

РОЛЬ АПОПТОЗА В ПАТОГЕНЕЗЕ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА И ОСТЕОАРТРОЗА

А.И. Дубиков, Л.А. Белоголовых, Е.Э. Медведь

Владивостокский государственный медицинский университет

Известно, что вслед за бурным ростом исследований и накоплением обширных сведений по той или иной проблеме всегда наступает период, когда на первый план выдвигаются задачи их теоретического обобщения. Такой период, по нашему мнению, наступил для проблемы апоптоза в патологии опорно-двигательного аппарата. Накопленные исследователями данные о нарушениях апоптоза при заболеваниях опорно-двигательного аппарата убеждают в том, что в развитии или предотвращении последних могут играть роль тип участвующих молекул-рецепторов (Fas-семейство) или семейство фактора некроза опухоли - ФНО-семейство, механизмы активации и инактивации апоптоза, клетки, подвергающиеся апоптозу (лимфоциты или синовиальные фибробласты), триггерные механизмы апоптоза.

Апоптоз - это физиологический процесс, приводящий к гибели определенные типы клеток. В противоположность некрозу клетки, который инициируется сильными неспецифическими или токсическими повреждениями апоптоз является результатом взаимодействия рецепторов и лигандов. Описаны молекулы, опосредующие или ингибирующие апоптоз, такие как Fas-рецептор, рецепторы 1 типа фактора некроза опухоли (ФНО-PI), рецепторы, связанные с доменами смерти (DR, death domain-related) DR-3, DR-4, DR-5, DR-6 [4], белки семейства Bcl, белок p53.

Fas/Apo-1 является членом суперсемейства рецепторных молекул, включающих два типа рецепторов ФНО-PI и ФНО-PII, низкоаффинный фактор роста нервов (ФРН), Т-клеточный активационный антиген CD-27, антиген CD-30, ассоциированный с лимфогранулематозом, В-клеточный антиген CD-40 и некоторые иные гомологи молекул млекопитающих и вирусов [1,8]. Было сделано предположение о существовании природного лиганда Fas/Apo-1 (CD-95), подтвержденное работами Т. Suda [57]. Fas-лиганд является членом суперсемейства лигандов ФНО, которые относятся к цитокинам. Другой рецептор семейства ФНО, TRAIL (TNF-related-apoptosis-inducing ligand), был идентифицирован как молекула, опосредующая клеточную смерть в различных линиях злокачественных опухолей [61]. TRAIL-рецепторы модулируют два различных сигнала - клеточную смерть, опосредованную каспазами, и экспрессию определенных генов, опосредованную ядерным транскрипционным фактором NF-κB (nuclear factor regulating expression of kappa light-chain immunoglobulin). Супрессия TRAIL-индуцированной активации NF-κB истощает резистентность к апоптозу и инициирует проапоптотический сигнал. На мышиных моделях аутоиммунного артрита было показано, что TRAIL предотвращает гиперпролиферацию синовиальных клеток и артритогенных лимфоцитов, однако этот эффект ассоциировался с остановкой клеточного цикла вместо стимуляции апоптоза [56]. В последних работах было продемонстрировано отсутствие экспрессии TRAIL-1 и -2 лимфоцитами и макрофагами синовиальной жидкости больных РА, а также культивированными синовиальными фибробластами (RASf) [49].

Семейство белков Bcl-2 имеет в своем составе как проапоптотические молекулы (Bax, Bcl-XS, Bak, Bik, Bid, Bim, Bad), так и антагонисты апоптоза (Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1, A1)

[1]. Соотношение агонистов и антагонистов апоптоза, своеобразный молекулярный "реостат", определяет чувствительность к "смертельному сигналу". Bcl-XL, Bcl-2, Bax способны образовывать поро-формирующие каналы в синтетическом липидном бислое с различной селективностью и тем самым регулировать проницаемость мембраны и внешнее высвобождение цитохрома С в процессе апоптоза [54]. Bcl-2 и Bcl-XL демонстрируют обратный паттерн экспрессии в цикле развития лимфоцитов. Обнаружено снижение экспрессии Bax и повышение Bcl-2 в 24-часовой культуре CD4(+) и CD8(+) Т-лимфоцитов, взятых у больных ревматоидным артритом (РА) [59]. Повышение экспрессии Bcl-2 в клетках синовиальной оболочки сопровождалось повышенной экспрессией FLICE (FADD-like IL-1β converting enzyme)-подобного белка и слабо выраженным апоптозом [48]. Некоторые исследователи сообщают об уменьшении экспрессии Bcl-2 Т-лимфоцитами синовиальной жидкости или отсутствии значимого отличия в экспрессии Bcl-2 Т-лимфоцитами синовиальной оболочки при РА, остеоартрозе (ОА) и реактивном артрите [52]. В то же время in vivo выявлена более интенсивная экспрессия Bcl-2 RASf в сравнении с клетками больных ОА [48]. Авторы приходят к выводу, что Bcl-2 оказывает антиапоптотический эффект на уровне митохондриального гомеостаза, тем самым способствуя пролиферативным процессам в синовиальной оболочке у больных РА. Этот эффект мог бы нейтрализовать Bax, повышенная экспрессия которого определяется в синовиальных клетках при РА, однако при этом он ко-локализован с Bcl-XL, что сопровождается неинтенсивным апоптозом [18]. Следовательно, активности Bax недостаточно для супрессии синовиальной гиперплазии.

