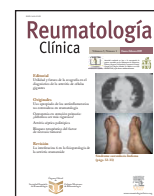




# Reumatología Clínica

www.reumatologiaclinica.org



Original

## El bloqueo terapéutico del factor de necrosis tumoral disminuye la concentración sérica de interleucina 15 en pacientes con artritis reumatoide

Isidoro González-Álvaro<sup>a,\*</sup>, Ana M. Ortiz<sup>a</sup>, Eva G. Tomero<sup>a</sup>, Alejandro Balsa<sup>b</sup>, Javier Orte<sup>c</sup>, Pedro Sabando Suárez<sup>a</sup> y Rosario García-Vicuña<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Reumatología, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España

<sup>b</sup>Servicio de Reumatología, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España

<sup>c</sup>Servicio de Reumatología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 12 de marzo de 2008

Aceptado el 2 de junio de 2008

#### Palabras clave:

Artritis reumatoide

Citocinas

Antagonistas del TNF

Interleucina 15

### RESUMEN

**Objetivo:** analizar el efecto de la terapia con agentes inhibidores del factor de necrosis tumoral (TNF) en la concentración sérica de interleucina 15 (IL-15) y determinar si los valores basales de ésta o su variación con el tratamiento predicen la respuesta clínica a los anti-TNF.

**Pacientes y método:** se estudió a 75 pacientes con artritis reumatoide que iban a iniciar tratamiento con anti-TNF. Se recogieron muestras de suero previas y a los 3 meses de tratamiento. La concentración de IL-15 se cuantificó mediante enzimoimmunoanálisis. Tanto en la visita basal como en la final se recogieron parámetros clínicos y analíticos que permitieran calcular el DAS28. También se recogieron variables sociodemográficas y otras relacionadas con la enfermedad, como factor reumatoide, número de fármacos previos, etc. Se definió remisión como un DAS28 < 2,6 y respuesta clínica relevante, como una disminución del DAS28 > 1,2.

**Resultados:** la concentración de IL-15 se relacionó de forma significativa con un mayor uso de fármacos modificadores de la enfermedad durante el seguimiento de los pacientes. También se observó una disminución significativa de la IL-15 a los 3 meses de tratamiento con anti-TNF. Sin embargo, los valores basales de IL-15 y su disminución con el tratamiento no se relacionaron con la respuesta a los anti-TNF o la consecución de remisión clínica.

**Conclusiones:** nuestros datos parecen confirmar los obtenidos in vitro, que indican que el TNF está implicado en la modulación de la expresión de IL-15. No obstante, la medición de la concentración sérica de IL-15 no parece ser de utilidad para seleccionar a los pacientes candidatos a terapia anti-TNF.

© 2008 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## The therapeutic blockade of TNF reduces serum levels of interleukin 15 in patients with rheumatoid arthritis

### ABSTRACT

**Objective:** to analyze the effect of the TNF blocking agents (aTNF) on the serum levels of interleukin 15 (IL-15). To determine whether baseline IL15 serum levels or their response to aTNF therapy can predict the clinical response to this treatment.

**Patients and method:** We studied 75 patients suffering from rheumatoid arthritis that were selected to start aTNF therapy. Serum samples were obtained at baseline visit and after three months of aTNF treatment. Measurement of IL-15 serum concentration was performed through immune-enzyme assay. We collected the clinical and analytical parameters needed to calculate DAS28 both at baseline and final visit, as well as sociodemographic variables and other such as rheumatoid factor, previous disease modifying anti-rheumatic drugs (DMARD), etc. We defined remission as a DAS28 < 2.6 and clinical response when the decrease in DAS28 value was higher than 1.2.

**Results:** there was a significant correlation between IL-15 serum level and the number of previous DMARD. We also detected a significant decrease in the concentration of serum IL-15 after three months of treatment

#### Keywords:

Rheumatoid Arthritis

Cytokines

TNF antagonists

IL-15

\*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: isidoro.ga@ser.es (I. González-Álvaro).

with aTNF. However, neither the baseline IL-15 serum level nor the decrease in the concentration of IL-15 were associated with a specific pattern of response to aTNF.

