

TWEAK, el facilitador del daño renal agudo

A. B. Sanz¹, M.^a D. Sánchez Sánchez-Nino¹, M. C. Izquierdo¹, J. A. Moreno¹, A. C. Uceró¹, A. Benito-Martín¹, B. Santamaría¹, C. Burgos¹, J. Egido^{1,2}, A. Ramos, S. Berzal, E. Coto^{2,3}, M. Ruiz-Ortega¹, L. M. Blanco-Colio¹ y A. Ortiz^{1,2}

¹Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid. ²Fundación Renal Iñigo Álvarez de Toledo. Madrid. ³Genética Molecular. Hospital Central de Asturias. Oviedo. España.

Nefrología 2008; 28 (6) 587-592

Las células tubulares son las más abundantes del parénquima renal. Su pérdida caracteriza tanto a la insuficiencia renal aguda como a la insuficiencia renal crónica¹. Las células tubulares se pueden perder por que se mueran, se desprendan o se diferencien hacia fibroblastos. En estudios humanos la muerte celular es el mejor correlato histológico de la pérdida de función renal en la insuficiencia renal aguda (IRA)^{2,3}. Las células gravemente dañadas secretan citoquinas proinflamatorias que contribuyen a agravar la IRA. Sin embargo, los factores que modulan el daño en las células tubulares así como la interrelación entre distintos factores son mal conocidos. De hecho, se puede decir que la IRA es una situación paradigmática en la cual el mal conocimiento de los mecanismos patogénicos impiden la aplicación de medidas terapéuticas efectivas basadas en los procesos fisiopatológicos implicados. Se han identificado numerosos elementos que contribuyen a la lesión renal y algunos de ellos son dianas de actuación efectivas en modelos animales⁴. Sin embargo, los pocos intentos para trasladar esta información a la práctica clínica han fracasado. Revisaremos la evidencia concerniente a una nueva citoquina, TWEAK y a su receptor Fn14 en la IRA⁵⁻⁷. Pensamos que estas moléculas podrían convertirse en importantes elementos para el tratamiento de la IRA por que son actores

que se comportan como facilitadores que amplifican la respuesta lesiva iniciada previamente por otros estímulos. Desde este punto de vista, la actuación sobre esta citoquina podría amortiguar la lesión inducida por un amplio rango de estímulos.

LOS PROTAGONISTAS: TWEAK Y Fn14

La citoquina Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK, Apo3L, TNFSF12) pertenece a la superfamilia del TNF (TNFSF)⁸ (fig. 1). El gen de TWEAK humano esta localizado en el cromosoma 17 y codifica para una secuencia de 248 aminoácidos que corresponde a una glicoproteína transmembrana tipo II de 30 kDa. El

dominio intracelular contiene un sitio de fosforilación con una serina. El dominio extracelular contiene el sitio de unión con su receptor. TWEAK se expresa como una proteína de membrana y como una proteína soluble de 168 aminoácidos (18kDa) que resulta de la proteólisis de TWEAK de membrana⁹⁻¹¹.

Inicialmente se comunicó, de manera errónea, que el receptor de TWEAK era DR3¹². En 2001 se clonó el receptor de TWEAK que resultó ser una proteína previamente conocida como Fn14, TNFRSF12A¹³⁻¹⁵ (fig. 1). El gen humano para Fn14 se encuentra en el cromosoma 16 y codifica para una proteína transmembrana de tipo I de 129 aminoácidos (14kDa). Fn14 se procesa a una proteína madura de tan solo 102 amino-

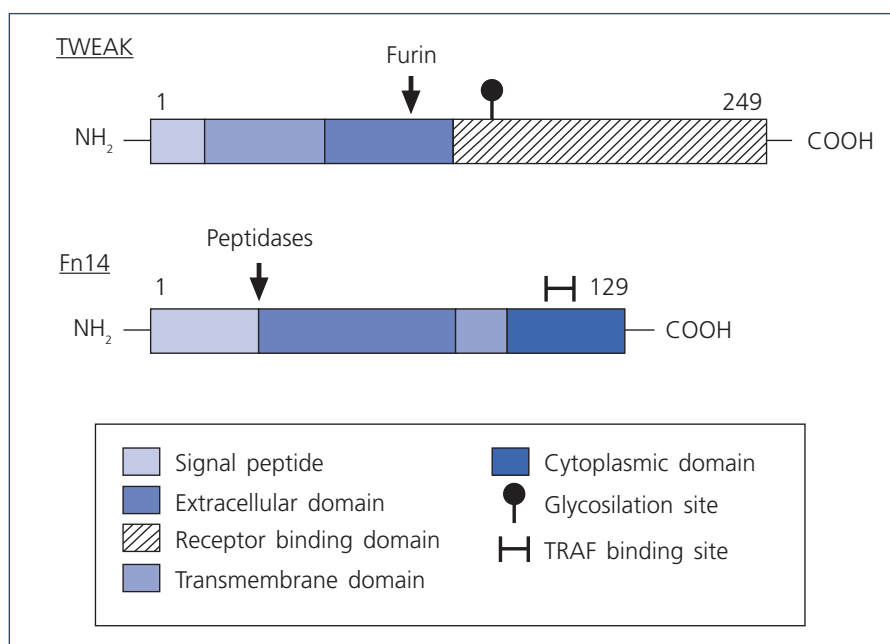


Figura 1.

