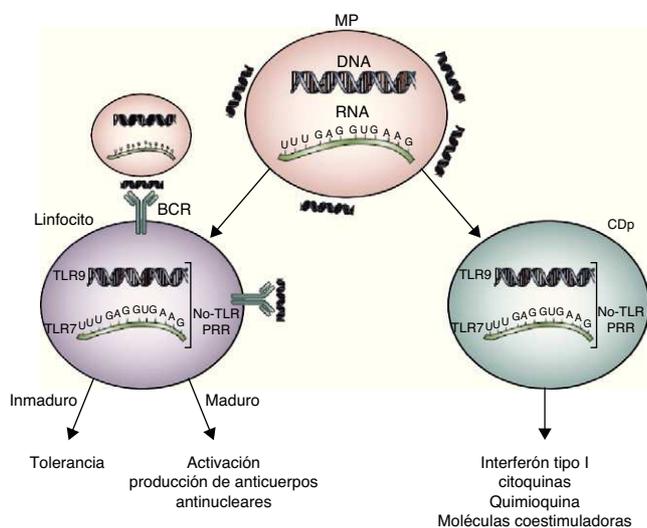


Figura 2 – Probable interacción de MP con linfocito B y célula dendrítica plasmacitoide (CDp), en LES. Las MP pudieran comportarse como adyuvantes potenciando la capacidad inmunogénica del ADN y el ARN que contienen, al facilitar la interacción con receptores de linfocitos B (BCR) y con receptores de reconocimiento de patrones (PRR) ubicados intracelularmente. El BCR de linfocitos B inmaduros reconoce moléculas de ADN localizadas en la superficie de las MP con mayor avidez, lo cual promueve la delección de estos linfocitos. Las CDp que expresan constitutivamente TLR 7 y 9 pueden reconocer MP a través de CD32 y endocitarlas, facilitando el contacto de su contenido con estos receptores. La activación de TLR en estas CDp conduce a su maduración y a la producción de IL6, quimioquinas e interferon alfa (INF- α) que a su vez aumenta la expresión de TLR7 en CDp. Modificado de Pisetsky DS, Lipsky PE².

La propuesta de que las MP facilitan la interacción con receptores tipo Toll en linfocitos B tanto a nivel central como periférico, y en células dendríticas plasmacitoides, introduce a las MP en un escenario nuevo, adicional al conocido de proinflamación y protrombosis.

Es necesario realizar más estudios que respalden el papel de las MP en la patogénesis del LES, y ayuden a establecer su utilidad como biomarcadores.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pisetsky DS, Ullal AJ. The blood nucleome in the pathogenesis of SLE. *Autoimmun Rev.* 2010;10:35-7.
2. Pisetsky DS, Lipsky PE. Microparticles as autoadjuvants in the pathogenesis of SLE. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6:368-72.
3. Beyer C, Pisetsky DS. The role of microparticles in the pathogenesis of rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6:21-9.