**Conclusions:** our data seem to support previous in vitro findings suggesting that TNF is involved in the regulation of IL-15 expression. Nevertheless, the measurement of IL-15 serum levels does not seem to be a useful tool to select those patients that should be treated with aTNF therapy.

© 2008 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

La interleucina (IL) 15 es una citocina que desempeña un papel fundamental en la inmunidad innata, aunque también puede modular otras funciones del sistema inmunitario<sup>1,2</sup>. Diferentes trabajos respaldan que la IL-15 puede estar implicada en la patogenia de la artritis reumatoide (AR), ya que se han detectado elevadas concentraciones de esta citocina tanto en el líquido sinovial como en el suero de pacientes con la enfermedad<sup>3-6</sup>. Además, la IL-15 puede ser clave en la perpetuación de la producción del factor de necrosis tumoral (TNF), ya que está involucrada en diferentes ciclos de estimulación celular mutua en los que intervienen moléculas de adhesión y citocinas como IL-15, interferón gamma y el propio TNF<sup>5,7,8</sup>. Sin embargo, como un dato más de la variabilidad fenotípica de la enfermedad, en un estudio previo hemos descrito que no todos los pacientes con AR presentan valores elevados de IL-15<sup>4</sup>. En dicho trabajo, describimos que los pacientes que presentaban cifras de IL-15 más elevadas habían recibido un mayor número de fármacos modificadores de la enfermedad (FAME) durante el seguimiento de su afección<sup>4</sup>.

En la actualidad disponemos de diferentes terapias biológicas para el tratamiento de pacientes con artritis reumatoide (AR) que han fracasado al menos con un FAME. Sin embargo, no todos los pacientes tienen una respuesta óptima a las terapias biológicas, por lo que la descripción de posibles marcadores de respuesta a estos nuevos tratamientos podría facilitar la selección de pacientes adecuados para cada fármaco. En el presente estudio se ha analizado el efecto que el tratamiento con fármacos inhibidores del TNF tiene en la concentración de IL-15 en los pacientes con AR. Por otra parte, se ha estudiado si elevadas concentraciones séricas de esta citocina marcan a un subgrupo de pacientes con características clínicas diferentes y si su respuesta al tratamiento con anti-TNF es diferente de la de pacientes con concentraciones bajas o indetectables de IL-15.

## Pacientes y métodos

Se estudió a 75 pacientes que cumplían los criterios de clasificación de la AR del American College of Rheumatology<sup>9</sup>, de los que 65 recibieron tratamiento con adalimumab (ADA) y 10 con infliximab (INF). Las características clínicas de los pacientes se muestran en la tabla 1. Se obtuvieron muestras de suero antes de iniciar el tratamiento con anti-TNF (visita basal) y a las 12 semanas de tratamiento, en los pacientes tratados con ADA o en la cuarta infusión de INF (14 semanas). En cada visita se estimó el grado de actividad de la enfermedad mediante el DAS28<sup>10</sup>. También se recogieron de la historia clínica del paciente datos sociodemográficos y el número de FAME administrados durante la evolución de la enfermedad.

### Determinación de IL-15 en suero

La concentración de IL-15 en el suero de los pacientes fue determinada mediante un enzoinmunoanálisis (EIA) generado en nuestro laboratorio utilizando los anticuerpos monoclonales MAB647 y BAM247 (R&D Systems Europe Ltd., Abingdon, Reino Unido), según hemos descrito previamente<sup>4</sup>. El límite inferior de detección es de 6,2 pg/ml y el límite superior de la curva, 500 pg/ml. Las muestras en que se obtenía un valor mayor que el límite superior eran diluidas 1:2 y

analizadas de nuevo para confirmar el valor. La variabilidad intraanalítica fue del 13,5% y la variabilidad interanalítica, del 20,7%.

Se consideró que la IL-15 estaba elevada si los valores eran > 30 pg/ml, que representa el percentil 95 de una población de 250 controles sanos estudiada en nuestro laboratorio (manuscrito en preparación).

