

UNIVERSITE DE LIMOGES  
FACULTE DE MEDECINE

---

ANNEE 1996



THESE N° 179/1

**POLYARTHRITE RHUMATOIDE ET MACROPHAGE COLONY-  
STIMULATING FACTOR (M-CSF) :**  
ETUDE PRELIMINAIRE DE 56 CAS.



THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

---

présentée et soutenue publiquement le: 20 décembre 1996

PAR

Pascale VERGNE

Née le 07/02/1966 à Brive

EXAMINATEURS DE LA THESE

- M. Le Professeur TREVES.....- Président  
M. Le Professeur BERTIN.....- Juge  
M. Le Professeur LABROUSSE.....- Juge  
M. Le Professeur PRALORAN.....- Juge  
Mme le Docteur BONNET.....- Membre invité  
M. le Docteur PREUX.....- Membre invité
-

UNIVERSITE DE LIMOGES  
FACULTE DE MEDECINE

---

ANNEE 1996

THESE N° 79

POLYARTHRITE RHUMATOIDE ET MACROPHAGE COLONY-  
STIMULATING FACTOR (M-CSF) :  
ETUDE PRELIMINAIRE DE 56 CAS.



THESE  
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

---

présentée et soutenue publiquement le: 20 décembre 1996

PAR

Pascale VERGNE  
Née le 07/02/1966 à Brive

EXAMINATEURS DE LA THESE

M. Le Professeur TREVES.....- Président  
M. Le Professeur BERTIN.....- Juge  
M. Le Professeur LABROUSSE.....- Juge  
M. Le Professeur PRALORAN.....- Juge  
Mme le Docteur BONNET.....- Membre invité  
M. le Docteur PREUX.....- Membre invité

---

# UNIVERSITE DE LIMOGES

## FACULTE DE MEDECINE

---

**DOYEN DE LA FACULTE:**

Monsieur le Professeur PIVA Claude

**ASSESEURS:**Monsieur le Professeur VANDROUX Jean-Claude  
Monsieur le Professeur DENIS François**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS:**

ADENIS Jean-Paul * (C.S)	OPHTALMOLOGIE
ALAIN Luc (C.S)	CHIRURGIE INFANTILE
ALDIGIER Jean-Claude	NEPHROLOGIE
ARCHAMBEAUD Françoise	MEDECINE INTERNE B
ARNAUD Jean-Paul (C.S)	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
BARTHE Dominique (C.S)	HISTOLOGIE EMBRYOLOGIE CYTOGENETIQUE
BAUDET Jean (C.S)	CLINIQUE OBSTETRICALE ET GYNECOLOGIE
BENSAID Julien (C.S)	CLINIQUE MEDICALE CARDIOLOGIQUE
BERNARD Philippe	DERMATOLOGIE
BERTIN Philippe	THERAPEUTIQUE
BESSEDE Jean-Pierre	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
BONNAUD François (C.S)	PNEUMOLOGIE
BONNETBLANC Jean-Marie (C.S)	DERMATOLOGIE
BORDESSEULE Dominique (C.S)	HEMATOLOGIE ET TRANSFUSION
BOULESTEIX Jean (C.S)	PEDIATRIE
BOQUIER Jean-José	CLINIQUE DE PEDIATRIE
BOUTROS-TONI Fernand	BIostatistique ET Informatique MEDICALE
BRETON Jean-Christian (C.S)	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
CAIX Michel	ANATOMIE
CATANZANO Gilbert (C.S)	ANATOMIE PATHOLOGIQUE
CHASSAIN Albert	PHYSIOLOGIE
CHRISTIDES Constantin	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
COGNE Michel	IMMUNOLOGIE
COLOMBEAU Pierre (C.S)	UROLOGIE
CUBERTAFOND Pierre (C.S)	CLINIQUE DE CHIRURGIE DIGESTIVE
DARDE Marie-Laure (C.S)	PARASITOLOGIE
DE LUMLEY WOODYEAR Lionel (C.S)	PEDIATRIE
DENIS François (C.S)	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
DESCOTTES Bernard (C.S)	ANATOMIE
DUDOGNON Pierre	REEDUCATION FONCTIONNELLE
DUMAS Jean-Philippe	UROLOGIE
DUMAS Michel (C.S)	NEUROLOGIE
DUMONT Daniel	MEDECINE DU TRAVAIL
DUPUY Jean-Paul (C.S)	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
FEISS Pierre (C.S)	ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
GAINANT Alain	CHIRURGIE DIGESTIVE
GAROUX Roger (C.S)	PEDOPSYCHIATRIE
GASTINNE Hervé	REANIMATION MEDICALE
GAY Roger (C.S)	REANIMATION MEDICALE
GERMOUTY Jean	PATHOLOGIE MEDICALE ET RESPIRATOIRE
HUGON Jacques	HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE-CYTOGENETIQUE
LABROUSSE Claude (C.S)	REEDUCATION FONCTIONNELLE
LABROUSSE François	ANATOMIE PATHOLOGIQUE

LASKAR Marc (C.S)	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
LAUBIE Bernard (C.S)	ENDOCRINOLOGIE ET MALADIES METABOLIQUES
LEGER Jean-Marie (C.S)	PSYCHIATRIE D'ADULTES
LEROUX-ROBERT Claude (C.S)	NEPHROLOGIE
LIOZON Frédéric	CLINIQUE MEDICALE
MELLONI Boris	PNEUMOLOGIE
MENIER Robert (C.S)	PHYSIOLOGIE
MERLE Louis	PHARMACOLOGIE
MOREAU Jean-Jacques (C.S)	NEUROCHIRURGIE
MOULIES Dominique	CHIRURGIE INFANTILE
NATHAN-DENIZOT Nathalie	ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
OUTREQUIN Gérard	ANATOMIE
PECOUT Claude (C.S)	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
PERDRISOT Rémy	BIOPHYSIQUE ET TRAITEMENT DE L'IMAGE
PILLEGAND Bernard (C.S)	HEPATO-GASTRO-ENTEROLOGIE
PIVA Claude (C.S)	MEDECINE LEGALE
PRALORAN Vincent (C.S)	HEMATOLOGIE ET TRANSFUSION
RAVON Robert (C.S)	NEUROCHIRURGIE
RIGAUD Michel	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
ROUSSEAU Jacques (C.S)	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
SAUTEREAU Denis	HEPATO-GASTRO-ENTEROLOGIE
SAUVAGE Jean-Pierre (C.S)	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
TABASTE Jean-Louis (C.S)	GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
TREVES Richard (C.S)	RHUMATOLOGIE
TUBIANA-MATHIEU Nicole	CANCEROLOGIE
VALLAT Jean-Michel	NEUROLOGIE
VALLEIX Denis	ANATOMIE
VANDROUX Jean-Claude (C.S)	BIOPHYSIQUE ET TRAITEMENT DE L'IMAGE
VIDAL Elisabeth (C.S)	MEDECINE INTERNE
WEINBRECK Pierre (C.S)	MALADIES INFECTIEUSES

### PROFESSEUR ASSOCIE A MI-TEMPS

MOULIN Jean-Louis

3 me CYCLE DE MEDECINE GENERALE

### SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

\* C.S = Chef de Service

# REMERCIEMENTS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE  
A NOTRE DIRECTEUR DE THESE

**Monsieur Le Professeur TREVES,**

Professeur des Universités de Rhumatologie  
Médecin des Hôpitaux  
Chef de Service

Vous avez bien voulu nous faire bénéficier de vos connaissances médicales et rhumatologiques.

Votre passion, votre ouverture d'esprit et votre engagement sont communicatifs.

Veillez trouver dans ce travail le témoignage de notre admiration et de notre très grand respect.

« La durée humaine n'appartient qu'à ceux qui pétrissent la minute, la sculptent et ne se préoccupent pas du verdict ».

J. COCTEAU

A NOS JUGES,

**Monsieur Le Professeur LABROUSSE,**

Professeur des Universités de Rééducation fonctionnelle

Médecin des hôpitaux

Chef de Service

Vous nous faites l'honneur de siéger à notre jury de thèse.

Nous garderons précieusement en mémoire l'accueil dans votre service, votre goût pour la Rhumatologie et la qualité de votre enseignement.

Soyez assuré de tout notre respect et de notre profonde gratitude.

« Guérir parfois, soulager souvent, consoler toujours ».

A. SOUBIRAN

Monsieur Le Professeur PRALORAN,

Professeur des Universités d'Hématologie et Transfusion  
Médecin des Hôpitaux  
Chef de Service  
Laboratoire d'Hématologie

Vous nous avez accueilli chaleureusement au sein de votre laboratoire et vous nous avez accordé votre confiance.

Vos conseils et votre rigueur scientifique nous ont été précieux.

Veillez accepter, par ce travail, l'expression de notre sincère et respectueuse reconnaissance.

« Savoir pour prévoir, afin de pouvoir ».

A. COMTE



**Monsieur Le Professeur BERTIN,**

Professeur des Universités de Thérapeutique  
Médecin des Hôpitaux

Tes conseils précieux, ton aide efficace, ta compétence et ta disponibilité m'ont soutenu au cours de l'élaboration de ce travail et tout au long de mon internat.