Correspondencia: Alberto Ortiz
Unidad de Diálisis
Fundación Jiménez Díaz
Avda. Reyes Católicos, 2
28040 Madrid. España
aortiz@fjd.es

ácidos^{9,16}. El dominio extracelular de Fn14 contiene el sitio de unión para TWEAK¹⁸. El dominio intracelular (29 aa) contiene un sitio de unión para TRAF con 3 treoninas potencialmente fosforilables. Se ha demostrado que la unión de TRAF participa en señales de transducción¹⁸⁻²¹.

Aunque el único receptor conocido de TWEAK es Fn14, algunas de las acciones de esta proteína pueden llevarse a cabo independientemente de Fn14²². CD163 funciona como un receptor de TWEAK en condiciones patológicas y también como un receptor alternativo en células que carecen de Fn14²³.

Las proteínas TWEAK de humano y de ratón son muy similares, con un 93% de similitud en el sitio de unión para el receptor. Además coinciden en el 90% de todas sus secuencias. La citoquina TWEAK humana puede unirse al receptor de TWEAK de ratón y viceversa²⁴. De hecho estas secuencias están muy conservadas a lo largo de la evolución y se encuentran en especies tan antiguas como el pez cebra²⁵ lo que sugiere que deben tener un importante papel.

TWEAK está ampliamente distribuida en el organismo, y se encuentran niveles altos en tejidos como el páncreas, intestino, corazón, cerebro, pulmones, ovario y músculo esquelético y niveles más bajos en hígado y riñón^{8,26}. Inicialmente se comunicó que el ARNm de TWEAK disminuye en el ratón tanto en situaciones agudas (inyección de lipopolisacárido) como crónicas (patologías autoinmunes como el lupus eritematoso o la anemia hemolítica) en numerosos tejidos y en macrófagos²⁷. Las arterias humanas sanas liberan TWEAK soluble, pero en las dañadas por la aterosclerosis la liberación de TWEAK disminuye²⁸. De hecho, los niveles séricos de TWEAK son un marcador de aterosclerosis subclínica. Sin embargo se encuentran niveles elevados de TWEAK en otras situaciones inflamatorias, como la encefalitis autoinmune²⁹.

Por el contrario, expresión tisular de Fn14 es baja en condiciones de salud. Por ejemplo, en las arterias sanas es indetectable²⁸. En un principio se identificó al gen de Fn14 como un gen de expresión temprana cuya síntesis era inducida por FGF-1 en fibroblastos¹⁴.

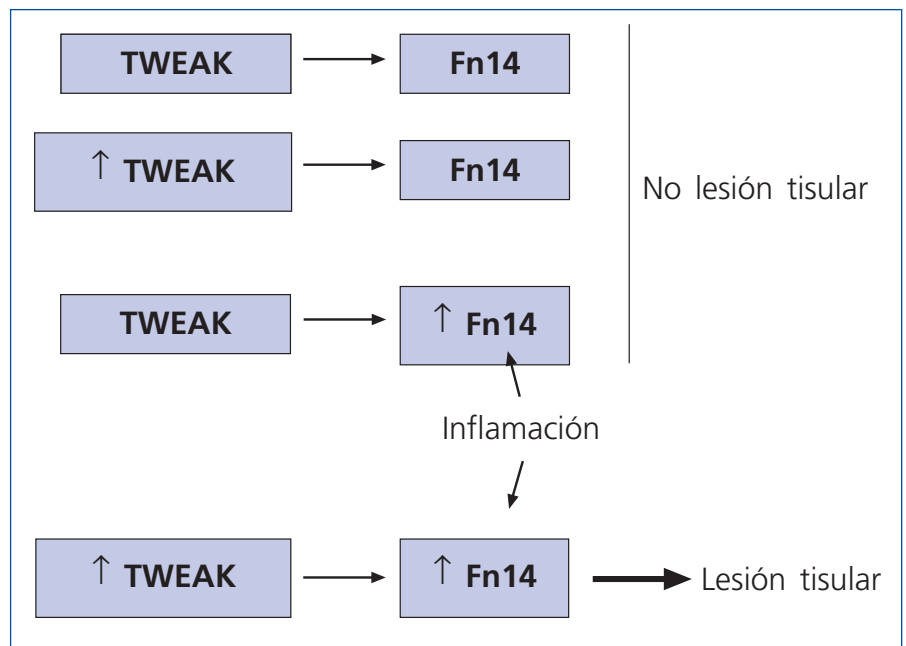


Figura 2.

Numerosos estudios realizados in vitro e in vivo han demostrado incrementos en la expresión de Fn14 ante numerosos estímulos en varios tipos celulares. Por ejemplo, la expresión de Fn14 aumenta in vivo durante la lesión hepática, vascular, del sistema nervioso central o renal^{19,16,13,30,31}. Cuando existen bajos niveles de expresión de Fn14 las células responden peor a TWEAK y la acción de TWEAK sobre tejidos sanos es escasa. Una expresión aumentada de Fn14 aumenta la respuesta a TWEAK^{28,32} (fig. 2). De esta manera, durante la inflamación, los tejidos serían más sensibles a pequeños incrementos en los niveles de TWEAK.

Durante la lesión renal experimental (tanto lesión renal aguda tóxica como de causa autoinmune) aumenta la expresión renal de TWEAK, y, de manera más notoria, la de Fn14^{31,33}. Tanto los linfocitos como los macrófagos infiltrantes pueden secretar TWEAK^{34,35}. En particular, las células T de los pacientes con lupus expresan TWEAK. Además las células tubulares y las mesangiales expresan tanto TWEAK como Fn14.

