

Revisión

Papel del factor de crecimiento transformador-beta (TGF- β) en la fisiopatología de la artritis reumatoide

Elena Gonzalo-Gil y María Galindo-Izquierdo*

Laboratorio de Enfermedades Inflamatorias y Autoinmunes, Instituto de Investigación, «i + 12», Hospital 12 de Octubre, Madrid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 18 de octubre de 2013

Aceptado el 21 de enero de 2014

On-line el 28 de marzo de 2014

Palabras clave:

Artritis reumatoide

Modelos animales

Artritis-inducida con colágeno

Factor de crecimiento transformador-beta

Células T

Keywords:

Rheumatoid arthritis

Animal models

Collagen-induced arthritis

Transforming growth factor-beta

T cells

R E S U M E N

El factor de crecimiento transformador-beta (TGF- β) es una citocina implicada en procesos celulares como hematopoyesis, proliferación, angiogénesis, diferenciación, migración y apoptosis celular. Aunque su papel en la artritis reumatoide no está bien definido, está considerada como una citocina inmunomoduladora según las condiciones del entorno. Numerosos trabajos han tratado de definir el papel del TGF- β en el desarrollo de la artritis murina en diferentes modelos de enfermedad, con resultados discordantes. De hecho, resultados recientemente publicados indican que TGF- β no desempeña un papel relevante en el modelo murino de artritis inducida con colágeno. Su implicación en la diferenciación y la funcionalidad de las diferentes poblaciones de células T también ha mostrado resultados dispares sobre su papel como inhibidor o promotor de la respuesta inflamatoria. En este trabajo se presenta una revisión sobre el papel de TGF- β en modelos animales de artritis.

© 2013 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Role of transforming growth factor-beta (TGF) beta in the pathophysiology of rheumatoid arthritis

A B S T R A C T

Transforming growth factor-beta (TGF- β) is a cytokine with pleiotropic functions in hematopoiesis, angiogenesis, cell proliferation, differentiation, migration and apoptosis. Although its role in rheumatoid arthritis is not well defined, TGF- β activation leads to functional immunomodulatory effects according to environmental conditions. The function of TGF- β in the development of arthritis in murine models has been extensively studied with controversial results. Recent findings point to a non-relevant role for TGF- β in a mice model of collagen-induced arthritis. The study of TGF- β on T-cell responses has shown controversial results as an inhibitor or promoter of the inflammatory response. This paper presents a review of the role of TGF- β in animal models of arthritis.

© 2013 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune de etiología desconocida, que se caracteriza por la inflamación crónica que afecta a las articulaciones diartrodiales, de curso progresivo, y que provoca deformidad articular, discapacidad funcional y, en última instancia, disminución de la calidad y la expectativa de vida. Su patogenia se caracteriza por una alteración de la inmunidad celular y humoral, y por una alteración de los elementos celulares residentes en el tejido conectivo de la membrana sinovial (MS), que se comportan de forma pseudotumoral, invadiendo y destruyendo

los tejidos contiguos. Las primeras manifestaciones de la respuesta inflamatoria articular reumatoide parecen deberse a un cambio microvascular y a un incremento en el número de células del *lining* o hiperplasia sinovial. Estas alteraciones van acompañadas de una regulación alterada de citocinas, un aumento en el número de fibroblastos reumatoides con proliferación en exceso de células inflamatorias¹, principalmente macrófagos y linfocitos, destrucción tisular y angiogénesis². Los fibroblastos sinoviales reumatoides son células mesenquimales secretoras de citocinas proinflamatorias y factores de crecimiento angiogénico que favorecen el reclutamiento de células al espacio sinovial^{3,4}. Mediante análisis por microarreglos se han identificado 2 subgrupos de fibroblastos en la MS reumatoide. En los tejidos más inflamados predomina un subtipo que expresa el factor de crecimiento transformador-beta (TGF- β) y el gen inducible por activina A, ambos característicos

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mgalindo@h12o.es (M. Galindo-Izquierdo).

de los miofibroblastos. El otro subgrupo expresa genes regulados por el factor de crecimiento insulínico (IGF) y aparece en membranas sinoviales menos inflamadas⁵. Los macrófagos activados son los principales productores de citocinas inflamatorias destacando, entre ellas, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). Este, a su vez, induce la liberación de otras citocinas inflamatorias, como la interleucina (IL)-1, IL-6 o IL-8, implicadas en la angiogénesis y la proliferación de los fibroblastos sinoviales, así como la producción de factor de crecimiento plaquetario (PDGF), factor de crecimiento fibroblástico (FGF) y el TGF- β . La activación mantenida de estos tipos celulares provoca las alteraciones estructurales propias de la AR. Los macrófagos sinoviales, junto con los FS, desempeñan un papel importante en la destrucción tisular característica de la AR y constituyen la fuente principal de producción de metaloproteinasas (MMP). Este fenómeno está directamente regulado por citocinas proinflamatorias como IL-1, TNF- α y TGF- β , secretadas a su vez por los macrófagos residentes de la sinovial. Los neutrófilos son el tipo celular más abundante del líquido sinovial, y tienen capacidad para sintetizar TGF- β e IL-8, mediadores esenciales en su propio reclutamiento, estableciendo así un circuito autocrino. Además de los elementos celulares, factores solubles de la sinovial reumatoide como determinadas citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-17) participan en la osteoclastogénesis activando directamente los precursores de los osteoclastos^{6,7}. Recientemente, se ha descubierto que los osteoclastos secretan IL-10, TGF- β e IL-6 y pueden actuar como células presentadoras de antígeno y activar células T CD4+ y CD8+⁸.

La angiogénesis es un proceso notablemente activo en la AR, sobre todo en fases iniciales, y está regulada por diversos mediadores proangiogénicos como TGF- β , angiopoyetina y los factores de crecimiento de placenta, FGF y de crecimiento vascular (VEGF). Estos factores activan a las células endoteliales e inducen la producción de enzimas proteolíticas que degradan la membrana basal y la matriz extracelular perivascular.

