



# PAPEL PATOGENICO DE LAS INTERACCIONES ENTRE LINFOCITOS B Y SINOVIOCITOS TIPO FIBROBLASTO EN LA ARTRITIS REUMATOIDE

MARÍA EUGENIA MIRANDA CARÚS

Servicio de Reumatología. Hospital La Paz. Madrid. España.

## RESUMEN

El éxito del rituximab en el tratamiento de pacientes con artritis reumatoide (AR) ha favorecido la reevaluación del papel de los linfocitos B en la patogenia de esta enfermedad. En la membrana sinovial inflamada de pacientes con AR se observa una acumulación y expansión clonal de linfocitos B, formación ectópica de centros germinales, acumulación de células plasmáticas, producción local de autoanticuerpos y depósito de inmunocomplejos. Además, en modelos animales de artritis inflamatoria se ha demostrado que las células B son necesarias para que se produzca el daño mediado por linfocitos T. Todo ello indica que los linfocitos B son importantes en la patogenia de la AR. Varios estudios han demostrado que el contacto con fibroblastos sinoviales es esencial para la acumulación y la supervivencia de los linfocitos B en la articulación reumatoidea, así como para su diferenciación hacia células plasmáticas.

**Palabras clave:** Artritis reumatoide. Linfocito B. Sinoviocito tipo fibroblasto.

## ABSTRACT

The success of rituximab in the treatment of patients with RA has led investigators to reassess the role of B cells in RA pathogenesis. In the RA synovium there is B-lymphocyte accumulation and clonal expansion, formation of ectopic germinal centers, plasma cell accumulation, and deposits of immune complexes, suggesting that B cells and their products participate in disease progression. Moreover, a recently described animal model that simulates RA demonstrates a critical need for B cells in the transition of T-cell autoreactivity to immunoglobulin-mediated joint destruction. Prior *in vitro* studies of requirements for B-cell survival in the synovial membrane and local differentiation into plasma cells concluded that cell contact between synovial fibroblasts and B cells is essential.

**Key words:** Rheumatoid arthritis. B lymphocyte. Fibroblast-like synoviocyte.

## INTRODUCCIÓN

En la artritis reumatoide (AR) el tejido sinovial posee una capa íntima hiperplásica y redundante compuesta por macrófagos y sinoviocitos tipo fibroblasto (FLS)<sup>1-4</sup>. Adyacentes a esta capa se encuentran infiltrados de monocitos, macrófagos y linfocitos T, que producen factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), interleucina (IL) 1, IL-15, IL-17 y pequeñas cantidades de interferón gamma (IFN $\gamma$ )<sup>5-8</sup>. Además, la sinovial inflamada contiene numerosas células B que con frecuencia se organizan en seudofolículos nodulares, semejantes a centros germinales<sup>9</sup>.

El éxito del rituximab en el tratamiento de pacientes con AR ha favorecido la reevaluación del papel de los linfocitos B en la patogenia de la AR<sup>1</sup>. Los linfocitos B producen anticuerpos como el factor reumatoide y los anticuerpos antipéptidos citrulinados, que contribuyen a la formación de inmunocomplejos y a la activación del complemento en las articulaciones<sup>10</sup>. Son también células presentadoras de antígeno muy eficaces, y pueden activar a los linfocitos T mediante la expresión de moléculas coestimuladoras<sup>11</sup>. Además, los linfocitos B producen quimiocinas y citocinas que favorecen la infiltración de leucocitos en las articulaciones, la forma-

ción de estructuras linfoides ectópicas, la angiogénesis y la hiperplasia sinovial.

Se ha descrito que los FLS tienen propiedades intrínsecas de células dendríticas foliculares<sup>12</sup>, y podrían ser esenciales en la formación de los seudofoliculos sinoviales. Los FLS producen quimiocinas, como el SDF-1 (factor 1 derivado de la estroma, CXCL12)<sup>13</sup> y CXCL13 (*B cell chemoattractant-1*)<sup>14,15</sup>, que posiblemente contribuyen a reclutar células B hacia la articulación, donde las interacciones entre los FLS y las células B mediadas por moléculas de adhesión, como CD106 (VCAM-1) o CS-1 fibronectina<sup>16</sup>, aumentan la supervivencia de los linfocitos B<sup>12,13</sup>. En estudios *in vitro* a corto plazo (horas), se ha demostrado que la unión de las integrinas  $\alpha 4$  y el CXCR4 expresados en la superficie de las células B con sus respectivos ligandos, VCAM-1 (CD106) y SDF-1, presentes en los FLS, protege a las células B frente a la apoptosis espontánea. Recientemente se ha descrito que los FLS de AR expresan BAFF (factor activador de células B) funcionalmente activo<sup>17</sup>, que contribuiría de manera importante al efecto de los FLS en los linfocitos B.