REPARTO DE PAPELES: HÉROES Y VILLANOS

Existen datos que indican que TWEAK juega un papel importante en la patogenia de enfermedades humanas como la

aterosclerosis, artritis reumatoide y enfermedades autoinmunes que afectan al riñón^{5-7,37,38,25}. Las acciones TWEAK varían con el tipo celular y el microambiente e incluyen proliferación celular³⁹⁻⁴³, supervivencia⁴⁴, migración^{41,45,46}, y apoptosis^{8,47-51}. TWEAK puede promover²² o inhibir⁵²⁻⁵⁴ la diferenciación celular. Finalmente, TWEAK induce la expresión de moléculas proinflamatorias^{8,27,36,41,45,55-58}. In vivo, TWEAK puede estimular la angiogénesis^{40,59} y regula la permeabilidad neurovascular⁶⁰. Por lo tanto TWEAK y Fn14 se podrían comportar como héroes (supervivencia y proliferación que contribuyan a la regeneración tubular) o como villanos (inflamación y muerte celular) durante el daño renal.

UN LUGAR CONCURRIDO: TWEAK Y LA INFLAMACIÓN

TWEAK activa NFκB en las células tubulares renales. Así, aumenta la unión al DNA de NFκB, la transcripción dependiente de NFκB, la fosforilación de IκBa y la translocación nuclear de RelA³². Como consecuencia, TWEAK induce la expresión de ARNm y la secreción de MCP-1, IL-6 y RANTES, de una forma dependiente de RelA. El efecto de TWEAK sobre las quimioquinas (previamente conocidas como intercrinas)⁶¹ como MPC-1 y RANTES

es particularmente interesante por el posterior reclutamiento de células inflamatorias y la amplificación de la inflamación.

El patrón de complejos NFκB unidos al DNA difiere entre TNF-alfa y TWEAK³². Esto sugiere que TWEAK induce otras respuestas biológicas, también dependientes de NFκB, que difieren de las inducidas por TNF-alfa. Por lo tanto, TNF-alfa y TWEAK parecen ser citoquinas no redundantes en la lesión renal. En ese sentido, TWEAK activa NFκB de forma mantenida en células tubulares, lo que sugiere activación de NFκB por la vía no canónica, que no es activada por TNF-alfa⁶².

La administración sistémica de TWEAK activa NFκB y tiene un efecto proinflamatorio en el parénquima renal que consiste en el incremento de los ARN mensajeros de MCP-1, RANTES e IL-6³². La inmunohistoquímica mostró que RelA se transloca al núcleo en las células tubulares y que esas células son el principal sitio donde se expresaban MCP-1 y RANTES. La expresión de quimiocinas por las células tubulares se seguía de un incremento de la expresión renal de ARNm del receptor para MCP-1, CCR2, expresado por macrófagos, así como de un incremento en el número de macrófagos. Esto demuestra que in vivo TWEAK induce respuesta inflamatoria. Sin embargo TWEAK no modifica por sí mismo los niveles de creatinina en suero. Recientemente se ha demostrado que TWEAK incrementa la expresión de MCP-1 en células mesangiales cultivadas³⁶. Sin embargo no observamos aumento de la expresión mesangial de MCP-1 ni infiltración glomerular de macrófagos tras inyectar TWEAK por vía ip, lo que sugiere que en el riñón sano TWEAK induce inflamación túbulointersticial pero no glomerular³².

EL CAMPO DE BATALLA

La apoptosis contribuye a la pérdida de células renales⁶³. Tanto nefrotoxinas como otras formas de estrés celular^{64,65}, y algunos miembros de la superfamilia de los TNF inducen muerte celular por apoptosis⁶⁶⁻⁶⁸. De hecho, el nombre de TWEAK hace referencia a su débil capacidad para inducir apoptosis. En ese sentido, TWEAK a menudo necesita coestímulos, como IFN-gamma,

para inducir apoptosis³⁵. Sin embargo, TWEAK por sí mismo induce apoptosis en neuronas y células mesangiales^{36,48}. TWEAK también participa, con otros factores, en la inducción de apoptosis de monocitos por células T⁶⁹. Por el contrario las células tubulares no estimuladas son resistentes a la inducción de apoptosis por parte de TWEAK aislado y el efecto letal solo se hace patente ante la presencia de varios mediadores inflamatorios liberados durante la IRA, como IFNγ y TNF-alfa^{31,70,71}. Este requerimiento de dos citoquinas (IFN-gamma y TNF-alfa) para la inducción de muerte celular es novedoso. TNF-alfa/IFN-gamma incrementan la expresión de Fn14 en las células tubulares. La regulación de la expresión de Fn14 podría explicar la mayor susceptibilidad hacia la apoptosis. Sin embargo, el nivel de expresión de Fn14 no sería el único mecanismo implicado, ya que IFN-gamma o TNF-alfa por separado también incrementan la expresión de Fn14 pero no aumentan la susceptibilidad a la muerte celular. Estudios funcionales de inhibición sugieren que la activación autocrina del sistema FasL/Fas contribuirían también a la muerte celular en presencia de varias citoquinas inflamatorias^{31,72}.

Las vías de señalización intracelular que conducen desde Fn14 a la muerte celular son poco conocidas y existe evidencia de que difieren para cada tipo celular y para un microambiente celular determinado. La carencia de dominio de muerte (death domain: DD) sugiere que Fn4 no recluta directamente proteínas que contienen este dominio. Estudios con inhibidores de caspasas también apuntan a la existencia de varios caminos para la muerte celular. En células tubulares, la combinación de TWEAK, TNF-alfa y IFN-gamma promovió la activación de la caspasa-8, la proteólisis de Bid, la liberación del citocromo c al citosol y la activación de la caspasa-9 y de la caspasa-3, lo que sugiere la activación de un receptor clásico de muerte celular con el reclutamiento posterior de la vía mitocondrial de la apoptosis. Sin embargo, no existe evidencia de la participación del retículo endoplasmático, que, sin embargo, si participa en la apoptosis de células tubulares inducida por paracetamol o la tunicamicina⁶⁴.

