

REVISIÓN-ACTUALIZACIÓN

Moléculas coestimuladoras y artritis reumatoide

Richard Jacome Guerrero¹, Eduar D. Echeverri², Jorge Rueda³, Hermann González⁴

Resumen

En este artículo se presenta una revisión actualizada del concepto de bloqueo farmacológico de moléculas coestimuladoras como herramienta terapéutica en artritis reumatoide. Se revisan desde los conceptos básicos de inmunología y biología molecular hasta los más recientes estudios de fase III del anticuerpo quimérico CTLA4Ig.

Palabras clave: artritis reumatoide, moléculas coestimuladoras, CTLA4Ig, abatacept.

Summary

This is a review about pharmacological blockade of costimulatory molecules as a therapeutic tool in rheumatoid arthritis. It shows an update of the basic immunology, molecular biology and phase III trials of the chimeric antibody CTLA4Ig.

Key words: rheumatoid arthritis, costimulatory molecules, CTLA4Ig, abatacept.

Hace más de 20 años Bretscher y Cohn propusieron que la iniciación de la respuesta inmune requiere dos señales: la primera (señal 1) cuando una célula dendrítica presenta un antígeno unido al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y es reconocido por el receptor del linfocito T (TCR).

La segunda (señal 2) que denominamos coestimuladora, es el resultado de la unión de las moléculas CD-80 (B7.1) y CD-86 (B7.2) ubicadas sobre la célula presentadora de antígeno con los respectivos ligandos localizados en la superficie del linfocito T: CD 28 y CTLA4. Las respuestas autoinmunes mediadas por linfocitos T actualmente son consideradas importantes en la patogénesis de la artritis reumatoide.

Las moléculas coestimuladoras son una serie de glucoproteínas ubicadas en la superficie de los linfocitos T y de las células presentadoras de antígeno. Cumplen una función decisiva en la activación de la respuesta inmune y por lo tanto se proponen como un excelente blanco terapéutico en la artritis reumatoide.

La generación de una respuesta inmune efectiva requiere activación y la subsiguiente expansión de linfocitos antígeno específicos, seguida por una declinación en el número de esas células y el establecimiento de una respuesta de memoria a largo plazo, una vez que el antígeno ha sido eliminado¹.

La activación óptima de los linfocitos T ocurre como resultado de la unión del receptor del linfocito T (TCR) con una célula presentadora de antígeno que expresa sobre su superficie un péptido antigénico específico ligado a las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC); se constituye así la denominada señal 1 (figura 1).

1 Residente de medicina interna, Universidad Libre, Cali.

2 Residente de medicina interna, Universidad Libre, Cali.

3 Internista, reumatólogo. Clínica de artritis y reumatología, Centro Médico Imbanaco, Cali. Profesor de reumatología, Universidad Libre de Cali.

4 Internista, reumatólogo. Clínica de artritis y reumatología, Centro Médico Imbanaco, Cali. Profesor de reumatología, Universidad Libre de Cali y Universidad del Valle (*ad honorem*).

Recibido para publicación: enero 14/2005
Aceptado en forma revisada: febrero 21/2005

