

Interleukine 6 et myélome multiple chez l'homme

L'interleukine 6 (IL-6) joue un rôle central dans la prolifération, *in vivo* et *ex vivo*, des cellules myélomateuses. *In vivo*, il existe une hyperproduction d'IL-6 par le microenvironnement tumoral, en relation avec l'agressivité de la maladie. Des anticorps anti-IL-6, administrés à des malades ayant des formes très évoluées de myélome, bloquent la prolifération tumorale, diminuent la résorption osseuse et normalisent la concentration de *C-reactive protein* (CRP). *Ex vivo*, il est possible d'obtenir, à partir de malades en phase évolutive de leur affection, des lignées myélomateuses dont la prolifération est rigoureusement dépendante d'IL-6. La production d'IL-6, ou la sensibilité des cellules myélomateuses à cette molécule, est sous le contrôle d'autres cytokines qui peuvent jouer un rôle activateur ou inhibiteur. De tels effets, potentiellement néfastes, doivent être pris soigneusement en compte dans l'utilisation thérapeutique de ces molécules.

Bernard Klein
Régis Bataille

ADRESSES

B. Klein : *directeur de recherche*. Inserm U. 291, 99, rue Puech Villa, 34090 Montpellier, France.

R. Bataille : *praticien hospitalier*. Consultation d'immunorhumatologie, centre Gui-de-Chauliac, 34000 Montpellier, France.

Le nombre des cytokines contrôlant la prolifération, la différenciation et l'activité fonctionnelle des cellules normales s'accroît rapidement chaque année. Une notion générale est qu'une même cytokine exerce plusieurs activités fonctionnelles et, réciproquement, qu'une même fonction est remplie par plusieurs cytokines, avec des phénomènes de synergie entre elles. Cette notion est particulièrement bien illustrée pour l'interleukine 6 (IL-6), dont le gène a été cloné indépendamment suivant cinq activités biologiques différentes [1-3].

Bien que le réseau des cytokines et de leurs activités fonctionnelles se complique chaque année dans les expériences *ex vivo*, les travaux de

notre équipe et d'autres équipes ont permis de montrer que le myélome multiple humain est associé principalement à l'une d'entre elles, l'IL-6 : (1) l'IL-6 est anormalement produite en grande quantité *in vivo* par les cellules de l'environnement tumoral, et cette surproduction d'IL-6 constitue un des meilleurs facteurs de mauvais pronostic dans cette maladie ; (2) l'IL-6 est un facteur central de prolifération des cellules myélomateuses et des anticorps anti-IL-6 peuvent bloquer la prolifération de ces cellules *in vivo* ; (3) les diverses activités biologiques de l'IL-6 permettent d'expliquer plusieurs manifestations pathologiques majeures associées au myélome multiple ; (4) diverses cytokines contrôlent également la prolifération plasmocytaire tumorale, soit en

RÉFÉRENCES

- Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of interleukin-6. *Immunology Today* 1990 ; 11 : 443-49.
- Van Snick J. Interleukin-6 : an overview. *Ann Rev Immunol* 1990 ; 8 : 253-78.
- Sehgal PB. Interleukin-6 in infection and cancer. *Proc Soc Exp Biol and Med* 1990 ; 183 : 91-7.
- Bergsagel DE, Phil D. Plasma cell myeloma : biology and treatment. *Annu Rev Med* 1991 ; 42 : 167-78.
- Kyle RA, Lust JA. Monoclonal gammopathies of undetermined significance. *Seminars in Hematology* 1989 ; 26 : 176-200.
- Bataille R, Chappard D, Marcelli C, *et al.* The recruitment of new osteoblasts and osteoclasts is the earliest critical event in the pathogenesis of human multiple myeloma. *J Clin Invest* (in press).
- Levy Y, Ferman J, Brouet JC. Differential effects of low and high concentrations of interleukin 6 on human B cells. *Eur J Immunol* 1990 ; 20 : 2389-93.
- Jelinek DF, Lipsky PE. The role of B-cell proliferation in the generation of immunoglobulin-secreting cells in man. *J Immunol* 1983 ; 130 : 2597-3003.
- Suetmatsu S, Matsuda T, Aozasa K. IgG1 plasmacytosis in interleukin 6 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 7547-51.
- Jourdan M, Bataille R, Seguin J, Zhang XG, Chaptal PA, Klein B. Constitutive production of interleukin 6 and immunologic features in cardiac myxomas. *Arth Rheum* 1990 ; 33 : 398-402.
- Heinrich PC, Castell JV, Andus T. Interleukin 6 and the acute phase response. *Biochem J* 1990 ; 265 : 621-36.
- Black KS, Mundy GR, Garrett IR. Interleukin 6 causes hypercalcemia *in vivo* and enhances the bone resorbing potency of interleukin-1 and tumor necrosis factor by two orders of magnitude *in vitro*. *J Bone Min Res* 1990 ; 5 (suppl 2) : 787.