En la sinovial reumatoide se ha descrito la expresión de 4 factores de crecimiento, TGF- β , PDGF, FGF e IGF^{9,10}. El TGF- β es una proteína homodimérica implicada en el control de múltiples procesos biológicos tales como angiogénesis, proliferación, diferenciación, migración y apoptosis celular¹¹. Esta citocina tiene una estructura que consiste en 2 subunidades ligadas por puentes disulfuro, formando un homodímero de 25 kDa. En mamíferos existen 3 isoformas de TGF- β (TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3) con funciones similares pero expresadas en diferentes tejidos. TGF- β 3 ha sido detectado principalmente en células de origen mesenquimal, indicando un papel diferente del de TGF- β 1 y 2. Las células linfoides producen principalmente la isoforma TGF- β 1, de ahí que tenga la función más relevante en el sistema inmunitario¹², en particular en el control de la proliferación, activación y diferenciación de células T. Hasta el momento, se han descrito 3 receptores de TGF- β (TGF- β RI, TGF- β RII y TGF- β RIII), pero son los 2 primeros los mediadores de las respuestas biológicas de TGF- β 1¹³.

Papel de factor de crecimiento transformador-beta en la artritis reumatoide

El papel del TGF- β ha sido muy estudiado en diferentes modelos de enfermedad, como anomalías embrionarias, cáncer, enfermedades autoinmunes, aterosclerosis, hipertensión, osteoporosis y enfermedades fibrosantes e inflamatorias¹⁴. Numerosos estudios realizados en modelos de fibrosis han mostrado el efecto beneficioso de bloquear el TGF- β con oligonucleótidos antisentido^{15,16}, anticuerpos específicos anti-TGF- β ^{17,18} o péptidos sintéticos¹⁹⁻²¹, demostrando el papel de TGF- β como agente profibrótico. Otros estudios han mostrado que en las fases tardías de la progresión tumoral el TGF- β promueve la tumorigénesis e induce cambios en

la diferenciación de las células tumorales epiteliales, un fenómeno conocido como transdiferenciación epitelio-mesenquimal²².

Los modelos animales genéticamente modificados demuestran el efecto modulador de TGF- β sobre la respuesta inmune. Ratones deficientes en TGF- β 2 y TGF- β 3 presentan unos defectos que son letales en el desarrollo embrionario. Sin embargo, mutaciones del gen de TGF- β 1 dan lugar a un desorden inflamatorio multiorgánico grave y a una necrosis tisular que, rápidamente, genera letalidad prenatal (entre las semanas 3-5 de edad)¹². Asimismo, la ausencia funcional de TGF- β 1 provoca una acumulación de células y citocinas proinflamatorias (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β) en los órganos linfoides, una producción incrementada de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clases I y II y un déficit en la proliferación de células hematopoyéticas y endoteliales²³. Histopatológicamente, estos ratones presentan infiltración masiva de linfocitos y macrófagos, principalmente en pulmones y corazón, aunque pueden observarse también en músculo, hígado, páncreas y cerebro, entre otros órganos²⁴. Estos ratones presentan además anticuerpos anti-dsADN y anti-ssADN, y depósito de inmunocomplejos glomerulares. Otros experimentos han mostrado que ratones transgénicos para TGF- β RII (dnT β RII, que expresan un TGF- β RII con el dominio quinasa intracelular truncado bajo un promotor específico de células T y, por lo tanto, no señalizan a través del receptor), presentaron una mayor susceptibilidad a la artritis comparada con ratones de fenotipo salvaje, acompañada de un aumento en la producción de TNF- α e IFN- γ en las células T de nodos linfoides²⁵.

A diferencia de lo que ocurre en otras enfermedades, donde está bien definido el papel que desempeña el TGF- β , los estudios realizados en modelos de artritis han expuesto resultados muy dispares (tabla 1). Múltiples trabajos han descrito que la administración intraperitoneal de TGF- β 1 reduce la incidencia y gravedad de la artritis en ratones con artritis inducida con colágeno (CIA), principalmente si la inyección se realiza en fases tardías de la enfermedad^{26,27}. En ratas con artritis inducida por *Streptococcus* (SCW), la administración intraperitoneal de TGF- β en fase aguda suprime el desarrollo de artritis²⁸. Lo mismo ocurre si la administración de TGF- β se realiza intramuscularmente²⁹, aunque solo se ha visto este efecto si se realiza en el pico máximo de la inflamación. Un estudio muy reciente ha demostrado que células madre mesenquimales derivadas de médula ósea e inducidas con TGF- β disminuyen la incidencia y la gravedad de la artritis en ratones con CIA con la enfermedad establecida. Asimismo, incrementan la proporción Foxp3/IL-17 en el bazo y la cavidad peritoneal, y disminuyen la producción de citocinas proinflamatorias³⁰. Otro estudio realizado en ratones con CIA mostró un aumento significativo de TGF- β 1 y TGF- β 2 en la articulación³¹, principalmente durante la fase de remisión, indicando que ambas citocinas están implicadas en la regulación de la actividad de la enfermedad. En este sentido, se ha demostrado que tanto la inyección local, como intraperitoneal, de Ac anti-TGF- β en ratones con artritis, aumenta su gravedad y los niveles de citocinas proinflamatorias^{32,33}.

Sin embargo, también son numerosos los trabajos que exhiben un papel de TGF- β totalmente contrario. De hecho, inyecciones repetidas de TGF- β 1 en la articulación de ratones sanos inducen inflamación e hiperplasia sinovial³⁴. Igualmente, la inyección articular de TGF- β 1 en ratas induce reclutamiento de neutrófilos, eritema, proliferación e infiltración sinovial, principalmente por linfocitos T^{35,36}. Varios trabajos apoyan este concepto de TGF- β como agente proinflamatorio. El tratamiento con un Ac anti-TGF- β directamente en la articulación de ratas con artritis inducida mediante el modelo de SCW inhibe la inflamación sinovial, la resorción ósea y la producción de citocinas proinflamatorias³⁷. Otros autores muestran que el tratamiento con un Ac-anti-TGF- β RI en ratones con artritis inducida con Ac anti-colágeno previene los signos de la artritis, el desarrollo de la hiperplasia, la inflamación y la angiogénesis sinovial². Entre las estrategias terapéuticas descritas