### **PAPEL DE LOS FIBROBLASTOS EN LA CRONIFICACIÓN DE LAS RESPUESTAS INFLAMATORIAS**

Hasta hace relativamente poco tiempo, los inmunólogos consideraban que la activación de los fibroblastos carecía de importancia relativa en la regulación de la respuesta inmunitaria y centraban su estudio en las interacciones entre linfocitos, macrófagos y células dendríticas, todas las cuales generan respuestas dependientes de antígeno<sup>18</sup>. Sin embargo, muchas señales de peligro no son antígeno-específicas, y los modelos actuales de regulación de la respuesta inmunitaria incluyen un sistema ampliado, en el cual las células de la estroma desempeñan un papel fundamental en la transición de la respuesta inmunitaria innata hacia la inmunidad adquirida, así como en la transformación de una respuesta inflamatoria aguda autolimitada en una inflamación crónica persistente<sup>19</sup>.

Las respuestas inflamatorias tienen lugar en microambientes tisulares. Estos microambientes se componen de muchos tipos celulares diferentes que, con frecuencia, se encuentran en diferentes

estadios de activación y diferenciación<sup>18</sup>. Los mecanismos responsables del reclutamiento y migración de los leucocitos de sangre periférica hacia los lugares de inflamación son bien conocidos. Sin embargo, se ha estudiado menos cuáles son los factores de la persistencia de los leucocitos en los tejidos crónicamente inflamados. El reclutamiento de células hacia el tejido ocurre a través del endotelio vascular y requiere un conjunto combinado de interacciones celulares que comprende receptores de captura (selectinas), moléculas de activación (quimiocinas) y receptores de adhesión (integrinas). Una vez que una célula ha sido reclutada por un tejido, debe tomar varias decisiones: ¿debería explorar brevemente el ambiente estromal en su camino de salida hacia los vasos linfáticos o debería permanecer en el intersticio durante un período más largo? ¿Debería diferenciarse, proliferar o morir? Se ha descrito que las células de la estroma, como los fibroblastos, afectan directamente al comportamiento de las células infiltrantes, pues proporcionan señales que favorecen la retención, diferenciación y/o salida de los leucocitos. Para conseguir la resolución de la lesión inflamatoria, las células muertas o redundantes que fueron reclutadas y se expandieron durante la fase activa de la inflamación deben ser eliminadas. La eliminación de las células efectoras indeseadas al final de una respuesta inflamatoria parece ser el resultado de una desaparición de señales de supervivencia derivadas de las células de la estroma, que da lugar a la apoptosis y la ulterior fagocitosis de células muertas<sup>19</sup>. En los procesos inflamatorios crónicos, esta fase de resolución está alterada y se favorece la persistencia del infiltrado inflamatorio, la hiperplasia tisular y finalmente la destrucción tisular y la deformidad<sup>19</sup>.

Los fibroblastos son células ubicuas que aportan fuerza mecánica a los tejidos mediante la creación de una red de soporte de matriz extracelular<sup>20</sup>. Sin embargo, no todos los fibroblastos son iguales: aunque la mayoría tiene un origen mesodérmico, los fibroblastos de la región de la cabeza y el cuello derivan del tejido de la cresta neural (es decir, son de origen ectodérmico)<sup>20,21</sup>. Además, los fibroblastos del timo son importantes en el desarrollo temprano de las células T, lo cual explica por qué la destrucción de la cresta neural cefálica da lugar a un retraso del desarrollo del tejido linfoide del timo, así como a defectos craneofaciales y cardíacos<sup>22</sup>. Por otro lado, los fibroblastos aislados de di-

ferentes tejidos muestran propiedades funcionales diferentes<sup>23</sup>. De acuerdo con los requerimientos biofísicos específicos de los distintos tejidos, se han descrito diferencias fenotípicas en las bien conocidas funciones estructurales de los fibroblastos, como capacidad migratoria, producción, degradación y contractilidad de la matriz extracelular<sup>23</sup>. Las menos conocidas funciones inmunomoduladoras de los fibroblastos también varían de acuerdo con la localización anatómica y el estadio de la enfermedad<sup>24</sup>.