Первоначальные исследования апоптоза в синовиальной оболочке при РА показали, что инфильтрирующие синовию Т-лимфоциты экспрессировали высокий уровень белков семейства Bcl-2 и были резистентны к Fas-опосредованному апоптозу [19]. Вместе с тем был обнаружен активный апоптоз лимфоцитов в периферической крови у больных ювенильным идиопатическим артритом [55]. Введение в эксперименте моноклональных антител к Fas рецептору завершалось интенсивным апоптозом Т-лимфоцитов синовиальной оболочки и тормозило остеоартрогенез [43]. Bcl-2 белки оказывают сильное влияние на развитие Fas-опосредованного апоптоза Т-лимфоцитов и проявляют высокую активность в отношении RASf [36].

Растворимый Fas рецептор, способный связывать Fas-лиганд и, тем самым, тормозить апоптоз, обнаруживает повышенную концентрацию в синовиальной жидкости пациентов с РА [16]. Выявлено снижение концентрации Fas-лиганда в плазме больных РА [59]. Другие авторы указывают на повышение экспрессии Fas-лиганда активированными Т-клетками ревматоидной синовиальной [19], гиперэкспрессию Fas рецептора и высокую чувствительность к апоптозу [15]. Таким образом, большинство исследований указывает на то, что Т клетки синовиальной оболочки у больных РА активизированы на фоне гиперэкспрессии Fas-рецепторов и Fas-лигандов, а, следовательно, высокочувствительны к Fas-опосредованному апоптозу. Аналогичная ситуация наблюдается и в ревматоидном узле [17]. Однако остается невыясненным вопрос - достаточно ли этого апоптоза для элиминации Т клеток, которые поддерживают воспаление.

Установлено, что удаление аутореактивных Т-клеток в мутантной по Fas-лиганду линии мышей B6-gld/gld приво-

дило к регрессии артрита, вызванного микоплазмой [40]. Тем не менее это не сопровождалось стимуляцией апоптоза синовиоцитов и не предотвращало развития артрита у инфицированных мышей. Исследователи сообщают, что внутривенное введение *M. pulmonis* мышам линии B6-gld/gld вызывало развитие острого воспаления периапикарных тканей и тяжелого хронического эрозивного артрита. В то же время подобное инфицирование мышей линии B-6-+/+ (wild type) заканчивалось развитием острого воспаления, которое спонтанно регрессировало. В дальнейшем авторы использовали другую стратегию: антиген-презентирующие клетки (APC), выделенные от мышей линии Irg, мутантных по Fas-рецептору (Irg-APC), были трансфицированы аденовирусом (AdCMVLoxpFasL+AxCANCre), экспрессирующим Fas-лиганд *ex vivo*. Последующее лечение артрита у мышей с использованием этого типа клеток (Irg-APC-AdFasL) индуцировало регрессию артрита как в острой, так и в хронической фазе. Эти результаты подтверждены в других моделях артрита [30]. При этом в лимфатических узлах присутствовало значительно меньше мононуклеарных клеток периферической крови и аномальных CD-3+B220+ Т-клеток, но не было усиления апоптоза. В более поздних работах авторы создали новую модель аденовируса, индуцирующего экспрессию TRAIL в дендритных клетках, обеспечивая супрессию инфильтрации Т-клетками синовиальной оболочки и, тем самым, регрессию коллаген-индуцированного артрита [35].

Были получены аналогичные результаты и на других моделях артрита [64], указывающие на то, что взаимодействие генетических дефектов и факторов внешней среды может влиять на характер и течение артрита, а нарушение регуляции завершения Т-клеточного ответа, вызванного отклонениями в Fas-опосредованном апоптозе, может быть важным патогенетическим фактором в этом процессе. Можно предполагать, что элиминация аутоиммунных лимфоцитов и пролиферирующих синовиоцитов – неотъемлемое условие предотвращения развития артрита, вызванного микоплазменной инфекцией.