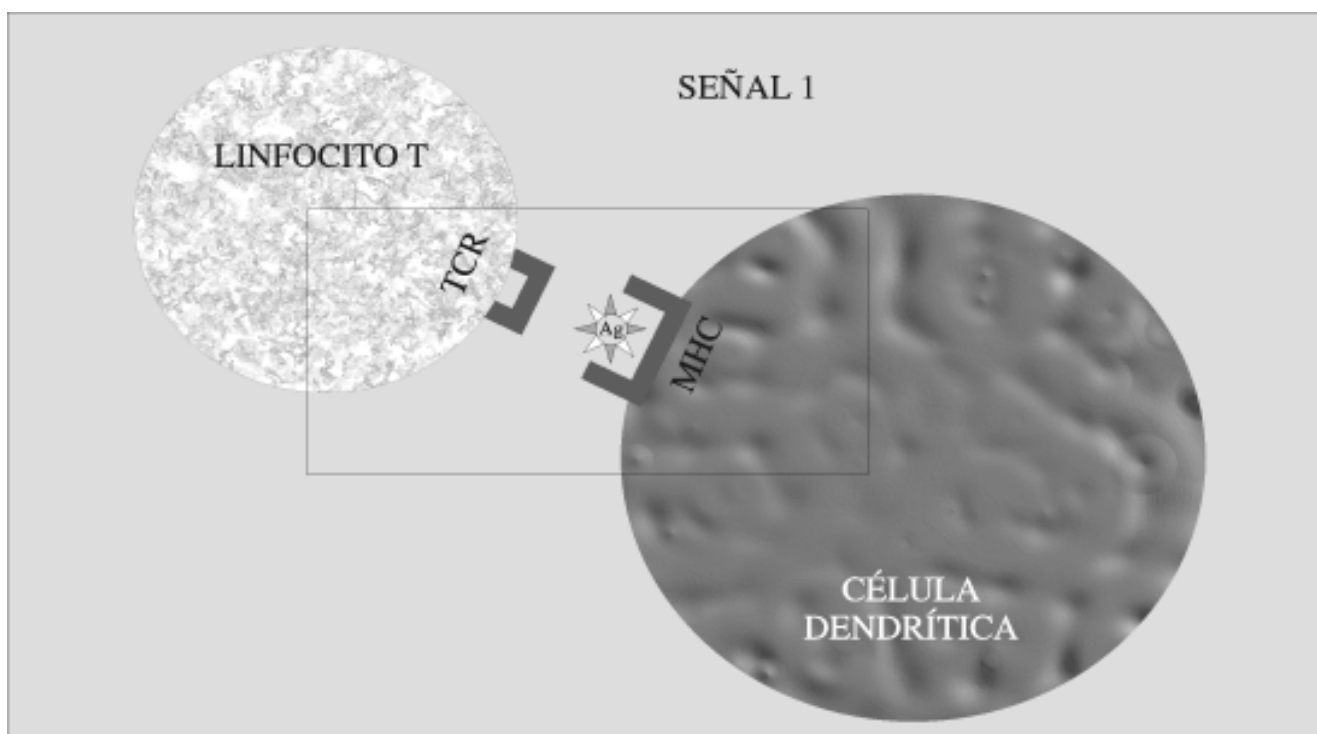


Figura 1. La célula dendrítica presenta el antígeno (Ag) expresándolo sobre moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (HMC). El receptor de células T (TCR), en la superficie del linfocito T, detecta el péptido extraño pero aún no se produce activación de éste.



Figura 2. Participación de moléculas coestimuladoras en la activación completa del linfocito T.

CD28 es la principal molécula coestimuladora. La interacción con sus ligandos B7.1 (CD80) y/o B7.2 (CD86) traduce una señal que aumenta la proliferación de células T, la secreción de citoquinas y una respuesta sostenida de los linfocitos T.

Contrariamente, el antígeno 4 (homólogo de CD28), asociado al linfocito T citotóxico CTLA4 (CD 152), inhibe las respuestas de las células T; estas interacciones, que algunos autores han denominado "sinapsis inmunológica", se complementan con la participación de moléculas de adhesión ICAM-1 en la célula presentadora de antígeno y de moléculas LFA-1 en el linfocito T. De esta manera se consolida dicha "sinapsis"³⁻⁵ (figura 2).

La señal 1 está mediada por dos tipos de moléculas del MHC: las de clase I, localizadas en la superficie de la mayoría de las células del cuerpo humano que corresponden a las moléculas HLA: A-B-C. Su estructura cristalina semeja a un guante de béisbol con una hendidura donde se coloca el antígeno o epítipo antigénico⁶ que será presentado a los linfocitos T CD8 (citotóxicos).

Las moléculas MHC clase II son denominadas HLA-D: P-Q-R. Tienen una estructura similar al complejo clase I pero su hendidura es más grande, con lo cual permiten presentar péptidos de mayor tamaño que pueden ser reconocidos por los linfocitos T CD4 (auxiliadores). La expresión de moléculas MHC clase II se limita a las células presentadoras de antígenos.

En la superficie de la célula dendrítica la asociación MHC-péptido es reconocida por el TCR y da alerta al linfocito TCD4 de la presencia de un antígeno (señal 1). No ocurre respuesta inmune hasta que se genera simultáneamente la señal 2, coestimuladora, que hace que el linfocito T considere al antígeno presentado por el MHC como "peligroso" y reaccione inmunológicamente contra él. Por el contrario, si este mismo péptido es presentado por una célula no dendrítica (carecen de moléculas B-7), no puede tener lugar la señal 2 y este péptido no es considerado peligroso por el sistema inmune; en consecuencia, se establece una tolerancia a este antígeno⁷.

En todos los tejidos, incluida la sinovial articular, se hallan pequeñas cantidades de células dendríticas.