Las características fenotípicas de los fibroblastos de diferentes localizaciones anatómicas se mantienen incluso después de períodos prolongados de cultivo *in vitro*, lo que indica que muchos fibroblastos poseen un fenotipo “grabado” que es tremendamente estable<sup>19</sup>. Además, parece que los fibroblastos no son una población homogénea ni siquiera dentro de un mismo tejido, sino que existen subtipos celulares, como ocurre con los macrófagos tisulares y las células dendríticas<sup>25</sup>. Se ha descrito que el tejido conectivo contiene una mezcla de distintos linajes de fibroblastos, de manera que fibroblastos maduros coexisten con fibroblastos inmaduros (con frecuencia llamados fibroblastos mesenquimatosos), capaces de diferenciarse hacia otras células del tejido conectivo<sup>26</sup>. Además, se han encontrado precursores de fibroblastos circulantes en sangre periférica<sup>27</sup>. Estas células circulantes comparten muchas propiedades con las células madre de la estroma de la médula ósea y son capaces de diferenciarse en varios linajes celulares<sup>28,29</sup>. La diversidad fenotípica y funcional que caracteriza a los fibroblastos de diferentes lugares anatómicos puede desempeñar un papel importante en la susceptibilidad intrínseca de diferentes órganos a los estímulos inflamatorios. Podría también explicar por qué las recurrencias de la inflamación crónica son, con frecuencia, específicas de un determinado tejido y una determinada localización<sup>19</sup>.

La base molecular de la diversidad de los fibroblastos no se ha estudiado hasta hace poco. Varios grupos de investigación independientes han analizado el transcriptoma de un panel de fibroblastos humanos<sup>30,31</sup>. El análisis comparativo reveló que los perfiles transcripcionales de los fibroblastos se organizan en grupos bien definidos según la localización anatómica. Es más, expresiones específicas de genes homeobox (HOX) mostraron una fuerte asociación con cada grupo<sup>31</sup>. Los genes HOX codifican

factores de transcripción que confieren identidad regional a los tejidos<sup>32</sup>. Esto confirma que los fibroblastos poseen identidad posicional que está impresa transcripcionalmente y ayuda a comprender por qué existe una diversidad estable de fibroblastos en el adulto, incluso dentro de un mismo tejido.

Esta diversidad no es única de los fibroblastos de la estroma tisular. Las células endoteliales vasculares cultivadas de diferentes lugares anatómicos también muestran una amplia diversidad de perfiles transcripcionales y proteómicos<sup>33,34</sup>. Además, una aproximación similar ha revelado diferencias biológicas importantes entre el endotelio vascular y el linfático<sup>35</sup>. Otros elementos de la estroma, como las células epiteliales, las células del músculo liso y los pericitos, probablemente sean tan variados como los fibroblastos.

Puesto que los fibroblastos son células de vida relativamente larga, debe de haber un buen mecanismo de control para prevenir la sobreestimulación del sistema inmunitario que conduciría a la persistencia de la inflamación. Los fibroblastos extraídos de tejidos inflamados muestran un fenotipo completamente diferente de los fibroblastos tomados de tejidos normales en la misma localización anatómica<sup>36</sup>. Por ejemplo, los fibroblastos sinoviales de pacientes con artritis reumatoide tienen propiedades únicas y secretan un patrón específico de citocinas, completamente distinto de los fibroblastos de articulaciones no inflamadas<sup>36</sup>. Este fenotipo específico se mantiene en ausencia de estímulos externos a lo largo de muchos pases en cultivo, lo cual implica la existencia de alteraciones estables de la función celular. Estos cambios fenotípicos se relacionan con notables diferencias funcionales entre fibroblastos reumatoideos y no reumatoideos en su capacidad para modificar la supervivencia, diferenciación y acumulación de leucocitos en la membrana sinovial<sup>36</sup>. Del mismo modo, los fibroblastos pulmonares aislados de ratones con granulomas Th1 o Th2 inducidos experimentalmente expresan diferente patrón de quimiocinas y producen diferentes tipos de matriz extracelular entre sí, lo que indicaría que los fibroblastos pueden regular el equilibrio Th1-Th2 en el tejido inflamado<sup>37</sup>. Estudios *in vivo* con ratones transgénicos han mostrado que la expresión espacial y temporal ectópica de citocinas, como la IL-1 y el factor transformador de crecimiento beta (TGFβ), puede determinar el

patrón y la persistencia de los infiltrados inflamatorios y dar lugar a daño tisular y fibrosis<sup>38,39</sup>. Es decir, existe evidencia de que los fibroblastos pueden transformar respuestas inmunitarias en reacciones inflamatorias crónicas.