RASF имеют некоторые дефекты Fas-рецепторов, Fas-лигандов и других проапоптотических молекул, таких как p53. В основном апоптоз в синовиальной оболочке касается А-клеток (макрофагов) и в значительно меньшей степени В-клеток (фибробластов). Особенно чувствительными к апоптозу оказались синовиальные фибробласты у трансгенных мышей линии HTLV-1 при введении в сустав большого количества анти-Fas антител. Эти эксперименты были проведены с использованием новых анти-Fas антител (RK-8), которые связывают Fas-рецепторы, вызывая апоптоз в некоторых линиях мышей. Трансфекция человеческого Fas-лиганда в синовиальные фибробласты, трансплантированные мышам линии SCID, также стимулировала развитие апоптоза [44]. Аналогичные результаты были получены при индукции апоптоза моноклональными анти-Fas антителами в ревматоидной синовию, подсаженной мышам линии SCID. ФНО может как ингибировать, так и усиливать Fas-опосредованный апоптоз RASF [21]. Вместе эти исследования показывают, что Fas-опосредованный апоптоз RASF имеет дефекты и может быть модулирован такими цитокинами, как ФНО и трансформирующий фактор роста (ТФР), которые содержатся в большом количестве в суставных тканях при РА [26]. Последние исследования показали, что ТФРβ1 обладает антиапоптотическим эффектом, поскольку при его добавлении к культуре синовиальных клеток, инкубированных с анти-Fas IgM, резко снижалась активность апоптоза [27]. Авторы отмечают, что эффект торможения апоптоза реализовался на уровне стабилизации митохондриального гомеостаза.

Одним из возможных важных механизмов резистентности синовиальных клеток к апоптозу может быть экспрессия мутантной молекулы p53 [58,62]. Предполагается, что свободные радикалы, образующиеся в большом количестве при окислительном стрессе в синовиальных тканях и паннусе, вызывают мутацию в p53 гене, супрессирующую рост

опухолей. В то же время сам p53 может стимулировать H2O2-опосредованный апоптоз [3]. Сообщается о прямом влиянии фактора, ингибирующего миграцию макрофагов (ФИМ), на уровень экспрессии p53 в модели антиген-индуцированного артрита [33]. ФИМ снижает экспрессию p53, способствуя тяжелому течению экспериментального артрита. Следовательно, p53 ген может играть критическую роль в регуляции пролиферации, апоптоза и инвазивности синовиальных фибробластов. Отклонения в функционировании p53 гена могут отражаться на росте грануляционной ткани и разрушении костной структуры суставов при РА.

Fas-опосредованный апоптоз синовиальных фибробластов изучен недостаточно. Вместе с тем единичные исследования свидетельствуют о дисрегуляции этого пути передачи апоптотического сигнала при РА. Сообщается об активировании таких сигнальных путей Fas-опосредованного апоптоза, как Jun киназы и API [45], а также церамида, вторичного мессенджера апоптоза [38]. Другие авторы обнаружили дефекты в передаче сигнала через митоген-активированные белки киназ (MAP kinase) [12].

Развитие Fas- и ФНО-опосредованного апоптоза ассоциируется с каспаз-зависимым путем, дебиотирующим с каспазы-8 [2]. Каспазы – от английской аббревиатуры CAS-PASES (cysteine proteases which cleave proteins after an aspartic acid residue) – цистеиновые протеазы, которые расщепляют белки после остатка аспарагиновой кислоты [1]. Неэффективная стимуляция каспазы-8 выливается в прямую активацию Bid, проапоптотического белка семейства Bcl-2. Почти сразу происходит потеря трансмембранного потенциала митохондрий, сопровождающаяся формированием пор с измененной проницаемостью, что приводит к началу освобождения цитохрома С [11]. Инактивированный цитохром С (Araf-2) высвобождается в цитоплазму и связывается с Araf-1 (apoptotic protease activating factor-1), адаптерным человеческим белком. Это приводит к активации каспазы-9 (Araf-3), которая, в свою очередь, расщепляет каспазу-3 [68]. Эффекторные каспазы-3, -6, -7, расщепляя свои субстраты, приводят к характерным изменениям ядра и клетки, типичным для апоптоза. Данный путь прохождения апоптотического сигнала через митохондрии является CD95-зависимым, но не зависит от активации FADD (Fas-associated death domain)/каспазы-8 и может ингибироваться антиапоптотическим белком Bcl-2 через прямое влияние на взаимодействие между Araf-1 и каспазой-9 [34]. Тем не менее механизмы высвобождения цитохрома С и его ингибции Bcl-2 остаются не до конца ясными. Недавно была показана актуальность этого пути проведения сигнала апоптоза в RASF [31]. Большинство авторов сообщают о резистентности RASF к Fas-зависимому апоптозу [44]. Резистентность может проявляться на проксимальном уровне, уровне активации каспазы-8 или дистальнее, на уровне митохондрий и терминальных каспаз. Чувствительность пяти различных линий RASF к апоптозу изучалась при обработке клеточных линий моноклональными антителами к Fas (CH-11) различных концентраций. При концентрациях до 10 µg/mL интенсивность апоптоза была низкой. В сто раз меньшие концентрации (до 0,1 µg/mL) приводили к выраженной апоптозу в линии клеток СЕМ-6 через 48 часов [40]. Эти данные подтверждают феномен резистентности RASF к Fas-опосредованному апоптозу.