Sois assuré de mon estime et de ma reconnaissance.

« Toute action est un empiétement sur l'avenir ».

H. BERGSON

**Madame Le Docteur BONNET**

Praticien Hospitalier  
Service de Rhumatologie

Ta gentillesse et ta disponibilité m'ont été précieuses tout au long de mon internat.

Sois assurée de mon amitié.

« Plus fait douceur que violence ».

LA FONTAINE

**Monsieur Le Docteur PREUX**

Chef de Clinique Assistant  
Service de Neurologie

Ta collaboration compétente et ta disponibilité m'ont donné l'illusion d'accéder sans trop de peine aux sphères nébuleuses des statistiques.

Reçois l'assurance de ma gratitude et de mon amitié.

« Si tu as la chance d'aimer la vérité, use ta vie à la faire aimer ».

J. BOUSQUET

**A Philippe FIXE,**

Sans qui, ce travail n'aurait pas pu être réalisé.

En remerciements pour ta compétence, ta gentillesse et ta disponibilité.

Sois assuré de ma gratitude et de mon amitié.

**A Jean Yves,**

en témoignage de mon amour.

« Ni vous sans moi, ni moi sans vous ».

Marie De France

**A mes parents,**

en témoignage de mon amour et de ma reconnaissance.

« Les parents doivent toujours donner pour être heureux. Donner toujours, c'est ce qui fait qu'on est parent ».

H. DE BALZAC

**A ma soeur,**

en témoignage de mon amour.

« Nulle amie ne vaut une soeur ».

C. ROSSETTI

**A toute ma famille,**

**A toute la famille SALLE,**

en témoignage de mon affection.

**A Marie Claire et Florence,**

en remerciements pour leur amitié très précieuse.

« L'amitié est comme une terre où l'on sème ».

D. LAERCE

**A Valérie et à Françoise,**

en témoignage de mon amitié.

**A tous mes anciens et nouveaux collègues,**

Michel, les deux Laurents, les deux Véroniques, Isabelle, Bruno et Olivier.

en témoignage de mon amitié

**A Marie-Françoise, Nadine et Jacqueline,**

en remerciements pour leur soutien quotidien.

**Aux surveillantes et infirmières du service de Rhumatologie,**

en remerciements pour leur contribution efficace à ce travail.

# PLAN

## INTRODUCTION

## RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

### I - LE MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (M-CSF)

#### A - GENE ET TRANSCRIPTION DU M-CSF

#### B - MATURATION INTRACELLULAIRE DES PRECURSEURS PEPTIDIQUES

#### C - STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE

#### D - RECEPTEUR AU M-CSF

##### 1 - Structure du gène c-fms.

##### 2 - Structure du récepteur au M-CSF

##### 3 - Transduction du signal

##### 4 - Régulation de l'expression du récepteur au M-CSF

#### E - METABOLISME DU M-CSF

##### 1 - *In vivo*

###### a - Détection du M-CSF

###### b - Les différentes formes de M-CSF

###### c - Concentrations, transport et élimination du M-CSF

##### 2 - *In vitro*

#### F - ACTIVITES BIOLOGIQUES DU M-CSF

##### 1 - Effets du M-CSF sur l'hématopoïèse

##### 2 - Effets du M-CSF sur les monocytes/macrophages matures.

##### 3 - M-CSF et métabolisme osseux.

#### G - M-CSF ET INFLAMMATION.

##### 1 - M-CSF et cytokines.

###### a - Régulation de la synthèse de M-CSF par les cytokines.

###### b - Induction de la synthèse de cytokines par le M-CSF.

##### 2 - M-CSF et métabolisme de l'acide arachidonique.

##### 3 - M-CSF et activateur du plasminogène

## II - IMMUNOLOGIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.

### A - ANATOMIE DE LA SYNOVITE RHUMATOÏDE.

#### 1 - Histologie du tissu normal.

#### 2 - La synovite rhumatoïde.

### B - LES ACTEURS CELLULAIRES.

#### 1 - Rôle des lymphocytes T.

#### 2 - Rôle des macrophages et fibroblastes synoviaux

##### a - Fibroblastes synoviaux

##### b - Les macrophages synoviaux

### C - CYTOKINES ET POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

#### 1 - Les cytokines pro-inflammatoires

##### a - L'interleukine-1 (IL-1)

##### b - Le facteur de nécrose tumorale ou tumor necrosis factor (TNF)

##### c - L'interleukine-6 (IL-6)

##### d - L'interleukine-8 (IL-8)

#### 2 - Les cytokines d'origine lymphocytaire

#### 3 - Les facteurs de croissance

**D - GENETIQUE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.**

1 - Risque génétique de la polyarthrite rhumatoïde et composant HLA

2- Polyarthrite rhumatoïde et gènes du récepteur des lymphocytes T (TCR).

**III - M-CSF ET POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.**

A - ETUDES IN VIVO.

B - ETUDES IN VITRO.

**PATIENTS, MATERIELS ET METHODES****I - PATIENTS****II - MATERIELS ET METHODES**

A - DONNEES DE LA BIOLOGIE STANDARD

B - DOSAGE DU M-CSF DANS LE SERUM ET LE LIQUIDE ARTICULAIRE PAR METHODE IMMUNO-ENZYMATIQUE

1 - Immunisation des lapins

2 - Purification et biotinylation des anticorps polyclonaux

3 - Réalisation de l'EIA

a - Fixation des premiers anticorps en fond de plaque et saturation

b - Réaction immunologique

4 - Sensibilité et spécificité du test EIA

**III - ANALYSES STATISTIQUES****RESULTATS****I - DONNEES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES DES GROUPES****POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET ARTHROSE.**

A - CRITERES COMMUNS A LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET A L'ARTHROSE

1 - Sexe

2 - Age

3 - Durée de la maladie

B - CRITERES SPECIFIQUES DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

1 - Variables et scores cliniques

2 - Présence d'érosions osseuses

3 - Présence de manifestations extra-articulaires

C - L'INDICE ALGO-FONCTIONNEL DE LEQUESNE ET LE SCORE DE LA DOULEUR DANS L'ARTHROSE

D - TRAITEMENTS

1 - Dans le groupe polyarthrite rhumatoïde

2 - Dans le groupe arthrose

**II - DONNEES DE LA BIOLOGIE STANDARD DANS LES GROUPES****POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET ARTHROSE****III - RESULTATS DU DOSAGE DE MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (M-CSF) DANS LES GROUPES POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET ARTHROSE**

A - TAUX MOYEN DE M-CSF DANS CHAQUE GROUPE ET COMPARAISONS

B - COMPARAISON DES TAUX DE M-CSF DANS LE SERUM ET DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL :

**IV - CORRELATIONS ENTRE TAUX DE M-CSF ET CRITERES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DANS LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE**

A - M-CSF SERIQUE

1 - Critères cliniques et démographiques

2 - Critères biologiques

3 - Traitements

B - M-CSF DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL

1 - Critères démographiques et cliniques

2 - Critères biologiques

3 - Traitements

V - CORRELATIONS ENTRE TAUX DE M-CSF ET LES CRITERES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DANS L'ARTHROSE

A - M-CSF SERIQUE

1 - Critères démographiques et cliniques

2 - Critères biologiques

3 - Traitements

B - M-CSF DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL

1 - Critères démographiques et cliniques

2 - Critères biologiques

3 - Traitements

DISCUSSION

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

ABREVIATIONS

SERMENT D'HIPPOCRATE



# INTRODUCTION

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est un rhumatisme inflammatoire chronique, d'étiologie encore inconnue. Elle se caractérise par un dysfonctionnement immunitaire, dans un contexte de susceptibilité génétique. Bien que l'agent initial ne soit pas identifié, de nombreux arguments évoquent la possibilité d'une cause infectieuse exogène ou la reconnaissance anormale de protéines endogènes.

Il existe deux grandes voies physiopathogéniques. La première conçoit la PR comme une maladie à médiation cellulaire T, où certains clones de lymphocytes T seraient activés par l'antigène arthritogène et déclencheraient la réaction inflammatoire. La seconde hypothèse fait jouer un rôle central aux macrophages, capables de produire une grande variété de médiateurs inflammatoires.

Quelque soit l'événement déclenchant, l'inflammation synoviale devient chronique et conduit à la destruction articulaire, responsable de la symptomatologie clinique et des caractéristiques radiologiques connues.

Certaines cytokines jouent un rôle néfaste, soit parce qu'elles sont à l'origine du processus auto-immun, soit parce qu'elles contribuent aux phénomènes inflammatoires directement ou indirectement en recrutant localement des cellules immunitaires. A l'inverse, il existe d'autres cytokines qui jouent un rôle bénéfique en antagonisant la production ou les effets des cytokines précédentes. Ainsi, l'allure évolutive de la maladie dépend de l'équilibre entre ces différentes cytokines.