Las bases moleculares del fenotipo activado persistente de los fibroblastos presentes en los lugares de inflamación crónica sigue sin estar clara. Se ha descrito la alteración de una serie de vías de señalización<sup>36</sup>. Entre ellas, la vía de señalización del *nuclear factor of kappa B polypeptide gene enhancer in B cells* (NF-κB) parece ser fundamental en la perpetuación de la hiperplasia tisular y la respuesta inflamatoria<sup>40</sup>.

### **CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS Y FUNCIONALES DE LOS SINOVIOCITOS TIPO FIBROBLASTO DE LA ARTRITIS REUMATOIDE**

Los FLS de la AR en cultivo muestran una morfología estrellada, aumento de la tasa de crecimiento y alteración de la capacidad migratoria y expresan constitutivamente genes proinflamatorios, metaloproteasas y proteínas de matriz que facilitan la localización de las células del sistema inmunitario en la articulación<sup>41,42</sup>. Tienen un aspecto muy diferente del de los fibroblastos derivados de otros tejidos como la piel y el pulmón y su patrón de expresión génica determinada mediante *microarrays* de ADNc es muy distinto. Su comportamiento es también característico. El trasplante de fibroblastos reumatoideos junto con matriz cartilaginosa a ratones con inmunodeficiencia grave combinada da lugar a la invasión de la matriz cartilaginosa y a producción de un tejido similar al *pannus*<sup>43</sup>. Los fibroblastos de pacientes con artrosis y los fibroblastos normales de piel no invaden el cartílago, lo cual indicaría que éste es un fenotipo intrínseco de los fibroblastos reumatoideos<sup>43</sup>.

### **EFFECTO DE LOS SINOVIOCITOS TIPO FIBROBLASTO DE ARTRITIS REUMATOIDE EN LOS LINFOCITOS B**

Los FLS de la AR tienen la capacidad de aumentar la supervivencia de los linfocitos B y favorecer su diferenciación terminal hacia células plasmáticas, propiedades que comparten con las células dendríticas foliculares<sup>12</sup> y con las células “tipo nodriza” de la médula ósea<sup>44</sup>.

### **Los FLS del AR tienen propiedades de células dendríticas foliculares**

Los centros germinales de los folículos linfoides son los lugares donde se generan los linfocitos B de memoria<sup>45</sup>. En ellos se encuentran las células dendríticas foliculares, que son fundamentales para la supervivencia de los linfocitos B de memoria por su capacidad para inhibir la apoptosis de éstas<sup>45</sup>. En condiciones fisiológicas, la formación de células dendríticas foliculares y centros germinales ocurre exclusivamente en los órganos linfoides periféricos<sup>45</sup>. En la sinovial inflamada de los pacientes con AR, se observan con frecuencia infiltrados linfodiales que contienen folículos linfoides con centros germinales<sup>45</sup>. Varios autores han demostrado la presencia en ellos de células que expresan marcadores de células dendríticas foliculares (CDF), como VCAM-1, CD55 (DAF, *complement decay-accelerating factor*) y DRC-1, y se ha afirmado que esta característica es específica de la AR<sup>46-48</sup>. La formación ectópica de centros germinales puede crear el microambiente apropiado en el cual las células B sobreviven y producen localmente factor reumatoide IgG<sup>49</sup>.

No se sabe cuál es el origen de las CDF. Las CDF muestran un solapamiento fenotípico con los fibroblastos<sup>50</sup> y estudios ontogenéticos indican que se originan a partir de células de la estroma<sup>51</sup>. En animales que se están recuperando de un estado de inmunosupresión, se ha demostrado que la presencia local de células B es un requisito para la inducción de CDF a partir de precursores de la estroma<sup>52</sup>. Los fibroblastos sinoviales de AR poseen características funcionales de CDF<sup>12</sup> por su capacidad de unirse a linfocitos B de centros germinales y aumentar su supervivencia. En condiciones basales, la expresión de marcadores fenotípicos de CDF (VCAM-1, CD55, DRC-1) en los FLS de AR es muy baja<sup>12</sup>, y aumenta notablemente tras la estimulación con citocinas proinflamatorias como el TNFα y la IL-1β<sup>12</sup>. La capacidad de los FLS de la AR de funcionar como CDF es independiente de la expresión de marcadores fenotípicos característicos, ocurre en ausencia de estimulación con citocinas y se mantiene durante muchos pases<sup>12</sup>.