Tabla 1
Papel del TGF- β en modelos animales de artritis

Modelo animal Efecto antiinflamatorio	Modelo animal Efecto proinflamatorio	Vía administración	Ref.
Ratones con CIA Ratas con SCW Ratones con CIA		TGF- β 1 IP	26,27,28
Ratones con CIA		Células mesenquimales-TGF- β IP	30
		Ac anti-TGF- β local e IP	32,33
		TGF- β 1 local	34-36
	Ratones y ratas sanos Ratas con SCW	Ac anti-TGF- β local	37
	Ratones CAIA	Ac anti-TGF- β RI	2

Ac: anticuerpos; CAIA: artritis inducida con Ac anti-colágeno; CIA: artritis inducida con colágeno; TGF- β 1: factor de crecimiento transformador beta 1; IP: intraperitoneal; SCW: artritis inducida por *Streptococcus*.

en la literatura para bloquear específicamente TGF- β , se encuentran p17³⁸. Un trabajo publicado recientemente por nuestro grupo demuestra que el bloqueo selectivo de TGF- β con p17 retrasa de forma moderada los signos de artritis en el modelo murino de CIA. Sin embargo, este bloqueo no tiene efecto sobre la diferenciación y la funcionalidad de las diferentes poblaciones de células T, citocinas y grado de destrucción osteocartilaginosa, concluyendo que TGF- β no tiene un papel relevante en el modelo murino de CIA³⁹.

El papel del TGF- β en la diferenciación de las células T murinas ha sido extensamente estudiado. En ratones, se ha demostrado que la sobreexpresión específica de TGF- β en linfocitos T conduce a la generación de células T con función reguladora y protege a ratones deficientes en IL-2 del desarrollo de inflamación sistémica grave y autoinmunidad^{40,41}. En el modelo de CIA, la transferencia de células Treg en el momento de la inmunización reduce la gravedad de la artritis^{42,43}. Sin embargo, el papel que desempeña el TGF- β en la diferenciación de las células Th17 no está del todo definido. Inicialmente, se describió que TGF- β e IL-6, a través de la inducción de IL-21, eran capaces de promover la diferenciación de células T $\alpha\beta$ CD4+ *naïve* a células Th17 mediante activación del factor transductor de señal STAT-3 y los factores de transcripción Ror γ y Ror α ^{44,45}. Otros estudios han mostrado que la IL-21, un miembro de la familia de citocinas IL-2, coopera con el TGF- β para inducir la diferenciación de células Th17 incluso en ausencia de IL-6^{46,47}, mientras que la IL-23, producida por células dendríticas activadas, induce la supervivencia y expansión de las células Th17 previamente diferenciadas⁴⁸. Sin embargo, un estudio reciente ha demostrado que la diferenciación de las células Th17 murinas en el modelo de encefalitis alérgica experimental (EAE) puede ocurrir en ausencia de TGF- β y en presencia de IL-6, IL-23 e IL-1 β ⁴⁹, similar a lo propuesto inicialmente en humanos. Estas células Th17 inducidas por IL-23 con fenotipo patogénico coexpresan Ror γ y T-bet y pueden dar lugar a células productoras de IL-17/IFN- γ , a diferencia de las células Th17 inducidas por TGF- β , consideradas como no patogénicas. Otros autores han propuesto que el TGF- β no actúa directamente promoviendo la diferenciación de las células Th17 murinas, sino que actúa indirectamente para regular la IL-17 por supresión de los factores que contribuyen a la diferenciación de las células Th1 y Th2⁵⁰. De forma paralela, muy recientemente se ha publicado que las células Th17 desarrolladas por un mecanismo dependiente de IL-23, IL-6 y TGF- β 1 son patogénicas y producen elevadas cantidades de TGF- β 3⁵¹. Además, el TGF- β 3 induce células Th17 con un papel patogénico en modelos de EAE y colitis, similar a la capacidad patogénica de las Th17 diferenciadas en presencia de IL-6 y TGF- β 1, y producen cantidades más elevadas de IL-23. Por otra parte, las células TCD8+ efectoras de la sinovial reumatoide inducen la síntesis de IFN- γ e IL-17, y se ha demostrado su papel en la sinovitis crónica en el modelo de ratón K/BxN⁵². El TGF- β actúa en las células CD8+ induciendo la producción de Foxp3 e IL-17, dando lugar a las CD8+ Treg y CD8+ IL-17+, respectivamente^{53,54}. No obstante, su papel en el desencadenamiento de CIA muestra resultados

disparados^{55,56}, indicando que estas células podrían no estar implicadas en el inicio de la enfermedad.

El papel del TGF- β en los modelos animales de AR, por tanto, no está bien definido y la discrepancia en los resultados respecto a su efecto en los diferentes tipos celulares de la sinovial reumatoide indican una alteración en los factores responsables de la vía de señal intracelular dependiente de las proteínas Smad. Estos cambios provocan respuestas anómalas del TGF- β , condicionando una alteración del comportamiento celular. Los animales Smad-3^{-/-} presentan una respuesta inflamatoria exagerada, mientras que el déficit de Smad-2^{-/-} es letal por defectos en el desarrollo embrionario⁵⁷. Asimismo, ratones transgénicos para Smad-7 se asocian a elevada producción de citocinas por las células T helper (Th) 1 y Th2. Algunos autores han descrito que Smad-2 se ve reducida significativamente en el cartílago durante la progresión de la osteoartritis (OA) en varios modelos animales⁵⁸, mientras que otros trabajos apuntan a un incremento en la expresión de TGF- β RII en fibroblastos sinoviales de pacientes con AR comparados con pacientes con OA⁵⁹.

