

Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Volumen
Volume 15

Número
Number 1




Enero-Marzo
January-March 2002

Artículo:




Factor de necrosis tumoral: actividad
biológica en neumopatías intersticiales

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

**Otras secciones de
este sitio:**

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



www.medigraphic.com

Factor de necrosis tumoral: Actividad biológica en neumopatías intersticiales

Ramcés Falfán Valencia*

Palabras clave: Factor de necrosis tumoral, neumopatía intersticial, lipopolisacárido, inflamación, complejo principal de histocompatibilidad.

Key words: Tumor necrosis factor, interstitial lung disease, lipopolysaccharide, inflammation, major histocompatibility complex.

RESUMEN

Identificado inicialmente como un mediador de la necrosis tumoral en ratones tratados con lipopolisacárido, el factor de necrosis tumoral se sabe involucrado en la respuesta a una gran cantidad de estímulos, condicionando generalmente un proceso inmune de tipo inflamatorio. Una amplia variedad de estirpes celulares producen la citocina, siendo las células mononucleares la principal fuente, tal es el caso de los macrófagos activados que contribuyen en una buena parte de la producción de la citocina en forma soluble. A la fecha, se sabe que el factor de necrosis tumoral está involucrado en un sinnúmero de actividades biológicas tanto celulares como orgánicas que van desde la fiebre y el daño tisular, hasta su implicación en la posible regulación genética de la inducción de otras citocinas y moléculas inmunorreguladoras. La localización y descripción de polimorfismos en el promotor del gen del factor de necrosis tumoral ha dado lugar, en algunos casos, a asociaciones entre estas variantes y ciertas enfermedades, caracterizadas por ocasionar procesos erráticos con fondos

inflamatorios exagerados. El objetivo de la presente revisión es conocer acerca de los polimorfismos del factor de necrosis tumoral y las asociaciones actualmente descritas en la neumopatía intersticial difusa.

ABSTRACT

The TNF was found initially in mouse serum, which had previously been treated with lipopolysaccharide (LPS). Currently, TNF is known to be involved in the response to several stimulants, causing an inflammatory and immune event. Although a variety of cell types can induce this cytokine, macrophages represent the main cellular source for the soluble form. TNF elicits a wide spectrum of organism and cellular responses, ranging from fever and tissue injury to induction of other cytokines and immunoregulatory molecules. Localization and description of polymorphisms at the upstream promoter region of the human TNF gene has revealed some associations between these polymorphisms and inflammatory diseases. This review focuses on the information available on TNF gene polymorphisms and their associations currently described in interstitial lung disease.

INTRODUCCIÓN

El factor de necrosis tumoral (TNF, por sus siglas en inglés) fue identificado inicialmente, como un mediador de la necrosis tumoral en el suero de ratones tratados con lipopolisacárido (LPS) produciendo necrosis hemorrágica y completa regresión de tumores trasplantados, también se le ha descrito en muerte de células tumorales *in vivo*¹. Una proteína sérica denominada caquexina aislada de

* Departamento de Inmunología, INER.

Correspondencia:
QC. Ramcés Falfán Valencia, Departamento de Inmunología.
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Calzada de Tlalpan 4502, colonia Sección XVI. México, D.F., 14080.

Trabajo recibido: 16-XI-2001; Aceptado: 26-III-2002

conejos infectados crónicamente con *Trypanosoma brucei* fue encontrada posteriormente, resultando idéntica al TNF. Originalmente, el término TNF se refería a dos citocinas fuertemente relacionadas, TNF α y TNF β (actualmente linfotóxina- α , LT α). Ambas interactúan con los mismos receptores, despliegan una amplia variedad de respuestas inmunológicas y han sido asociadas como mediadores patogénicos de enfermedades en humanos^{2,3}.