### **Los FLS de AR tienen propiedades de células “tipo nodriza” de la estroma de la médula ósea**

Por otro lado, se ha observado que los FLS presentes en la sinovial reumatoidea inflamada comparten muchas características con las células madre mesenquimales que circulan en sangre periférica y podrían originarse de ellas<sup>25,53</sup>. Una característica común de estas células de la estroma mesenquimal es su capacidad para producir grandes cantidades de la quimiocina SDF-1 (CXCL12). Los FLS de la AR expresan gran cantidad de SDF-1, determinado por PCR (reacción en cadena de la polimerasa) cuantitativa en tiempo real<sup>13</sup>. En el microambiente hemopoyético, el SDF-1 secretado por las células de la estroma de la médula ósea retiene a las células B en desarrollo en contacto próximo con ellas. Del mismo modo, el SDF-1 producido por los FLS de la AR atrae y retiene a las células B en la membrana sinovial. Los fibroblastos reumatoideos expresan otros marcadores típicos de las células de la estroma de la médula ósea, como VCAM-1, BST-1 (CD157), CXCL13 (*B cell-attracting chemokine-1 [BCA-1]*), CCL19 (*EBI1 ligand chemokine [ELC]*) y CCL21 (*secondary lymphoid-tissue chemokine [SLC]*) y producen constitutivamente citocinas como el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), IL-6, IL-7, factor de crecimiento fibroblástico (FGF) 7 y FGF-10. Los fibroblastos reumatoideos también expresan receptores para proteínas morfogenéticas del hueso (BMP) y proteínas implicadas en el desarrollo embrionario (los receptores para proteínas *wnt*, *frizzled* y *wingless*) que se encuentran en las células progenitoras mesenquimales<sup>19,54</sup>.

Estudios *in vitro* han demostrado que los linfocitos B pueden migrar a través de capas de FLS de la AR y permanecer en estrecho contacto con éstos, lo cual les confiere resistencia a la apoptosis espontánea<sup>13</sup>. Esta propiedad es típica de las células “tipo nodriza” de la estroma de la médula ósea<sup>13</sup>. El término “célula tipo nodriza” (*nurse-like cell*) se acuñó en contraposición a las células nodriza propiamente dichas (*nurse cells*) que se encuentran en el timo y forman complejos protectores característicos con linfocitos T inmaduros<sup>55</sup>. Los timocitos migran activamente y se introducen en el citoplasma de las células nodriza del timo. La migración activa de timocitos hacia el citoplasma de estas células nodriza se denomina emperipolesis<sup>55</sup>. En la médula

ósea existen unas células llamadas “tipo nodriza”, diferentes de las células nodriza propiamente dichas presentes en el timo. A diferencia de lo que ocurre en el timo, en la médula ósea los linfocitos B y T se adhieren a las células “tipo nodriza” y reptan hasta colocarse por debajo de ellas<sup>12,13</sup>, pero no son internalizadas. Este proceso se denomina seudoemperipolesis. De modo análogo a las células “tipo nodriza” de la estroma de la médula ósea, las células “tipo nodriza” de la sinovial reumatoidea soporan la seudoemperipolesis de células B<sup>44</sup>. Algunos autores han señalado que las células “tipo nodriza” constituyen una población única de células sinoviales característica de los pacientes con AR<sup>44</sup>. Se ha demostrado que la quimiocina CXC SDF-1 y su receptor CXCR4, así como VCAM-1 (CD106) y su receptor, la integrina  $\alpha 4\beta 1$  VLA-4 (CD49d) están implicados en las propiedades “tipo nodriza” de los FLS<sup>13,44</sup>.

Las células tipo nodriza y las CDF de la AR comparten muchas características fenotípicas y funcionales. Como hemos visto, ambos tipos celulares favorecen la viabilidad de los linfocitos B y comparten la expresión constitutiva de VCAM-1 (CD106), que desempeña un papel muy importante en la interacción de las CDF con las células B tanto *in vivo* como *in vitro*. Se ha descrito, además, que las CDF también son capaces de favorecer la seudoemperipolesis<sup>56</sup> e incluso hay descripciones de emperipolesis mediada por CDF<sup>56</sup>. Sin embargo, hay diferencias entre las CDF y las células tipo nodriza de AR en cuanto a producción de citocinas<sup>57</sup> y marcadores de superficie<sup>58</sup>. Las células tipo nodriza de AR no expresan CD21 ni CD35, que son marcadores característicos de CDF clásicas<sup>58</sup>.