Другой путь трансдукции сигнала Fas(CD95/Apo-1)-зависимого апоптоза заключается во взаимодействии адаптерных белков FADD и RIP (Receptor interacting protein), после стимуляции Fas-рецептора, что ведет к активации каспазы-8 с дальнейшим расщеплением каспазы-3. Этот процесс не зависит от активации митохондрий и не блокируется гиперэкспрессией Bcl-2 [25]. Сообщается о высоком уровне экспрессии FLIP (FLICE-like inhibitory protein) у больных с ранним РА, что ассоциировалось с низкой апоптотической активностью синовиальных макрофагов [6].

Таким образом, охарактеризованы два различных сигнальных пути CD95-зависимого апоптоза [51]. И первый, и второй участвуют в развитии резистентности ревматоидной

синовии к апоптотическому сигналу. В случае передачи апоптотического сигнала через ФНО-Р, адаптерный белок TRADD (ФНОР-associated death domain) взаимодействует с FADD и RIP после стимуляции рецептора. В дальнейшем передача сигнала не отличается от таковой при Fas-зависимом апоптозе. Однако надо отметить одновременный запуск антиапоптотического сигнала через взаимодействие RIP и TRAF2, что ведет к активации NF- κ B индуцирующей киназы (NIK) [20]. В свою очередь, NIK вызывает фосфорилирование ингибиторов- κ -B- α и - κ -B- β (I κ B α и I κ B- β соответственно) цепей NF- κ B и транслокации последнего в ядро. Этот, параллельный с апоптотическим, сигнал превалирует в RASF, а перемещение NF- κ B в ядро вызывает экспрессию генов таких цитокинов как ФНО, IL-1 β , IL-6, коллагеназы, стромелизин и молекул адгезии [65]. В то же время транслокация NF- κ B ингибирует апоптоз во многих клеточных линиях, включая опухолевые, но механизм индукции анти-апоптотических генов в RASF остается невыясненным. RASF, подобно опухолевым клеткам, не подвергаются апоптозу в ответ на стимуляцию ФНО. Возможно, это связано с тем, что ФНО-опосредованное ацетилирование p53 как путь активации апоптоза нейтрализуется параллельным истощением транскрипционной активности p53 через торможение ко-стимуляторных молекул (CREB binding protein) [42].

Анализ синовиальной оболочки у крыс с моделью SCW артрита (Streptococcal cell wall arthritis) показал, что наличие мутации в I κ B α цепи приводит к предотвращению транслокации NF- κ B в ядро и тем самым усиливает апоптоз клеток синовии. Фосфорилирование I κ B α цепи всегда завершается освобождением NF- κ B и его готовностью к перемещению в ядро, но может быть предотвращено мутацией в I κ B α [22]. Суть мутации I κ B α цепи заключается в отсутствии участка с 36 аминокислотами, в том числе содержащего сериновый остаток. Именно фосфорилирование серинового остатка является необходимым условием освобождения I κ B α от NF- κ B с дальнейшей его деградацией в протеосомах. Измененная I κ B α цепь очень прочно связана с NF- κ B и не подвергается фосфорилированию при участии NIK. Невозможность перемещения NF- κ B в ядро вызывает развитие апоптоза широкого диапазона клеток, ранее резистентных к ФНО-зависимому апоптозу [9]. Биохимическая блокада перемещения NF- κ B в ядро с использованием ингибитора Z-Leu-Leu-Leu-aldehyde (LLL-CHO) также способствует развитию апоптоза синовиальных клеток, стимулированных ФНО, IL-1 [63]. Фибробласты и макрофаги NF- κ B-p-65-дефицитных мышей становятся более чувствительными к ФНО-опосредованному апоптозу [24]. J.D. Mountz с соавт. получили аденовирус, экспрессирующий высокий уровень коротких форм I κ B α , названный AdCMV κ B-DN [40].