Le macrophage colony-stimulating factor (M-CSF ou CSF-1) est une protéine homodimérique et glycosylée ayant des propriétés de facteur de croissance hématopoïétique. Il existe plusieurs formes moléculaires de M-CSF : le M-CSF soluble, membranaire et la forme protéoglycane. Cette variété de protéines M-CSF est le résultat d'un épissage alternatif de l'ARN pré-messager donnant naissance à plusieurs ARNm et de modifications post-traductionnelles des précurseurs peptidiques. Les ADNc des précurseurs peptidiques sont codés par un gène unique situé sur le chromosome 1. L'action biologique du M-CSF sur les cellules cibles passe par sa liaison à un récepteur unique de haute affinité, codé par le proto-oncogène *c-fms* et ayant une activité tyrosine-kinase.

Le M-CSF régule la survie, la prolifération et la différenciation des cellules de la lignée monocytaire-macrophagique, des précurseurs aux cellules matures. Il est capable également d'activer les macrophages tissulaires. Ces différentes fonctions pourraient lui conférer un rôle dans la physiopathogénie de la PR.

Quelques études ont montré que le liquide synovial de PR contenait des facteurs de croissance, capables de stimuler la formation de colonies hématopoïétiques (activité CSF). Cette activité était plus élevée dans le liquide synovial des arthropathies inflammatoires que dans celui des arthropathies dégénératives. Elle serait essentiellement liée au M-CSF. Cependant les techniques utilisées n'étaient pas spécifiques. D'autre part, il n'y a pas d'études publiées concernant le dosage du M-CSF dans le sérum de patients atteints de PR.

Le but de l'étude était donc de réaliser une mesure spécifique et quantitative du M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial de patients atteints de PR et de comparer les résultats obtenus à ceux de témoins souffrant d'arthrose symptomatique.

**RAPPELS  
BIBLIOGRAPHIQUES**

## I - LE MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (M-CSF)

Le macrophage colony-stimulating factor (M-CSF ou CSF-1) est une protéine dimérique et glycosylée ayant des propriétés de facteur de croissance hématopoïétique. Il a été purifié initialement à partir de l'urine (MOTOYOSHI *et col.*, 1978 ; STANLEY *et col.*, 1978). Il existe en fait plusieurs formes moléculaires de M-CSF : le M-CSF soluble, membranaire et la forme protéoglycane. Cette variété de protéines M-CSF est le résultat d'un épissage alternatif de l'ARN pré-messager donnant naissance à plusieurs ARNm (KAWASAKI *et col.*, 1985) et de modifications post-traductionnelles des précurseurs peptidiques (figure 1A et 1B). On a isolé trois précurseurs peptidiques de 554, 438 et 256 acides aminés (WONG *et col.*, 1987 ; COSMAN *et col.*, 1988 ; STANLEY *et col.*, 1994 b).

### A - GENE ET TRANSCRIPTION DU M-CSF

Le M-CSF humain est codé par un gène unique, de 20 kb, localisé sur le bras court du chromosome 1 en position p13-p21 (MORRIS *et col.*, 1991). Il comporte 10 exons (LADNER *et col.*, 1987). Les exons 1 à 8 contiennent les séquences codantes. Les exons 9 et 10 correspondent à des séquences non traduites de la partie 3' de l'ARNm.

Un épissage alternatif de l'exon 6 aboutit à la formation de plusieurs ARNm (figure 1A). La taille des 5 ARNm connus est de 4 kb, 2,5 kb, 2,2 kb, 3,1 kb et 1,6 kb. La variabilité de la région codante correspondant à l'épissage de l'exon 6 est responsable des différences de maturation des précurseurs peptidiques (KAWASAKI *et col.*, 1985 ; CERRETTI *et col.*, 1988 ; LADNER *et col.*, 1987). L'utilisation alternative des exons 9 et 10 rend compte d'une hétérogénéité supplémentaire des ARNm sans affecter la taille des précurseurs peptidiques, puisque ce sont des séquences non traduites (LADNER *et col.*, 1987 ; WONG *et col.*, 1987).

La séquence d'acides aminés correspondant à l'ARNm avec l'exon 6 entier comporte une séquence signal de 32 acides aminés suivie de 522 résidus contenant des sites potentiels de N-glycosylation, une seule séquence consensus pour la fixation d'un glycosaminoglycane (Ser-Gly-X-Gly/Ala) sur le résidu Ser-277 et une région hydrophobe de 23 acides aminés (résidus 464-486) correspondant au domaine transmembranaire.

L'ARNm de 4 kb est constitué de l'exon 6 entier et de l'exon 10 (pas d'exon 9). Il code pour le précurseur peptidique de 554 acides aminés, qui possède le site de fixation du glycosaminoglycane et les sites de clivage protéolytique.

L'ARNm de 2,5 kb est également constitué de l'exon 6 entier, mais l'exon 10 est absent et remplacé par l'exon 9. Il code donc aussi pour le précurseur de 554 acides aminés.

L'ARNm de 2,2 kb est constitué de l'exon 6 avec 345 bases en moins (entre la position 499 et 894 par rapport au début de l'exon 6) et de l'exon 9 (pas d'exon 10). Il code pour le précurseur peptidique de 438 acides aminés, qui possède le site de fixation du glycosaminoglycane et les sites de clivage protéolytique.

Dans l'ARNm de 3,1 kb les 894 premières bases de l'exon 6 sont absentes, de même que l'exon 9. L'exon 10 est présent. Il code pour le précurseur peptidique de 256 acides aminés, qui ne possède ni site de fixation du glycosaminoglycane ni site de clivage protéolytique.

L'ARNm de 1,6 kb est identique à l'ARNm de 3,1 kb en dehors de l'exon 10 qui est remplacé par l'exon 9. Il code pour le même précurseurs de 256 acides aminés.

### **B - MATURATION INTRACELLULAIRE DES PRECURSEURS PEPTIDIQUES**

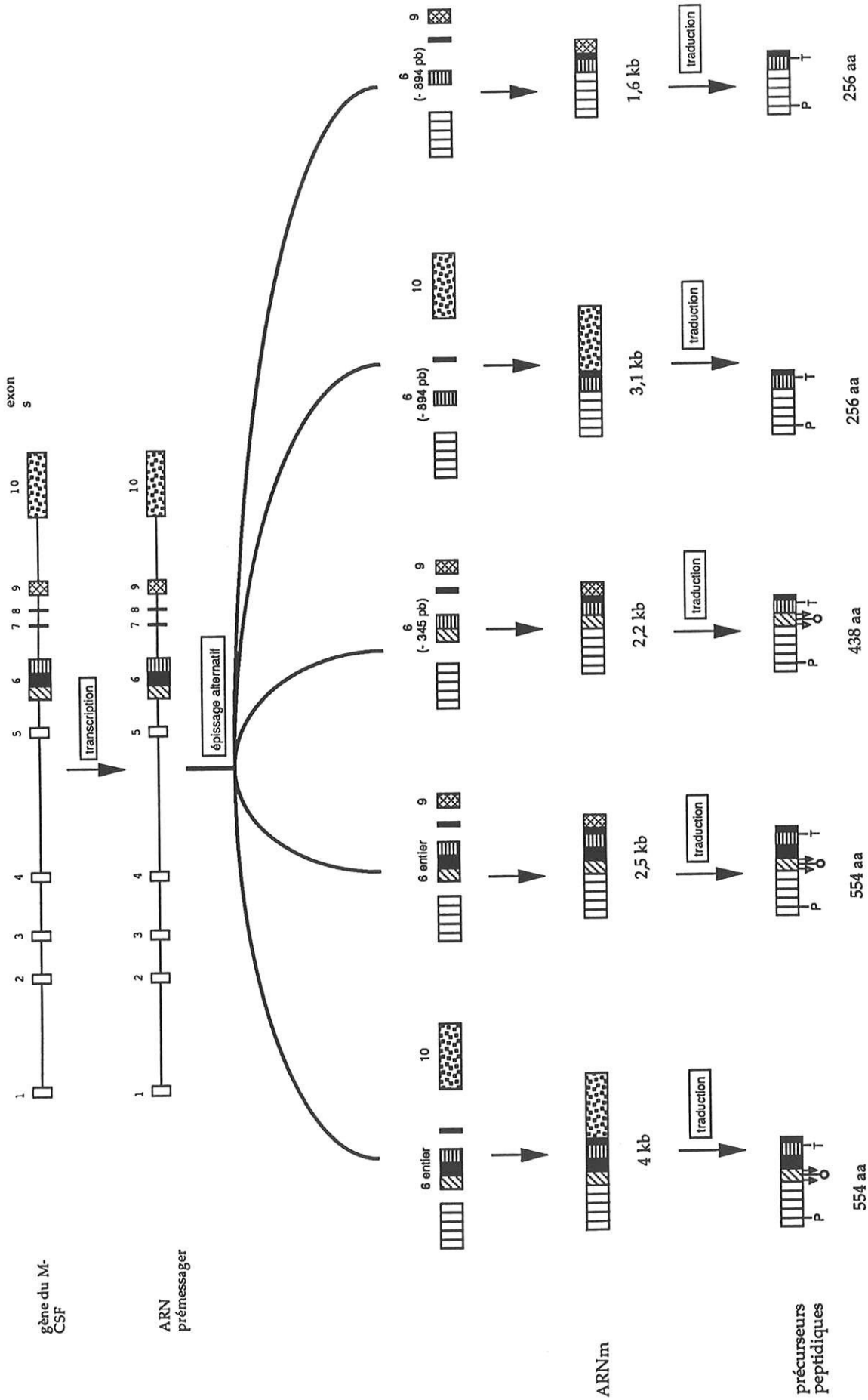
Les précurseurs peptidiques subissent une maturation intracellulaire dans le reticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, où ils sont dimérisés à l'aide de ponts disulfures et glycosylés sur les sites potentiels de N- et O-glycosylation (RETTENMIER *et col.*, 1987). Selon le précurseur, il existe deux autres possibilités de modifications post-traductionnelles qui sont la fixation d'un glycosaminoglycane et le clivage protéolytique.