FUENTE CELULAR

Si bien las células B y T producen cantidades significativas de citocina, ésta es primordialmente producida por monocitos/macrófagos, siendo los macrófagos activados la principal fuente celular. En tanto que la linfotóxina es liberada exclusivamente por parte de células linfoides⁴. La cantidad de TNF producido depende del estado de activación de la célula y del tipo de estímulo que la induce. La estimulación de macrófagos por LPS, resulta en una fuerte inducción de la citocina, la tasa de transcripción se incrementa hasta tres veces, el RNAm se eleva de 50 a 100 veces y la secreción de la proteína en suero se ve aumentada por un factor de aproximadamente 10,000⁵. La vida media del RNAm del TNF en linfocitos es de 40 minutos comparada con 21 minutos en monocitos humanos. Las células T activadas también expresan la forma de transmembrana del TNF. Otras células conocidas por expresar TNF incluyen linfocitos B, células citocidas naturales (NK), mastocitos, células de Paneth, células de mesénquima intestinal, queratinocitos, células de la microglia, astrocitos, células de músculo liso y ciertas líneas de células tumorales^{6,7}. También es producido por células del epitelio intestinal en respuesta a una invasión bacteriana⁸. *In vitro*, la preincubación con interferón- γ (IFN γ) aumenta la producción de TNF en respuesta a la estimulación con LPS. El TNF induce su propia transcripción a través de la activación del factor nuclear- κ B (NF- κ B), pero también induce elementos reguladores negativos específicos que proveen un control estricto en su propia producción⁹. De igual forma, induce la producción de citocinas reguladoras como la interleucina (IL)-10, la cual suprime la liberación del TNF en respuesta a la endotoxina¹⁰.

FUNCIÓN BIOLÓGICA

El TNF es causante de una gran variedad de respuestas celulares y orgánicas incluyendo fiebre, choque, daño tisular, necrosis tumoral, anorexia, inducción de otras citocinas y moléculas inmunorreguladoras, proliferación y diferenciación celular, así como apoptosis¹¹. Es una potente citocina con una amplia variedad de actividades proinflamatorias y autoinmunes, en donde pudiera participar de manera indirecta. Por otro lado, al gen precursor se le ha propuesto como candidato para el desarrollo de la obesidad debido a los niveles elevados de la citocina en tejido adiposo, sin embargo los estudios al respecto no han sido concluyentes. La presencia del TNF en embriones de ratón sugiere cierto papel de éste en la embriogénesis¹².

Los mecanismos por los cuales las señales del TNF generan una gran variedad de respuestas son, probablemente causados por la amplia distribución de los receptores de la citocina en diferentes tipos celulares y sus respuestas diferenciales para la forma secretada y de membrana de la misma, en varios procesos inmunológicos dependientes de éste, hasta ahora no se ha encontrado ninguna célula de mamíferos que carezca de receptores para esta citocina¹³.

Análisis de ratones deficientes del gen precursor (*knockout*) para el receptor II del TNF (TNF-RII), revelaron resistencia a la necrosis tisular a dosis que en ratones de tipo silvestre (es decir, sin la deficiencia del receptor) induce necrosis, sin embargo al incrementar significativamente la concentración plasmática de la proteína, tal efecto de resistencia se ve anulado. Es posible que en ausencia de TNF-RII, bajas concentraciones de TNF sean incapaces de unirse a TNF-RI, protegiendo de los efectos tóxicos de las dosis elevadas de la citocina a los ratones *knockout*. A altas concentraciones el TNF se une a TNF-RI, el cual entonces se encarga de liberar los efectos biológicos esperados. En ratones deficientes de TNF-RI la citocina es unida por TNF-RII, aún en ausencia de TNF-RI, indicando la amplia variedad de funciones que puede desarrollar este receptor en otros procesos biológicos.