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa Stata para Windows versión 9.2 (StataCorp LP, College Station, Texas, Estados Unidos). Se utilizó el test de Fisher para comparación en variables cualitativas, y para las variables cuantitativas, los tests de la t de Student o la U de Mann-Whitney, según fuese la distribución de dichas variables normal o no, respectivamente. Se aplicó el test de Wilcoxon para datos apareados para establecer la significación estadística de las diferencias entre las cifras de IL-15 antes y después del tratamiento con anti-TNF.

Se utilizó el número de FAME previos durante el seguimiento como una variable subrogada de gravedad de la enfermedad. Dado que diferentes factores pueden incidir en esta variable, se decidió realizar un análisis multivariable para determinar cuáles se asocian a una mayor prescripción de FAME. Para ello se utilizó la función ztp de Stata, que estima la regresión de Poisson mediante modelos lineales generalizados para variables truncadas en cero, ya que no había pacientes que no hubieran recibido FAME previamente<sup>11</sup>. En el modelo inicial se incluyeron las variables edad, sexo, tiempo de evolución de la enfermedad, concentración de factor reumatoide (FR), concentración basal de IL-15 en suero y el centro hospitalario en el que era atendido el paciente. El modelo final se alcanzó eliminando las variables con  $p > 0,2$ , excepto si la significación general del modelo empeoraba<sup>11</sup>.

También se estudió si la concentración de IL-15 previa al tratamiento o la modificación de esas cifras a los 3 meses podían predecir la respuesta clínica a los anti-TNF. Para ello se realizaron dos modelos de regresión logística multivariable, uno de ellos usando como variable dependiente la remisión a los 3 meses de tratamiento, considerando como tal DAS28 < 2,6<sup>10</sup>, y un segundo en el que la variable dependiente era la existencia de respuesta clínica, entendiéndose como

**Tabla 1**  
Características de los pacientes

	Total	IL-15 alta	IL-15 baja	p
Pacientes, n	75	24	51	
Mujeres, n (%)	61 (81,3)	19 (79)	42 (86)	NS
Edad (años)	56 ± 14	59 ± 12	54 ± 14	NS
Duración de la enfermedad (años)	8 [4-15]	6 [4-15]	8 [4-15]	NS
FR positivo, n (%)	65 (87)	22 (92)	43 (84)	0,08
Número de FAME	3 [2-4]	4 [2-4]	3 [2-3]	0,08
DAS28 basal	5,9 ± 1	5,5 ± 1,1	6,1 ± 1	0,06
HAQ basal	1,6 [1,1-2,1]	1,5 [1,12-2,25]	1,75 [1,12-2,12]	NS
VGEM basal	61 ± 16	60 ± 19	62 ± 14	NS
PCR basal (g/l)	15 [9-24]	17 [9-25]	14 [8-22]	NS

DAS28: *disease activity score* según el recuento de 28 articulaciones; FAME: fármacos modificadores de enfermedad; FR: factor reumatoide; HAQ: Health Assessment Questionnaire; IL: interleucina; PCR: proteína C reactiva; VGEM: valoración general de la enfermedad por el médico.

tal una mejoría del DAS28 > 1,2 a los 3 meses de tratamiento<sup>12</sup>. Como variables independientes se incluyeron las mencionadas en el párrafo anterior.

## Resultados

### Características de los pacientes con elevadas concentraciones séricas de IL-15

La población de este estudio es un subgrupo de pacientes con AR grave que tenían indicación de tratamiento con anti-TNF. Se trata de una población con enfermedad de larga evolución, predominantemente mujeres, con mayor porcentaje de enfermedad seropositiva que en poblaciones de AR prevalente<sup>13</sup> y unos valores de DAS28 y HAQ elevados (tabla 1). Atendiendo a la clasificación de esta población según sus concentraciones séricas de IL-15, no encontramos grandes diferencias en el perfil clínico de los pacientes según tuvieran concentraciones altas o bajas de esta citocina (tabla 1). Casi alcanzaron la significación estadística las diferencias en el porcentaje de pacientes con FR positivo, el número de FAME previos y el DAS28 basal, pero sin que permita establecer si uno de los grupos tenía una AR más grave que el otro (tabla 1).