Les précurseurs de 438 et 554 acides aminés subissent (figure 1B):

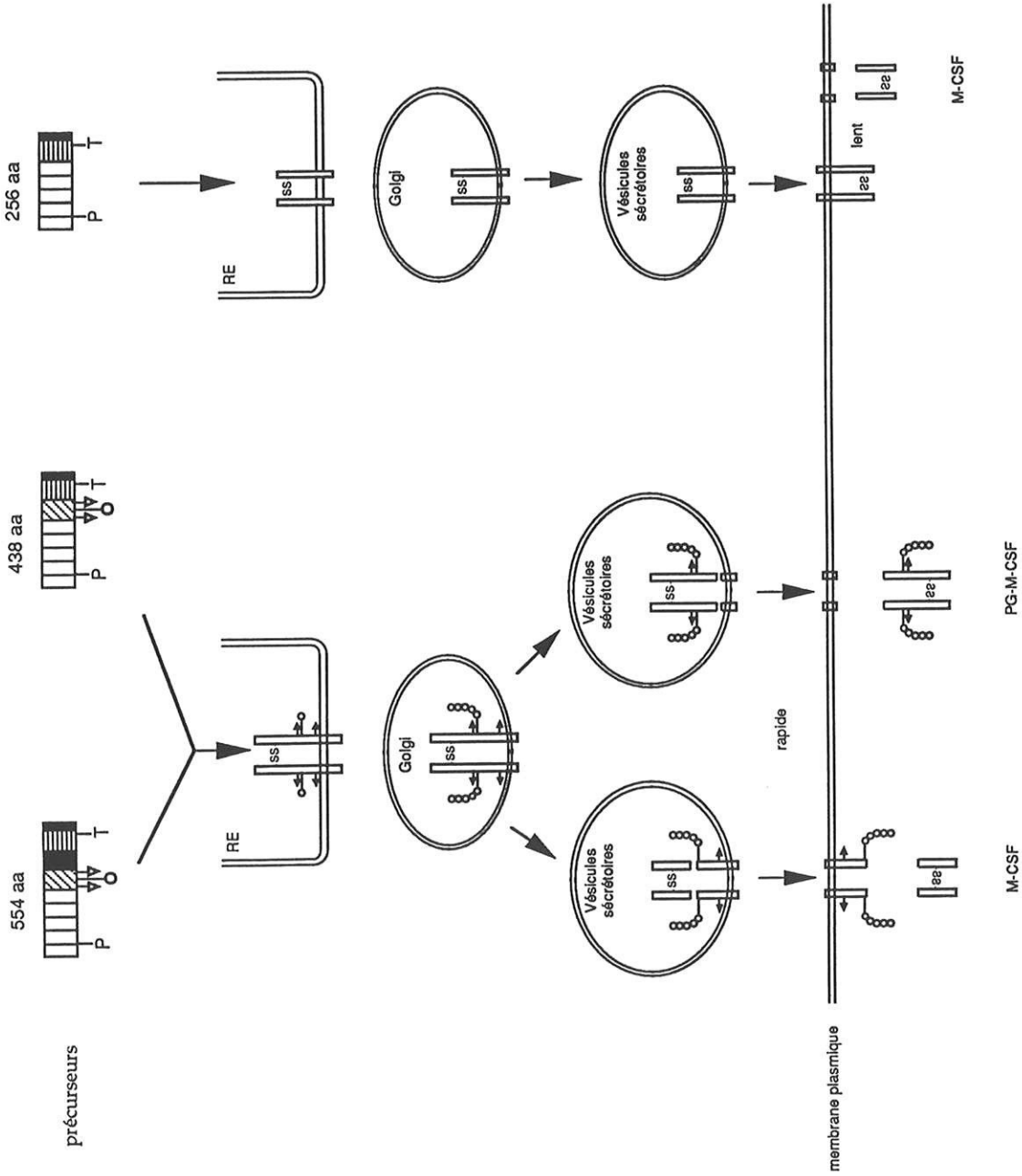
- soit 2 clivages protéolytiques avant le site de fixation du glycosaminoglycane et donnent naissance à des glycoprotéines M-CSF sécrétées de 70 à 90 kDa (MOTOYOSHI *et col.*, 1978).

- soit 2 clivages protéolytiques après le site de fixation du glycosaminoglycane pour donner la forme protéoglycane du M-CSF ou PG-M-CSF, sécrétée, de 300 à 400 kDa (SUZU *et col.*, 1992).

- soit un clivage différent sur chaque monomère (avant et après le site de fixation du glycosaminoglycane) pour donner du PG-M-CSF de 200 à 250 kDa (SUZU *et col.*, 1992).



**Figure 1A:** Epissage alternatif de l'ARN pré-messager du M-CSF.  
 P: peptide signal. T: domaine transmembranaire. δ: site de protéolyse. aa: acide aminé.



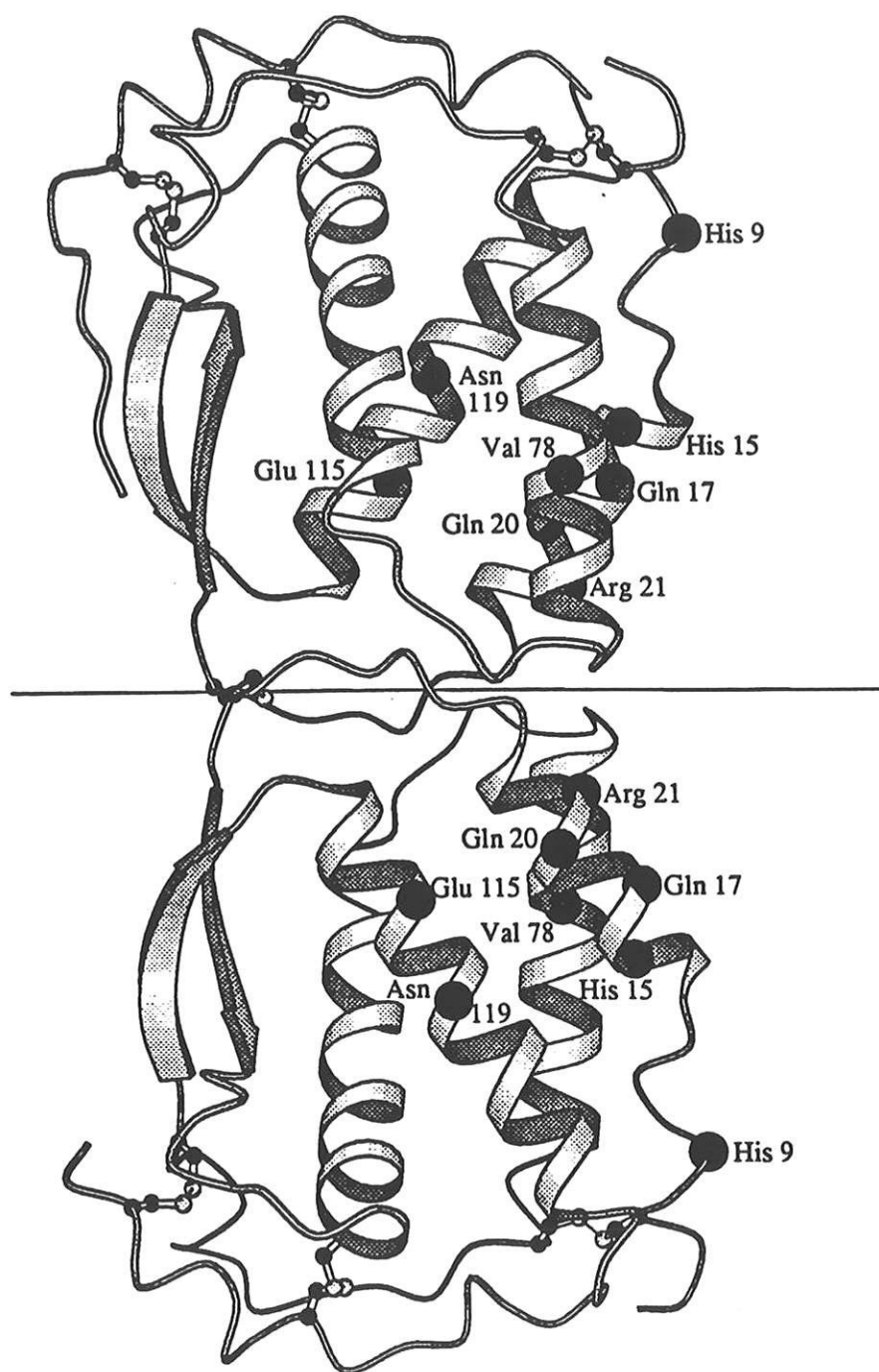
**Figure 1B:** Maturation des précurseurs peptidiques du M-CSF.  
 P: peptide signal. T: domaine transmembranaire. v: site de fixation de la chaîne protéoglycane.  
 RE: reticulum endoplasmique. aa: acide aminé.