Трансфекция этого вируса в RASF приводила к гиперэкспрессии I κ B α , не подвергающихся фосфорилированию, предотвращая тем самым транслокацию NF- κ B в ядро. Это способствовало беспрепятственному проведению апоптотического сигнала в RASF при их культивировании с ФНО. Стимуляция синовиальных клеток ФНО после инкубации с AdCMV κ B-DN заканчивалась апоптозом от 80 до 90 % клеток в течение 12 часов [67]. Спустя четыре недели после в/с введения RASF мышам линии SCID наблюдалась интенсивная пролиферация собственных фибробластов синовиальной оболочки. Последующее последовательное в/с введение мышам этой линии AdCMV κ B-DN и ФНО приводило к пикнозу ядер и деструкции клеток в течение 24 часов. Таким образом, можно считать, что в присутствии AdCMV κ B-DN апоптотический сигнал в синовиальных фибробластах реализуется через воздействие ФНО.

Ген ингибитора апоптоза (IAP) является консервативным в эволюционном аспекте этого биологического фено-

мена у всех биологических видов. У человека IAP варьирует в своих формах (XIAP, cIAP1, cIAP2), но все они ингибируют каспазу-3, -6, -7 [7]. IAP может предотвращать развитие Fas-зависимого апоптоза путем торможения цитохром C -опосредованной активации прокаспазы-9. Стимуляция клеток ФНО инициирует два типа сигналов: первый активизирует запрограммированную смерть клеток, а второй через активизацию NF- κ B запускает IAP и способствует синтезу провоспалительных факторов [60]. Активация ингибитора апоптоза через NF- κ B может отменять ФНО-зависимый апоптоз в клеточных линиях, полученных из синовиальной оболочки больных РА. Обработка этих линий аденовирусом, экспрессирующим ингибиторы IAP, завершалась развитием интенсивного апоптоза после воздействия ФНО [40].

Akt - протоонкоген, который вызывает лейкемию у мышей и гиперэкспрессируется опухолями человека [31]. Akt является белком киназы B (PKB- protein kinase B) и принадлежит к семейству серин/треониновых протеаз, содержащих SH2 подобные домены, участвующие в межмембранных взаимодействиях. Akt тормозит апоптоз на стадии освобождения цитохрома C, а также селективность порформирующих каналов в мембране митохондрий, которые образуются под влиянием Bax и Bid. Akt способен обеспечивать выживание клеток через торможение апоптотического каскада до митохондриального этапа. Добавление экзогенного цитохрома C инициирует апоптоз даже в присутствии Akt. Активность Akt может быть нейтрализована ингибитором PI-3 киназы - вортманнином. Влияние Akt на апоптоз RASF было изучено при инкубировании культуры клеток с анти-Fas антителами, вортманнином и их комбинацией. Незначительный апоптоз наблюдался в присутствии анти-Fas антител. Добавление вортманнина (50нМ) сопровождалось резкой активизацией апоптоза RASF [40].

Апоптоз хондроцитов в пораженном ОА хряще человека и животных описан многими исследователями [5,13,29,46]. Развитие ОА у человека в определенной мере связано с возрастом, и патологические изменения хряща включают в себя уменьшение количества клеточных элементов и увеличение числа пустых лакун. Программированная смерть хондроцитов является одной из наиболее важных причин этих изменений и коррелирует с частотой развития ОА [14,53]. Апоптоз клеток в здоровом хряще описан неоднократно даже в молодом возрасте [5,29,39]. Отмечено, что он значительно чаще наблюдается в зонах механической нагрузки и, как ее следствие, зонах повреждения [41].

Исследования показывают, что интенсивность апоптоза хондроцитов и дегенерация хряща сильно коррелируют [28]. Хрящ, полученный от крыс с экспериментальной моделью ОА, интенсивно экспрессировал TRAIL и DR-4, что указывает на актуальность ФНО-зависимого апоптоза клеточных элементов хряща [32,50]. Отсутствие изменений в соотношении уровня экспрессии Bax и Bcl-2 в хондроцитах может свидетельствовать о незаинтересованности митохондриального пути развития апоптоза хондроцитов [37].