En un estudio previo habíamos observado que en los pacientes con AR de larga evolución había relación entre las cifras de IL-15 y el número de FAME usados en su seguimiento. Por ello, dado que no había diferencias significativas en la valoración de la enfermedad por el médico, el DAS28, el HAQ y la PCR en la visita basal entre los subgrupos de IL-15 alta y baja (tabla 1), se utilizó el número de FAME previos como una variable subrogada de gravedad. En el análisis bivariable se observó una tendencia a un mayor uso de FAME en pacientes con IL-15 elevada que no alcanzó significación estadística (tabla 1). Dado que el número de FAME claramente puede estar condicionado por la duración de la enfermedad, que osciló entre 7 meses y 37 años en esta población, se decidió hacer un análisis multivariable en el que se incluyesen diferentes factores que pudieran incidir en el uso de FAME. El mejor modelo resultó ser el que incluía las variables: centro hospitalario, tiempo de evolución de la enfermedad y cifras de IL-15 en suero (tabla 2). Los pacientes del hospital 2 habían recibido de forma significativa menos FAME que los del hospital 1, aunque la relación de la tasa de incidencia (IRR) solo fue un 40% menor. También de forma significativa, por cada 100 pg/ml que aumentaron las concentraciones séricas de IL-15, aumentó un 20% la IRR de uso de FAME.

**Tabla 2**

Factores que influyen en el número de fármacos modificadores de la enfermedad de los pacientes del estudio

	Bivariable		Multivariable	
	Número de FAME	p	IRR	p
Sexo				
Mujeres	3,1 ± 1,6	NS	—	—
Varones	2,8 ± 1,2		—	—
Edad (años)	r = 0,24	0,06	—	—
Tiempo de evolución (años)	r = 0,17	0,24	1,014	0,22
FR (U/ml)	r = 0,12	0,33	—	—
IL-15 basal (pg/ml)	r = 0,21	0,11	1,002	0,03
Centro 1	3 [3-5]	NS	Referencia	—
Centro 2	3 [1-4]		0,62	0,04
Centro 3	3 [2-4]		0,77	0,24

FAME: fármacos modificadores de enfermedad; FR: factor reumatoide; IL: interleucina; IRR: *incidence-rate ratio*.

### La concentración sérica de IL-15 disminuye con la terapia anti-TNF, pero no sirve para predecir la respuesta a este tratamiento

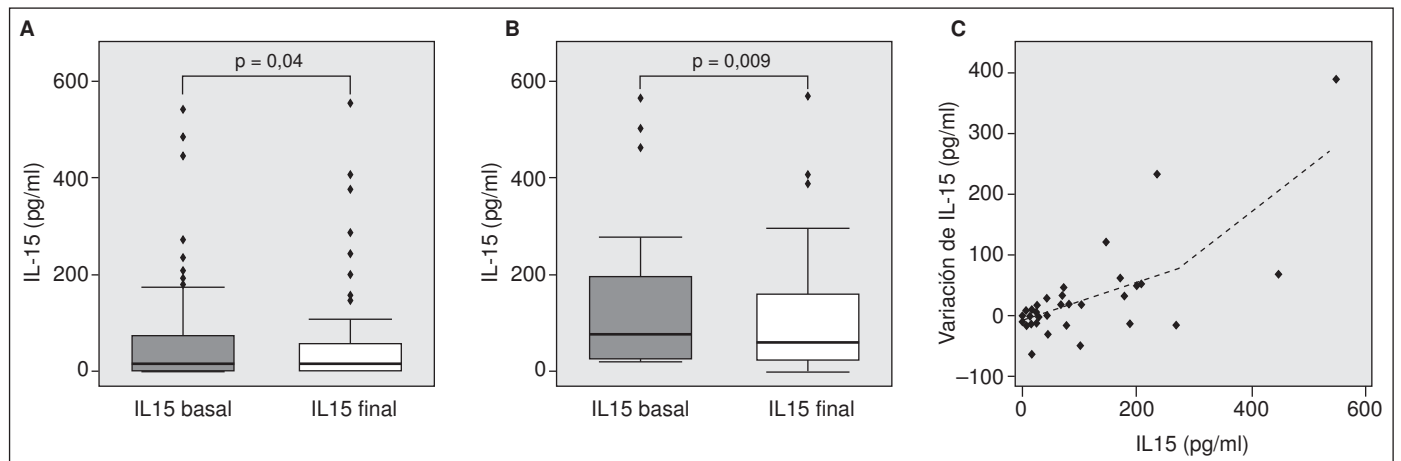
Los valores de IL-15 disminuyeron de forma significativa tras el tratamiento con anti-TNF (fig. 1A). Este efecto fue más manifiesto en los pacientes con cifras elevadas de IL-15 (fig. 1B), con una clara correlación entre la intensidad de la disminución de dichos valores y los obtenidos en la visita basal (fig. 1C).