Le précurseur de 256 acides aminés, dans lequel il n'y a pas de site de clivage protéolytique ni de site de fixation du glycosaminoglycane, n'est pas sécrété et reste ancré dans la membrane cellulaire. Il s'agit d'une glycoprotéine transmembranaire biologiquement active et exprimée de façon stable à la surface cellulaire. Elle peut cependant être lentement clivée et donner naissance ainsi à une protéine M-CSF soluble de 160 acides aminés et de 44 kDa (RETTENMIER *et col.*, 1987 et 1988 ; SHADLE *et col.*, 1989 a).

### C - STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE

La structure tridimensionnelle du M-CSF a été décrite grâce aux études par cristallographie aux rayons X du M-CSF recombinant humain (PANDIT *et col.*, 1992). Le dimère a une forme plate et allongée d'approximativement 80Å x 20 Å x 30Å. Trois ponts disulfures inter-chaînes maintiennent la structure dimérique (STANLEY, 1994a). Il existe 3 ponts disulfures intra-chaînes par monomère (Cys7-Cys90, Cys48-Cys139 et Cys102-Cys146). Des expériences de mutagenèse dirigée ont montré qu'ils étaient essentiels à l'activité biologique du M-CSF (KAWASAKI *et col.*, 1990). Chaque monomère est formé d'un fagot de 4 hélices- $\alpha$  antiparallèles et de 2 feuillets  $\beta$  antiparallèles. Des études de mutagenèse dirigée ont montré que l'activité biologique nécessitait la présence des 150 premiers acides aminés, région qui correspond aux 4 hélices- $\alpha$  (TAYLOR *et col.*, 1994). Les auteurs ont mis en évidence le rôle de certains acides aminés des hélices- $\alpha$  dans l'interaction du M-CSF avec son récepteur. La mutation de His9 et His15 diminue l'affinité du M-CSF pour son récepteur et donc son activité biologique, sans modifier sa structure tridimensionnelle.



**Figure 2 :** Représentation structurale du M-CSF humain dimérique (TAYLOR *et col.*, 1994).

Les 4 hélices  $\alpha$  sont représentées par des rubans spiralés, les feuilletts  $\beta$  antiparallèles par des flèches et les ponts disulfures par des boules avec bâtonnets.

## D- RECEPTEUR AU M-CSF

L'action biologique du M-CSF sur les cellules cibles passe par sa liaison à un récepteur unique de haute affinité (MORGAN *et col.*, 1984; GUILBERT *et col.*, 1980 et 1986). Ce récepteur est codé par le proto-oncogène *c-fms* (SHERR *et col.*, 1985 et 1990). Il s'agit d'une glycoprotéine transmembranaire appartenant à une famille de récepteurs à activité tyrosine-kinase, qui inclue aussi les récepteurs  $\alpha$  et  $\beta$  du PDGF (Platelet Derived Growth Factor) et le produit du proto-oncogène *c-kit* (RETTENMIER *et col.*, 1985; YARDEN *et col.*, 1987; CLAEISSON-WELSH *et col.*, 1989).

### 1- STRUCTURE DU GENE C-FMS.

Le gène *c-fms* humain est localisé sur le chromosome 5 en position q33.3 (GROFFEN *et col.*, 1983). Il est situé à côté du gène du récepteur  $\beta$  du PDGF (ROBERTS *et col.*, 1988). Sa taille est de 58 kb et il comporte 22 exons. L'exon 1 non codant est localisé à seulement 350 pb de l'extrémité 3' du gène du récepteur au PDGF. Cet exon 1 est séparé des exons codants 2 à 22 par un 1er intron très long de 25 kb. Les exons 2 à 22 ne dépassent pas 300 pb et sont séparés par des introns de taille variable (de moins de 100 pb à plus de 6000 pb) (ROBERTS *et col.*, 1988).

### 2- STRUCTURE DU RECEPTEUR AU M-CSF

Le récepteur du M-CSF est une glycoprotéine transmembranaire de 972 acides aminés et de 150 kDa. Il se caractérise par (RETTENMIER *et col.*, 1985):

- un domaine N-terminal extra-cellulaire de 512 acides aminés, composé de 5 domaines « immunoglobuline-like ». Les 3 premiers domaines sont responsables de la liaison au M-CSF (WANG *et col.*, 1993).

- un domaine transmembranaire hydrophobe de 25 acides aminés.

- un domaine intracellulaire de 435 acides aminés, responsable de l'activité tyrosine-kinase. Il comporte une séquence Gly-X-Gly-X-X-Gly (acides aminés 589 à 594), suivie d'un site de fixation à l'ATP (Lys616), séparé du reste du domaine tyrosine-kinase par un domaine inter-kinase, région de 73 acides aminés contenant 3 sites d'autophosphorylation (Tyr699, Tyr708 et Tyr723). Le reste du domaine tyrosine-

kinase comporte 2 sites de phosphorylation (Tyr809 et Tyr969) situés sur la queue C-terminale.

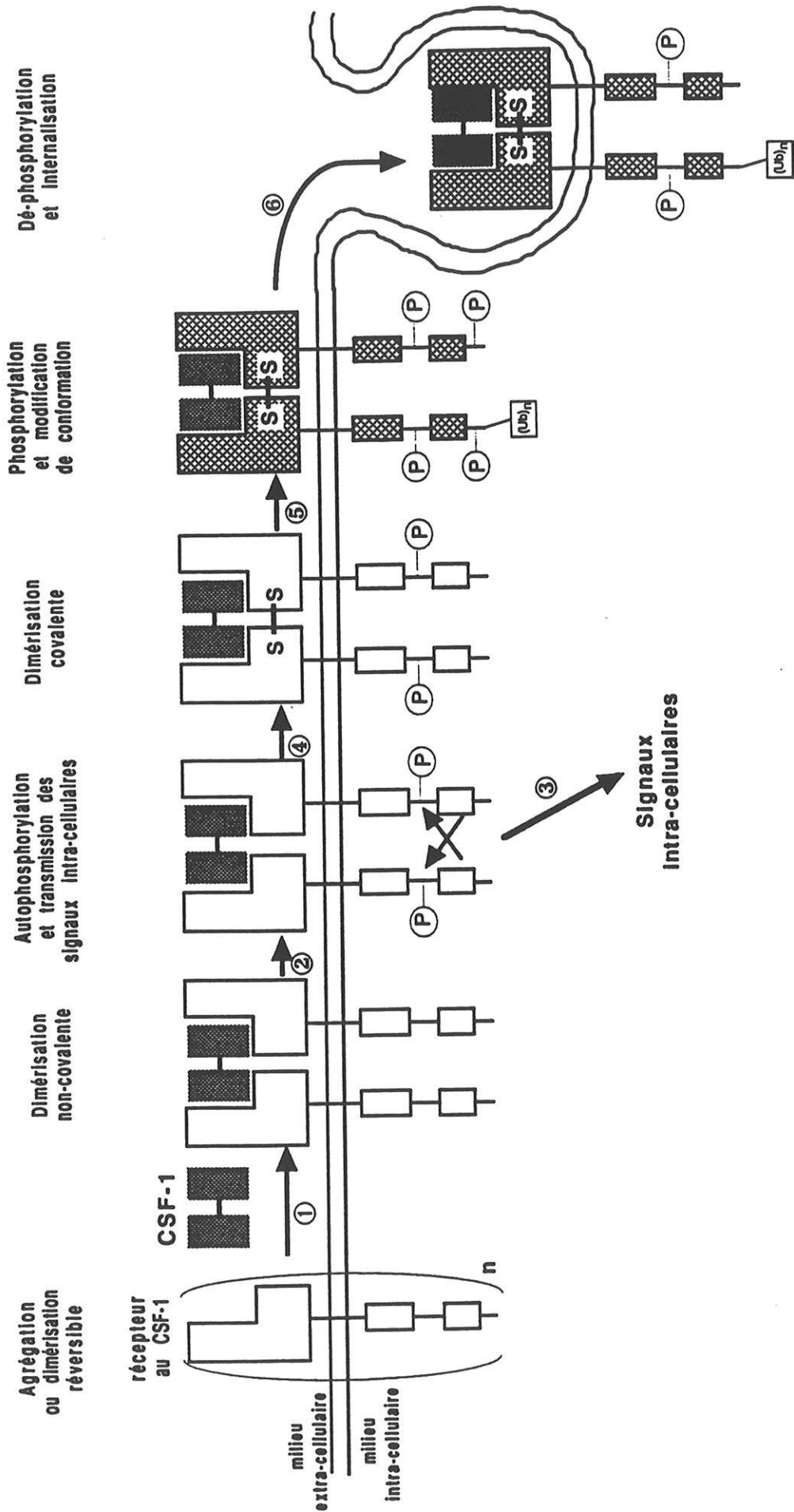
### 3- TRANSDUCTION DU SIGNAL

La liaison du M-CSF à son récepteur déclenche une série d'événements dont le but final est la division cellulaire. Le 1er événement est représenté par la formation d'un complexe actif ligand/récepteur. Chaque monomère de M-CSF se lie à un récepteur, entraînant une dimérisation non covalente des récepteurs. Il y a alors stimulation de l'activité tyrosine-kinase des 2 sous-unités du récepteur qui aboutit à leur transphosphorylation, suivie d'une phosphorylation rapide de diverses protéines cytosoliques ou membranaires (GUILBERT *et col.*, 1986; SENGUPTA *et col.*, 1988; DOWNING *et col.*, 1988).