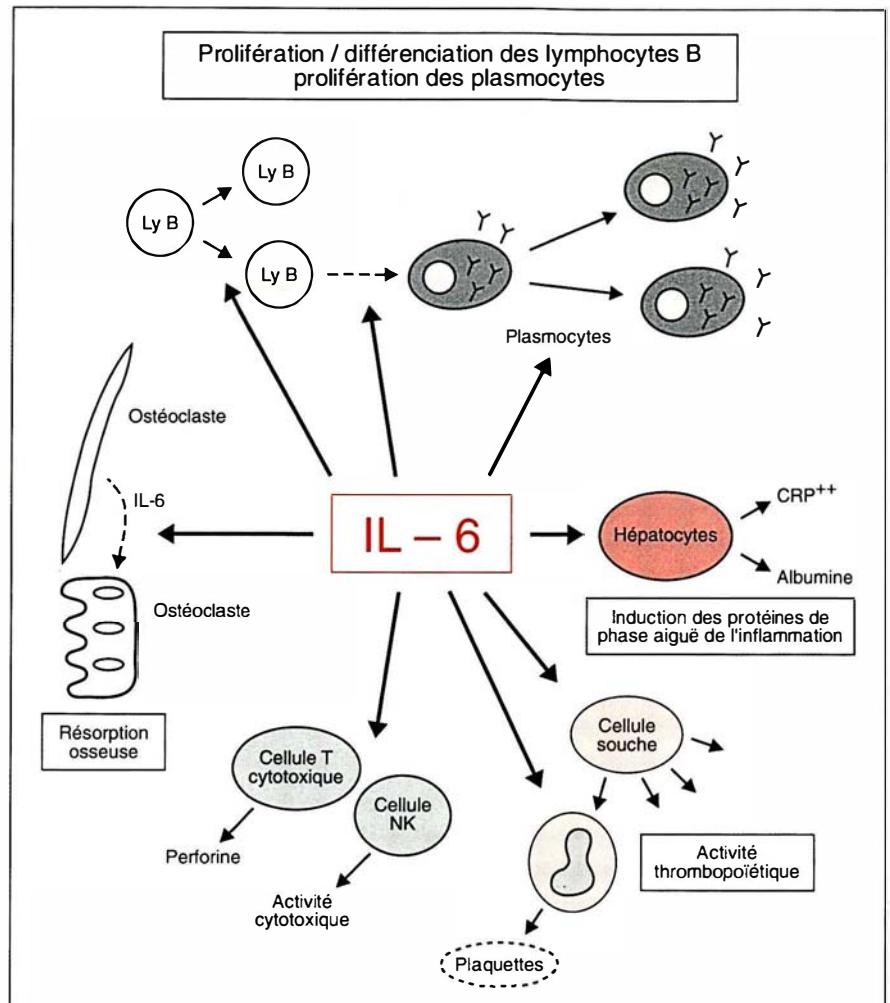


Figure 1. **Activités biologiques de l'IL-6 impliquées dans le myélome multiple.** LyB : lymphocyte B ; Y : anticorps ; CRP : C-reactive protein.

augmentant leur réponse à l'IL-6 (GM-CSF, G-CSF, IL-3, IL-5), soit en induisant une production d'IL-6 autocrine dans ces cellules (IFN α , IL-1 β , TNF α)*.

Principales caractéristiques du myélome multiple

Le myélome multiple est une affection mortelle dans tous les cas avec

une espérance de survie moyenne de trois ans. C'est une des néoplasies dont l'incidence augmente le plus rapidement, avec une incidence de 2,5 % des cancers [4]. Une étude récente montre que, sur un recul de 25 ans, 25 % des sujets ayant une gammopathie monoclonale bénigne développent un myélome multiple [5].

Le myélome multiple se caractérise par l'émergence d'un clone de cellules plasmocytaires malignes (cellules terminales de la différenciation lymphocytaire B produisant des immunoglobulines) au voisinage de l'environnement osseux qu'il détruit, un hyper-remodelage osseux consti-

* Les abréviations utilisées dans cet article sont : GM-CSF : granulocyte monocyte-colony stimulating factor ; G-CSF : granulocyte-CSF ; IFN : interféron ; TNF : tumor necrosis factor.

tuant le marqueur le plus précoce de malignité d'un clone plasmocytaire [6]. La nature de la cellule souche tumorale n'est pas clairement élucidée, mais un certain nombre d'arguments récents sont en faveur d'une cellule préplasmocytaire capable d'autorenouvellement. Parallèlement à l'émergence du clone tumoral, on observe une réduction de la lymphopoïèse B polyclonale et une anémie. Enfin, très souvent dans cette maladie, on trouve une augmentation de certaines protéines de la phase aiguë de l'inflammation produites par les hépatocytes et une hypoalbuminémie.