La generación de ratones deficientes de TNF-RI y TNF-RII ha ayudado a elucidar el papel de estos receptores en varios procesos celulares, de una manera muy específica se ha asociado al TNF-RI con una inmunidad de tipo inespecífica contra microorganismos, en tanto que el TNF-RII se ha encontrado envuelto en procesos de necrosis tisular mediada por TNF¹⁴.

UBICACIÓN GENÉTICA

El gen del TNF se encuentra ubicado en el brazo corto del cromosoma 6, formando parte del complejo principal de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés), el sistema más polimórfico descrito en mamíferos. En el humano se localiza aproximadamente 250 kilobases centromérico del locus HLA-B y 850 kilobases telomérico a HLA-DR, análogos a sus posiciones en el cartografiado genético murino. La cercanía de estos dos loci puede ser útil en la regulación coordinada de los productos de los genes del sistema inmune. Por otro lado, complica la interpretación de los estudios en donde pudieran estar desequilibrados alelos HLA de Clase I y II. Al igual que los demás genes de esta región, el gen de TNF está duplicado, en donde la segunda copia es funcional y corresponde al gen de la LT^{1-3,5,15,16}. (Figura 1).

DEL GEN A LA PROTEÍNA

Además de poseer homología en un 30% en la secuencia de aminoácidos, entre los genes del TNF y la LT, éstos contienen 3kb de longitud, 3 intrones, 4 exones y están separados por 1 a 2kb de DNA^{1,17}.

Cuatro exones codifican para el producto precursor de 230 aminoácidos y uno maduro de 157, después de que una

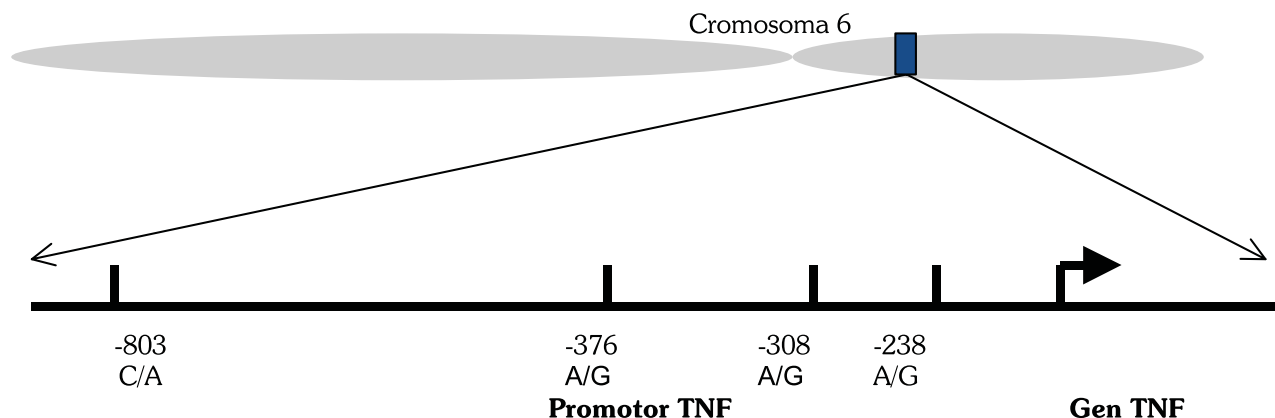


Figura 1. Ubicación genética. En el brazo corto del cromosoma 6 se encuentra el TNF, en la región de HLA. Localización de los polimorfismos identificados en el promotor, en las posiciones -803, -308, -308 y -238.