D'une part l'autophosphorylation du récepteur sur les résidus tyrosines (Tyr561, Tyr699, Tyr708, Tyr723 et Tyr809) permet une dimérisation covalente et stable des récepteurs grâce à des interactions entre les tyrosines phosphorylées et les domaines SH2 des récepteurs. Cette dimérisation stable s'accompagne d'une modification de la conformation du récepteur au niveau du domaine C-terminal et du 4<sup>ème</sup> domaine « immunoglobuline-like » (CARLBERG *et col.*, 1994). Les homodimères sont transformés en hétérodimères par ubiquitination de l'une des deux sous-unités. Le complexe ligand/récepteur peut alors être internalisé et dégradé dans les lysosomes (STANLEY, 1994 a) (figure 3).

D'autre part, la phosphorylation du récepteur entraîne l'activation et la phosphorylation rapide sur les résidus tyrosines de protéines cytosoliques ou membranaires qui représentent les relais pour la transduction du signal. Il existe de nombreux candidats comme second messenger, tels que (VAIRO *et col.*, 1991 ; ROUSSEL *et col.*, 1994):

- la sérine/thréonine kinase ou protéine kinase C (PKC): le M-CSF induit son activation et/ou sa translocation vers les membranes dans plusieurs types de cellules hématopoïétiques.
- la protéine Gi
- la phospholipase C- $\gamma$ 1: son activation serait responsable de l'hydrolyse de la phosphatidylcholine (PC) et ainsi, d'une augmentation de la concentration de 1,2-diacylglycérol (DAG).



**Figure 3 :** Représentation schématique des modifications du récepteur au M-CSF induites par la fixation du M-CSF, avant l'internalisation du complexe récepteur/ligand (STANLEY, 1994 a). Chaque monomère de M-CSF se lie à un récepteur, entraînant une dimérisation non covalente. Il y a alors autophosphorylation du récepteur, qui permet une dimérisation covalente, et phosphorylation de diverses protéines cytosoliques ou membranaires. Le récepteur homodimère est transformé en hétérodimère par ubiquitination [(Ub)n] de l'une des 2 sous-unités, permettant l'internalisation du complexe récepteur/ligand.

- la phosphatidylinositol-3-kinase (PI-3-kinase).
- la protéine GAP ou « p21<sup>ras</sup> GTPase-activating protein »
- les protéines de la famille SRC (SRC, fyn et yes): elles sont activées suite à leur association, par l'intermédiaire de leurs domaines SH2, avec le résidu tyrosine 809 phosphorylé du récepteur au M-CSF.

- Le produit du gène *sem5/Grb2*: Grb2 se fixe aux résidus tyrosines phosphorylés du récepteur. Cette fixation est suivie d'une cascade d'événements avec la fixation, l'activation et la phosphorylation de plusieurs protéines (Sos-1, Ras, Raf-1, MAP kinase kinase, MAP kinase), aboutissant à la phosphorylation de facteurs de transcription dans le noyau.

Le rôle précis et les interactions de ces seconds messagers restent encore mal connus.

La liaison du M-CSF à son récepteur induit également d'autres phénomènes rapides, tels que (VAIRO *et col.*, 1991):

- l'émission de pseudopodes par la membrane.
- l'augmentation des échanges ioniques Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>
- l'induction de l'expression de gènes codant pour des kinases (c-fgr, hck), pour des facteurs de transcription (c-fos, c-jun et c-myc), pour des enzymes (ornithine décarboxylase), pour des protéines de la matrice extra-cellulaire et du cytosquelette (récepteur à la fibronectine,  $\beta$ -actine) et pour des protéines sécrétées (activateur du plasminogène de type urokinase).

Ces phénomènes précoces sont suivis d'une diminution du taux de dégradation protéique.

La réponse retardée au M-CSF est représentée par la synthèse d'ADN et la division cellulaire. En effet, le M-CSF est nécessaire pendant la phase G1 du cycle cellulaire des macrophages médullaires pour la progression en phase S. Chaque événement précoce, décrit ci-dessus, ne suffit pas à lui seul pour induire une réponse proliférative et il reste à déterminer si certains d'entre eux jouent un rôle direct dans la division cellulaire induite par le M-CSF (TUSHINSKI *et col.*, 1985; VAIRO *et col.*, 1991).

La délétion du domaine inter-kinase du récepteur n'affecte pas significativement la prolifération cellulaire induite par le M-CSF, suggérant que les résidus Tyr699, Tyr708 et Tyr723 ne sont pas essentiels à la transduction du signal. Par contre, la substitution de Tyr809 par la phénylalanine inhibe considérablement la croissance

cellulaire induite par le M-CSF (ROUSSEL *et col.*, 1994). La phosphorylation du résidu Tyr969 pourrait avoir un rôle régulateur négatif sur l'activité kinase du récepteur. L'activation des kinases de la famille SRC est essentielle pour l'activité mitogène au début de la phase G1 du cycle cellulaire. Par contre, elle n'est pas nécessaire dans la 2<sup>ème</sup> moitié de la phase G1.

En ce qui concerne les gènes de la « réponse immédiate », il semble exister 2 voies indépendantes de transduction du signal mitogène: l'une conduisant à la transcription de c-fos et jun-B et l'autre à la transcription de c-myc. La transcription de c-myc serait elle-même sous la dépendance des facteurs de transcription indépendants ETS et E2F-1 agissant sur le même site de transcription mais à des moments différents, suite à la liaison du M-CSF à son récepteur (ROUSSEL *et col.*, 1994).

#### 4 - REGULATION DE L'EXPRESSION DU RECEPTEUR AU M-CSF

Le récepteur au M-CSF est exprimé à la surface des monocytes, des cellules trophoblastiques placentaires et des ostéoclastes (WEIR *et col.*, 1993; SARIBAN *et col.*, 1985; REGENSTREIF *et col.*, 1989). Au cours de la différenciation myélomonocytaire, il est exprimé aux stades précoces et cette expression augmente avec la maturation cellulaire (SARIBAN *et col.*, 1985). L'IL-1 et l'IL-3 pourraient induire l'expression du récepteur au M-CSF, car en leur présence, le nombre de précurseurs médullaires sensibles au M-CSF augmente (MOCHIZUKI *et col.*, 1987).

En l'absence de M-CSF, le récepteur à la surface cellulaire est relativement stable et a une demi-vie de 3 à 4 heures (RETTENMIER *et col.*, 1985). Certains auteurs pensent qu'une proportion importante de récepteurs est en permanence internalisée dans les endosomes périphériques (sites cryptiques) et réexprimée à la surface cellulaire (SHERR, 1990). L'internalisation du complexe M-CSF/récepteur permet une régulation négative de l'expression du récepteur. La dégradation complète des récepteurs d'une cellule stimulée par des concentrations saturantes de M-CSF s'effectue en 15 minutes. Les cellules deviennent ainsi réfractaires à une nouvelle stimulation jusqu'à réexpression de récepteurs à la surface cellulaire. Le remplacement des récepteurs s'effectue d'abord à partir des sites cryptiques puis par synthèse et/ou recyclage.

La régulation de l'expression de ce récepteur s'effectue à un niveau transcriptionnel dans les cellules monocytaires. Le facteur de transcription PU.1 spécifique des monocytes et des cellules B et les complexes protéiques MonoA et

MonoB semblent réguler, en synergie, la transcription du gène *c-fms* (ZHANG *et col.*, 1994).

## E - METABOLISME DU M-CSF

### 1 - IN VIVO

#### a - Détection du M-CSF

Le M-CSF a été initialement détecté dans le sérum murin et humain par des techniques radio-immunologiques (STANLEY *et col.*, 1979; DAS *et col.*, 1980; DAS *et col.*, 1981). Ces techniques permettaient la reconnaissance uniquement des molécules biologiquement actives, dimériques, glycosylées ou non.

Plusieurs groupes ont ensuite développé leurs propres méthodes immunologiques (PRALORAN *et col.*, 1990 b; SHADDUCK *et col.*, 1979; SHADLE *et col.*, 1989 b; HANAMURA *et col.*, 1988; SUZU *et col.*, 1991). Le M-CSF a pu être détecté dans les liquides biologiques comme l'urine, le liquide céphalo-rachidien, le liquide articulaire et dans les extraits tissulaires. Les origines cellulaire et tissulaire du M-CSF, ainsi que les formes produites et la régulation de leur synthèse, sont mal connues *in vivo*.