Sin embargo, no observamos diferencias significativas entre los pacientes respondedores y no respondedores respecto a las concentraciones séricas iniciales, finales y el grado de disminución de las cifras de IL-15 con el tratamiento (fig. 2A y B). Los pacientes con mejoría clínica entre los pacientes con IL-15 alta fueron el 73,7%, frente al 65,8% de pacientes con IL-15 baja, aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística.

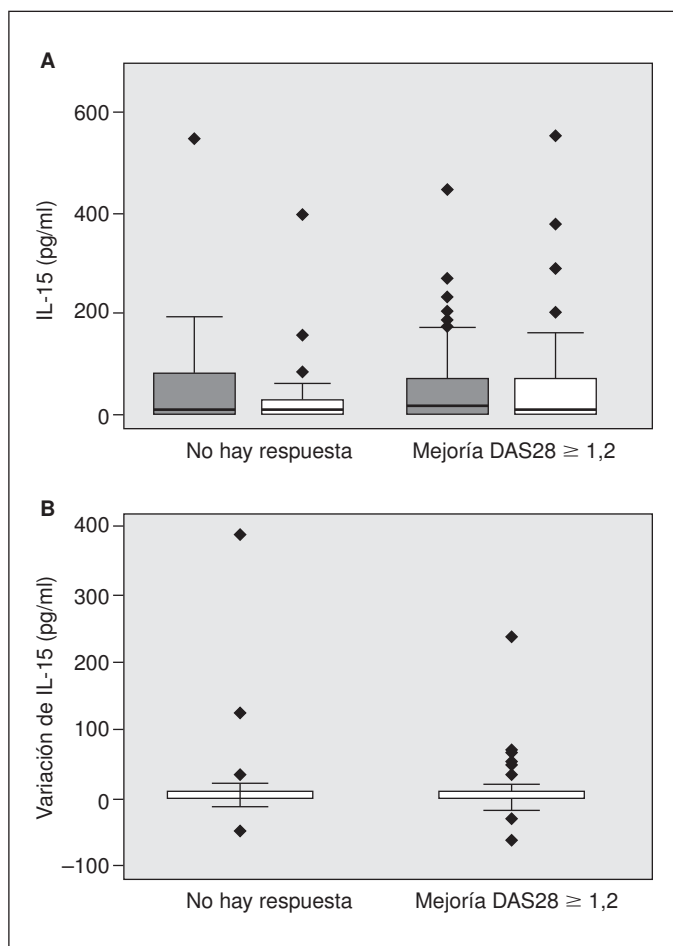
Tampoco se observó relación entre las cifras iniciales, finales o la intensidad de la disminución de la IL-15 y la consecución de remisión clínica, establecida como DAS28 ≤ 2,6 (fig. 3A y B).