inusual y prolongada cadena líder es removida, tan sólo el último exón codifica para el 80% de la proteína secretada¹⁷. Es inicialmente sintetizado en ribosomas unidos al retículo endoplásmico, gracias a la presencia de un péptido señal se genera una proteína de 26kD unida a la membrana (pro-TNF), que posee una orientación de proteína tipo II, es decir el extremo aminoterminal es intracelular, el segmento transmembranal está cerca del extremo aminoterminal y el gran segmento carboxiterminal es extracelular. El fragmento de 26kD es separado para liberar al TNF soluble de 17kD con un extremo aminoterminal de valina^{6,18}. Para llevar a cabo la liberación se necesita de la enzima convertidora de TNF (TNF α converting enzyme "TACE") miembro de la familia de las metaloproteasas desintegrinas, que es una glicoproteína anclada a la membrana^{19,20}. Esta forma soluble se ensambla formando un homotrímero, cuya función es activar sus dos receptores; las interacciones entre las subunidades implican al dominio carboxiterminal extracelular. El TNF de membrana es biológicamente activo y se ha demostrado que es el primer ligando activador para el TNF-RII²¹.

Esta citocina es reconocida por dos receptores comunes: el de 55kD (p55, TNF-RI, CD120 α), y el de 75kD (p75, TNF-RII, CD120b) ambos receptores son regulados por IFN- γ y ampliamente expresados en una gran variedad de estirpes celulares, pero predominantemente encontrados en leucocitos y células endoteliales. Ambos, TNF-RI y TNF-RII pertenecen a una familia de receptores con motivos extracelulares repetitivos ricos en cisteína, la porción intracelular de TNF-RI contiene un "dominio de muerte" (*death domain*) de aproximadamente 70 aminoácidos que es requerido para la señalización de apoptosis y la activación de NF- κ B. La señalización a través de TNF-RII envuelve el reclutamiento del TRAF1 y 2 (TNFR-associated factor 1 y 2) entre otras vías de transducción de señales involucradas en apoptosis mediadas por la activación de NF- κ B, en terapéutica, los receptores solubles del TNF han encontrado aplicación en en-

fermedades reumáticas, así como el uso de la talidomida para inhibir la producción de la citocina al nivel de macrófagos. La constante de disociación entre el TNF y sus receptores es extremadamente baja (0.1 a 10nM), lo que explica en parte la alta eficiencia de esta citocina^{22, 23}.

LOS POLIMORFISMOS DEL TNF Y SUS IMPLICACIONES BIOLÓGICAS

Se han descrito variaciones en el gen del TNF, en su mayoría consisten en polimorfismos puntuales en su región promotora, en las posiciones: -238, -308 y -376 en donde el cambio es una adenina por guanina, en tanto que para la posición -863 el cambio es citosina por adenina y otras que han resultado menos importantes o, aún no se les ha encontrado un significado biológico relevante. Estos polimorfismos se han involucrado en diferentes padecimientos caracterizados por una exagerada modulación inmune. Quizá el hallazgo más importante lo constituye el alelo TNF2 (TNF 308-A), en donde utilizando genes reporteros, mostraron que éste es un activador transcripcional más poderoso que TNF1 (TNF 308-G), la variante silvestre^{3,7,10,12,24}.

Se ha reportado que haplotipos MHC, DR3 y DR4 con distintos alelos de TNF producen niveles elevados de la citocina, mientras que DR2 está asociado con baja producción, por ejemplo el alelo TNF2 se considera parte de un haplotipo extendido que incluye HLA-A1-B8-DR3-DQ2, sugiriendo que existen polimorfismos funcionales en regiones reguladoras del gen; sin embargo, a la fecha, aún se desconoce la frecuencia de estos alelos en población abierta, tanto en Estados Unidos como en México^{3,25}.

TNF ¿MARCADOR GENÉTICO? O ¿FONDO PATOLÓGICO?

En los últimos 10 años se han evidenciado asociaciones entre el TNF y un sinnúmero de patologías de fondo infeccioso tales como la malaria cerebral, choque séptico, leishmaniasis y lepra, por otro lado, también se ha asocia-

do a patologías de origen autoinmune como la artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus eritematoso. Así como en algunas enfermedades respiratorias como asma, neumonitis por hipersensibilidad (NH), fibrosis pulmonar idiopática (FPI) y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, entre otras^{3,26-31}.