Des expériences d'hybridation *in situ* et d'immuno-histochimie ont permis de mettre en évidence une production de M-CSF dans les ganglions lymphatiques (MOREAU *et col.*, 1992; PRALORAN *et col.*, 1992; CLARET *et col.*, 1992). Le M-CSF est également produit au cours de la grossesse et de l'hyperstimulation ovarienne (PRALORAN *et col.*, 1994; POLLARD *et col.*, 1987).

#### b - Les différentes formes de M-CSF

Deux formes différentes de M-CSF sont présentes dans le sérum humain (HANAMURA *et col.*, 1988; SHADLE *et col.*, 1989 b). La forme de 90 kDa représente 85% et celle de 44 kDa 15%. Leurs différences de production et de libération *in vitro* laissent présager des rôles biologiques différents (SHADLE *et col.*, 1989 a):

- Le M-CSF de 90 kDa est rapidement sécrété. Il pourrait jouer le rôle d'une hormone, responsable en permanence de la survie des cellules possédant des récepteurs au M-CSF et/ou de la régulation de leurs fonctions biologiques.



- Le M-CSF de 44 kDa dérive du M-CSF transmembranaire, lentement et incomplètement clivé de la surface membranaire. Il pourrait être un facteur de croissance ayant une action locale par interactions cellulaires directes. En effet, *in vitro*, les cellules monocytaires prolifèrent par contact cellulaire direct avec des cellules exprimant à la surface du M-CSF (STEIN *et col.*, 1990). UEMURA *et col.* (1993) ont montré que le M-CSF, ancré dans la membrane des cellules stromales KM102, pouvait se lier à son récepteur spécifique sur les cellules FDC-P2 (transfectées avec l'ADNc *c-fms*) et être responsable de l'adhésion cellulaire.

Bien que les cellules productrices de M-CSF *in vitro* sécrètent de grandes quantités de PG-M-CSF dans les milieux conditionnés (OHTSUKI *et col.*, 1994 a), le PG-M-CSF n'a pas été détecté dans les liquides biologiques humains (sang et urine) (SUZU *et col.*, 1991).

### c - Concentrations, transport et élimination du M-CSF

Actuellement, le dosage du M-CSF dans les liquides biologiques se fait essentiellement par méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno Assay). Les valeurs usuelles de concentration sérique se situent entre 100 et 500 UI/ml (COUPEY *et col.*, 1992; HANAMURA *et col.*, 1988; SHADLE *et col.*, 1989 b).

Dans le sérum humain, une fraction du M-CSF semble être liée à des protéines, comme l'albumine et l'immunoglobuline G (IgG) (OHTSUKI *et col.*, 1996). Il pourrait s'agir de protéines porteuses, comme cela a pu être décrit pour l'IL-6 avec l'albumine, les facteurs du complément, la protéine C réactive, l' $\alpha$ 2-macroglobuline et le récepteur soluble de l'IL-6 (MAY *et col.*, 1992). La liaison du M-CSF aux protéines sériques, comme l'albumine et l'IgG, pourrait affecter son activité biologique *in vivo*. En effet, MATSUDA *et col.* (1989) ont mis en évidence que l' $\alpha$ 2-macroglobuline protégeait l'IL-6 de l'action des protéases, augmentant ainsi l'activité de l'IL-6.

Les études, *in vitro*, ont montré que le M-CSF était rapidement lié à son récepteur à la surface des macrophages, puis que le complexe ligand/récepteur était internalisé et dégradé (GUILBERT *et col.*, 1986). Un mécanisme identique pourrait être responsable de la clairance du M-CSF *in vivo* et donc de la régulation de sa concentration dans les liquides biologiques et les tissus. L'étude de BARTOCCI *et col.* (1987) chez la souris avec du M-CSF marqué à l'iode 125, montre que 95% du M-CSF circulant est très rapidement fixé. La radioactivité du M-CSF circulant a diminué de 50% 5 minutes

après l'injection, avec 40% de radioactivité dans le foie et 3 à 5% dans la rate. La demi-vie du M-CSF dans la circulation est d'environ 10 minutes. Quinze minutes après l'injection, la radioactivité a considérablement diminué dans le foie, la rate et le sérum, et a augmenté dans le rein.

Le M-CSF étant détectable en permanence *in vivo* dans les liquides biologiques et sa demi-vie étant courte, il semblerait que sa production soit permanente pour maintenir des concentrations circulantes stables.

## 2 - IN VITRO

La production de M-CSF, *in vitro*, a été initialement démontrée dans la lignée cellulaire L929 chez la souris (STANLEY *et col.*, 1977) et dans la lignée cellulaire humaine Mia Pa Ca (CSEJTEY *et col.*, 1986).

De nombreuses autres cellules ont depuis été décrites comme produisant du M-CSF. Chez l'homme, il s'agit des monocytes/macrophages (RAMBALDI *et col.*, 1987), des fibroblastes (FALKENBURG *et col.*, 1990), des cellules endothéliales (FIBBE *et col.*, 1989), des lymphocytes B activés (REISBACH *et col.*, 1989), des lymphocytes T activés (PRALORAN *et col.*, 1990 a), des cellules NK (natural killer)(CUTURI *et col.*, 1989), des cellules épithéliales thymiques (LE *et col.*, 1988), des cellules médullaires stromales (FIBBE *et col.*, 1988), des kératinocytes (CHODAKEWITZ *et col.*, 1990), des ostéoblastes (OHTSUKI *et col.*, 1993), des chondrocytes (CAMPBELL *et col.*, 1993) et des cellules épithéliales utérines (STANLEY *et col.*, 1994 a).

Le M-CSF est également produit par les cellules cancéreuses de leucémie aiguë myéloïde (RAMBALDI *et col.*, 1988), de la maladie de Hodgkin (MOREAU *et col.*, 1992) et par de nombreuses lignées cellulaires cancéreuses mammaire, ovarienne, endométriale, pulmonaire (HORIGUCHI *et col.*, 1988; KACINSKI *et col.*, 1990; RAMAKRISHNAN *et col.*, 1989).

La production du M-CSF par ces cellules reste, dans la grande majorité des cas, un phénomène inductible. Les inducteurs de la transcription du M-CSF sont: le PMA (phorbol 12-myristate 13-acétate), l'ionomycine, la PHA (phytohémagglutinine), les anticorps anti-CD3, et les cytokines (HALLET *et col.*, 1991, PRALORAN *et col.*, 1990 a). Certains types cellulaires produisent du M-CSF de façon constitutive, comme les cellules endothéliales et les fibroblastes, mais cette production reste faible (SEELENTAG *et col.*, 1987; FALKENBURG *et col.*, 1990).

## F - ACTIVITES BIOLOGIQUES DU M-CSF

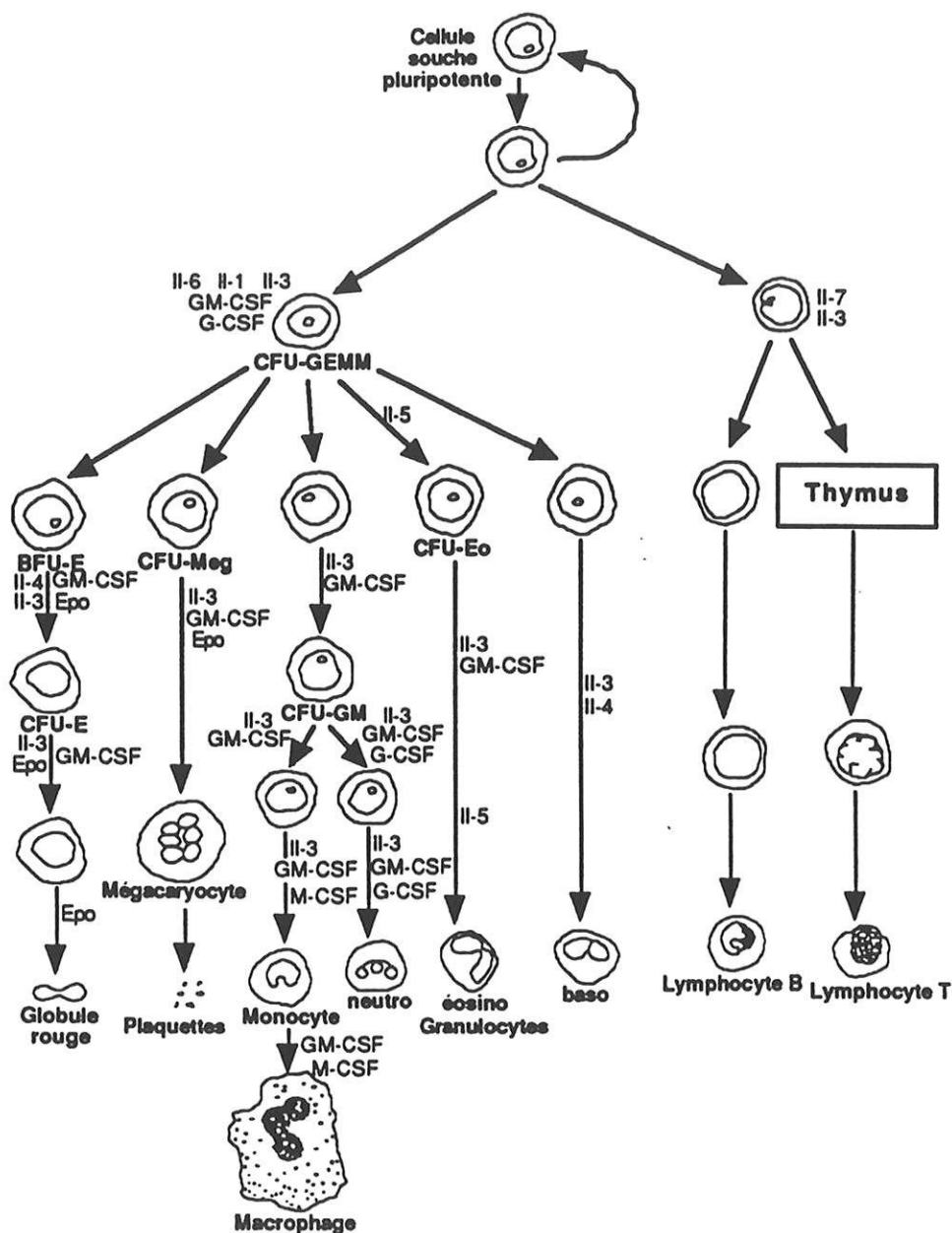
### 1- EFFETS DU M-CSF SUR L'HEMATOPOÏÈSE