La mayoría de los estímulos extracelulares no son procesados de forma aislada, sino que las células integran los múltiples estímulos a los que están expuestas⁷³. De ese modo, es difícil asignar el resultado final a un estímulo concreto entre los diversos que están presentes en el ambiente. En este sentido, se podría pensar TNF-alfa y TWEAK en presencia de IFN-gamma reclutarían vías moleculares similares de la apoptosis que se potenciarían en presencia de las tres citoquinas. Sin embargo, TNF-alfa induce una apoptosis tardía en las células tubulares, pero por una vía que difiere de la reclutada por TWEAK/TNF-alfa/IFN-gamma³¹. Así, el inhibidor de caspasas zVAD previene la apoptosis inducida por TWEAK/TNF-alfa/IFN-gamma³¹. Sin embargo, zVAD transformó la forma de muerte celular en necrosis e incluso incremento la proporción de muerte celular. Aunque ya se había observado previamente la inducción de necrosis en células expuestas a miembros de la superfamilia de los TNF cuando se inhiben las caspasas⁷⁴, zVAD no promueve la necrosis de células tubulares en presencia de TNF-alfa aislado o asociado a IFN-gamma³¹. Esta respuesta es específica del tipo celular y sugiere que la inhibición de las caspasas podría no ser la mejor diana terapéutica en el daño renal, en el cual la inflamación contribuye a la muerte celular. En las células tubulares la necrosis inducida por la inhibición de caspasas en presencia del cocktail de citoquinas requiere el receptor Fn14 y la producción de especies reactivas del oxígeno.

EL RESULTADO: PROTECCIÓN

Para resumir, los datos obtenidos en medios celulares sugieren que TWEAK puede ser lesivo en el riñón inflamado. Sin embargo, las funciones de TWEAK sobre la proliferación de células tubulares o de células madre o el reclutamiento de macrófagos que participan en la reparación tisular podrían conferirle un papel protector²⁵. Desde ese punto de vista, una primera interpretación de los bajos niveles séricos de TWEAK en pacientes con aterosclerosis sería que la ausencia de TWEAK contribuiría al daño tisular. A fin de comprender el resultado integrado final

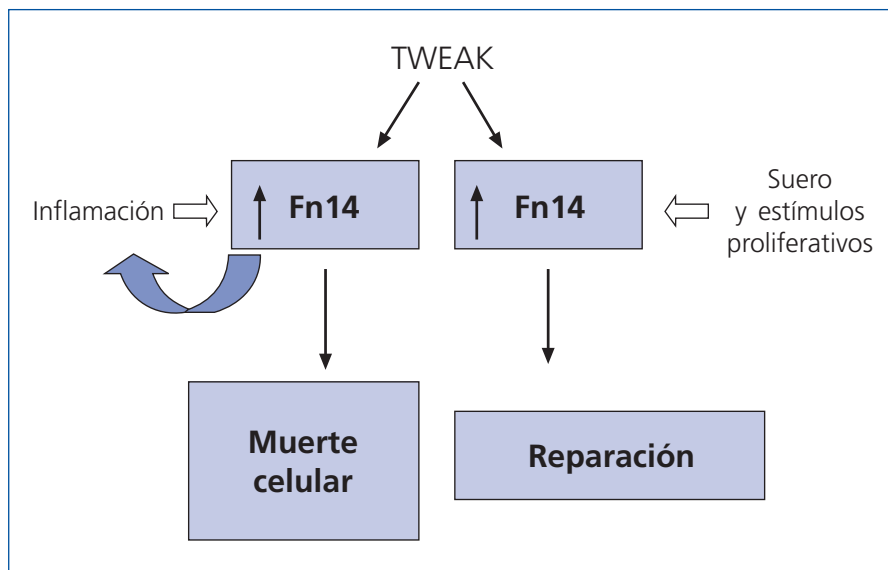


Figura 3.

de las diversas acciones potenciales de TWEAK durante la lesión renal aguda, se utilizaron anticuerpos neutralizantes in vivo. La IRA inducida por una sobredosis de ácido fólico es un modelo animal que tiene un equivalente humano en los casos raros en los que se administran grandes dosis parenterales de ácido fólico⁷⁵. Además, comparte los procesos básicos de la IRA humana: muerte de células tubulares, inflamación, proliferación que culmina con la recuperación espontánea y fibrosis residual^{70,76}. En este modelo, la expresión renal de TWEAK y Fn14 aumentó a nivel de ARNm y de proteína³¹. El ARNm de Fn14 aumentó 13 veces y la proteína 2,5 veces, localizándose en las células tubulares³¹. El pico de expresión de Fn14 fue a las 24 h, y el de TWEAK a las 72 horas. Además, la expresión renal de IFN-gamma y TNF-alfa está incrementada en diversos modelos de IRA, originado la combinación de citoquinas que resultaba letal en cultivo^{70,32}. Un anticuerpo anti-TWEAK neutralizante redujo el pico de creatinina sérica y no interfirió con la recuperación³². La neutralización de TWEAK también mejoró la lesión histológica. TWEAK no participó en la respuesta inflamatoria temprana (primeras 24 horas) que fue independiente de TWEAK. Sin embargo amplificó la inflamación tardía y la neutralización de TWEAK redujo la expresión tubular MCP-1 y RANTES, y la inflamación intersticial

por macrófagos. El efecto in vivo de TWEAK sobre los mediadores inflamatorios fue selectivo. Por ejemplo, durante la IRA la expresión de IL-6 fue independiente de TWEAK. De esta forma, aunque TWEAK podría modular la expresión de IL-6 en los cultivos celulares, otros estímulos regulan su expresión de modo predominante in vivo.