Activités biologiques de l'IL-6 et leurs répercussions dans le myélome multiple

Le nombre d'excellentes revues sur les activités biologiques de l'IL-6 s'accroît chaque année [1-3] et nous ne rappellerons ici que celles qui semblent importantes dans la biologie du myélome multiple et qui sont résumées dans la *figure 1*. L'IL-6 a été décrite dès 1985 comme facteur de différenciation des lymphocytes B en cellules plasmocytaires sécrétant des anticorps et, plus récemment, comme facteur de prolifération des lymphocytes B humains activés *in vivo* [7]. Si l'IL-6 n'a pas été décrite comme facteur de prolifération des cellules plasmocytaires normales, cette hypothèse est tout à fait vraisemblable. En effet, les systèmes expérimentaux utilisés pour évaluer l'activité de différenciation des lymphocytes B de l'IL-6, mesurent une production d'immunoglobulines qui est le reflet du nombre de plasmocytes engendrés dans ces systèmes de culture, nombre qui est lui-même la résultante d'une différenciation des lymphocytes B et d'une prolifération des plasmocytes jeunes [8]. Cette hypothèse est confortée par l'existence d'une plasmocytose massive observée dans les souris transgéniques surexprimant un gène IL-6 [9] et par l'existence d'une plasmocytose polyclonale proliférante observée dans des syndromes avec surproduction d'IL-6 [10].

Une autre propriété de l'IL-6 est sa

capacité à stimuler les hépatocytes à produire certaines protéines de phase aiguë de l'inflammation, telle la protéine C-réactive (CRP), tout en inhibant la sécrétion d'autres protéines telle l'albumine (*figure 1*, [11]). En fait, l'IL-6 active un facteur nucléaire NF-IL-6 (*nuclear factor-IL-6*) induisant la transcription de certains gènes de protéines de phase aiguë tel celui de la CRP. L'IL-6 peut également inhiber l'expression du gène d'un facteur nucléaire homologue à NF-IL-6 (CAAT/enhancer binding protein, C/EBP) (*m/s n° 5, vol. 6, p. 489 et n° 3, vol. 7, p. 288*) et ainsi inhiber l'expression de gènes normalement contrôlés par ce facteur, comme celui de l'albumine [1].

Une troisième propriété, importante quant à la biologie du myélome, est l'implication de l'IL-6 dans la résorption osseuse, un des problèmes cliniques majeurs dans cette maladie. Comme cela est illustré dans la *figure 1*, des études très récentes ont démontré que l'IL-6, produite par le tissu osseux, est le facteur central de la résorption osseuse induite par des cytokines telles que l'IL-1 ou le TNF [12].

Une quatrième propriété est la capacité de cette lymphokine d'activer les cellules T cytotoxiques et les cellules NK (*natural killer*), en particulier en induisant la production de perforine (*m/s n° 1, vol. 5, p. 55*) par les cellules T cytotoxiques. L'impact de cette propriété biologique dans le myélome n'est pas démontré mais mérite d'être étudié [1-3].

Enfin, il faut mentionner les activités essentielles de l'IL-6 comme facteur de compétence des cellules souches hématopoïétiques, capables de les activer de la phase G₀ à la phase S du cycle cellulaire, et également comme facteur thrombopoïétique impliqué dans la génération des plaquettes [1-3].

Deux chaînes du complexe récepteur IL-6 ont été identifiées et les gènes clonés [1, 13, 14]. La première chaîne, de poids 80 kDa, est capable de fixer l'IL-6 avec une faible affinité (10^{-9} M), sans activer la cellule. La deuxième chaîne, gp130 (de 130 kDa), n'est pas capable de fixer l'IL-6. L'IL-6 se fixe d'abord à la première chaîne, puis il y a fixation du complexe IL-6-gp80 à la

deuxième chaîne (gp130), formation d'un récepteur de forte affinité et activation de la cellule [15]. Certains auteurs mentionnent également une troisième chaîne de 100 kDa et il est possible que le récepteur IL-6 soit un complexe trimoléculaire, comme le récepteur IL-2. La forme soluble recombinante de la première chaîne du récepteur IL-6 est également capable de fixer l'IL-6, et le complexe ainsi formé de se fixer à la gp130 et d'activer la cellule [15]. Un point remarquable est que première et deuxième chaînes du récepteur IL-6 appartiennent à une nouvelle famille des récepteurs de cytokines incluant la plupart des récepteurs des cytokines hématopoïétiques avec une possibilité d'interactions croisées entre certaines de ces chaînes [16, 17]. Dans la suite de cet exposé, nous montrerons que ces activités biologiques sur les cellules normales permettent d'expliquer plusieurs problèmes pathologiques caractéristiques du myélome multiple.

L'interleukine 6, un facteur essentiel de prolifération des cellules myélomateuses

Le myélome multiple est une tumeur médullaire mixte caractérisée par une accumulation (prolifération) de cellules plasmocytaires monoclonales au contact de cellules de l'environnement médullaire et osseux : fibroblastes, ostéoblastes, monocytes, cellules myéloïdes... (*figure 2, p. 940*). Lorsque ces cellules médullaires (cellules tumorales et leur environnement) sont isolées et mises en culture pendant cinq jours, on observe une prolifération spontanée des cellules myélomateuses chez environ 50 % des malades. On observe également une production de plusieurs cytokines — IL-1, TNF, GM-CSF, G-CSF — et, en particulier, une production importante d'IL-6 endogène ([16-22], *figure 2*). Toutes ces cytokines contribuent à la prolifération spontanée des cellules myélomateuses ([18-22], *figure 2*), mais le rôle central de l'IL-6 est mis en évidence par l'inhibition presque complète de cette prolifération spontanée des cellules myélomateuses par l'addition d'anticorps anti-