Moléculas CD40L en el linfocito T determinan su activación y el consiguiente aumento en el número de MHC-I (portadoras de antígeno estimulador) y de moléculas "coestimuladoras"⁸. Se favorece así una mayor oportunidad para activar linfocitos T CD8 que, a su vez, requieren la señal 2 ocasionada por moléculas B7 y de adhesión.

Al activarse conjuntamente el linfocito T CD4 y la célula dendrítica se producen citoquinas que modulan la respuesta, en magnitud de la capacidad de estimular o inhibir una respuesta citotóxica específica de antígeno. Dichas citoquinas se clasifican en dos grupos⁹: las de Th1: interferón gamma, interleuquina 2 (IL-2), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleuquina 12 (IL-12) que son producidas sólo por las células dendríticas. Estas citoquinas Th1 facilitan y amplifican la respuesta citotóxica mediada por las células CD8.

Las citoquinas Th2, por el contrario, tienen un efecto inhibitorio de la respuesta citotóxica y son Interleuquinas: IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, y el factor de crecimiento transformador Beta (TGF- β). Su actividad desvía la respuesta inmunitaria hacia la producción de anticuerpos, es decir, a generar una respuesta humoral¹⁰.

Moléculas coestimuladoras

Proteína CD28

Es una glucoproteína de membrana cuyo gen se localiza en el brazo largo del cromosoma 2. Consta de una porción extracelular, una región transmembrana y otra citoplásmica. Se encuentra en el 80% de las células T de sangre periférica, distribuyéndose en el 95% de los linfocitos CD4 y en el 50% de CD8. Su expresión incrementa a medida que las células T maduran en el timo, y es una glicoproteína constitutiva^{2, 11}.

Es la principal molécula coestimuladora en la activación de células T. Uno de sus efectos más importantes es el incremento en la producción de IL-2 y de IL-4, IL-5, IL-13, interferón gamma, TNF- α y GM-CSF; citoquinas estas que actúan como factores de crecimiento, y ejercen acción autocrina y paracrina.

También disminuye el umbral de respuesta de las células T, requiriéndose un menor número de TCR

que necesitan ser estimulados para obtener una activación completa. Además previene la apoptosis y ayuda a mantener la supervivencia regulando positivamente el gen BCL-XL.

Proteína CTLA-4

Deriva su nombre de haber sido identificado originalmente como el cuarto cDNA de una genoteca murina de células T citotóxicas⁴. Tiene mucha homología estructural a CD28, lo que hace pensar que ambos genes provienen de un ancestro común. Se expresa en células CD4 y CD8 solamente cuando están activados a niveles diez a 100 veces menores que los correspondientes a CD28. Se une con CD80 y CD86 mostrando una constante de disociación 20 a 50 veces más alta. Alcanza expresión máxima a las 48-72 horas después de la activación de las células T; tiene una función reguladora negativa sobre los linfocitos T^{11,12}.

Proteínas CD80 y CD86

Constan también de 3 regiones: extracelular, transmembrana e intracelular. Se expresan en células presentadoras de antígenos activadas; sus genes han sido mapeados en el cromosoma 3.

CD86 puede detectarse a las 6 horas, con pico máximo a las 24 horas. Es la molécula coestimuladora primaria, responsable del inicio de las respuestas de las células T y provisión de la ayuda coordinada a las células B.

CD80, en cambio, predomina en las respuestas inflamatorias crónicas. Es necesaria para la producción de IL-4, IL-5, IL-13, por parte de las células T. Se ha documentado su presencia en células B, dendríticas, monocitos activados y linfocitos T. Comienza a detectarse a las 24 horas de la activación y alcanza niveles máximos a las 36 horas.

Interleuquina 4 (IL-4)

Es un potente inductor de CD86. Su acción puede ser bloqueada por IL-10.

Proteínas CD40 y CD40L (CD154)

Pertenecen a la familia del TNF-R y TNF, respectivamente. CD40 es una proteína integral de membrana, su expresión es ubicua, hallándose en todas las células presentadoras de antígenos (dendríticas, células B, monocitos, macrófagos), células T, epite-

lio tímico, endotelio vascular, queratinocitos y fibroblastos.

CD40L (CD154) es una proteína integral de membrana que se expresa en forma predominante en linfocitos TCD4 activados, pero también se ha descrito en células T CD8, eosinófilos, mastocitos, basófilos y células asesinas naturales.

Las interacciones CD40-CD40L son claves en la regulación de numerosos procesos de activación del sistema inmune. En la inmunidad humoral la unión CD40-CD40L es importante para la respuesta inmune primaria y secundaria a los antígenos T dependientes, de igual manera para la creación de las células B de memoria, y la generación y mantenimiento de los centros germinales.