EPÍLOGO

El diccionario de OXFORD define el vocablo inglés TWEAK como «realizar ajustes finos». Esta definición se ajusta bastante al papel de TWEAK en el daño renal. TWEAK regula un amplio rango de procesos celulares que están implicados tanto en la generación como en la recuperación del daño renal. El efecto preciso de TWEAK sobre las células renales esta modulado por el microambiente celular, ajustando la respuesta al daño producido (fig. 3). TWEAK interactúa con el ambiente celular para obtener respuestas celulares específicas. En el contexto de inflamación en la insuficiencia renal aguda el efecto global de TWEAK es negativo para el riñón, promoviendo inflamación y muerte celular. En este contexto, el antagonismo de TWEAK mejora la función renal. En vista de las múltiples acciones de TWEAK, que incluirían la proliferación de células progenitoras⁷⁷, merece la pena abordar la modulación de TWEAK en

diversos contextos clínicos. Además, el posible papel de TWEAK como biomarcador debería ser estudiado ya que se han encontrado niveles elevados en orina en pacientes con lupus y nefritis activa⁷⁸ y también bajos niveles séricos resultan ser marcadores de aterosclerosis en fase subclínica²⁸.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha llevado a cabo con subvenciones del FIS 06/0046 y ISCIII-RETICS REDINREN RD 06/0016, MEC (SAF 03/884) y Sociedad Española de Nefrología. JAM, AR y ABS fueron subvencionados por FIS, MDSN y ACU del MEC, ACU, MCI, SB y BS por la Fundación Conchita Rabago, CB por becas para la colaboración de alumnos de pregrado universitario en proyectos de investigación de la Agencia Lain Entralgo y AO por el Programa de Intensificación de la Actividad Investigadora in the Sistema Nacional de Salud of the Instituto de Salud Carlos III y la Agencia Lain Entralgo de la Comunidad de Madrid y CIFRA S-BIO 0283/2006.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ortiz A, Justo P, Sanz A, Lorz C, Egido J. Targeting apoptosis in acute tubular necrosis. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1589-94.
2. Solez K, Morel-Maroger L, Sraer JD. The morphology of «acute tubular necrosis» in man: analysis of 57 renal biopsies and a comparison with the glycerol model. *Medicine* (Baltimore) 1979; 58: 362-76.
3. Olsen TS, Olsen HS, Hansen HE. Tubular ultrastructure in acute renal failure in man: epithelial necrosis and regeneration. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1985; 406: 75-89.
4. Lorz C, Benito-Martín A, Justo P, Sanz AB, Sánchez Niño MD, Egido J, Ortiz A. Modulation of renal tubular cell survival: where is the evidence? *Current Medicinal Chemistry* 2006; 13: 763-771.
5. Winkles JA. The TWEAK-Fn14 cytokine-receptor axis: discovery, biology and therapeutic targeting. *Nat Rev Drug Discov* 2008; [Epub ahead of print].
6. Burkly LC, Michaelson JS, Hahm K, Jakubowski A, Zheng TS. TWEAKing tissue remodeling by a multifunctional cytokine: role of TWEAK/Fn14 pathway in health and disease. *Cytokine* 2007; 40: 1-16. PMID: 17981048.
7. Sanz AB, Moreno JA, Sánchez-Niño MD, Ucero AC, Benito A, Santamaría B, Justo P, Izquierdo MC, Egido J, Blanco-Colio LM, Ortiz A. TWEAKing renal injury. *Front Biosci* 2008; 13: 580-589.

8. Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, Hsu Y, Scott H, Hession C, Garci I, Browning JL. TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. *J Biol Chem* 1997; 272: 32401-32410.
9. Wiley SR, Winkles JA. TWEAK, a member of the TNF superfamily, is a multifunctional cytokine that binds the TWEAKR/Fn14 receptor. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; 14: 241-249.
10. Campbell S, Michaelson J, Burkly L, Putterman C. The role of TWEAK/Fn14 in the pathogenesis of inflammation and systemic autoimmunity. *Front Biosci* 2004; 9: 2273-2284.
11. Baxter FO, Came PJ, Abell K, Kedjouar B, Huth M, Rajewsky K, Pasparakis M, Watson CJ. IKK beta/2 induces TWEAK and apoptosis in mammary epithelial cells. *Development* 2006; 133: 3385-3394.
12. Marsters SA, Sheridan JP, Pitti RM, Brush J, Goddard A, Ashkenazi A. Identification of a ligand for the death-domain containing receptor Apo3. *Curr Biol* 1998; 8: 525-8.
13. Wiley SR, Cassiano L, Lofton T, Davis-Smith T, Winkles JA, Lindner V, Liu H, Daniel TO, Smith CA, Fanslow WC. A novel TNF receptor family member binds TWEAK and is implicated in angiogenesis. *Immunity* 2001; 15: 837-846.
14. Meighan-Mantha RL, Hsu DK, Guo Y, Brown SA, Feng SL, Peifley KA, Alberts GF, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Richards CM, Winkles JA. The mitogen-inducible Fn14 gene encodes a type I transmembrane protein that modulates fibroblast adhesion and migration. *J Biol Chem* 1999; 274: 33166-33176.
15. Wiley SR, Winkles JA. TWEAK, a member of the TNF superfamily, is a multifunctional cytokine that binds the TWEAKR/Fn14 receptor. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; 14: 241-249.
16. Feng SL, Guo Y, Factor VM, Thorgeirsson SS, Bell DW, Testa JR, Peifley KA, Winkles JA. The Fn14 immediate-early response gene is induced during liver regeneration and highly expressed in both human and murine hepatocellular carcinomas. *Am J Pathol* 2000; 156: 1253-1261.
17. Brown SAN, Hanscom HN, Vu H, Brew SA, Winkles JA. TWEAK binding to the Fn14 cysteine-rich domain depends on charged residues located in both the A1 and D2 modules. *Biochem J* 2006; 397: 297-304.
18. Brown SA, Richards CM, Hanscom HN, Feng SL, Winkles JA. The Fn14 cytoplasmic tail binds tumour-necrosis-factor-receptor-associated factors 1, 2, 3 and 5 and mediates nuclear factor-kappa B activation. *Biochem J* 2003; 371: 395-403.
19. Tran NL, McDonough WS, Savitch BA, Sawyer TF, Winkles JA, Berens ME. The tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (TWEAK)-fibroblast growth factor-inducible 14 (Fn14) signaling system regulates glioma cell survival via NF-kappaB pathway activation and BCLXL/BCL-W expression. *J Biol Chem* 2005; 280: 3483-3492.
20. Winkles JA, Tran NL, Berens ME. TWEAK and Fn14: New molecular targets for cancer therapy? *Cancer Lett* 2005; 235: 11-17.
21. Saitoh T, Nakayama M, Nakano H, Yagita H, Yamamoto N, Yamaoka S. TWEAK induces NF-kappaB p100 processing and long lasting NF-kappaB activation. *J Biol Chem* 2003; 278: 36005-36012.
22. Polek TC, Talpaz M, Darnay BG, Spivak-Kroizman T. TWEAK mediates signal transduction and differentiation of RAW264.7 cells in the absence of Fn14/TWEAKR. Evidence for a second TWEAK receptor. *J Biol Chem* 2003; 278: 32317-32323.
23. Bover LC, Cardó-Vila M, Kuniyasu A, Sun J, Rangel R, Takeya M, Aggarwal BB, Arap W, Pasqualini R: A previously unrecognized protein-protein interaction between TWEAK and CD163: potential biological implications. *J Immunol* 2007; 178: 8183-94. PMID: 17548657.
24. Bossen C, Ingold K, Tardivel A, Bodmer JL, Gaide O, Hertig S, Ambrose C, Tschopp J, Schneider P. Interactions of tumor necrosis factor (TNF) and TNF receptor family members in the mouse and human. *J Biol Chem* 2006; 281: 13946-13971.
25. Zheng TS, Burkly LC. No End In Site: TWEAK/Fn14 Activation and Autoimmunity Associated End-Organ Pathologies. *J Leukocyte Biology* 2008 (in press).
26. Marsters SA, Sheridan JP, Pitti RM, Brush J, Goddard A, Ashkenazi A. Identification of a ligand for the death-domain-containing receptor Apo3. *Curr Biol* 1998; 8: 525-528.