## Discusión

El principal hallazgo descrito en el presente estudio es la confirmación in vivo de que el TNF está implicado en la modulación de la expresión de la IL-15. Por otra parte, los resultados de este trabajo



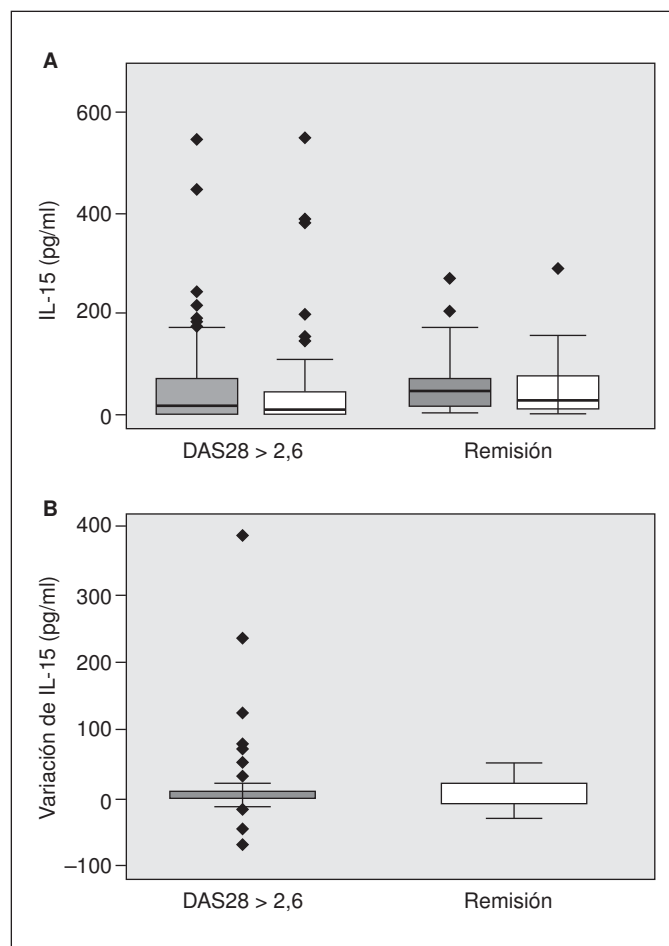
**Figura 1.** Las concentraciones séricas de interleucina (IL) 15 disminuyen tras 3 meses de tratamiento con antagonistas del factor de necrosis tumoral (TNF). A: población completa. B: pacientes con IL-15 elevada (> 30 pg/ml). Los datos se muestran como mediana (línea media de la caja) y percentiles 25 y 75 (bordes inferior y superior de la caja), 5 y 95 (líneas horizontales fuera de la caja). Test estadístico: Wilcoxon para datos apareados. C: hay correlación entre la variación de la concentración de IL-15 (basal-final) y la concentración basal. Los datos se muestran como dispersión de puntos y la línea de tendencia (línea negra discontinua), estimada mediante la función *lowess smoothing* del programa Stata.



**Figura 2.** Distribución de concentraciones de interleucina (IL) 15 según la respuesta clínica tras 3 meses de terapia con antagonistas del factor de necrosis tumoral (TNF). A: concentraciones séricas de IL-15 en la visita basal (caja gris) o final (caja blanca). B: variación de la IL-15 entre ambas visitas. En todos los casos los datos se muestran como mediana (línea media de la caja) y percentiles 25 y 75 (bordes inferior y superior de la caja), 5 y 95 (líneas horizontales fuera de la caja).

parecen respaldar nuestros datos previos que indicaban que los pacientes con IL-15 elevada habían recibido un mayor número de FAME a lo largo de su evolución<sup>4</sup>.

Diferentes estudios *in vitro* han demostrado que el TNF está implicado en la modulación de la expresión de IL-15, bien confirmando el incremento de la transcripción de su ARNm, bien poniendo de manifiesto un incremento de su expresión en membrana de fibroblastos de piel, sinoviocitos de pacientes con AR o células musculares<sup>8,14-17</sup>. Sin embargo, dado que no hay estudios que hayan demostrado que el TNF sea capaz de inducir la producción de IL-15 soluble en cultivos *in vitro*, es probable que sean precisos otros factores coadyuvantes, además del efecto del TNF, para que se produzca la liberación de IL-15 soluble<sup>2,18</sup>. Nuestros datos muestran que *in vivo* el bloqueo del TNF se asoció con una disminución significativa de la concentración sérica de IL-15. Cabe la posibilidad de que la disminución de la IL-15 se asocie con la mejoría de la actividad de la enfermedad independientemente del tratamiento que reciban los pacientes. Sin embargo, esta posibilidad parece remota, ya que en este estudio no hemos observado correlación entre la intensidad de la mejoría de la actividad de la enfermedad y la variación en la concentración de IL-15. Además, en el registro de pacientes con artritis de reciente comienzo del Hospital de La Princesa, no hemos observado disminución en los valores de IL-15 en los pacientes tratados con FAME (manuscrito en preparación).