La expresión de CD40L en células T CD4 y CD8 es importante para su sensibilización, expansión y maduración hacia células efectoras con actividad lítica y productoras de citoquinas.

El estímulo a través de CD40 es fundamental para la maduración de las células dendríticas y células B. La ligación de CD40 en monocitos es importante para la producción de IL-1a, IL-6, TNF- α , IL-8. En macrófagos la unión CD40-CD40L se requiere para la producción de óxido nítrico e IL-12. Las células asesinas naturales que expresan CD40L pueden lisar células blanco que expresan CD40.

Linfocitos T y artritis reumatoide

La artritis reumatoide es una enfermedad articular crónica y progresiva caracterizada por invasión leucocitaria de la membrana sinovial e hiperplasia de los sinoviocitos residentes. Su etiología y patogénesis son controversiales, aunque estudios en gemelos y familias indican que participan tanto factores genéticos como ambientales^{13, 14}.

La contribución genética ha sido estimada en un 50%; de lo cual un tercio está relacionado con los genes del complejo HLA, clase II; para los restantes, el aporte de otros genes no relacionados con HLA ha sido sugerida^{15, 16}.

Es bien conocida la susceptibilidad a la enfermedad entre quienes expresan HLA-DR4 y sus subtipos (DRB1*0401, DRB1*0404, DRB*0405). Recientes estudios han mostrado, además, susceptibilidad en quienes expresan polimorfismos de CTLA-4^{17, 18} que,

como hemos mencionado antes, juega un papel importante en la inhibición de la señal 2 de la activación de los linfocitos T.

La membrana sinovial de los pacientes con artritis reumatoide se caracteriza por hiperplasia, aumento de la vascularidad y un infiltrado de células mononucleares. Se encuentran también en alta proporción células T de memoria con linfocitos T CD4 de tipo 1 (TH1)¹⁹.

Las células T CD4 residen en estrecho contacto con los macrófagos en estructuras linfoides altamente organizadas que también contienen linfocitos B y células dendríticas¹⁹. En la sinovial afectada de AR, la activación de linfocitos también ocurre²⁰.

Inflamación, destrucción articular y células T

El ambiente inflamatorio presente en el sinovio reumatoide es complejo. Se han encontrado TNF- α y la IL-1, citoquinas claves en la inflamación y destrucción articular. Otras citoquinas también contribuyen en este proceso: IL-6 induce la maduración final de linfocitos B y la activación de células T²¹; IL-17 presenta propiedades pro inflamatorias; IL-15, derivada de macrófagos sinoviales o de células endoteliales, induce la activación y migración de células T y la producción de otras citoquinas y quimoquinas.

Varios estudios han mostrado que las células T pueden amplificar la producción de esas citoquinas proinflamatorias, como también producir daño directo de la articulación. Los linfocitos T CD4 activados tienen la facultad de estimular monocitos y macrófagos para que liberen citoquinas proinflamatorias; a su vez inducen a los fibroblastos para que produzcan metaloproteinasas de la matriz. Este efecto está determinado por el contacto célula a célula o por la liberación de citoquinas tipo interferón gamma (IFN- γ) o IL-17^{22,23}.

Los CD4 activados también estimulan las células B para que produzcan inmunoglobulinas, incluido el factor reumatoide, cuyo papel en la patogénesis no es claro, pero es conocido como factor predictor mayor de severidad y erosión articular²⁴.

Una vez en la membrana sinovial, las células T pueden dirigir también el proceso de destrucción ósea por liberación de citoquinas, que inician y mantie-

nen la activación de macrófagos y fibroblastos sinoviales, transformándolos, entonces, en células efectoras de la destrucción del tejido articular²⁵.

Bloqueo de moléculas coestimuladoras en el tratamiento de artritis reumatoide

Históricamente, el tratamiento de AR ha consistido en la administración de medicamentos tipo antiinflamatorios no esteroideos, AINES, y más recientemente en combinación con las drogas modificadoras de la enfermedad (DMARD) como el metotrexate²⁶.

Últimamente las terapias anticitoquinas (TNF- α , IL-1), como infliximab, adalimumab y etanercept, han mostrado ser efectivas cuando se usan solas para AR temprana²⁷ y cuando se usan en combinación con los tradicionales DMARD para pacientes con enfermedad severa y crónica²⁸. Sin embargo, sólo 40% de los pacientes presentan una mejoría del 50%, según los criterios del Colegio Americano de Reumatología (ACR); de otro lado, se han observado efectos indeseables, en particular la reactivación de infecciones por *Mycobacterium tuberculosis*²⁹.