En humanos, casi todos los componentes celulares de la sinovial reumatoide pueden secretar TGF- β y, aparte de ejercer acciones sobre las células de estirpe mesenquimal, esta citocina desempeña un efecto modulador sobre las células inflamatorias. En estudios realizados *in vitro* con células de la sinovial reumatoide, los efectos dependientes del TGF- β son dispares, comportándose como factor inmunorregulador inductor o inhibidor de la respuesta inflamatoria según las condiciones del entorno. Entre los efectos antiinflamatorios, se encuentran la inhibición de la proliferación de linfocitos y la producción de superóxido por los macrófagos⁶⁰. Sin embargo, también puede actuar como factor proinflamatorio al estimular la secreción de citocinas como TNF- α e IL-1, actuar como potente quimioatrayente de neutrófilos, activar la expresión de quimioquinas y MMP^{61,62}, inducir la expresión de VEGF⁶³, esencial en el desarrollo de angiogénesis en la AR, y modular la apoptosis de los FS por un mecanismo no bien definido. En este sentido, TGF- β inhibe la expresión de Fas y aumenta la de los protooncogenes Bcl-2 y Bclx, aunque otros autores apuntan a la vía de PI3K y la activación de Akt como responsables del efecto antiapoptótico de TGF- β ⁶⁴.

Las células mononucleares procedentes de tejido sinovial reumatoide en cultivo producen TGF- β 1 y se ha demostrado su presencia en el tejido y fluido sinoviales⁶⁵. Estudios de microarreglos sugieren un incremento de la vía de señalización de TGF- β en FS de pacientes con AR comparado con pacientes con OA, en concreto, TGF- β 1 y su receptor (TGF- β RI), acompañado de una expresión aumentada de MMP. Este incremento de TGF- β 1 se ha asociado directamente con marcadores clínicos de actividad de la enfermedad, como los niveles séricos de proteína C reactiva y los criterios de actividad ACR⁶⁶, indicando una correlación directa entre el TGF- β 1 y la inflamación. En este mismo sentido, se ha descrito activación de la vía de señalización de TGF- β en las células mononucleares de los agregados inflamatorios reumatoides,

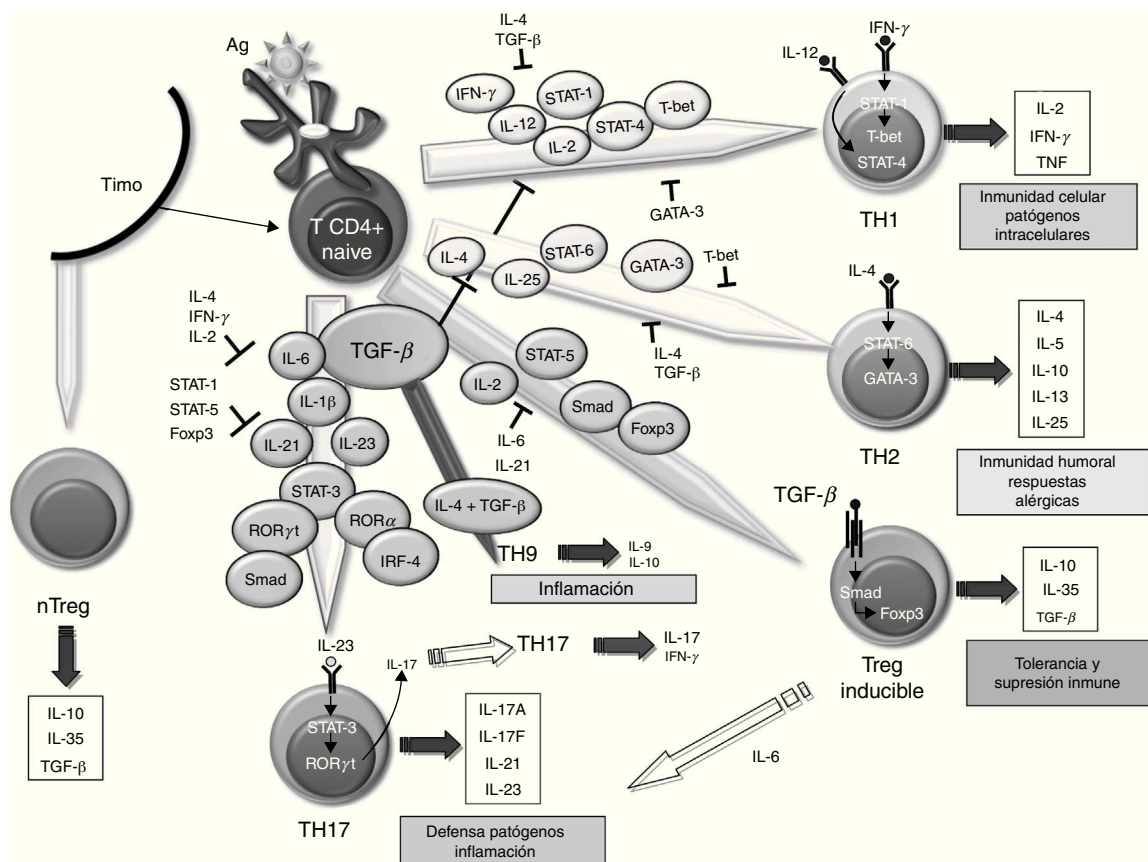


Figura 1. Papel de TGF- β en la diferenciación de las células T efectoras. Efecto del TGF- β y moléculas implicadas en la diferenciación y regulación de las distintas poblaciones de células T efectoras en relación con su función dentro del sistema inmunitario. IL: interleucina; TGF- β : factor de crecimiento transformador beta; Treg: T reguladora.

indicando una posible implicación patogénica de esta citocina en el desarrollo de la enfermedad³⁹.