27. Chicheportiche Y, Chicheportiche R, Sizing I, Thompson J, Benjamin CB, Ambrose C, Daver JM. Proinflammatory activity of TWEAK on human dermal fibroblasts and synoviocytes: blocking and enhancing effects of anti-TWEAK monoclonal antibodies. *Arthritis Res* 2002; 4: 126-33.
28. Blanco-Colio LM, Martín-Ventura JL, Muñoz-García B, Orbe J, Páramo JA, Michel JB, Ortiz A, Meilhac O, Egido J. Identification of Soluble Tumor Necrosis Factor-Like Weak Inducer of Apoptosis (sTWEAK) as a Possible Biomarker of Sub-clinical Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 916-922.
29. Desplat-Jego S, Varriale S, Creidy R, Terra R, Bernard D, Khrestchatsky M, Izui S, Chicheportiche Y, Boucrat J. TWEAK is expressed by glial cells, induces astrocyte proliferation and increases EAE severity. *J Neuroimmunol* 2002; 133: 116-123.
30. Tanabe K, Bonilla I, Winkles JA, Strittmatter SM. Fibroblast growth factor-inducible-14 is induced in axotomized neurons and promotes neurite outgrowth. *J Neurosci* 2003; 23: 9675-9686.
31. Justo P, Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Winkles JA, Lorz C, Egido J, Ortiz A. Cytokine cooperation in renal tubular cell injury: the role of TWEAK. *Kidney Int* 2006; 70: 1750-1758.
32. Sanz AB, Justo P, Sánchez-Niño MD, Blanco-Colio LM, Winkles JA, Krezler M, Jakubowski A, Egido J, Ruiz-Ortega M, Ortiz A. The Cytokine TWEAK Modulates Renal Tubulointerstitial Inflammation. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 695-703.
33. Zhao Z, Burkly LC, Campbell S, Schwartz N, Molano A, Choudhury A, Eisenberg RA, Michaelson JS, Putterman C. TWEAK/Fn14 interactions are instrumental in the pathogenesis of nephritis in the chronic graft-versus-host model of systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2007; 179: 7949-7958.
34. Kaplan JM, Lewis EE, Shelden EA, Somers E, Pavlic R, McCune WJ, Richardson BC. The apoptotic ligands TRAIL, TWEAK, and Fas ligand mediate monocyte death induced by autologous lupus T cells. *J Immunol* 2002; 169: 6020-6029.
35. Nakayama M, Kayagaki N, Yamaguchi N, Okumura K, Yagita H. Involvement of TWEAK in interferon gamma-stimulated monocyte cytotoxicity. *J Exp Med* 2000; 192: 1373-1380.
36. Campbell S, Burkly LC, Gao HX, Berman JW, Su L, Browning B, Zheng T, Schiffer L, Michaelson JS, Putterman C. Proinflammatory effects of TWEAK/Fn14 interactions in glomerular mesangial cells. *J Immunol* 2006; 176: 1889-1898.
37. Winkles JA, Tran NL, Brown SA, Stains N, Cunliffe HE, Berens ME. Role of TWEAK and Fn14 in tumor biology. *Front Biosci* 2007; 12: 2761-2771.
38. Blanco-Colio M, Martín-Ventura JL, Muñoz-García B, Moreno JA, Meilhac O, Ortiz A, Egido J. TWEAK and Fn14. New players in the pathogenesis of atherosclerosis. *Front Biosci* 2007; 12: 3648-3655.
39. Donohue PJ, Richards CM, Brown SAN, Hanscom HN, Buschman J, Thangada S, Hla T, Williams MS, Winkles JA. TWEAK is an endothelial cell growth and chemotactic factor that also potentiates FGF-2 and VEGF-A mitogenic activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 594-600.
40. Lynch CN, Wang YC, Lund JK, Chen Y, Leal JA, Wiley SR. TWEAK induces angiogenesis and proliferation of endothelial cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 8455-8459.
41. Harada N, Nakayama M, Nakano H, Fukuchi Y, Yagita H, Okumura K. Pro-inflammatory effect of TWEAK/Fn14 interaction on human umbilical vein endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 299: 488-493.
42. Michaelson JS, Cho S, Browning B, Zheng TS, Lincecum JM, Wang MZ, Hsu YM, Burkly LC. TWEAK induces mammary epithelial branching morphogenesis. *Oncogene* 2005; 24: 2613-2624.
43. Jakubowski A, Ambrose C, Parr M, Lincecum JM, Wang MZ, Zheng TS, Browning B, Michaelson JS, Baetscher M, Wang B, Bissell DM, Burkly LC. TWEAK induces liver progenitor cell proliferation. *J Clin Invest* 2005; 115: 2330-2340.
44. Jakubowski A, Browning JS, Benjamin CD, Hsu Y, Ambrose C, Zheng TS, Burkly LC. Dual role for TWEAK in angiogenic regulation. *J Cell Sci* 2002; 115: 267-274.
45. Jin L, Nakao A, Nakayama M, Yamaguchi N, Kojima Y, Nakano N, Tsuboi R, Okumura K, Yagita H, Ogawa H. Induction of RANTES by TWEAK/Fn14 interaction in human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1175-1179.