A partir del conocimiento del papel de las células T activadas en la patogenia de la artritis reumatoide, se vienen desarrollando compuestos bloqueadores de su activación³⁰⁻³³.

Recordemos que la activación completa de los linfocitos T requiere de dos señales. La primera, dada por la ocupación del receptor de célula T (TCR) por un péptido presentado sobre moléculas del MHC en una célula presentadora de antígeno. La segunda señal, o coestimuladora, está dada por acoplamiento de un ligando sobre la célula presentadora de antígeno con un correceptor en la célula T. Sin esta segunda señal se produce anergia y los linfocitos T sufren apoptosis³⁴.

CD28 y CTLA-4 son dos moléculas sobre la superficie del linfocito T, que unen a ligandos comunes sobre las CPA: B7.1 (CD80) y B7.2 (CD86). CTLA-4Ig tiene afinidad 500 a 2500 veces mayor por CD80 y CD86; por lo tanto, ocupa el lugar de CD28 y previene que los linfocitos T reciban la segunda señal coestimuladora^{35, 36} (figura 3).

CTLA-4Ig fue el primero de una nueva clase agentes terapéuticos llamados bloqueadores de

coestimulación. CTLA-4Ig es una proteína de fusión soluble elaborada por ingeniería genética conformada por el dominio extracelular del CTLA-4 humano, unido a la región constante de la cadena pesada de la IgG1 humana (figura 3). Algunas modificaciones en la molécula CTLA-4Ig permitieron el desarrollo de LEA29Y, compuesto de segunda generación con afinidad 4 veces mayor por CD86 y 2 veces por CD80, con potencia 10 veces mayor en el bloqueo de células T.

Varios estudios de fase 2 han presentado a CTLA-4Ig y LEA29Y como terapias efectivas y seguras para el tratamiento de artritis reumatoide³⁷⁻³⁹. Fue establecido que CTLA-4Ig, a dosis de 10 mg/kg los días 0, 14, 28, 60 y 90, induce mejoría ACR20 en más del 50% de los pacientes, mientras que LEA29Y por encima del 60% con dosis similares³⁹. Simultáneamente se monitorizó la presentación de efectos adversos durante la infusión de los medicamentos, observándose cefalalgia como el más frecuente; no

se observaron efectos importantes que obligaran a discontinuar el tratamiento.

En octubre de 2004 fueron presentados los primeros resultados de estudios de fase 3 con la molécula CTLA-4Ig, “abatacept”: “Abatacept in Inadequate Responders to metotrexate trial”, AIM, y “Abatacept Trial in Treatment of Anti-TNF Inadequate Responders”, ATTAIN^{40, 41}.

El ensayo clínico controlado AIM evaluó la seguridad y efectividad de abatacept por un período de 12 meses en pacientes con artritis reumatoide con pobre respuesta a metotrexate. Los desenlaces primarios fueron mejoría ACR20 a un año, progresión radiológica de la enfermedad y presentación de efectos indeseables. Fueron asignados aleatoriamente 547 pacientes en dos grupos que recibieron metotrexate y, adicionalmente, abatacept: 10 mg/kg (385 pacientes y placebo 162 pacientes). Al final del estudio, en el grupo metotrexate-abatacept alcanzó mejoría ACR20 el 73% de los pacientes, ACR50 el 48,3% y