EL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL EN LA NEUMOPATÍA INTERSTICIAL

En los pacientes con FPI la expresión del TNF se encuentra incrementada por parte de los macrófagos alveolares e intersticiales, así como por células epiteliales (neumocitos) de tipo II. Aunque no se conocen factores para la susceptibilidad individual a padecer la patología, un elevado porcentaje de los casos se refieren a la forma familiar de la enfermedad. Además de la actividad inflamatoria exagerada en los pulmones de familiares sin la patología expuestos a conocidos agentes fibrosantes, sugieren la existencia de un fuerte componente genético^{7,32}. (Figura 2).

La mediación de procesos inflamatorios y fibróticos por parte de citocinas como TNF y la IL-1 estimulan la producción de otras citocinas proinflamatorias y profibrosantes, hecho al cual debemos agregar la dificultad terapéutica para interferir en los procesos activados por TNF una vez que estos se han puesto en marcha. Este balance se ve afectado en las enfermedades pulmonares destructivas. Du bois en 2000 demostró un aumento en la frecuencia del intrón 4G de la IL-6 y del alelo 1690C del TNF-RII, a pesar de la localización de los dos genes en cromosomas diferentes^{24,32,33}. La IL-6 promueve la fibrogénesis independiente o de manera conjunta con TNF, y existe una compleja interacción y regulación cruzada entre ambos genes.

La acumulación de células inflamatorias y la proliferación de células intersticiales asociadas con fibrosis están causadas por una sobreproducción de factores de crecimiento y citocinas como el PDGF, TGF- β y TNF, que han sido incriminados en la patogénesis de la FPI^{33,34}.

Camarena y colaborador en el 2000, demostraron una asociación significativa del alelo TNF2 y la fibrosis en pacientes con NH, conjuntamente definieron la presencia de haplotipos HLA de clase II implicados en la susceptibilidad al desarrollo de la patología³⁵. De manera independiente y simultánea Di Giovine también en el 2000 determinó que el alelo TNF2 confiere un riesgo relativo incrementado a desarrollar FPI³⁴. Brenner en 1989 demostró que el TNF estimula la activación prolongada de la expresión del oncogen JUN que codifica para uno de los dos componentes del factor de transcripción AP-1, estimulando la transcripción del gen de la collagenasa. A su vez, la activación de JUN y la expresión del gen de la collagenasa pueden ser un mecanismo para la mediación de algunos de los efectos biológicos del TNF³⁶.

Whyte analizando el polimorfismo del TNF-308 en población británica blanca con FPI no encontró ninguna asociación entre la citocina y la patología, en tanto que en la población italiana se reportó una asociación fuerte con el alelo TNF2. Es importante tomar en cuenta que las características genéticas propias de cada población son determinantes en la selección de cualquier polimorfismo, en donde se pretende asociar un gen específico a una patología, así como los posibles desequilibrios con otros genes. Una de las primeras tareas en este campo consistiría en determinar la abundancia relativa de cada uno de los alelos polimórficos del TNF (frecuencias alélicas) y definir con esto, si la frecuencia con la que aparecen las enfermeda-