### **Los FLS de AR expresan BAFF**

Recientemente se ha descrito que los FLS de la AR expresan BAFF<sup>17</sup>. El BAFF (también conocido como BlyS, TALL-1, THANK o zTNF4) es un nuevo miembro de la familia del TNF que regula la supervivencia y la activación de los linfocitos B<sup>59</sup>. El BAFF se une a 3 receptores, BAFF-R, TACI y BCMA, y es muy importante no solamente en la supervivencia de los linfocitos B y las células plasmáticas, sino también en el cambio de isotipo de anticuerpos independiente de CD154 (CD40L), en el mantenimiento de centros germinales, en las respuestas de anticuerpos dependientes e indepen-

dientes de células T y en la coestimulación de células T. La deficiencia de BAFF da lugar a una reducción en el número total de linfocitos B periféricos y una disminución de la capacidad de generar respuestas inmunitarias de autoanticuerpos<sup>59</sup>. Por el contrario, la sobreexpresión de BAFF se relaciona con la autoinmunidad tanto en ratones como en humanos<sup>59</sup>.

Durante un tiempo se creyó que solamente las células de origen mielomonocítico son capaces de expresar BAFF<sup>59</sup>. Por el contrario, un estudio reciente demostró que las CDF también pueden expresarlo<sup>60</sup>. En un principio se supuso que la proteína BAFF encontrada en el líquido sinovial de pacientes con AR<sup>61</sup> y el ARNm de BAFF detectado en el tejido sinovial de AR eran producidos por los macrófagos que residen en la sinovial inflamada. Sin embargo, se ha demostrado que los FLS de la capa íntima sinovial expresan ARNm para BAFF y se tienen con un anticuerpo monoclonal anti-BAFF, y esto se observa en células que se ha pasado más de 3 veces y que carecen de contaminación por mono-

citos o macrófagos<sup>17</sup>. La expresión de BAFF en FLS de AR aumenta considerablemente en presencia de TNF $\alpha$ , lo cual es relevante en la articulación reumatoidea, donde existe un exceso de esta citocina<sup>17</sup>.

## CONCLUSIONES

Los FLS de la AR son capaces de crear un microambiente articular que favorece la iniciación y la perpetuación de respuestas inflamatorias crónicas. Expresan en superficie varias moléculas que aumentan la supervivencia e inducen la diferenciación y la activación de los linfocitos B. La sobreexpresión de estas moléculas puede crear en la articulación “nichos de protección” de células B capaces de dificultar la acción del tratamiento deplecionar con anti-CD20<sup>62</sup>. Por tanto, en pacientes que no responden a anti-CD20 puede estar indicado combinar otros tratamientos dirigidos a neutralizar las citocinas o los factores de supervivencia/diferenciación producidos localmente, con el fin de aumentar la eficacia de la depleción de células B.

## Bibliografía

- Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J, et al. Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 2004;350:2572-81.
- Dechanet J, Merville P, Durand I, et al. The ability of synoviocytes to support terminal differentiation of activated B cells may explain plasma cell accumulation in rheumatoid synovium. *J Clin Invest.* 1995;95:456-63.
- Takemura S, Klimiuk PA, Braun A, et al. T cell activation in rheumatoid synovium is B cell dependent. *J Immunol.* 2001;167:4710-8.
- Zvaifler NJ, Boyle D, Firestein GS. Early synovitis-synoviocytes and mononuclear cells. *Semin Arthritis Rheum.* 1994;23 Suppl 2:11-6.
- Feldmann M, Brennan FM, Maini RN. Role of cytokines in rheumatoid arthritis. *Annu Rev Immunol.* 1996;14:397-440.
- Kinne RW, Brauer R, Stuhlmüller B, et al. Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2000;2:189-202.
- Firestein GS, Zvaifler NJ. Peripheral blood and synovial fluid monocyte activation in inflammatory arthritis. I. A cytofluorographic study of monocyte differentiation antigens and class II antigens and their regulation by gamma-interferon. *Arthritis Rheum.* 1987;30:857-63.
- McInnes IB, Liew FY. Interleukin 15: a proinflammatory role in rheumatoid arthritis synovitis. *Immunol Today.* 1998;19:75-9.
- Weyand CM, Gorony JJ. Ectopic germinal center formation in rheumatoid synovitis. *Ann NY Acad Sci.* 2003;987:140-9.
- Zvaifler NJ. Rheumatoid synovitis. An extravascular immune complex disease. *Arthritis Rheum.* 1974;17:297-305.
- Dorner T, Burmester GR. The role of B cells in rheumatoid arthritis: mechanisms and therapeutic targets. *Curr Opin Rheumatol.* 2003;15:246-52.
- Lindhout E, Van Eijk M, Van Pel M, et al. Fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis patients have intrinsic properties of follicular dendritic cells. *J Immunol.* 1999;162:5949-56.
- Burger JA, Zvaifler NJ, Tsukada N, et al. Fibroblast-like synoviocytes support B-cell pseudoemperipoleisis via a stromal cell-derived factor-1- and CD106 (VCAM-1)-dependent mechanism. *J Clin Invest.* 2001;107:305-15.
- Shi K, Hayashida K, Kaneko M, et al. Lymphoid chemokine B cell-attracting chemokine-1 (CXCL13) is expressed in germinal center of ectopic lymphoid follicles within the synovium of chronic arthritis patients. *J Immunol.* 2001;166:650-5.
- Takemura S, Braun A, Crowson C, et al. Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis. *J Immunol.* 2001;167:1072-80.
- Morales-Ducret J, Wayner E, Elices MJ, et al. Alpha 4/beta 1 integrin (VLA-4) ligands in arthritis. Vascular cell adhesion molecule-1 expression in synovium and on fibroblast-like synoviocytes. *J Immunol.* 1992;149:1424-31.
- Ohata J, Zvaifler NJ, Nishio M, et al. Fibroblast-like synoviocytes of mesenchymal origin express functional B cell-activating factor of the TNF family in response to proinflammatory cytokines. *J Immunol.* 2005;174:864-70.
- Akbar AN, Salmon M. Cellular environments and apoptosis: tissue microenvironments control activated T-cell death. *Immunol Today.* 1997;18:72-6.
- Buckley CD, Pilling D, Lord JM, et al. Fibroblasts regulate the switch from acute resolving to chronic persistent inflammation. *Trends Immunol.* 2001;22:199-204.
- Komuro T. Re-evaluation of fibroblasts and fibroblast-like cells. *Anat Embryol.* 1990;182:103-12.