La MS en la AR contiene gran cantidad de células T⁶⁷. Sin embargo, ha sido difícil definir el papel que estas desempeñan en el mantenimiento y la propagación de la inflamación articular. La utilización en el tratamiento de la AR de una proteína de fusión CTLA-4 humano que inhibe la coestimulación T vía CD28 ha proporcionado una prueba indirecta pero contundente de la importancia de los linfocitos T en la AR⁶⁸. El papel de TGF- β en la diferenciación de las diferentes poblaciones de células T humanas es múltiple. Por un lado, se ha demostrado que la señalización a través de TGF- β 1 protege a las células T reguladoras (Treg) de la apoptosis⁶⁹ y es absolutamente necesaria para inducir la expresión de Foxp3, ya que se ha demostrado que células TCD4+ deficientes en TGF- β 1 no pueden generar células Treg *in vivo* e *in vitro*⁷⁰⁻⁷³. Las células Treg pueden desarrollarse a partir de precursores tímicos de células TCD4+ en presencia de TGF- β e IL-2, dando lugar a células Treg naturales. En la periferia, las células TCD4+ naïve pueden convertirse en células Treg inducibles a través de la señalización de STAT-5 en presencia de TGF- β , aumentando la expresión del factor Foxp3 (fig. 1). La regulación del promotor de Foxp3 depende, entre otros, del factor de transcripción NF-AT y la señalización de Smad-3 inducida por TGF- β ⁷⁴. De hecho, el TGF- β media la expresión de Foxp3 por unión directa al promotor de Smad. Las células Treg secretan bajas cantidades de IL-2 e IFN- γ , mientras que producen elevadas cantidades de IL-10, IL-35 y TGF- β , esenciales para regular la supresión de las células T⁷⁵. Recientemente, se ha descrito que, en ausencia de TGF- β 1 funcional, el desarrollo de las células Treg en el cáncer podría ser producido por un mecanismo compensatorio dependiente de la expresión de TGF- β 2 y TGF- β 3 en el timo y la periferia^{76,77}. Sin embargo, se desconoce si este mecanismo ocurre en la AR.

Clásicamente, se había asumido que la AR era una enfermedad de tipo Th1 mediada por células productoras de IFN- γ con ausencia de citocinas Th2. En la diferenciación de ambos tipos celulares, el TGF- β actúa como un regulador negativo mediante la inhibición de los factores de transcripción T-bet y GATA-3, respectivamente^{78,79}. Sin embargo, a lo largo de los últimos 10 años, han adquirido una gran importancia las células Th17 como promotoras de la respuesta inflamatoria en la AR. En la diferenciación de las Th17 humanas, diversos mecanismos pueden estar implicados. En primer lugar, se definió que la diferenciación de las células Th17 humanas ocurría en ausencia de TGF- β ⁸⁰ y que la combinación de IL-1 β , IL-6 e IL-23 era capaz de actuar sobre células T de memoria para producir IL-17. Sin embargo, otros trabajos exponen un papel de TGF- β , que junto con IL-21 y la expresión de Rorc2 promueven la diferenciación de TCD4+ naïve a células Th17⁸¹. En este sentido, TGF- β , a través de IL-21, suprimiría la inducción de T-bet. Los últimos trabajos apuntan a una interacción de células madre mesenquimales derivadas de médula ósea o fibroblastos sinoviales con células T como promotoras de la activación y expansión de las células Th17, las cuales podrían contribuir a la cronicidad de la AR⁸². Recientemente, se ha descrito un nuevo subtipo de células Th, las Th9, productoras de IL-9 e IL-10. La diferenciación de estas células a partir de células T naïve depende de TGF- β e IL-4⁸³, aunque el tratamiento de células Th2 con TGF- β también es capaz de producir células Th9. A pesar de la producción de IL-10, al no expresar Foxp3, no se consideran células reguladoras, sino células promotoras de la inflamación. De hecho, aunque su papel en la AR no ha sido investigado, en otros modelos de enfermedad inflamatoria, como la EAE, se ha señalado que pueden actuar como inductoras de la inflamación⁸⁴. Asimismo, se ha demostrado que la estimulación con TGF- β e IL-1 β induce células CD4 IL-9+/IL-17+ en pacientes con

diabetes autoinmune⁸⁵, de ahí su posible papel en otras enfermedades autoinmunes.

Conclusión

El TGF- β es una citocina implicada en numerosos procesos biológicos. De las 3 isoformas de TGF- β que existen en mamíferos, el TGF- β 1 desempeña la función más relevante en el sistema inmunitario, en particular en el control de la proliferación, activación y diferenciación de células T. Los estudios realizados para tratar de definir el papel del TGF- β en la AR han mostrado conclusiones dispares. Las diferencias de estos hallazgos podrían deberse al modelo animal utilizado, momento de la enfermedad en el que se realiza el estudio y el protocolo empleado de inhibición de la citocina.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiación

Este proyecto ha sido financiado por una beca de la Fundación Española de Reumatología (FER 2009) en la modalidad de ayuda a proyectos de investigación no financiados por agencias públicas. Elena Gonzalo Gil ha recibido financiación de una beca de la Fundación Española de Reumatología (FER) en la modalidad de ayuda para complementar proyectos de investigación ya financiados.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Un agradecimiento especial a los Dres. José Luis Pablos Álvarez y Gabriel Criado Carrasco, por su colaboración en el diseño de los experimentos y la revisión crítica de los resultados.