46. Tran NL, McDonough WS, Donohue PJ, Winkles JA, Berens TJ, Ross KR, Hoelzinger DB, Beaudry C, Coons SW, Berens ME. The human Fn14 receptor gene is up-regulated in migrating glioma cells in vitro and overexpressed in advanced glial tumors. *Am J Pathol* 2003; 162: 1313-1321.
47. Nakayama M, Ishidoh K, Kayagaki N, Kojima Y, Yamaguchi N, Nakano H, Kominami E, Okumura K, Yagita H. Multiple pathways of TWEAK-induced cell death. *J Immunol* 2002; 168: 734-743.
48. Potrovita I, Zhang W, Burkly L, Hahm K, Lincecum J, Wang MZ, Maurer MH, Rossner M, Schneider A, Schwaninger M. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis-induced neurodegeneration. *J Neurosci* 2004; 24: 8237-8244.
49. Schneider P, Schwenzler R, Haas E, Muhlenbeck F, Schubert G, Scheurich P, Tschopp J, Wajant H. TWEAK can induce cell death via endogenous TNF and TNF receptor 1. *Eur J Immunol* 1999; 29: 1785-1792.
50. Wilson CA, Browning JL. Death of HT29 adenocarcinoma cells induced by TNF family receptor activation is caspase-independent and displays features of both apoptosis and necrosis. *Cell Death Differ* 2002; 9: 1321-1333.
51. Nakayama M, Ishidoh K, Kojima Y, Harada N, Kominami E, Okumura K, Yagita H. Fibroblast growth factor-inducible 14 mediates multiple pathways of TWEAK-induced cell death. *J Immunol* 2003; 170: 341-348.
52. Felli N, Pedini F, Zeuner A, Petrucci E, Testa U, Conticello C, Biffoni M, Di Cataldo A, Winkles JA, Peschle C, De Maria R. Multiple members of the TNF superfamily contribute to IFN-gamma-mediated inhibition of erythropoiesis. *J Immunol* 2005; 1: 1464-1472.
53. Dogra C, Changotra H, Mohan S, Kumar A. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis inhibits skeletal myogenesis through sustained activation of nuclear factor-kappaB and degradation of myoD protein. *J Biol Chem* 2006; 281: 10327-10336.
54. Perper SJ, Browning B, Burkly LC, Weng S, Gao C, Giza K, Su L, Tarilonte L, Crowell T, Rajman L, Runkel L, Scott M, Atkins GJ, Findlay DM, Zheng TS, Hess H. TWEAK is a novel arthritogenic mediator. *J Immunol* 2006; 177: 2610-2620.
55. Xu H, Okamoto A, Ichikawa J, Ando T, Tasaka K, Masuyama K, Ogawa H, Yagita H, Okumura K, Nakao A. TWEAK/Fn14 interaction stimulates human bronchial epithelial cells to produce IL-8 and GM-CSF. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 318: 422-427.
56. Kim SH, Kang YJ, Kim WJ, Woo DK, Lee Y, Kim DI, Park YB, Kwon BS, Park JE, Lee WH. TWEAK can induce pro-inflammatory cytokines and matrix metalloproteinase-9 in macrophages. *Circ J* 2004; 68: 396-399.
57. Saas P, Boucraut J, Walker PR, Quiquerez AL, Billot M, Desplat-Jego S, Chicheportiche Y, Dietrich PY. TWEAK stimulation of astrocytes and the proinflammatory consequences. *Glia* 2000; 32: 102-7.
58. Kawakita T, Shiraki K, Yamanaka Y, Yamaguchi Y, Saitou Y, Enokimura N, Yamamoto N, Okano H, Sugimoto K, Murata K, Nakano T. Functional expression of TWEAK in human hepatocellular carcinoma: possible implication in cell proliferation and tumor angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 318: 726-733.
59. Ho DH, Vu H, Brown SAN, Donohue PJ, Hanscom HN, Winkles JA. Soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis overexpression in HEK293 cells promotes tumor growth and angiogenesis in athymic nude mice. *Cancer Res* 2004; 64: 8968-8972.
60. Polavarapu R, Gongora MC, Winkles JA, Yepes M. Tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis increases the permeability of the neurovascular unit through nuclear factor-kappaB pathway activation. *J Neurosci* 2005; 25: 10094-10100.
61. Gómez-Chiarri M, Ortiz A, Seron D, Glez E, Egido J. The intercrine superfamily and renal disease. *Kidney Int* 1993; Supl. 39: S81-S85.
62. Beinke S, Ley SC. Functions of NF-kappaB1 and NF-kappaB2 in immune cell biology. *Biochem J* 2004; 382 (Pt 2): 393-409.
63. Sanz AB, Santamaría B, Ruiz Ortega M, Egido J, Ortiz A. Mechanisms of renal apoptosis in health and disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; Aceptado.
64. Lorz C, Justo P, Sanz A, Subirá D, Egido J, Ortiz A. Paracetamol nephrotoxicity: a role for ER stress. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 380-9.
65. Justo P, Lorz C, Sanz A, Egido J, Ortiz A. Intracellular mechanisms of cyclosporine A-induced tubular cell apoptosis. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 3072-3080.
66. Ortiz A, Lorz C, Egido J. New kids in the block: the role of FasL and Fas in kidney damage. *J Nephrol* 1999; 12: 150-158.
67. Ortiz A, Lorz C, Egido J. The Fas ligand/Fas system in renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1831-1834.
68. Ortiz A, González-Cuadrado S, Bustos C, Alonso J, Gómez-Guerrero C, López-Armada MJ, González E, Plaza JJ, Egido J. Tumor necrosis factor and glomerular damage. *J Nephrol* 1995; 8: 27-34.
69. Kaplan MJ, Ray D, Mo RR, Yung RL, Richardson BC. TRAIL (Apo2 ligand) and TWEAK (Apo3 ligand) mediate CD4+ T cell killing of antigen-presenting macrophages. *J Immunol* 2000; 164: 2897-904.
70. Ortiz A, Lorz C, Catalán MP, Danoff TM, Yamasaki Y, Egido J, Neilson EG. Expression of apoptosis regulatory proteins in tubular epithelium stressed in culture or following acute renal failure. *Kidney Int* 2000; 57: 969-981.
71. Goes N, Urmson J, Ramassar V, Halloran PF. Ischemic acute tubular necrosis induces an extensive local cytokine response. Evidence for induction of interferon-gamma, transforming growth factor-beta 1, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin-2, and interleukin-10. *Transplantation* 1995; 59: 565-72.
72. Lorz C, Ortiz A, Justo P, González-Cuadrado S, Duque N, Gómez-Guerrero C, Egido J. Proapoptotic Fas ligand is expressed by normal kidney tubular epithelium and injured glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1266-77.
73. Janes KA, Albeck JG, Gaudet S, Sorger PK, Lauffenburger DA, Yaffe MB. A systems model of signaling identifies a molecular basis set for cytokine-induced apoptosis. *Science* 2005; 310: 1646-53.
74. Khwaja A, Tatton L. Resistance to the cytotoxic effects of tumor necrosis factor alpha can be overcome by inhibition of a FADD/caspase-dependent signaling pathway. *J Biol Chem* 1999; 274: 36817-23.
75. Metz-Kurschel U, Kurschel E, Wagner K, Aulbert E, Graben N, Philipp T. Folate nephropathy occurring during cytotoxic chemotherapy with high-dose folinic acid and 5-fluorouracil. *Ren Fail* 1990; 12 (2): 93-7.
76. Ortega A, Ramila D, Ardura JA, Esteban V, Ruiz-Ortega M, Barat A, Gazapo R, Bosch RJ, Esbrit P. Role of parathyroid hormone-related protein in tubulointerstitial apoptosis and fibrosis after folic Acid-induced nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1594-603.
77. Girgenrath M, Weng S, Kostek CA, Browning B, Wang M, Brown SA, Winkles JA, Michaelson JS, Allaire N, Schneider P, Scott ML, Hsu YM, Yagita H, Flavell RA, Miller JB, Burkly LC, Zheng TS. TWEAK, via its receptor Fn14, is a novel regulator of mesenchymal progenitor cells and skeletal muscle regeneration. *EMBO J* 2006; 25: 5826-39.
78. Schwartz N, Su L, Burkly LC, Mackay M, Aranow C, Kollaros M, Michaelson JS, Rovin B, Putterman C. Urinary TWEAK and the activity of lupus nephritis. *J Autoimmun* 2006; 27: 242-50.