21. Owen JJ, McLoughlin DE, Suniara RK, et al. The role of mesenchyme in thymus development. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2000;251:133-7.
22. Suniara RK, Jenkinson EJ, Owen JJ. An essential role for thymic mesenchyme in early T cell development. *J Exp Med.* 2000;191:1051-6.
23. Fries KM, Bliden T, Looney RJ, et al. Evidence of fibroblast heterogeneity and the role of fibroblast subpopulations in fibrosis. *Clin Immunol Immunopathol.* 1994;72:283-92.
24. Brouty-Boye D, Pottin-Clemeau C, Doucet C, et al. Chemokines and CD40 expression in human fibroblasts. *Eur J Immunol.* 2000;30:914-9.
25. Marinova-Mutafchieva L, Taylor P, Funa K, et al. Mesenchymal cells expressing bone morphogenetic protein receptors are present in the rheumatoid arthritis joint. *Arthritis Rheum.* 2000;43:2046-55.
26. Harris J. Differentiated cells and the maintenance of tissues. En: Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al, editores. *Molecular Biology of the Cell.* New York: Garland Press; 1994. p. 1139-93.
27. Zvaifler NJ, Marinova-Mutafchieva L, Adams G, et al. Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res.* 2000;2:477-88.
28. Bianco P, Gehron Robey P. Marrow stromal stem cells. *J Clin Invest.* 2000;105:1663-8.
29. Whetton AD, Graham GJ. Homing and mobilization in the stem cell niche. *Trends Cell Biol.* 1999;9:233-8.
30. Parsonage G, Falciani F, Burman A, et al. Global gene expression profiles in fibroblasts from synovial, skin and lymphoid tissue reveals distinct cytokine and chemokine expression patterns. *Thromb Haemost.* 2003;90:688-97.
31. Chang HY, Chi JT, Dudoit S, et al. Diversity, topographic differentiation, and positional memory in human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:12877-82.
32. Gilbert SF. The genetics of axis specification in *Drosophila*. En: Gilbert SF, editor. *Developmental Biology*, 4.<sup>a</sup> ed. Sunderland: Sinauer; 1994. p. 531-74.
33. Chi JT, Chang HY, Haraldsen G, et al. Endothelial cell diversity revealed by global expression profiling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:10623-8.
34. Oh P, Li Y, Yu J, et al. Subtractive proteomic mapping of the endothelial surface in lung and solid tumours for tissue-specific therapy. *Nature.* 2004;429:629-35.
35. Podgrabska S, Braun P, Velasco P, et al. Molecular characterization of lymphatic endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:16069-74.
36. Pap T, Muller-Ladner U, Gay RE, et al. Fibroblast biology. Role of synovial fibroblasts in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2000;2:361-7.
37. Hogaboam CM, Bone-Larson CL, Lipinski S, et al. Differential monocyte chemoattractant protein-1 and chemokine receptor 2 expression by murine lung fibroblasts derived from Th1- and Th2-type pulmonary granuloma models. *J Immunol.* 1999;163:2193-201.
38. Zhu Z, Homer RJ, Wang Z, et al. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *J Clin Invest.* 1999;103:779-88.
39. Hitt MM, Gauldie J. Gene vectors for cytokine expression in vivo. *Curr Pharm Des.* 2000;6:613-32.
40. Miagkov AV, Kovalenko DV, Brown CF, et al. NF-kappaB activation provides the potential link between inflammation and hyperplasia in the arthritic joint. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:13859-64.
41. Bucala R, Ritchlin C, Winchester R, et al. Constitutive production of inflammatory and mitogenic cytokines by rheumatoid synovial fibroblasts. *J Exp Med.* 1991;173:569-74.
42. Seki T, Selby J, Haupl T, et al. Use of differential subtraction method to identify genes that characterize the phenotype of cultured rheumatoid arthritis synoviocytes. *Arthritis Rheum.* 1998;41:1356-64.