Таким образом, обилие накопленных фактов в изучении феномена апоптоза при патологии опорно-двигательного аппарата убеждает в том, что создание новых эффективных лечебных препаратов возможно при тщательной идентификации не только процессов, происходящих в клетках синовиальной оболочки и хряща (гиперпролиферация, апоптоз), но и регуляторных молекул и механизмов, обеспечивающих проведение апоптотического (проапоптотические молекулы Bcl-2 семейства, каспазы, цитохром C, Араф-1) или пролиферативного (антиапоптотические молекулы Bcl-2 семейства, NF- κ B, IAP, Akt-ассоциированные механизмы) сигналов, определяющих структурно-функциональный исход.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Иммунологические проблемы апоптоза. М., Эдиториал УРСС, 2002, 320 с.
2. Ярилин А.А. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии. В кн.: Актуальные проблемы патофизиологии: Избранные лекции. Под ред. Б.Б. Мороза. М., Медицина, 2001, 13-56.
3. Akaike A., Banno Y., Osawa Y. et al. Synergistic induction of apoptosis of rheumatoid arthritis synovial cells by H(2)O(2) and N-acetyl-leucyl-leucyl-norleucinal. J. Orthop. Sci., 2003, 8 (3), 346-351.
4. Baker S.J., Reddy E.P. Modulation of life and death by the FHO receptor family. Oncogene, 1998, 17, 3261-3270.
5. Blanco F.J., Guitian R., Vazquez-Martul E. et al. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. Arthr. Rheum., 1998, 41, 284-289.
6. Catrina A.I., Ulfgrén A.K., Lindblad S. et al. Low levels of apoptosis and high FLIP expression in early rheumatoid arthritis synovium. Ann. Rheum. Dis., 2002, 61 (10), 934-936.
7. Deveraux Q.L., Roy N., Stennicke H.R. et al. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. EMBO J., 1998, 17, 2215-2223.
8. Dhein J., Waiczak H., Baumier C. et al. Autocrine T-cell suicide mediated by APO-1/(Fas/CD-95). Nature, 1995, 373, 438-441.
9. Doi T.S., Takahashi T., Taguchi O. et al. NF-kappaB RelA-deficient lymphocytes: normal development of T-cells and B cells, impaired production of IgA and IgG1 and reduces proliferative responses. J. Exp. Med., 1997, 185, 953-961.
10. Firestein G.S., Yeo M., Zvaifler N. J. Apoptosis in rheumatoid arthritis synovium. J. Clin. Invest., 1995, 96, 1631-1638.
11. Green D.R. Apoptotic pathway: the road to ruin. Cell, 1998, 94, 695-698.
12. Han Z., Boyle D.L., Aupperle K.L. et al. Jun N-terminal kinase in rheumatoid arthritis. J. Pharm. Exp. Ther., 1999, 91, 124-130.
13. Hashimoto S., Ochs R.L., Komiya S. et al. Linkage of chondrocyte apoptosis and cartilage degradation in human Osteoarthritis. Arthr. Rheum., 1998, 41, 1632-1638.
14. Hashimoto S., Takahashi K., Amiel D. et al. Chondrocyte apoptosis and nitric oxide production during experimentally induced osteoarthritis. Arthr. Rheum., 1998, 41, 1266-1274.
15. Hasunuma T., Hoa T.T., Aono H. et al. Induction of Fas-dependent apoptosis in synovial infiltrating cells in rheumatoid arthritis. Int. Immunol., 1996, 8, 1595-1602.
16. Hasunuma T., Kayagaki N., Asahara H. et al. Accumulation of soluble Fas in inflamed joints of patients with rheumatoid arthritis. Arthr. Rheum., 1997, 40, 80-86.
17. Highton J., Hessian P.A., Kean A. et al. Cell death by apoptosis is a feature of the rheumatoid nodule. Ann. Rheum. Dis., 2003, 62 (1), 77-80.
18. Hilbers I., Hansen T., Petrow P.K. et al. Expression of the apoptosis accelerator Bax in rheumatoid arthritis synovium. Rheum. Int., 2003, 23 (2), 75-81.
19. Hoa T.T., Hasunuma T., Aono H. et al. Novel mechanisms of selective apoptosis in synovial T cells of patients with rheumatoid arthritis. J. Rheum., 1996, 23, 1332-1337.
20. Hsu H., Xiong J., Goeddel D.V. The FHO receptor 1-associated protein TRADD signals cell death and NF-kappa? activation. Cell, 1995, 91, 495-504.