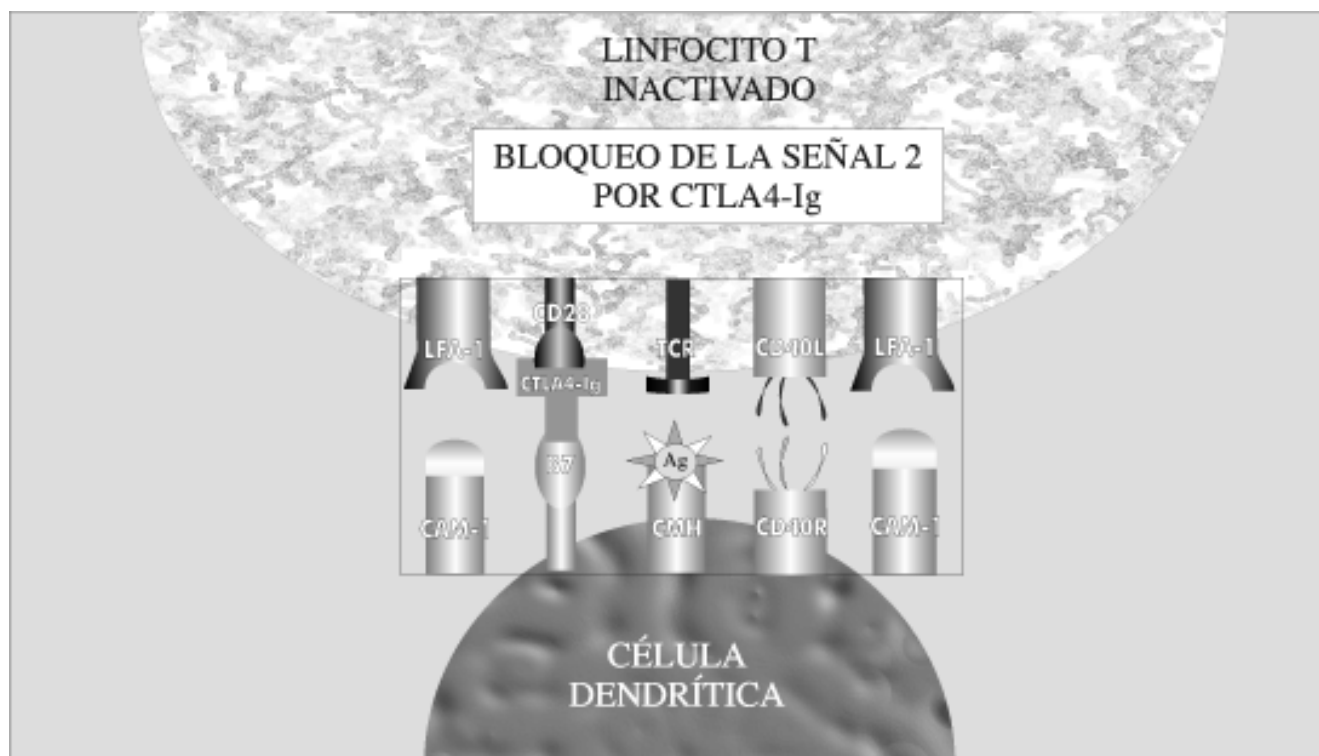


Figura 3. Utilidad clínica del anticuerpo quimérico CTLA4 en el bloqueo de la señal 2, con lo cual no se produce activación final del linfocito T, aunque el antígeno sea presentado.

Tabla 1. Moléculas coestimuladoras con sus respectivos ligandos.

Linfocito T	CD28	CTLA4	CD40L	LFA-1
Célula presentadora de antígeno	CD80(B7)	CD86	CD40R	ICAM- 1

ACR70 el 28,8%; mientras que el grupo metotrexate-placebo sólo 39,7%, 18,2% y 6,1%, respectivamente; diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,001$, IC no suministrados). En cuanto a la evaluación radiológica de la enfermedad, se observó también diferencia estadísticamente significativa en el puntaje total a favor de metotrexate-abatacept ($p = 0,012$, IC no suministrado), disminución en la progresión de erosiones ($p = 0,029$, IC no suministrado) y estrechamiento del espacio articular ($p = 0,009$). La incidencia de efectos adversos fue de 8,7% vs. 8,4%, cefalalgia y nasofaringitis principalmente. No se presentaron infecciones graves.

Un desenlace secundario evaluó la actividad de la artritis por medio del DAS28 (Disease Activity Score), encontrando que el grupo metotrexate-abatacept alcanzó criterios de remisión de actividad en 23,8% de los pacientes contra 1,9% en el grupo metotrexate-placebo ($p < 0,001$, IC no suministrado).

El ATTAIN evaluó, durante seis meses, pacientes con criterios de actividad de artritis con pobre respuesta a anti-TNF. Se distribuyeron aleatoriamente 391 pacientes que suspendieron el anti-TNF, pero que recibieron algún fármaco modificador de la enfermedad (DMARD) y, adicionalmente, abatacept (258 pacientes) o placebo (133 pacientes). Al final del estudio se encontraron diferencias estadísticamente significativas a favor del grupo DMARD-abatacept con mejorías ACR20 en el 50,4% de los pacientes, ACR50 en el 20,3% y ACR70 en el 10,2%; en el grupo DMARD-placebo sólo 19,5%, 3,8% y 1,5%, respectivamente ($p < 0,01$, $p < 0,001$, $p < 0,03$, IC no suministrados). Se alcanzó remisión de actividad DAS28, al cabo de 24 semanas, en 10% del grupo DMARD-abatacept y 0,8% en el grupo DMARD-placebo ($p < 0,001$, IC no suministrado). Se presentaron efectos adversos similares al estudio AIM en sólo el 2,3% de cada grupo.