43. Müller-Ladner U, Kriegsmann J, Franklin BN, et al. Synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis attach to and invade normal human cartilage when grafted into SCID mice. *Am J Pathol.* 1996; 5:1607.
44. Shimaoka Y, Attrep JF, Hirano T, et al. Nurse-like cells from bone marrow and synovium of patients with rheumatoid arthritis promote survival and enhance function of human B cells. *J Clin Invest.* 1998;102:606-18.
45. MacLennan ICM. Germinal centers. *Ann Rev Immunol.* 1994; 12:117-39.
46. Edwards JC, Leigh RD, Cambridge G. Expression of molecules involved in B lymphocyte survival and differentiation by synovial fibroblasts. *Clin Exp Immunol.* 1997;108:407-14.
47. Randen I, Mellbye OJ, Forre O, et al. The identification of germinal centres and follicular dendritic cell networks in rheumatoid synovial tissue. *Scand J Immunol.* 1995;41:481-6.
48. Edwards JC, Wilkinson LS, Speight P, et al. Vascular cell adhesion molecule 1 and alpha 4 and beta 1 integrins in lymphocyte aggregates in Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 1993;52:806-11.
49. Firestein GS. Etiology of rheumatoid arthritis. En: Kelley WN, Harris ED, Ruddy S, et al, editores. *Textbook of Rheumatology*, 5.<sup>a</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 1997. p. 851.
50. Lindhout E, De Groot C. Follicular dendritic cells and apoptosis: life and death in the germinal center. *Histochem J.* 1995;27:167-83.
51. Villena A, Zapata A, Rivera-Pomar JM, et al. Structure of the non-lymphoid cells during the postnatal development of the rat lymph nodes. Fibroblastic reticulum cells and interdigitating cells. *Cell Tissue Res.* 1983;229:219-32.
52. Cerny A, Zinkernagel RM, Grosskurth P. Development of follicular dendritic cells in lymph nodes of B-cell-depleted mice. *Cell Tissue Res.* 1988;254:449-54.
53. Abe R, Donnelly SC, Peng T, et al. Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound sites. *J Immunol.* 2001;166:7556-62.
54. Sen M, Lauterbach K, El-Gabalawy H, et al. Expression and function of wingless and frizzled homologs in rheumatoid arthritis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97:2791-6.
55. Wekerle H, Ketelsen UP. Thymic nurse cells: Ia-bearing epithelium involved in T-lymphocyte differentiation? *Nature.* 1980;283:402-4.
56. Tsunoda R, Nakayama M, Heinen E, et al. Emperipolesis of lymphoid cells by human follicular dendritic cells in vitro. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol.* 1992;62:69-78.
57. Clark EA, Grabstein KH, Shu GL. Cultured human follicular dendritic cells. Growth characteristics and interactions with B lymphocytes. *J Immunol.* 1992;148:3327-35.
58. Humphrey JH, Grennan D, Sundaram V. The origin of follicular dendritic cells in the mouse and the mechanism of trapping of immune complexes on them. *Eur J Immunol.* 1984; 14:859-64.
59. Mackay F, Schneider P, Rennert P, et al. BAFF AND APRIL: a tutorial on B cell survival. *Ann Rev Immunol.* 2003;21:231-64.
60. Hase H, Kanno Y, Kojima M, et al. BAFF/BLyS can potentiate B-cell selection with the B-cell coreceptor complex. *Blood.* 2004;103:2257-65.
61. Tan SM, Xu D, Roschke V, et al. Local production of B lymphocyte stimulator protein and APRIL in arthritic joints of patients with inflammatory arthritis. *Arthritis Rheum.* 2003; 48:982-92.
62. Goodyear CS, Boyle DL, Silverman GJ. Secretion of BAFF by fibroblast-like synoviocytes from rheumatoid arthritis biopsies attenuates B-cell depletion by rituximab. *Arthritis Rheum.* 2005;52:S290.