RÉFÉRENCES

13. Yamasaki K, Taga T, Hirata Y, *et al.* Cloning and expression of the human interleukin 6 receptor. *Science* 1988 ; 241 : 825-8.
14. Hibi M, Murakami M, Saito M, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp 130. *Cell* 1990 ; 63 : 1149-57.
15. Taga T, Hibi M, Hirata Y, *et al.* Interleukin 6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp 130. *Cell* 1989 ; 58 : 573-81.
16. Kelly PA, Djiane J, Boutin JM, Eder YM. La structure des récepteurs de le prolactine et de l'hormone de croissance est maintenant connue. *médecine/sciences* 1990 ; 6 : 778-84.
17. Wendling F, Tambourin P. La superfamille des récepteurs de cytokines et l'oncogène *v-mpl*. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 569-77.
18. Klein B, Zhang XG, Jourdan M, *et al.* Paracrine rather than autocrine regulation of myeloma-cell growth and differentiation by interleukin 6. *Blood* 1989 ; 73 : 517-26.
19. Kawano M, Hirano T, Matsuda T, *et al.* Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myeloma. *Nature* 1988 ; 332 : 83-5.
20. Carter A, Merchav S, Draxler-Silvian I, Tatarsky I. The role of interleukin-1 and tumour necrosis factor-alpha in human multiple myeloma. *Brit J Haemat* 1990 ; 74 : 424-31.
21. Anderson KC, Jones RM, Morimoto C, Leavitt P, Barut BA. Response patterns of purified myeloma cells to hematopoietic growth factors. *Blood* 1989 ; 73 : 1915-24.
22. Zhang XG, Bataille R, Jourdan M, *et al.* GM-CSF synergizes with interleukin 6 in supporting the proliferation of human myeloma cells. *Blood* 1990 ; 76 : 2599-2605.
23. Zhang XG, Bataille R, Wijdenes J, Klein B. Complete interleukin 6 dependence of advanced malignant plasma cell dyscrasias. *Cancer* 1991 (sous presse).

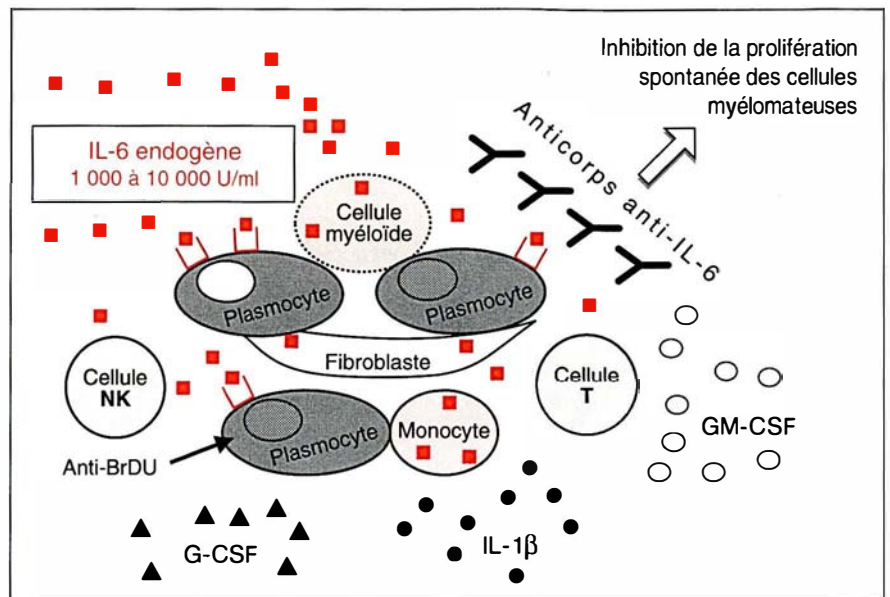


Figure 2. **L'interleukine 6 est un facteur central de prolifération des cellules plasmocytaires tumorales ex vivo.** De nombreuses cytokines sont produites dans des cultures à court terme de moelle osseuse de malades atteints de myélome multiple (IL-6, GM-CSF, IL-1 β , TNF, etc.). Parmi ces cytokines, l'IL-6 est une cytokine essentielle pour la prolifération tumorale, comme en témoigne l'inhibition de cette prolifération par des anticorps anti-IL-6.