Conclusión

Las moléculas coestimuladoras son glucoproteínas de la membrana celular de los linfocitos T y células presentadoras de antígenos, que se deben acoplar para generar una segunda señal que terminará activando totalmente a las células T.

Los linfocitos T tienen un importante papel en la patogenia de la artritis reumatoide; el bloqueo de la segunda señal (coestimulación) por el compuesto CTLA-4 Ig inhibe la unión CD28/CD80-86, conduciendo a anergia y a apoptosis de las células T, y por lo tanto se suprime el proceso inflamatorio crónico que lleva a la destrucción de la sinovial.

A pesar del avance en el bloqueo de citoquinas inflamatorias en el manejo de la artritis reumatoide, muchos pacientes no se logran controlar en forma efectiva con DMARD y anti-TNF, progresando inevitablemente la enfermedad.

La proteína de fusión CTLA-4 Ig emerge como un nuevo y promisorio agente en el tratamiento de la artritis reumatoide. Los estudios AIM y ATTAIN posicionan la molécula abatacept como un fármaco útil y seguro en pacientes con AR de pobre respuesta a anti-TNF.

Referencias

1. Chambers CA, Allison JP. Co-stimulation in T cell responses. *Current opinion in cell Biology* 1999; 11: 203-210.
2. Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28 / B7 system of T cell costimulation. *Ann Rev Immunol* 1996; 14: 233-258.
3. Grakoui A, Bromley SK, Sumen C et al. The immunological synapse: a molecular machine controlling T cell activation. *Science* 1999; 285: 221-227.
4. Wulfiging C, Davis MM. A receptor/cytoskeletal movement triggered by costimulation during T cell activation. *Science* 1998; 282: 2266-2269.
5. Mallisen B. Dancing the immunological two-step. *Science* 1999; 285: 207-208.

6. Gao GF, Tormo J, Gerth UC et al. Crystal structure of the complex between human CD8 alpha and HLA-A2. *Nature* 1997; 387: 630-634.
7. Boussiotis VA, Gribben JG, Freeman GJ et al. Blockade of the CD28 co-stimulatory pathway: a means to induce tolerance. *Curr Opin Immunol* 1994; 6: 797-807.
8. Schoenberger SP, Toes RE, Van der Voort EI et al. T cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions. *Nature* 1998; 393: 480-483.
9. Mossman TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989; 7: 145-173.
10. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996; 383: 787-793.
11. Metzler B, Burkhart C, Wraith DC. Phenotypic analysis of CTLA4 and CD28 expression during transient peptide-induced T cell activation in vivo. *Int Immunol* 1999, 11 in press.
12. Walunas TL, Lenschow DJ, Bakker CY et al. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1994; 1: 405-413.
13. Deighton CM, Walker DJ. The familial nature of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 62.
14. Silman AJ, Macgregor AJ, Holligan S et al. Concordance rates for rheumatoid arthritis in twins: results nationwide study. *Arthritis rheum* 1992; 35 (suppl): S47.
15. Stansny P. Association of the B cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 1978; 298: 869.
16. Ollier WER, Macgregor A. Genetic epidemiology of rheumatoid disease. *Br Med Bull* 1995; 51: 267.
17. Rodríguez MR, Núñez-Roldán A, Aguilar F et al. Association of the CTLA4 3' Untranslated Region Polymorphism with the Susceptibility to Rheumatoid Arthritis. *Human Immunology* 2002; 63: 76-81.
18. Hadj H, Kaddour N, Adyel FZ et al. HLA-DQB1 CAR1/CAR2, TNFa IR2/IR4 and CTLA-4 polymorphisms in Tunisian patients with rheumatoid arthritis and Sjögren syndrome. *Rheumatology* 2001; 40: 1370-1374.
19. Panayi GS, Corrigal VM, Pitzalis C. Pathogenesis of rheumatoid arthritis. The role of the T cells and other beasts. *Rheum. Dis. Clin. North Am* 2001; 27(2): 317-334.
20. Choy HSE, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344 (12): 907-916.
21. Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Ann. Rev. Immunol.* 1993; 8: 253-278.
22. Klimiuk PA, Yang H, Goronzy JJ et al. Production of cytokines and metalloproteinases in rheumatoid synovitis is T cell dependent. *Clin. Immunol.* 1999; 90: 65-78.
23. Kotake S, Udagawa N, Hakoda M et al. Activated human T cells directly induced osteoclastogenesis from human monocytes: Possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 2001; 44: 1003-1012.
24. Bukhari M, Lunt M, Harrison BJ et al. Rheumatoid factor is the major predictor of increasing severity of radiographic erosions in rheumatoid arthritis: results from the Norfolk arthritis register study, a large inception cohort. *Arthritis Rheum.* 2002; 46 (4): 906-912.
25. Weyand CM, Bryl E, Goronzy JJ. The role of T cells in rheumatoid arthritis. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 2000; 48 (5): 429-435.