21. Huh S.J., Paik D.J., Chung H.S. et al. Regulation of GRB2 and FLICE2 expression by FHO-alpha in rheumatoid synovium. Immunol. Lett., 2003, 90 (2-3), 93-96.
22. Ito C.Y., Adey N., Bautch V.L. et al. Structure and evolution of the human IKBA gene. Genomics, 1995, 29, 490-495.
23. Itoh K., Hase H., Kojima H. et al. Central role of mitochondria and p53 in Fas-mediated apoptosis of rheumatoid synovial fibroblasts. Rheum., 2004, 43, 277-285.
24. Jobin C., Panja A., Hellerbrand C. et al. Inhibition of proinflammatory molecule production by adenovirus-mediated expression of a nuclear factor kappaB super-repressor in human intestinal epithelial cells. J. Immunol., 1998, 160, 410-418.
25. Juo P., Kuo C.J., Yuan J. et al. Essential requirement for caspase-8/FLICE in the initiation of the Fas-induced apoptotic cascade. Current Biol., 1998, 8, 1001-1008.
26. Kawakami A., Eguchi K., Matsuoka N. et al. Inhibition of Fas antigen-mediated apoptosis of rheumatoid synovial cells in vitro by transforming growth factor beta 1. Arthr. Rheum., 1996, 39, 1267-1276.
27. Kawakami A., Urayama S., Yamasaki S. et al. Anti-apoptogenic function of TGFbeta1 for human synovial cells: TGFbeta1 protects cultured synovial cells from mitochondrial perturbation induced by several apoptogenic stimuli. Ann. Rheum. Dis., 2004, 63 (1), 95-97.
28. Kim D.Y. Role of chondrocyte apoptosis in the pathogenesis of equine osteoarthritis. A Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy. Baton Rouge LA, Louisiana Univ. Press, 2002.
29. Kim H.A., Lee Y.J., Seong S-C. et al. Apoptotic chondrocyte death in human osteoarthritis. J. Rheum., 2000, 27, 455-462.
30. Kim S.H., Kim S., Oligino T.J. et al. Effective treatment of established mouse collagen-induced arthritis by systemic administration of dendritic cells genetically modified to express FasL. Mol. Ther., 2002, 6 (5), 584-590.
31. Kubohara Y., Hosaka K. The putative morphogen, DIF-1, of Dictyostelium discoideum activates Akt/PKB in human leukemia K562 cells. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1999, 263, 790-796.
32. Lee S.W., Lee H.J., Chung W.T. et al. TRAIL induces apoptosis of chondrocytes and influences the pathogenesis of experimentally induced rat osteoarthritis. Arthr. Rheum., 2004, 50 (2), 534-542.
33. Leech M., Lacey D., Xue J.R. et al. Regulation of p53 by macrophage migration inhibitory factor in inflammatory arthritis. Arthr. Rheum., 2003, 48 (7), 1881-1889.
34. Li P., Nijhawan D., Budihardjo I. et al. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. Cell, 1997, 91, 479-489.
35. Liu Z., Xu X., Hsu H.C. et al. CII-DC-AdTRAIL cell gene therapy inhibits infiltration of CII-reactive T cells and CII-induced arthritis. J. Clin. Invest., 2003, 112 (9), 1332-1341.
36. Matsumoto S., Muller-Ladner U., Gay R.E. Ultrastructural demonstration of apoptosis, Fas and Bcl-2 expression of rheumatoid synovial fibroblast. J. Rheum., 1996, 23, 1345-1352.
37. Mistry D., Oue Y., Chambers M.G. et al. Chondrocyte death during murine osteoarthritis. Osteoarthritis. Cartil., 2004, 12 (2), 131-141.
38. Mizushima N., Kohsaka H., Miyasaka N. et al. Ceramide, a mediator of interleukin-1, tumor necrosis factor alpha, as well as Fas receptor signaling, induces apoptosis of rheumatoid arthritis synovial cells. Ann. Rheum. Dis., 1998, 57, 495-497.
39. Mobasheri A. Role of chondrocyte death and hypocellularity in ageing human articular cartilage and the pathogenesis of osteoarthritis. Med. Hypoth., 2002, 58 (3), 193-197.
40. Mountz J. D., Hui-Chen Hsu, Matsuki Y. et al. Apoptosis and rheumatoid arthritis: past, Present, and future directions. Curr. Rheum. Reports, 2001, 3, 70-78.
41. Murray M.M., Zurakowski D., Vrahas M.S. The death of articular chondrocytes after intra-articular fracture in humans. J. Trauma, 2004, 56 (1), 128-131.
42. Nakazawa M., Aratani S., Hatta M. et al. FHOalpha