**Figura 3.** Distribución de la concentración de IL-15 en función de la remisión clínica tras 3 meses de terapia antagonista del factor de necrosis tumoral (TNF). A: concentraciones séricas de IL-15 en la visita basal (caja gris) o final (caja blanca). B: variación de la IL-15 entre ambas visitas. En todos los casos los datos se muestran como mediana (línea media de la caja) y percentiles 25 y 75 (bordes inferior y superior de la caja), 5 y 95 (líneas horizontales fuera de la caja).

Desafortunadamente, en este estudio no se disponía de información evolutiva sobre la actividad de la enfermedad ni disponíamos de datos radiológicos o de complicaciones de la AR que nos permitiesen establecer la gravedad de la enfermedad de una forma más fiable. Además, al ser pacientes que iban a iniciar tratamiento anti-TNF, todos presentaban elevadas actividad de la enfermedad y discapacidad funcional. Por ello, como medida subrogada de gravedad, analizamos el uso de FAME. Los pacientes con concentraciones de IL-15 más elevadas habían recibido tratamiento previo con un mayor número de FAME en su seguimiento. Aunque el número de FAME usados previamente depende de la duración de la enfermedad y de la variabilidad en los hábitos de prescripción del médico<sup>19</sup>, en este trabajo hemos observado que, ajustando por estos parámetros, la asociación de uso de FAME y concentración de IL-15 sigue siendo significativa. El único inconveniente es que no se recogió si el motivo de la suspensión de los FAME previos era por efectos secundarios o por ineficacia; no obstante, un hallazgo similar ya fue descrito por nuestro grupo en un trabajo previo con un grupo de pacientes de diferentes características<sup>4</sup>. Además, en pacientes con artritis de reciente comienzo en seguimiento en el registro de esta enfermedad del Hospital de La Princesa, hemos descrito que los pacientes con IL-15 elevada presentan un peor curso evolutivo a pesar de recibir más tratamiento que los que tienen IL-15 baja (comunicación oral en I Congreso de la SER 2007 y presentación como póster en el ACR de 2007).

Por último, diferentes estudios han demostrado que el estímulo de linfocitos de sangre periférica con IL-15 permite que estos induzcan la producción de TNF en células macrofágicas<sup>5,7</sup>. Por este motivo, cabría esperar que los pacientes con concentraciones séricas de IL-15 elevadas presentasen una respuesta excepcional o al menos parcial al bloqueo del TNF. Desgraciadamente, nuestros datos no permiten establecer que la medición basal de IL-15 o la respuesta de esta citocina al tratamiento con anti-TNF sean de utilidad en la predicción de la remisión con los anti-TNF, ni siquiera la diferenciación entre respuesta parcial o completa, y la ausencia de respuesta a este tipo de terapias.

### Financiación

El trabajo ha sido realizado con financiación obtenida de los proyectos de investigación FIS 04/2009 y 05/2044 del Instituto de Salud Carlos III.

### Conflicto de intereses

También se ha recibido una beca para la investigación de Abbott Laboratories para los autores Isidoro González-Álvaro, Ana M. Ortiz y Rosario García de Vicuña.