IL-6, et cela pour tous les malades que nous avons étudiés à présent ([18, 23] et résultats non publiés). Cette démonstration, quoique simple, nécessite l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-IL-6 puissants et une méthodologie permettant d'évaluer spécifiquement la prolifération plasmocytaire, en l'occurrence une technique de double marquage : anticorps anti-chaînes légères d'immunoglobuline et anti-phase S (anti-bromodéoxyuridine). Cette démonstration est confortée par la possibilité d'obtenir de façon reproductible des lignées de myélome dont la prolifération est complètement dépendante de l'addition d'IL-6 exogène [24]. Nous n'avons pu obtenir ces lignées d'une part qu'à partir des cellules myélomateuses de malades en phase terminale, d'autre part qu'après stimulation des cellules tumorales fraîches par de l'IL-6 et du GM-CSF, une stimulation par IL-6 seule n'induisant qu'une prolifération transitoire. Ces résultats montrent que si l'IL-6 est un facteur nécessaire pour la prolifération des cellules plasmocytaires tumorales, ce n'est cependant pas un facteur suffisant et que d'autres stimuli (cytokines ou activation d'antigènes d'adhérence) doivent être

impliqués *in vivo* dans la croissance à long terme des cellules tumorales en réponse à l'IL-6. Pourquoi ne trouve-t-on une prolifération spontanée des cellules tumorales *ex vivo* que chez environ 50 % des malades ? En fait, les cellules myélomateuses ne prolifèrent de façon significative *ex vivo* (pourcentage de cellules en phase S = *labeling index* = LI > 1 %) que si elles sont isolées à partir de malades ayant une prolifération des cellules tumorales significative *in vivo* (LI > 1 %, [25]). Au sein du compartiment plasmocytaire normal doivent exister différents stades de différenciation allant d'une cellule plasmoblastique hautement proliférative en réponse à l'IL-6 et probablement d'autres cytokines (Dr MacLennan, communication orale) à une cellule plasmocytaire mûre non proliférative. Chez les sujets avec gammopathie monoclonale bénigne ou myélome stabilisé, le compartiment tumoral est essentiellement composé de cellules plasmocytaires mûres et le compartiment de cellules plasmoblastiques proliférantes est trop minoritaire pour être détecté. Chez les sujets avec myélome actif, ce dernier compartiment est amplifié, permettant la détection des cellules plas-

mocytaires proliférant activement. Chez certains malades en phase terminale, le compartiment tumoral est presque exclusivement composé de cellules plasmoblastiques, et c'est à partir de ces malades que l'on peut obtenir des lignées de myélome dépendantes de l'IL-6 qui, en fait, sont obtenues en raison de l'immortalisation de ce compartiment plasmoblastique. Il serait important de comprendre les facteurs responsables de l'amplification de ce compartiment plasmoblastique : surproduction d'IL-6 *in vivo*, et/ou hypersensibilité des cellules plasmoblastiques tumorales à l'IL-6, et/ou blocage partiel de la différenciation de ces cellules plasmoblastiques ?

Production d'IL-6 par les cellules de l'environnement tumoral *in vivo*

Chez les malades atteints de myélome, il y a une production importante d'IL-6 par les cellules de l'environnement tumoral, notamment les cellules myéloïdes, monocytaires et ostéoblastiques [26]. Les cellules tumorales ne produisent pas constitutivement de l'IL-6 *in vivo*, mais cette production peut être induite par différentes cytokines (IFN α , TNF) ou des esters de phorbol *ex vivo*. Cette production importante d'IL-6 par l'environnement tumoral *in vivo* se traduit par une augmentation des taux sériques d'IL-6, les taux les plus élevés étant trouvés chez les malades en phase terminale [27]. Nous montrerons, dans le paragraphe suivant, que cette IL-6 sérique n'est, en fait, que le reflet d'une toute petite partie de l'IL-6 produite *in vivo*, celle qui n'est pas absorbée par les cellules ayant des récepteurs IL-6. Cette production importante d'IL-6 par l'environnement tumoral est vraisemblablement due à une activation de cet environnement par les cellules tumorales, sans toutefois pouvoir éliminer à ce jour l'hypothèse d'une dérégulation de la production d'IL-6 dans les cellules de l'environnement tumoral.

Effets de l'injection d'anticorps monoclonaux anti-IL-6

L'IL-6 étant un facteur central de

prolifération des cellules myélomateuses *ex vivo*, notamment chez les malades en phase terminale, et cette cytokine étant produite en grande quantité *in vivo* chez ces malades, nous avons procédé récemment à plusieurs essais thérapeutiques à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-IL-6 produits soit par les centres de transfusion de Besançon (John Wijdenes) ou d'Amsterdam (Lucien Aarden [28] et en préparation). Les malades traités étaient des malades en phase terminale, résistant à tout traitement et ayant une leucémie à plasmocytes ou un épanchement pleural. Avant traitement, nous avons vérifié que la prolifération des cellules tumorales *ex vivo* était entièrement inhibée par les anticorps anti-IL-6 à injecter. Cinq malades ont été traités jusqu'à présent et ces essais cliniques ont permis de montrer :

1. un blocage de la prolifération tumorale par l'injection d'anticorps anti-IL-6, avec également réduction de la masse tumorale (figure 3) ;
2. l'absence de toxicité des anticorps anti-IL-6, y compris chez un malade traité pendant deux mois. Le seul effet secondaire a été une thrombopénie partielle qui a disparu dès l'arrêt de l'injection de l'anticorps [28], en accord avec l'activité

thrombopoïétique importante de l'IL-6 rappelée ci-dessus ;