- induces acetylation of p53 but attenuates its transcriptional activation in rheumatoid synoviocytes. *Int. J. Mol. Med.*, 2002, 10 (3), 269-275.
43. Ogawa Y., Ohtsuki M., Uzuki M. et al. Suppression of osteoclastogenesis in rheumatoid arthritis by induction of apoptosis in activated CD4+ T cells. *Arthr. Rheum.*, 2003, 48 (12), 3350-3358.
 44. Okamoto K., Asahara H., Kobayashi T. et al. Induction of apoptosis in the rheumatoid synovium by Fas ligand gene transfer. *Gene. Ther.*, 1998, 5, 331-338.
 45. Okamoto K., Fujisawa K., Hasunuma T. et al. Selective activation of the Jun/AP1 pathway in Fas-mediated apoptosis in rheumatoid arthritis synoviocytes. *Arthr. Rheum.*, 1997, 40, 919-926.
 46. Pelletier J.-R., Jovanovic D.V., Lascau-Coman V. et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces progression of experimental osteoarthritis in vivo. Possible link with the reduction in chondrocyte apoptosis and caspase-3 level. *Arthr. Rheum.*, 2000, 43, 1290-1299.
 47. Perlman H., Georganas C., Pagliari L.J. et al. Bcl-2 expression in synovial fibroblasts is essential for maintaining mitochondrial homeostasis and cell viability. *J. Immunol.*, 2000, 164, 5227-5235.
 48. Perlman H., Liu H., Georganas C. et al. Differential expression pattern of the antiapoptotic proteins, Bcl-2 and FLIP, in experimental arthritis. *Arthr. Rheum.*, 2001, 44 (12), 2899-2908.
 49. Perlman H., Nguyen N., Liu H. et al. Rheumatoid arthritis synovial fluid macrophages express decreased tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand R2 and increased decoy receptor tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand R3. *Arthr. Rheum.*, 2003, 48 (11), 3096-30101.
 50. Pettersen I., Figenschau Y., Olsen E. et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand induces apoptosis in human articular chondrocytes in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 296 (3), 671-676.
 51. Scaffidi C., Krammer P.H. Differential modulation of apoptosis sensitivity in CD95 Type I and Type II. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 22532-22538.
 52. Zdzichavsky M., Schorpp C., Nickels A. et al. Analysis of bcl-2+ lymphocyte subpopulation to inflammatory synovial infiltrates by a double-immunostaining technique. *Rheum. Int.*, 1996, 16, 151-157.
 53. Sharif M., Whitehouse A., Sharman P. et al. Increased apoptosis in human osteoarthritic cartilage corresponds to reduced cell density and expression of caspase-3. *Arthr. Rheum.*, 2004, 50 (2), 507-515.
 54. Shimizu S., Narita M., Tsujimoto Y. et al. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC. *Nature*, 1999, 399, 483-487.
 55. Smolewska E., Brozik H., Smolewski P. et al. Apoptosis of peripheral blood lymphocytes in patients with juvenile idiopathic arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2003, 62 (11), 1126.
 56. Song K., Chen Y., Goke R. et al. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) is an inhibitor of autoimmune inflammation and cell cycle progression. *J. Exp. Med.*, 2000, 191, 1095-1104.
 57. Suda T., Takahashi T., Golstein P. et al. Molecular cloning and expression of the Fas-ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell*, 1993, 75, 1169-1178.
 58. Sun Y., Cheung H.S. p53, proto-oncogene and rheumatoid arthritis. *Semin. Arthr. Rheum.*, 2002, 31 (5), 287-288.
 59. Szodoray P., Jellestad S., Nakken B. et al. Programmed cell death in rheumatoid arthritis peripheral blood T-cell subpopulations determined by laser scanning cytometry. *Lab. Invest.*, 2003, 83 (12), 1839-1848.
 60. Tanino M., Matsuo M., Uenaka A. et al. Transforming activity of the RL-akt gene, a c-akt gene activated by long terminal repeat insertion in murine leukemia RL (male symbol)1 cells. *Mol. Carcinog.*, 1999, 26, 286-297.
 61. Walszak H., Krammer P.H. The CD-95 (Apo-1/Fas) and the TRAIL (Apo2L) apoptosis systems. *Exp. Cell Res.*, 2000, 256, 58-66.
 62. Yamanishi Y., Boyle D.L., Rosengren S. et al. Regional analysis of p53 mutations in rheumatoid arthritis synovium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99 (15), 10025-10030.
 63. Yamasaki S., Kawakami A., Nakashima T. et al. Importance of NF- κ B in rheumatoid synovial tissues: in situ NF- κ B expression and in vitro study using cultured synovial cells. *Ann. Rheum. Dis.*, 2001, 60, 678-684.
 64. Yao Q., Wang S., Gambotto A. et al. Intra-articular adenoviral-mediated gene transfer of trail induces apoptosis of arthritic rabbit synovium. *Gene. Ther.*, 2003, 10 (12), 1055-1060.
 65. Youn J., Kim H.Y., Park J.H. et al. Regulation of Φ HO- α -mediated hyperplasia through Φ HO receptors, TRAFs, and NF- κ B in synoviocytes obtained from patients with rheumatoid arthritis. *Immunol. Lett.*, 2002, 83 (2), 85-93.
 66. Zdzichavsky M., Schorpp C., Nickels A. et al. Analysis of bcl-2+ lymphocyte subpopulation to inflammatory synovial infiltrates by a double-immunostaining technique. *Rheum. Int.*, 1996, 16, 151-157.
 67. Zhang H.D., Huang N., Liu D. et al. Gene therapy that inhibits nuclear translocation of nuclear factor κ B results in tumor necrosis factor α -induced apoptosis of human synovial fibroblasts. *Arthr. Rheum.*, 2000, 43, 1094-1105.
 68. Zou H., Li Y., Liu X. et al. An APAF-1 cytochrome c multimeric complex is a functional apoptosome that activate procaspase-9. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 11549-11556.