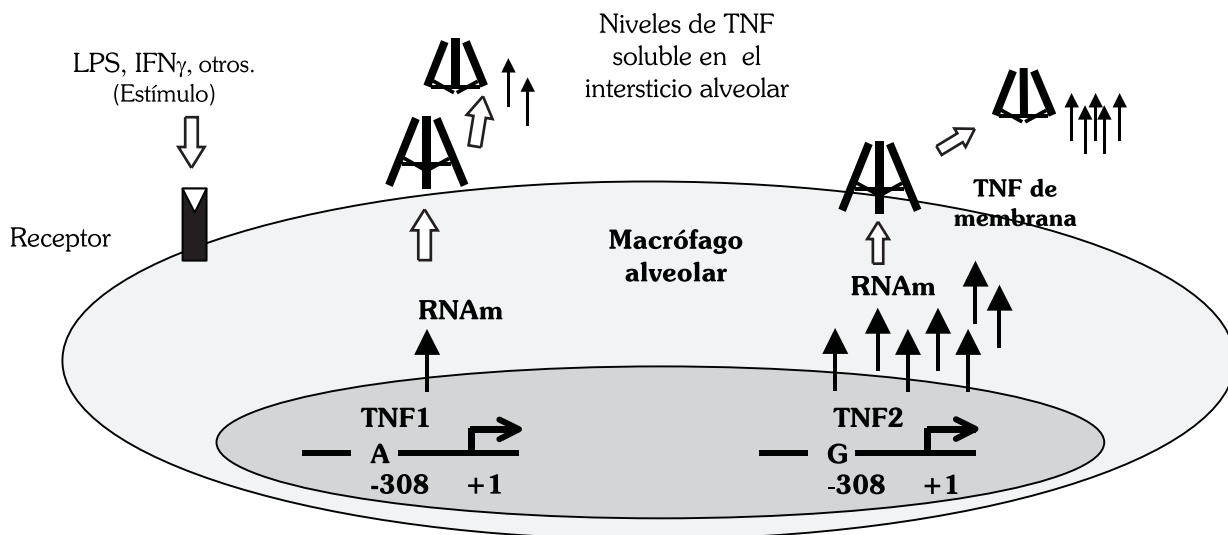


Figura 2. Significado biológico de los polimorfismos del TNF. Esquema que representa como la variante alélica en la posición -308G (TNF2) tiene mayor poder transcripcional que la variante silvestre -308A (TNF1).

des concuerda con la frecuencia de estos alelos. Discordancia en la frecuencia alélica y la frecuencia de la aparición de la enfermedad apuntaría a posible interferencia con otros genes^{33,35,36}.

CONCLUSIONES

La identificación y el entendimiento del papel que juegan los factores genéticos en la neumopatía intersticial aún se encuentran en desarrollo, por lo que es importante el adecuado estudio de éstos ya que conducirá a oportunidades terapéuticas significativas en el manejo del paciente neumópata y esencialmente a la identificación de aquellos sectores de la población con un riesgo genético elevado al desarrollo de la patología pulmonar. Los hallazgos de posibles marcadores genéticos en la fisiopatología de la neumopatía intersticial resultan particularmente importantes, para la identificación de reguladores moleculares crípticos del proceso proinflamatorio y profibrosante, así como la caracterización de blancos terapéuticos potenciales al nivel molecular. El significado biológico de las asociaciones en donde se involucran alelos de diferentes genes, y más aún de diferentes cromosomas, podría indicar posibles desequilibrios de enlace entre los genes que actúan como marcadores de la enfermedad y, quizá de verdaderos genes causantes de la patología. Los polimorfismos en el promotor del TNF pueden servir como marcadores de genes adyacentes sean MHC o no, que pueden influenciar en la predisposición a la enfermedad y/o su severidad.

Diferentes genotipos de citocinas pueden existir en la población como resultado de una presión selectiva contra enfermedades infecciosas, pudiendo ser benéficos en la erradicación de este tipo de padecimientos. Sin embargo, la creación de fenotipos "proinflamatorios" puede predisponer hacia enfermedades inflamatorias crónicas, o bien, conducir a una forma más severa de las mismas, independientemente si el evento inicial se trata de un agente infeccioso o autoinmune.