### Bibliografía

- McInnes IB, Gracie JA. Interleukin-15: a new cytokine target for the treatment of inflammatory diseases. *Curr Opin Pharmacol*. 2004;4:392-7.
- Waldmann TA, Tagaya Y. The multifaceted regulation of interleukin-15 expression and the role of this cytokine in NK cell differentiation and host response to intracellular pathogens. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:19-49.
- Cordero OJ, Salgado FJ, Mera-Varela A, Nogueira M. Serum interleukin-12, interleukin-15, soluble CD26, and adenosine deaminase in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*. 2001;21:69-74.
- Gonzalez-Alvaro I, Ortiz AM, Garcia-Vicuna R, Balsa A, Pascual-Salcedo D, Laffon A. Increased serum levels of interleukin-15 in rheumatoid arthritis with long-term disease. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21:639-42.
- McInnes IB, Leung BP, Sturrock RD, Field M, Liew FY. Interleukin-15 mediates T cell-dependent regulation of tumor necrosis factor-alpha production in rheumatoid arthritis. *Nat Med*. 1997;3:189-95.
- Ortiz AM, Laffon A, Gonzalez-Alvaro I. CD69 expression on lymphocytes and interleukin-15 levels in synovial fluids from different inflammatory arthropathies. *Rheumatol Int*. 2002;21:182-8.
- Gonzalez-Alvaro I, Dominguez-Jimenez C, Ortiz AM, Nunez-Gonzalez V, Roda-Navarro P, Fernandez-Ruiz E, et al. Interleukin-15 and interferon-gamma participate in the cross-talk between natural killer and monocytic cells required for tumour necrosis factor production. *Arthritis Res Ther*. 2006;8:R88.
- Miranda-Carus ME, Balsa A, Benito-Miguel M, Perez de Ayala C, Martin-Mola E. IL-15 and the initiation of cell contact-dependent synovial fibroblast-T lymphocyte cross-talk in rheumatoid arthritis: effect of methotrexate. *J Immunol*. 2004;173:1463-76.
- Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1988;31:315-24.
- Prevoo ML, Van't Hof MA, Kuper HH, Van Leeuwen MA, Van de Putte LB, Van Riel PL. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts. Development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1995;38:44-8.
- Hardin J, Hilbe J. Generalized linear models and extensions. 2.<sup>a</sup> ed. College Station: Stata Press; 2007.
- Van Gestel AM, Prevoo ML, Van't Hof MA, Van Rijswijk MH, Van de Putte LB, Van Riel PL. Development and validation of the European League Against Rheumatism response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria. *Arthritis Rheum*. 1996;39:34-40.
- Carmona L, Gonzalez-Alvaro I, Balsa A, Angel Belmonte M, Tena X, Sanmarti R. Rheumatoid arthritis in Spain: occurrence of extra-articular manifestations and estimates of disease severity. *Ann Rheum Dis*. 2003;62:897-900.
- Alvarez B, Quinn LS, Busquets S, Lopez-Soriano FJ, Argiles JM. TNF-alpha modulates cytokine and cytokine receptors in C2C12 myotubes. *Cancer Lett*. 2002;175:181-5.
- Rappl G, Kapsokefalou A, Heuser C, Rossler M, Ugurel S, Tilgen W, et al. Dermal fibroblasts sustain proliferation of activated T cells via membrane-bound interleukin-15 upon long-term stimulation with tumor necrosis factor-alpha. *J Invest Dermatol*. 2001;116:102-9.
- Stoeck M, Kromer W, Gekeler V. Induction of IL-15 mRNA and protein in A549 cells by pro-inflammatory cytokines. *Immunobiology*. 1998;199:14-22.
- Sugiura T, Harigai M, Kawaguchi Y, Takagi K, Fukasawa C, Ohsako-Higami S, et al. Increased IL-15 production of muscle cells in polymyositis and dermatomyositis. *Int Immunol*. 2002;14:917-24.
- Tagaya Y, Bamford RN, DeFilippis AP, Waldmann TA. IL-15: a pleiotropic cytokine with diverse receptor/signaling pathways whose expression is controlled at multiple levels. *Immunity*. 1996;4:329-36.
- Gonzalez-Alvaro I, Hernandez-Garcia C, Villaverde Garcia V, Vargas E, Ortiz AM. [Variations in the drug treatment of rheumatoid arthritis in Spain]. *Med Clin (Barc)*. 2002;118:771-6.