3. une inhibition complète de la production de protéine C réactive (CRP) *in vivo*, (figure 3). Tous ces malades en phase terminale avaient des taux sériques élevés de CRP avant traitement et l'injection d'anticorps anti-IL-6 a entraîné une inhibition de la production de CRP *in vivo*, qui est devenue indétectable chez un malade traité pendant deux mois. A l'arrêt du traitement, les taux sériques de CRP étaient de nouveau détectés ([28] et en préparation). Ces résultats montrent que, chez ces malades atteints de myélome en phase terminale, la production de CRP par les hépatocytes *in vivo* est entièrement sous le contrôle de l'IL-6, en accord avec les résultats récents *ex vivo* [11]. Des études cinétiques chez le rat montrent que 80 % de l'IL-6 radio-marquée injectée à un animal est absorbée par les hépatocytes en trois heures [11]. Ces résultats expérimentaux et ces études cliniques montrent aussi que les taux sériques de CRP sont un excellent indicateur de la production globale d'IL-6 *in vivo*. Une étude rétrospective, que nous venons de mener récemment sur des sérums de malades prélevés lors du diagnostic montre que le taux sérique

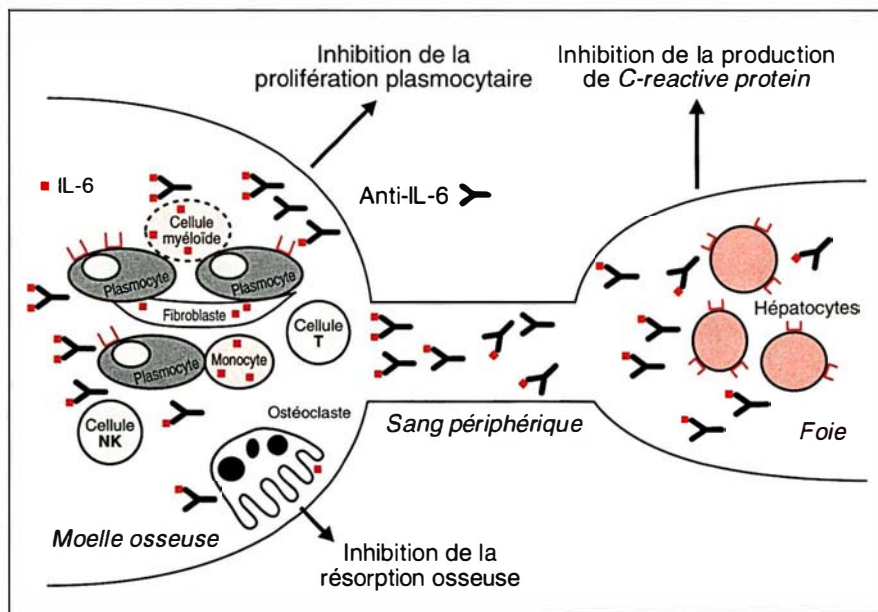


Figure 3. L'injection d'anticorps anti-IL-6 bloque la prolifération tumorale et la production de CRP chez des malades atteints de myélome multiple.

RÉFÉRENCES

24. Klein B, Zhang XG, Jourdan M, *et al.* An IL-6 dependent human myeloma cell line : crucial role of hematopoietic growth factors in its rapid generation. *Blood* 1989 ; 74 (suppl 1) : 749.
25. Zhang XG, Klein B, Bataille R. Interleukin 6 is a potent myeloma-cell growth factor in patients with aggressive myeloma. *Blood* 1989 ; 74 : 11-3.
26. Portier M, Razjbaum G, Zhang XG, *et al.* Activation of IL-6 gene expression in the tumoral environment *in vivo* in multiple myeloma. *Eur J Immunol* 1991 (in press).
27. Bataille R, Jourdan M, Zhang XG, Klein B. Serum levels of interleukin-6, a potent myeloma cell growth factor, as a reflect of disease severity in plasma cell dyscrasias. *J Clin Invest* 1989 ; 84 : 2008-11.
28. Klein B, Wijdenes J, Zhang XG, *et al.* Murine anti-interleukin-6 monoclonal antibody therapy in myeloma. *Blood* 1991 (in press).
29. Bergui L, Schena M, Gaidano G, *et al.* Interleukin-3 and interleukin-6 synergistically promote the proliferation and differentiation of malignant plasma cell precursors in multiple myeloma. *J Exp Med* 1989 ; 170 : 613-20.
30. Kimata H, Yoshida A, Isioka C, Mikawa H. Erythropoietin enhances immunoglobulin production and proliferation by human plasma cells in a serum-free medium. *Clin Immunol Immunopath* 1991 ; 59 : 495-501.
31. Tigaud JD, Bastion Y, Coiffier B. Les facteurs de croissance hématopoïétiques en onco-hématologie. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 444-52.
32. Mandelli F, Avvisati G, Amadori S, *et al.* Maintenance treatment with recombinant interferon alfa-2b in patients with multiple myeloma responding to conventional induction chemotherapy. *New Engl J Med* 1990 ; 322 : 1430-4.

de CRP est un des meilleurs facteurs pronostiques dans le myélome multiple, les malades avec des taux élevés de CRP (donc surproduction d'IL-6) ayant une survie quatre fois plus faible que ceux avec des taux normaux (en préparation) ;