4. Ardoin SP, Shanahan JC, Pisetsky DS. The role of microparticles in inflammation and thrombosis. *Scand J Immunol.* 2007;66:159-65.
5. Cocucci E, Racchetti G, Meldolesi J. Shedding microvesicles: artefacts no more. *Trends Cell Biol.* 2009;19:43-51.
6. Hind E, Heugh S, Ansa-Addo EA, Antwi-Baffour S, Lange S, Inal J. Red cell PMVs, plasma membrane-derived vesicles calling out for standards. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;4:465-9.
7. Ardoin SP, Pisetsky DS. The role of cell death in the pathogenesis of autoimmune disease: HMGB1 and microparticles as intercellular mediators of inflammation. *Mod Rheumatol.* 2008;4:319-26.
8. Piccin A, Murphy WG, Smith OP. Circulating microparticles: pathophysiology and clinical implications. *Blood Rev.* 2007;21:157-71.
9. Pisetsky DS. Microparticles as biomarkers in autoimmunity: from dust bin to center stage. *Arthritis Res Ther.* 2009;11:135-6.
10. Zomer A, Vendrig T, Hopmans ES, Van Eijndhoven M, Middeldorp JM, Pegtel DM. Exosomes: fit to deliver small RNA. *Commun Integr Biol.* 2010;3:447-50.
11. Stoorvogel W. Functional transfer of microRNA by exosomes. *Blood.* 2012;119:646-8.
12. Admyre C, Grunewald J, Thyberg J, Gripenback S, Tornling G, Eklund A, et al. Exosomes with major histocompatibility complex class II and co-stimulatory molecules are present in human BAL fluid. *Eur Respir J.* 2003;22:578-83.
13. Wang Z, Milosevic J, Tkacheva OA, Divito SJ, Jordan R, Lyons-Weiler J, et al. Mechanism of transfer of functional microRNAs between mouse dendritic cells via exosomes. *Blood.* 2012;119:756-66.
14. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol.* 2007;9:654-9.
15. VanWijk MJ, VanBavel E, Sturk A, Nieuwland R. Microparticles in cardiovascular diseases. *Cardiovasc Res.* 2003;59:277-87.
16. Distler JH, Pisetsky DS, Huber LC, Kalden JR, Gay S, Distler O. Microparticles as regulators of inflammation: novel players of cellular crosstalk in the rheumatic diseases. *Arthritis Rheum.* 2005;52:3337-48.
17. Simak J, Gelderman MP. Cell membrane microparticles in blood and blood products: potentially pathogenic agents and diagnostic markers. *Transfus Med Rev.* 2006;20:1-26.
18. Reich 3rd CF, Pisetsky DS. The content of DNA and RNA in microparticles released by Jurkat and HL-60 cells undergoing in vitro apoptosis. *Exp Cell Res.* 2009;315:760-8.
19. Pap E, Pallinger E, Pasztoi M, Falus A. Highlights of a new type of intercellular communication: microvesicle-based information transfer. *Inflamm Res.* 2009;58:1-8.
20. Nomura S, Ozaki Y, Ikeda Y. Function and role of microparticles in various clinical settings. *Thromb Res.* 2008;123:8-23.
21. Kolowos W, Gaip US, Sheriff A, Voll RE, Heyder P, Kern P, et al. Microparticles shed from different antigen-presenting cells display an individual pattern of surface molecules and a distinct potential of allogeneic T-cell activation. *Scand J Immunol.* 2005;61:226-33.
22. Pisetsky DS, Gauley J, Ullal AJ. Microparticles as a source of extracellular DNA. *Immunol Res.* 2011;49:227-34.
23. Ratajczak J, Wysoczynski M, Hayek F, Janowska-Wieczorek A, Ratajczak MZ. Membrane-derived microvesicles: important and underappreciated mediators of cell-to-cell communication. *Leukemia.* 2006;20:1487-95.
24. Martinez MC, Tesse A, Zobairi F, Andriantsitohaina R. Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells

- in regulating vascular function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288:1004-9.
25. Distler JH, Huber LC, Gay S, Distler O, Pisetsky DS. Microparticles as mediators of cellular cross-talk in inflammatory disease. *Autoimmunity.* 2006;39:683-90.
 26. Boulanger CM, Amabile N, Tedgui A. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease. *Hypertension.* 2006;48:180-6.
 27. Distler JH, Distler O. Inflammation: Microparticles and their roles in inflammatory arthritides. *Nat Rev Rheumatol.* 2010;6:385-6.
 28. Quesenberry PJ, Aliotta JM. Cellular phenotype switching and microvesicles. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62:1141-8.
 29. Hugel B, Martinez MC, Kunzelmann C, Freyssinet JM. Membrane microparticles: two sides of the coin. *Physiology (Bethesda).* 2005;20:22-7.
 30. Gaipf US, Munoz LE, Grossmayer G, Lauber K, Franz S, Sarter K, et al. Clearance deficiency and systemic lupus erythematosus (SLE). *J Autoimmun.* 2007;28:114-21.
 31. Amoura Z, Koutouzov S, Chabre H, Cacoub P, Amoura I, Musset L, et al. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases: antinucleosome antibodies of the IgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2000;43:76-84.
 32. Su KY, Pisetsky DS. The role of extracellular DNA in autoimmunity in SLE. *Scand J Immunol.* 2009;70:175-83.
 33. Bruns A, Blass S, Hausdorf G, Burmester GR, Hiepe F. Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2000;43:2307-15.
 34. Antwi-Baffour S, Kholia S, Aryee YK, Ansa-Addo EA, Stratton D, Lange S, et al. Human plasma membrane-derived vesicles inhibit the phagocytosis of apoptotic cells—possible role in SLE. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;398:278-83.
 35. Sellam J, Proulle V, Jungel A, Ittah M, Miceli Richard C, Gottenberg JE, et al. Increased levels of circulating microparticles in primary Sjogren's syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis and relation with disease activity. *Arthritis Res Ther.* 2009;11:R156-66.
 36. Joseph JE, Harrison P, Mackie IJ, Isenberg DA, Machin SJ. Increased circulating platelet-leucocyte complexes and platelet activation in patients with antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Br J Haematol.* 2001;115:451-9.
 37. Nagahama M, Nomura S, Ozaki Y, Yoshimura C, Kagawa H, Fukuhara S. Platelet activation markers and soluble adhesion molecules in patients with systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity.* 2001;33:85-94.
 38. Ullal AJ, Reich 3rd CF, Clowse M, Criscione-Schreiber LG, Tochacek M, Monestier M, et al. Microparticles as antigenic targets of antibodies to DNA and nucleosomes in systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun.* 2011;36:173-80.
 39. Nielsen CT, Ostergaard O, Stener L, Iversen LV, Truedsson L, Gullstrand B, et al. Increased IgG on cell-derived plasma microparticles in systemic lupus erythematosus is associated with autoantibodies and complement activation. *Arthritis Rheum.* 2012;64:1227-36.
 40. Nielsen CT, Østergaard O, Johnsen C, Jacobsen S, Heegaard NH. Distinct features of circulating microparticles and their relationship to clinical manifestations in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2011;63:3067-77.
 41. Pereira J, Alfaro G, Goycoolea M, Quiroga T, Ocqueteau M, Massardo L, et al. Circulating platelet-derived microparticles in systemic lupus erythematosus. Association with increased thrombin generation and procoagulant state. *Thromb Haemost.* 2006;95:94-9.
 42. Distler JH, Huber LC, Hueber AJ, Reich 3rd CF, Gay S, Distler O, et al. The release of microparticles by apoptotic cells and their effects on macrophages. *Apoptosis.* 2005;10:731-41.
 43. Munoz LE, Gaipf US, Franz S, Sheriff A, Voll RE, Kalden JR, et al. SLE—a disease of clearance deficiency? *Rheumatology (Oxford).* 2005;44:1101-7.
 44. Kaplan MJ. Apoptosis in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 2004;112:210-8.
 45. Müller S, Dieker J, Tincani A, Meroni PL. Pathogenic anti-nucleosome antibodies. *Lupus.* 2008;17:431-6.
 46. Yurasov S, Wardemann H, Hammersen J, Tsuiji M, Meffre E, Pascual V, et al. Defective B cell tolerance checkpoints in systemic lupus erythematosus. *J Exp Med.* 2005;201:703-11.
 47. Tussiwand R, Bosco N, Ceredig R, Rolink AG. Tolerance checkpoints in B-cell development: Johnny B good. *Eur J Immunol.* 2009;39:2317-24.
 48. Lau CM, Broughton C, Tabor AS, Akira S, Flavell RA, Mamula MJ, et al. RNA-associated autoantigens activate B cells by combined B cell antigen receptor/Toll-like receptor 7 engagement. *J Exp Med.* 2005;202:1171-7.
 49. Lanzavecchia A, Sallusto F. Toll-like receptors and innate immunity in B-cell activation and antibody responses. *Curr Opin Immunol.* 2007;19:268-74.
 50. Deane JA, Bolland S. Nucleic acid-sensing TLRs as modifiers of autoimmunity. *J Immunol.* 2006;177:6573-8.
 51. Graham KL, Utz PJ. Sources of autoantigens in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2005;17:513-7.
 52. Christensen SR, Shlomchik MJ. Regulation of lupus-related autoantibody production and clinical disease by Toll-like receptors. *Semin Immunol.* 2007;19:11-23.
 53. Shlomchik MJ. Activating systemic autoimmunity: B's, T's, and tolls. *Curr Opin Immunol.* 2009;21:626-33.
 54. Waldner H. The role of innate immune responses in autoimmune disease development. *Autoimmun Rev.* 2009;8:400-4.