REFERENCIAS

1. Inoko H, Trowsdale J. *Linkage of TNF genes to the HLA-B locus*. Nucleic Acids Res 1987;15:8957-8962.
2. Tracey KJ, Cerami A. *Tumor necrosis factor: Pleiotrophic cytokine and therapeutic target*. Annu Rev Med 1994; 45:491-503.
3. Sacca R, Cuff CA, Lesslauer W, Ruddle NH. *Differential activities of secreted lymphotoxin- α 3 and membrane lymphotoxin- α 1b2 in lymphotoxin-induced inflammation; critical role of TNF receptor 1 signaling*. J Immunol 1998;160: 485-491.
4. Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, Smith D, Jarrett-Nedwin J, Pennica D, et al. *Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization*. Nucleic Acids Res 1985;13:6361-6373.
5. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevit HO. *Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor α promoter on transcriptional activation*. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94:3195-3199.
6. Vassalli P. *The pathophysiology of tumor necrosis factors*. Annu Rev Immunol 1992;10:411-452.
7. Bischoff SC, Lorentz A, Schwengberg S, Weier G, Raab R, Manns MP. *Mast cells are an important cellular source of tumor necrosis factor alpha in human intestinal tissue*. Gut 1999;44:643-652.
8. Jung HC, Eckmann L, Yang SK, Panja A, Fierer J, Morzycka-Wroblewska E, et al. *A distinct array of proinflammatory cytokines is expressed in human colon epithelial cells in response to bacterial invasion*. J Clin Invest 1995;95:55-65.
9. Carballo E, Lai WS, blackshear PJ. *Feedback inhibition of macrophage tumor necrosis factor- γ production by tristetraprolin*. Science 1998;281:1001-1005.
10. Van der Poll T, Jansen PM, Montegut WJ, Blaxton CC, Calvano SE, Moldawer LL. *Effects of IL-10 on systemic inflammatory responses during sublethal primate endotoxemia*. J Immunol 1997;158:1971-1975.
11. Liu Z, Hsu H, Goeddel DV, Karin M. *Dissection of TNF receptor 1 effector functions: NK activations is not linked to apoptosis while NF- κ B activations prevents cell death*. Cell 1996;87:565-576.
12. Norman RA, Bogardus C, Ravussin E. *Linkage between obesity and a marker near the tumor necrosis factor-alpha locus in Pima Indians*. J Clin Invest 1995; 96:158-162.
13. Goeddel DV. *Signal transduction by tumor necrosis factor: The parker B. Francis lectureship*. Chest 1999;116:695-735.
14. Erickson SL, De Sauvage FJ, Kikly K, Caver-Moore K, Pitts-Meek S, Gillett N, et al. *Decreased sensitivity to tumour necrosis factor but normal t-cell development in TNF receptor-2-deficient mice*. Nature 1994;372:560-563.
15. Ragoussis J, Bloemer K, Weiss EH, Ziegler A. *Localization of the genes for tumor necrosis factor and lymphotoxin between the HLA class I and III regions by field inversion gel electrophoresis*. Immunogenetics 1987;27:66-69.
16. Ruuls SR, Sedgwick JD. *Unlinking tumor necrosis factor biology from the major histocompatibility complex: Lessons from human genetics and animal models*. Am J Hum Genet 1999;65:294-301.
17. Pope RM, Leutz A, Ness SA. *C/EBP β regulation of tumor necrosis factor α gene*. J Clin Invest 1994;94:1449-1455.
18. Panagiotis P, Gregori C, Fanning, Athol U, Wells, Kenneth I, et al. *Analysis of tumor necrosis factor α , tumor necrosis factor receptor II, and interleukin-6 polymorphisms in patients with idiopathic pulmonary fibrosis*. Am J Respir Crit Care Med 2000;163:1432-1436.
19. Rosendahl MS, Ko SC, Long LD, Brewer TM, Rosenzweig B, Hedl E, et al. *Identification and characterization of a pro-tumor necrosis factor-alpha-processing enzyme from the ADAM family of zinc metalloproteases*. J Biol Chem 1997;272:24588-24593.
20. Solomon K, Pesti N, Wu G, Newton RC. *Cutting edge: a dominant negative form of TNF- α converting enzyme inhibits proTNF and TNFR11 secretion*. J Immunol 1999;163:4105-4105.
21. Van Deventer SJH. *Tumor necrosis factor and Crohn's disease*. Gut 1997;40: 443-448.
22. Grell M, Douni E, Wajon H, Löhden M, Clauss M, Maxeiner B, et al. *The transmembrane form of tumor necrosis factor is the prime activating ligand of the 80 kDa tumor necrosis factor receptor*. Cell 1996;83:793-802.