FLEXURE

26. Fleischmann R, Iqbal I, Nandeshwar P et al. Safety and efficacy of disease modifying anti-rheumatic agents: Focus on the benefits and risks of the Etanercept. *Drug saf.* 2002; 25 (3): 173-197.
27. Breedveld FC. Current and future management approaches for rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2002; 4 (suppl. 2): S16-S21.
28. Moreland LW, Heck LW, Sullivan W. New approaches to the therapy of autoimmune diseases: Rheumatoid arthritis as a paradigm. *Am J Med Sci* 1993; 305: 40-51.
29. Criscione LG, St. Clair EW. Tumor necrosis factor-alpha antagonists for the treatment of rheumatic diseases. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2002; 14 (3): 204-211.
30. Wyss-Coray T, Mauri-Hellweg D, Baumann K et al. The B7 adhesion molecule is expressed on activated human T cells: functional involvement in T-T cell interactions. *Eur. J. Immunol.* 1993; 23 (9): 2175-2180.
31. Goldberg D, Morel P, Chatenoud L et al. Immunological effects of high dose administration of anti-CD4 antibody in rheumatoid arthritis patients. *J Autoimmun.* 1991; 4: 616-630.
32. Choy EH, Chikansa IC, Kingsley GH et al. Treatment of rheumatoid arthritis with single dose or weekly pulses of chimeric anti-CD4 monoclonal antibody. *Scand. J. Immunol.* 1992; 31: 291-298.
33. Wendling D, Wijdenes J, Racadot E et al. Therapeutic use of monoclonal anti-CD4 antibody in rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* 1991; 18: 325-327.
34. Jenkins MK, Taylor S, Norton SD et al. CD28 delivers a costimulatory signal involved in antigen-specific IL2 production by human T cells. *J Immunol.* 1999; 147: 2461-2466.
35. Peach RJ, Bajorath J, Brdy W et al. Complementarity's determining region1 (CDR1)-and CDR3- analogous regions in CTLA-4 and CD28 determine the binding to B7-1. *J. Exp. Med.* 1994; 180: 2049-2058.
36. Linsley PS, Greene JL, Brady W et al. Human B7-1(CD80) and B7-2(CD86) bind with similar avidities but distinct kinetics to CD28 and CTLA4 receptors. *Immunity.* 1994; 1: 793-801. (erratum, *Immunity* 1995, 2: 203^a).
37. Emery P. The therapeutic potential of costimulatory blockade with CTLA4ig in rheumatoid arthritis. *Expert Opin. Investig. Drugs.* 2003; 12 (4): 673-681.
38. Kremer JM, Westhovens R, Leon M et al. Treatment of Rheumatoid Arthritis by Selective Inhibition of T-cell Activation with Fusion Protein CTLA4Ig. *N. Engl. J. Med.* 2003; 349: 1907-1915.
39. Moreland LW, Alten R, Van Den BF, Appelboom T, Leon M, Emery P, Cohen S, Luggen M, Shergy W, Nuamah I, Becker JC. Costimulatory blockade in patients with rheumatoid arthritis: a pilot, dose-finding, double-blind, placebo-controlled clinical trial evaluating CTLA-4Ig and LEA29Y eighty-five days after the first infusion. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1470-1479.
40. Kremer JM, Shergy W. et al. Sustained clinical efficacy demonstrated by the selective co-stimulation modulator Abatacept (CTLA4Ig) in combination with methotrexate at 2 years in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate. *Am J Rheum* 2004; 50 (9) supplement: 182.
41. Dougados M, Westhovens R. et al. Sustained remission a major clinical response at 2 years shown with Abatacept (CTLA4Ig) In combination with Methotrexate in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to Methotrexate. *Am J Rheum* 2004; 50 (9) supplement: 185.