Bibliografía

- Pap T, Muller-Ladner U, Gay RE, Gay S. Fibroblast biology. Role of synovial fibroblasts in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2000;2:361-7.
- Sakuma M, Hatsushika K, Koyama K, Katoh R, Ando T, Watanabe Y, et al. TGF-beta type I receptor kinase inhibitor down-regulates rheumatoid synoviocytes and prevents the arthritis induced by type II collagen antibody. *Int Immunol.* 2007;19:117-26.
- Huber LC, Distler O, Tarner I, Gay RE, Gay S, Pap T. Synovial fibroblasts: Key players in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2006;45:669-75.
- Bartok B, Firestein GS. Fibroblast-like synoviocytes: Key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunol Rev.* 2010;233:233-55.
- Kasperkovitz PV, Timmer TC, Smeets TJ, Verbeet NL, Tak PP, van Baarsen LG, et al. Fibroblast-like synoviocytes derived from patients with rheumatoid arthritis show the imprint of synovial tissue heterogeneity: Evidence of a link between an increased myofibroblast-like phenotype and high-inflammation synovitis. *Arthritis Rheum.* 2005;52:430-41.
- Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL. TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest.* 2000;106:1481-8.
- Lubberts E, van den Bersselaar L, Oppers-Walgreen B, Schwarzenberger P, Coenen-de Roo CJ, Kolls JK, et al. IL-17 promotes bone erosion in murine collagen-induced arthritis through loss of the receptor activator of NF-kappa B ligand/osteoprotegerin balance. *J Immunol.* 2003;170:2655-62.
- Li H, Hong S, Qian J, Zheng Y, Yang J, Yi Q. Cross talk between the bone and immune systems: Osteoclasts function as antigen-presenting cells and activate CD4+ and CD8+ T cells. *Blood.* 2010;116:210-7.
- Sarkissian M, Lafyatis R. Transforming growth factor-beta and platelet derived growth factor regulation of fibrillar fibronectin matrix formation by synovial fibroblasts. *J Rheumatol.* 1998;25:613-22.
- Qu Z, Huang XN, Ahmadi P, Andresevic J, Planck SR, Hart CE, et al. Expression of basic fibroblast growth factor in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis and degenerative joint disease. *Lab Invest.* 1995;73:339-46.
- Massague J. The transforming growth factor-beta family. *Annu Rev Cell Biol.* 1990;6:597-641.
- Shull MM, Ormsby I, Kier AB, Pawlowski S, Diebold RJ, Yin M, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature.* 1992;359:693-9.
- Chen RH, Ebner R, Derynck R. Inactivation of the type II receptor reveals two receptor pathways for the diverse TGF-beta activities. *Science.* 1993;260:1335-8.
- Varga J, Pasche B. Transforming growth factor beta as a therapeutic target in systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol.* 2009;5:200-6.
- Arias M, Sauer-Lehnen S, Treptau J, Janoschek N, Theuerkauf I, Buettner R, et al. Adenoviral expression of a transforming growth factor-beta1 antisense mRNA is effective in preventing liver fibrosis in bile-duct ligated rats. *BMC Gastroenterol.* 2003;3:29.
- Philipp K, Riedel F, Germann G, Hormann K, Sauerbier M. TGF-beta antisense oligonucleotides reduce mRNA expression of matrix metalloproteinases in cultured wound-healing-related cells. *Int J Mol Med.* 2005;15:299-303.
- Denis M. Neutralization of transforming growth factor-beta 1 in a mouse model of immune-induced lung fibrosis. *Immunology.* 1994;82:584-90.
- McCormick LL, Zhang Y, Tootell E, Gilliam AC. Anti-TGF-beta treatment prevents skin and lung fibrosis in murine sclerodermatous graft-versus-host disease: A model for human scleroderma. *J Immunol.* 1999;163:5693-9.
- Ezquerro IJ, Lasarte JJ, Dotor J, Castilla-Cortazar I, Bustos M, Penuelas I, et al. A synthetic peptide from transforming growth factor beta type III receptor inhibits liver fibrogenesis in rats with carbon tetrachloride liver injury. *Cytokine.* 2003;22:12-20.
- Santiago B, Gutierrez-Canas I, Dotor J, Palao G, Lasarte JJ, Ruiz J, et al. Topical application of a peptide inhibitor of transforming growth factor-beta1 ameliorates bleomycin-induced skin fibrosis. *J Invest Dermatol.* 2005;125:450-5.
- Kondou H, Mushiaki S, Etani Y, Miyoshi Y, Michigami T, Ozono K. A blocking peptide for transforming growth factor-beta1 activation prevents hepatic fibrosis in vivo. *J Hepatol.* 2003;39:742-8.
- Moustakas A, Pardali K, Gaal A, Heldin CH. Mechanisms of TGF-beta signaling in regulation of cell growth and differentiation. *Immunol Lett.* 2002;82:85-91.
- Dickson MC, Martin JS, Cousins FM, Kulkarni AB, Karlsson S, Akhurst RJ. Defective haematopoiesis and vasculogenesis in transforming growth factor-beta 1 knockout mice. *Development.* 1995;121:1845-54.
- Kulkarni AB, Karlsson S. Transforming growth factor-beta 1 knockout mice. A mutation in one cytokine gene causes a dramatic inflammatory disease. *Am J Pathol.* 1993;143:3-9.
- Schramm C, Kriegsmann J, Protschka M, Huber S, Hansen T, Schmitt E, et al. Susceptibility to collagen-induced arthritis is modulated by TGFbeta responsiveness of T cells. *Arthritis Res Ther.* 2004;6:R114-9.
- Kuruvilla AP, Shah R, Hochwald GM, Liggitt HD, Palladino MA, Thorbecke GJ. Protective effect of transforming growth factor beta 1 on experimental autoimmune diseases in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88:2918-21.
- Santambrogio L, Hochwald GM, Leu CH, Thorbecke GJ. Antagonistic effects of endogenous and exogenous TGF-beta and TNF on auto-immune diseases in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 1993;15:461-78.
- Brandes ME, Allen JB, Ogawa Y, Wahl SM. Transforming growth factor beta 1 suppresses acute and chronic arthritis in experimental animals. *J Clin Invest.* 1991;87:1108-13.
- Song XY, Gu M, Jin WW, Klinman DM, Wahl SM. Plasmid DNA encoding transforming growth factor-beta1 suppresses chronic disease in a streptococcal cell wall-induced arthritis model. *J Clin Invest.* 1998;101:2615-21.
- Park MJ, Park HS, Cho ML, Oh HJ, Cho YG, Min SY, et al. Transforming growth factor beta-transduced mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune arthritis through reciprocal regulation of Treg/Th17 cells and osteoclastogenesis. *Arthritis Rheum.* 2011;63:1668-80.
- Marinova-Mutafchieva L, Gabay C, Funa K, Williams RO. Remission of collagen-induced arthritis is associated with high levels of transforming growth factor-beta expression in the joint. *Clin Exp Immunol.* 2006;146:287-93.
- Sancho D, Gomez M, Viedma F, Esplugues E, Gordon-Alonso M, Garcia-Lopez MA, et al. CD69 downregulates autoimmune reactivity through active transforming growth factor-beta production in collagen-induced arthritis. *J Clin Invest.* 2003;112:872-82.
- Thorbecke GJ, Shah R, Leu CH, Kuruvilla AP, Hardison AM, Palladino MA. Involvement of endogenous tumor necrosis factor alpha and transforming growth factor beta during induction of collagen type II arthritis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89:7375-9.
- Van Beuningen HM, van der Kraan PM, Arntz OJ, van den Berg WB. Transforming growth factor-beta 1 stimulates articular chondrocyte proteoglycan synthesis and induces osteophyte formation in the murine knee joint. *Lab Invest.* 1994;71:279-90.
- Fava RA, Olsen NJ, Postlethwaite AE, Broadley KN, Davidson JM, Nanney LB, et al. Transforming growth factor beta 1 (TGF-beta 1) induced neutrophil recruitment