4. un effet hypocalcémiant des traitements anti-IL-6. Pour deux malades avec hypercalcémie avant traitement, une réduction significative voire une normalisation de la calcémie ont été observées sous traitement anti-IL-6. Sans qu'il soit possible d'affirmer pour l'instant qu'il y ait eu un effet direct sur la résorption osseuse, ces résultats sont en accord avec ceux montrant le rôle principal de l'IL-6 dans la résorption osseuse *ex vivo* et chez l'animal [12] ;

5. une estimation minimale de la production globale d'IL-6 chez ces malades. Comme indiqué dans la *figure 3*, l'anticorps anti-IL-6 se comporte *in vivo* comme une éponge en absorbant l'IL-6 et en empêchant sa fixation sur les récepteurs IL-6. L'IL-6 s'accumule ainsi dans le plasma sous forme de complexes immuns, ce qui permet sa quantification après dissociation à pH acide et filtration sur gel. Pour ces cinq malades, les estimations minimales de la production journalière d'IL-6 dans l'organisme s'échelonnaient de 15 µg à 70 µg.

Stimulation par diverses cytokines de la réponse des cellules myélomateuses à l'IL-6

Ces deux dernières années, plusieurs auteurs, dont nous-mêmes, ont identifié des cytokines capables soit d'augmenter la réponse des cellules myélomateuses à l'IL-6 (GM-CSF, IL-3, IL-5, G-CSF, érythropoïétine), soit d'induire une production d'IL-6 dans les cellules de l'environnement tumoral ou dans les cellules myélomateuses (IFN α , IL-1 β , TNF α), soit d'inhiber la prolifération des cellules myélomateuses en réponse à l'IL-6 (IFN α , IFN γ). Ces données, résumées dans la *figure 4*, sont importantes, d'une part parce que certaines de ces cytokines sont, ou pourraient être, utilisées en clinique chez ces malades (IFN α , GM-CSF, IL-3, G-CSF, érythropoïétine), d'autre part

parce que certaines, comme le G-CSF, sont produites en grande quantité *in vivo*, au même titre que l'IL-6.

Nous n'avons pas encore de données définitives quant aux mécanismes d'action de l'augmentation de la réponse à l'IL-6 provoquée par les cytokines hématopoïétiques ([21, 29, 30] et en préparation). Il faut noter que des interactions entre les différentes sous-unités des récepteurs des cytokines, appartenant à une même famille, sont probablement possibles. Cela pourrait s'appliquer au G-CSF qui est produit *in vivo* dans les moelles de malades atteints de myélome. Le gène du G-CSF a une structure identique à celle du gène de l'IL-6, et est un puissant facteur de prolifération plasmocytaire par un mécanisme lié au signal IL-6 (en préparation). Il reste encore à élucider quelles cellules produisent du G-CSF *in vivo* (cellules tumorales ou cellules de l'environnement ?), quel est le rôle de cette cytokine dans l'émergence du clone tumoral et quels sont ses mécanismes d'action. Contrairement au G-CSF, nous n'avons pas trouvé d'ARN messagers d'IL-3 et de GM-CSF détectables dans les moelles osseuses de malades atteints de myélome. Ces résultats incitent à vérifier soigneusement l'inocuité de ces cytokines avant de généraliser leur utilisation thérapeutique pour accélérer la récupération hématopoïétique après chimiothérapie [31]. Un raisonnement similaire peut être fait pour l'IFN α , le TNF α ou l'IL-1 β qui induisent une production autocrine d'IL-6 dans des lignées de myélome dont la prolifération est entièrement dépendante d'IL-6 exogène. L'IFN α , en particulier, permet de maintenir en culture nos lignées de myélome en l'absence d'addition d'IL-6 exogène et d'obtenir très rapidement des lignées de myélome proliférant de façon autonome (en préparation). Il faut rappeler que cette cytokine est utilisée comme traitement de maintien dans cette maladie pour en prolonger la phase de stabilisation [32]. Nos résultats récents *ex vivo* incitent également à rechercher si cette cytokine ne constitue pas un facteur d'aggravation chez les malades en rechute précoce, non détectable biologiquement.