23. Aggarwal BB, Eessalu TE, Hass PE. *Characterization of receptors for human tumour necrosis factor and their regulation by gamma-interferon*. Nature 1985; 318:665-667.
24. McDermott MF, Aksentijevich I, Galon J, McDermott EM, Ogunkolade BW, Centola M, et al. *Germline mutations in the extracellular domains of the 55 kDa TNF receptor, TNFR1, define a family of dominantly inherited autoinflammatory syndromes*. Cell 1999;97:33-144.
25. Knight JC, Udalova I, Hill AVS, Greenwood BM, Peshu N, Marsh K, et al. *A polymorphism that affects OCT-1 binding to the TNF promoter region is associated with severe malaria*. Nature Genet 1999;22:145-150.
26. D'Alfonso S, Richiardi PM. *A polymorphic variation in a putative regulation box of the TNFA promoter region*. Immunogenetics 1994;39:150-154.
27. Galbraith GMP, Pandey JP. *Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene polymorphism in alopecia areata*. Hum Genet 1995;96:433-436.
28. Wilson AG, Di Giovine FS, Blakemore AIF, Duff GW. *Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) gene detectable by NcoI restriction of PCR product*. Hum Molec Genet 1992;1:353.
29. McGuire W, Hill AVS, Allsopp CEM, Greenwood BM, Kwiatkowski D. *Variation in the TNF-alpha promoter region associated with susceptibility to cerebral malaria*. Nature 1994;371:508-511.
30. Mira JP, Cariou A, Grall F, Delclaux C, Losser MR, Heshmati F, et al. *Association of TNF2, a TNF-alpha promoter polymorphism, with septic shock susceptibility and mortality: a multicenter study*. JAMA 1999;282:561-568.
31. Van Hensbroek MB, Palmer A, Onyiorah E, Scheneider G, Jaffar S, Dolan G, et al. *The effect of monoclonal antibody to tumor necrosis factor on survival from childhood cerebral malaria*. J Infect Dis 1996;174:1091-1097.
32. Nash JRG, McLaughlin PJ, Butcher D, Corrin B. *Expression of tumor necrosis factor α in cryptogenic fibrosing alveolitis*. Histopathology 1993;22:343-347.
33. Marshall BG, Wangoo A, Harrison LI, Young DB, Shaw RJ. *Tumor necrosis factor- α production in human alveolar macrophages: Modulation by inhaled corticosteroid*. Eur Respir J 2000;15:764-770.
34. Moira W, Hubbard R, Meliconi R, Whidborne M, Eaton V, Bingle C, et al. *Increased risk of fibrosing alveolitis associated with interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor α gene polymorphisms*. Am J Respir Crit Care Med 2000;162:755-758.
35. Miyasaki Y, Araki K, Vesin C, Garcia I, Kapanci Y, Whitsett JA, et al. *Expression of a tumor necrosis-a transgene in murine lung causes lymphocytic and fibrosing alveolitis*. J Clin Invest 1995;96:250-259.
36. Camarena OA, Juárez CA, Mejía M, Estrada A, Carrillo G, Falfán R, et al. *Major histocompatibility complex and tumor necrosis factor- α polymorphisms in pigeon breeder disease*. Am J Respir Crit Care Med 2001;163:1528-1533.
37. Brenner DA, O'Hara M, Angel P, Chojkier M, Karin M. *Prolonged activation of JUN and collagenase genes by tumour necrosis factor-alpha*. Nature 1989;337: 661-663.