- to synovial tissues: Implications for TGF- β -driven synovial inflammation and hyperplasia. *J Exp Med.* 1991;173:1121–32.
36. Allen JB, Manthey CL, Hand AR, Ohura K, Ellingsworth L, Wahl SM. Rapid onset synovial inflammation and hyperplasia induced by transforming growth factor β . *J Exp Med.* 1990;171:231–47.
 37. Wahl SM, Allen JB, Costa GL, Wong HL, Dasch JR. Reversal of acute and chronic synovial inflammation by anti-transforming growth factor β . *J Exp Med.* 1993;177:225–30.
 38. Dotor J, Lopez-Vazquez AB, Lasarte JJ, Sarobe P, Garcia-Granero M, Riezu-Boj JJ, et al. Identification of peptide inhibitors of transforming growth factor β 1 using a phage-displayed peptide library. *Cytokine.* 2007;39:106–15.
 39. Gonzalo-Gil E, Criado G, Santiago B, Dotor J, Pablos JL, Galindo M. TGF- β signalling is increased in rheumatoid synovium but TGF- β blockade does not modify experimental arthritis. *Clin Exp Immunol.* 2013;174:245–55.
 40. Carrier Y, Yuan J, Kuchroo VK, Weiner HL. Th3 cells in peripheral tolerance. I. Induction of Foxp3-positive regulatory T cells by Th3 cells derived from TGF- β T cell-transgenic mice. *J Immunol.* 2007;178:179–85.
 41. Carrier Y, Yuan J, Kuchroo VK, Weiner HL. Th3 cells in peripheral tolerance. II. TGF- β -transgenic Th3 cells rescue IL-2-deficient mice from autoimmunity. *J Immunol.* 2007;178:172–8.
 42. Morgan ME, Suttmuller RP, Witteveen HJ, van Duivenvoorde LM, Zanelli E, Melief CJ, et al. CD25+ cell depletion hastens the onset of severe disease in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003;48:1452–60.
 43. Ohata J, Miura T, Johnson TA, Hori S, Ziegler SF, Kohsaka H. Enhanced efficacy of regulatory T cell transfer against increasing resistance, by elevated Foxp3 expression induced in arthritic murine hosts. *Arthritis Rheum.* 2007;56:2947–56.
 44. Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, Akimzhanov A, Kang HS, Chung Y, et al. T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR α and ROR γ . *Immunity.* 2008;28:29–39.
 45. Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, Tadokoro CE, Lepelley A, Lafaille JJ, et al. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells. *Cell.* 2006;126:1121–33.
 46. Korn T, Bettelli E, Gao W, Awasthi A, Jager A, Strom TB, et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells. *Nature.* 2007;448:484–7.
 47. Nurieva R, Yang XO, Martinez G, Zhang Y, Panopoulos AD, Ma L, et al. Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells. *Nature.* 2007;448:480–3.
 48. Veldhoen M, Hocking RJ, Flavell RA, Stockinger B. Signals mediated by transforming growth factor- β initiate autoimmune encephalomyelitis, but chronic inflammation is needed to sustain disease. *Nat Immunol.* 2006;7:1151–6.
 49. Ghoreschi K, Laurence A, Yang XP, Tato CM, McGeachy MJ, Konkel JE, et al. Generation of pathogenic T(H)17 cells in the absence of TGF- β signalling. *Nature.* 2010;467:967–71.
 50. Das J, Ren G, Zhang L, Roberts AI, Zhao X, Bothwell AL, et al. Transforming growth factor β is dispensable for the molecular orchestration of Th17 cell differentiation. *J Exp Med.* 2009;206:2407–16.
 51. Lee Y, Awasthi A, Yosef N, Quintana FJ, Xiao S, Peters A, et al. Induction and molecular signature of pathogenic T(H)17 cells. *Nat Immunol.* 2012;13:991–9.
 52. Raposo BR, Rodrigues-Santos P, Carvalho H, Agua-Doce AM, Carvalho L, Pereira da Silva JA, et al. Monoclonal anti-CD8 therapy induces disease amelioration in the K/BxN mouse model of spontaneous chronic polyarthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62:2953–62.
 53. Huber M, Heink S, Grothe H, Guralnik A, Reinhard K, Elflein K, et al. A Th17-like developmental process leads to CD8(+) Tc17 cells with reduced cytotoxic activity. *Eur J Immunol.* 2009;39:1716–25.
 54. Mantel PY, Schmidt-Weber CB. Transforming growth factor- β : Recent advances on its role in immune tolerance. *Methods Mol Biol.* 2011;677:303–38.
 55. Tada Y, Ho A, Koh DR, Mak TW. Collagen-induced arthritis in CD4- or CD8-deficient mice: CD8+ T cells play a role in initiation and regulate recovery phase of collagen-induced arthritis. *J Immunol.* 1996;156:4520–6.
 56. Ehinger M, Vestberg M, Johansson AC, Johannesson M, Svensson A, Holmdahl R. Influence of CD4 or CD8 deficiency on collagen-induced arthritis. *Immunology.* 2001;103:291–300.
 57. Waldrip WR, Bikoff EK, Hoodless PA, Wrana JL, Robertson EJ. Smad2 signaling in extraembryonic tissues determines anterior-posterior polarity of the early mouse embryo. *Cell.* 1998;92:797–808.
 58. Blaney Davidson EN, Vitters EL, van der Kraan PM, van den Berg WB. Expression of transforming growth factor- β (TGF β) and the TGF β signalling molecule SMAD-2P in spontaneous and instability-induced osteoarthritis: Role in cartilage degradation, chondrogenesis and osteophyte formation. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:1414–21.
 59. Bira Y, Tani K, Nishioka Y, Miyata J, Sato K, Hayashi A, et al. Transforming growth factor β stimulates rheumatoid synovial fibroblasts via the type II receptor. *Mod Rheumatol.* 2005;15:108–13.