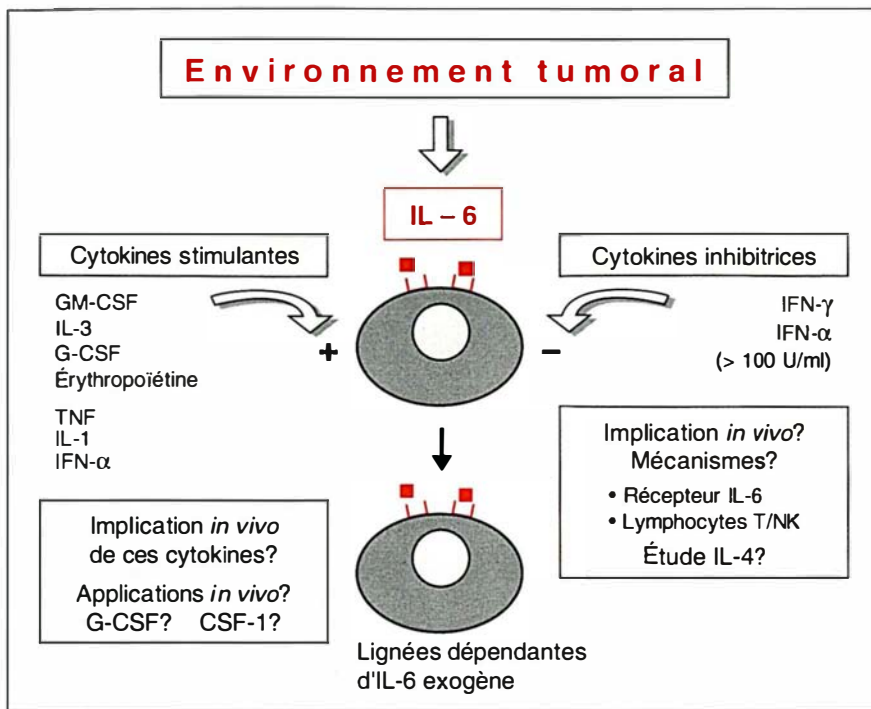


Figure 4. **Cytokines impliquées dans le myélome multiple.** L'IL-6 est le facteur central de prolifération des cellules myélomateuses. Plusieurs cytokines contrôlent la sensibilité de ces cellules à l'IL-6 (GM-CSF, IL-3, IL-5, G-CSF) ou la production d'IL-6 (IL-1, TNF, IFN, IL-4).

Enfin, nous avons récemment montré que l'IFN γ inhibe complètement la prolifération des cellules myélomateuses dépendantes d'IL-6 à des concentrations utilisables en clinique humaine ; un des mécanismes en est une inhibition de l'expression des récepteurs IL-6 présents sur ces lignées de myélome (en préparation).

Conclusion

En conclusion, les études *ex vivo* et les traitements anti-IL-6 montrent le rôle essentiel de l'IL-6 comme facteur de prolifération des cellules tumorales *in vivo* et comme facteur pouvant expliquer l'hyper-résorption osseuse caractéristique de cette néoplasie. Ils ont permis de mettre en évidence un marqueur simple de la production globale d'IL-6 *in vivo* (la protéine C réactive) et de montrer qu'une surproduction d'IL-6 (mise en évidence par un taux sérique élevé de CRP) est un des meilleurs facteurs de mauvais pronostic dans cette affection. Plusieurs cytokines sont également capables de stimuler ou d'inhiber la prolifération des cellules myélomateuses, soit en stimulant ou inhibant la

réponse des cellules tumorales à l'IL-6, soit en induisant une production d'IL-6 dans ces cellules. Ainsi s'ouvre un grand champ d'investigation pour comprendre pourquoi il y a surproduction d'IL-6 *in vivo*, pourquoi les cellules souches tumorales prolifèrent de façon continue en réponse à l'IL-6, quel est le poids d'autres cytokines et des molécules d'adhérence dans l'émergence du myélome multiple, quelles sont les perspectives thérapeutiques à développer à court terme pour inhiber la production d'IL-6 et la réponse des cellules myélomateuses à l'IL-6 dans cette maladie. Enfin, l'IL-6 est impliquée dans plusieurs affections inflammatoires ou tumorales (polyarthrite rhumatoïde, psoriasis, maladie de Castelman, SIDA, myxomes cardiaques, sarcome de Kaposi, cancer du rein, certains lymphomes T et B...), auxquelles pourraient s'appliquer certains concepts développés dans cette revue : en particulier, le rôle de la CRP comme indicateur de la production d'IL-6 *in vivo*, et la possibilité de s'opposer à l'hyperactivité *in vivo* de l'IL-6 sans apparition d'effets secondaires majeurs ■

Summary

Interleukin-6 in human multiple myeloma

Interleukin-6 (IL-6) is a major *ex vivo* growth factor for tumoral cells in human multiple myeloma (MM) and myeloma cell lines, whose growth is completely dependent on exogenous IL-6, can be reproducibly obtained. IL-6 is overproduced in patients with active myeloma, mainly by the tumoral environment. Injection of anti-IL-6 antibodies to MM patients with terminal disease and extramedullary proliferation completely blocked myeloma-cell proliferation *in vivo* and completely inhibited the C-reactive protein production. Moreover, the serum CRP level is a strong prognosis factor in MM, increased serum CRP levels (reflecting an increased IL-6 production) being associated with a poor prognosis. Other cytokines control the IL-6-mediated myeloma cell proliferation. GM-CSF, IL-3 and G-CSF stimulate the IL-6 responsiveness of myeloma cells without affecting the endogenous IL-6 production. Interferon-gamma completely inhibits the IL-6-mediated myeloma-cell proliferation without affecting the endogenous IL-6 production. Interferon- α and TNF α stimulate the proliferation of our IL-6-dependent myeloma-cell lines by inducing an autocrine production of IL-6 in these cell lines.

TIRÉS A PART

B. Klein.