 60. Kehrl JH, Wakefield LM, Roberts AB, Jakowlew S, Alvarez-Mon M, Derynck R, et al. Production of transforming growth factor β by human T lymphocytes and its potential role in the regulation of T cell growth. *J Exp Med.* 1986;163:1037–50.
 61. Cheon H, Yu SJ, Yoo DH, Chae IJ, Song GG, Sohn J. Increased expression of pro-inflammatory cytokines and metalloproteinase-1 by TGF- β 1 in synovial fibroblasts from rheumatoid arthritis and normal individuals. *Clin Exp Immunol.* 2002;127:547–52.
 62. Buckley CD, Amft N, Bradfield PF, Pilling D, Ross E, Arenzana-Seisdedos F, et al. Persistent induction of the chemokine receptor CXCR4 by TGF- β 1 on synovial T cells contributes to their accumulation within the rheumatoid synovium. *J Immunol.* 2000;165:3423–9.
 63. Berse B, Hunt JA, Diegel RJ, Morganelli P, Yeo K, Brown F, et al. Hypoxia augments cytokine (transforming growth factor- β (TGF- β) and IL-1)-induced vascular endothelial growth factor secretion by human synovial fibroblasts. *Clin Exp Immunol.* 1999;115:176–82.
 64. Kim G, Jun JB, Elkon KB. Necessary role of phosphatidylinositol 3-kinase in transforming growth factor β -mediated activation of Akt in normal and rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum.* 2002;46:1504–11.
 65. Brennan FM, Chantry D, Turner M, Foxwell B, Maini R, Feldmann M. Detection of transforming growth factor- β in rheumatoid arthritis synovial tissue: Lack of effect on spontaneous cytokine production in joint cell cultures. *Clin Exp Immunol.* 1990;81:278–85.
 66. Pohlers D, Beyer A, Koczan D, Wilhelm T, Thiesen HJ, Kinne RW. Constitutive upregulation of the transforming growth factor- β pathway in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Res Ther.* 2007;9:R59.
 67. Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature.* 2003;423:356–61.
 68. Kremer JM, Westhovens R, Leon M, Di Giorgio E, Alten R, Steinfeld S, et al. Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA4Ig. *N Engl J Med.* 2003;349:1907–15.
 69. Ouyang W, Beckett O, Ma Q, Li MO. Transforming growth factor- β signaling curbs thymic negative selection promoting regulatory T cell development. *Immunity.* 2010;32:642–53.
 70. Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, Geiser A, Lyght M, Flanders KC, et al. Transforming growth factor β 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:770–4.
 71. Christ M, McCartney-Francis NL, Kulkarni AB, Ward JM, Mizel DE, Mackall CL, et al. Immune dysregulation in TGF- β 1-deficient mice. *J Immunol.* 1994;153:1936–46.
 72. Liu Y, Zhang P, Li J, Kulkarni AB, Perruche S, Chen W. A critical function for TGF- β signaling in the development of natural CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells. *Nat Immunol.* 2008;9:632–40.
 73. Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, et al. Conversion of peripheral CD4+ CD25- naive T cells to CD4+ CD25+ regulatory T cells by TGF- β induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med.* 2003;198:1875–86.
 74. Tone Y, Furuuchi K, Kojima Y, Tykocinski ML, Greene MI, Tone M. Smad3 and NFAT cooperate to induce Foxp3 expression through its enhancer. *Nat Immunol.* 2008;9:194–202.
 75. Nakamura K, Kitani A, Strober W. Cell contact-dependent immunosuppression by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor β . *J Exp Med.* 2001;194:629–44.
 76. Marie JC, Letterio JJ, Gavin M, Rudensky AY. TGF- β 1 maintains suppressor function and Foxp3 expression in CD4+ CD25+ regulatory T cells. *J Exp Med.* 2005;201:1061–7.
 77. Hinz S, Pagerols-Raluy L, Oberg HH, Ammerpohl O, Grussel S, Sipos B, et al. Foxp3 expression in pancreatic carcinoma cells as a novel mechanism of immune evasion in cancer. *Cancer Res.* 2007;67:8344–50.
 78. Gorelik L, Constant S, Flavell RA. Mechanism of transforming growth factor β -induced inhibition of T helper type 1 differentiation. *J Exp Med.* 2002;195:1499–505.
 79. Gorelik L, Fields PE, Flavell RA. Cutting edge: TGF- β inhibits Th type 2 development through inhibition of GATA-3 expression. *J Immunol.* 2000;165:4773–7.
 80. Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat Immunol.* 2007;8:942–9.
 81. Yang L, Anderson DE, Baecher-Allan C, Hastings WD, Bettelli E, Oukka M, et al. IL-21 and TGF- β are required for differentiation of human T(H)17 cells. *Nature.* 2008;454:350–2.
 82. Eljaafari A, Tartelin ML, Aissaoui H, Chevrel G, Osta B, Lavocat F, et al. Bone marrow-derived and synovium-derived mesenchymal cells promote Th17 cell expansion and activation through caspase 1 activation: Contribution to the chronicity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2012;64:2147–57.
 83. Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, Galileos G, Gao W, Sobel RA, et al. IL-4 inhibits TGF- β -induced Foxp3+ T cells and, together with TGF- β , generates IL-9+ IL-10+ Foxp3(-) effector T cells. *Nat Immunol.* 2008;9:1347–55.
 84. Jager A, Dardalhon V, Sobel RA, Bettelli E, Kuchroo VK. Th1, Th17, and Th9 effector cells induce experimental autoimmune encephalomyelitis with different pathological phenotypes. *J Immunol.* 2009;183:7169–77.
 85. Beriou G, Bradshaw EM, Lozano E, Costantino CM, Hastings WD, Orban T, et al. TGF- β induces IL-9 production from human Th17 cells. *J Immunol.* 2010;185:46–54.