Le M-CSF est un facteur de croissance hématopoïétique qui régule la survie, la prolifération et la différenciation des cellules de la lignée monocyttaire-macrophagique, des progéniteurs aux cellules matures (PRALORAN *et col.*, 1991). Il stimule, en synergie avec l'IL-1 $\alpha$ , la prolifération de colonies monocytaires macroscopiques dérivées de progéniteurs très primitifs, résistant au 5-fluorouracile et à fort potentiel prolifératif (HPP-CFC pour High Proliferative Potential-Colony Forming Cells) (ZHOU *et col.*, 1988). Ces HPP-CFC sont généralement considérées proches des cellules souches hématopoïétiques à capacité de repopulation *in vivo*.

D'autres facteurs de croissance hématopoïétiques (GM-CSF, IL-3 et IL-6) sont capables d'agir en synergie avec le M-CSF pour la production de grandes colonies à partir des progéniteurs primitifs, peut être en stimulant l'expression de récepteurs au M-CSF (Figure 4).

Le M-CSF a également des effets indirects sur l'hématopoïèse par stimulation de la production et de la libération de cytokines (GM-CSF, G-CSF, IL-1, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , ...) par les macrophages (WARREN *et col.*, 1986; HERRMANN *et col.*, 1986).

L'existence d'une mutation spontanée chez la souris, mutation *op*, a permis une meilleure compréhension des activités biologiques exercées directement ou indirectement par le M-CSF. Cette mutation *op* se caractérise par l'existence d'une ostéopétrose et d'une déficience en macrophages et ostéoclastes chez les souris homozygotes *op/op* (WIKTOR-JEDRZEJCZAK *et col.*, 1990). Elle consiste en l'addition d'une thymidine au niveau du gène du M-CSF. La présence de cette insertion produit un codon stop TGA, incompatible avec la traduction de l'ARNm du M-CSF, avec pour conséquence une absence de M-CSF chez la souris *op/op* (YOSHIDA *et col.*, 1990). Cependant, cette absence de M-CSF n'affecte le système phagocytaire mononucléé que de certains tissus: foie, cavité péritonéale, rate, utérus, stroma de la moelle osseuse, monocytes circulants. Le nombre de macrophages tissulaires semble par contre normal dans le cerveau et les poumons. Ainsi, la production et le renouvellement d'une partie des macrophages tissulaires sont M-CSF indépendants (NAITO *et col.*, 1991).



**Figure 4 :** Les voies de l'hématopoïèse et interventions des principaux facteurs de croissance.

Les différents progéniteurs identifiés dans les systèmes de culture *in vitro* sont la CFU-GEMM (colony forming unit-granulocyte erythrocyte monocyte megacaryocyte), la BFU-E (burst forming unit-erythrocyte), la CFU-Meg (CFU-megacaryocyte), la CFU-Eo (CFU-eosinophile), la CFU-E (CFU-erythrocyte) et la CFU-GM (CFU-granulocyte/monocyte). Les différents facteurs de croissance intervenant dans l'hématopoïèse sont indiqués: interleukine-1 à -7 (IL-1 à IL-7), GM-CSF pour granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, G-CSF pour granulocyte-CSF, M-CSF pour macrophage-CSF et Epo pour érythropoïétine.

L'administration de M-CSF recombinant à des souris entraîne une augmentation des progéniteurs de la lignée monocyttaire/macrophagique, mais aussi de la lignée granulocytaire. Il provoque également une baisse des progéniteurs médullaires, associée à une augmentation des progéniteurs périphériques et spléniques. Ces résultats suggèrent que le M-CSF pourrait agir sur la libération des progéniteurs de la moelle osseuse vers le sang et la rate (YAMAUCHI *et col.*, 1996).

## 2- EFFETS DU M-CSF SUR LES MONOCYTES/MACROPHAGES MATURES.

*In vitro*, le M-CSF maintient la survie des monocytes et des macrophages. Il active certaines fonctions biologiques importantes telles que la migration, la synthèse d'ARN et de protéines. Sous l'effet du M-CSF, les monocytes/macrophages augmentent l'expression d'antigènes liés à la maturation: LeuM5, LeuM3, OKM1, récepteur Fc et HLA-DR (BECKER *et col.*, 1987), augmentent la production de peroxydes, de protéines du choc thermique, d'activateur du plasminogène de type urokinase, de thromboplastine et de cytokines (WING *et col.*, 1985; HAMILTON *et col.*, 1993 a et d; TESHIMA *et col.*, 1996; LYBERG *et col.*, 1987).

*In vivo*, le M-CSF recombinant humain provoque une augmentation modérée des monocytes circulants, une augmentation importante des macrophages tissulaires, en rapport avec une prolifération locale et une migration tissulaire des monocytes. Il peut s'y associer une augmentation des polynucléaires. Par contre, la quantité de lymphocytes et de plaquettes est diminuée (KHWAJA *et col.*, 1991).

Le M-CSF stimule l'activité phagocytaire anti-bactérienne et anti-parasitaire des macrophages, ainsi que leur résistance à l'infection virale *in vitro* (CHEERS *et col.*, 1988; LEE *et col.*, 1987; WANG *et col.*, 1989). Cependant, les souris op/op déficientes en M-CSF, possèdent des fonctions phagocytaires, une hypersensibilité retardée et des réponses immunitaires cellulaires et humorales normales (WIKTOR-JEDREZETCZAK *et col.*, 1992). D'autre part, le M-CSF pourrait stimuler la réplication du virus HIV dans les macrophages (GENDLEMAN *et col.*, 1988). BERGAMINI *et col.*, (1994) ont montré que les monocytes/macrophages traités par du M-CSF deviennent sensibles à l'effet cytopathogénique du virus de l'immunodéficience humaine (HIV) et subissent une apoptose.

Les monocytes et les macrophages, stimulés par le M-CSF, ont une activité anti-tumorale *in vitro*, par cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) et par l'intermédiaire des cellules NK ou du TNF (MOTOYOSHI *et col.*, 1994). Cependant la

croissance de tumeurs transplantées chez la souris *op/op*, déficiente en M-CSF, est beaucoup moins importante que chez les souris témoins. Sur le plan histologique, il existe une diminution de l'indice mitotique et une diminution de la vascularisation de la tumeur, suggérant l'intervention de macrophages dépendants du M-CSF dans la formation du stroma et dans la vascularisation tumorale (NOWICKI *et col.*, 1996).

### 3- M-CSF ET METABOLISME OSSEUX.

Le rôle potentiel du M-CSF dans le remodelage osseux a été initialement décrit par MAC DONALD *et col.* (1986), qui ont observé que le M-CSF stimulait la formation de cellules ostéoclaste-like dans les cultures de moelle osseuse.

Les ostéoclastes dérivent des cellules hématopoïétiques appartenant à la lignée monocytaire-macrophagique. Le M-CSF est essentiel pour la survie, la prolifération des précurseurs ostéoclastiques et leur différenciation en ostéoclastes matures (TANAKA *et col.*, 1993). Ces propriétés du M-CSF ont été confirmées par la découverte du fait que la déficience en ostéoclastes des souris ostéopétrotiques *op/op* était liée à l'absence de M-CSF biologiquement actif (FELIX *et col.*, 1990 a). Simultanément, les expériences de traitement par M-CSF recombinant humain des souris *op/op* permettaient une disparition des troubles osseux (FELIX *et col.*, 1990 b). Cependant, pour BISKOBING *et col.* (1995), le M-CSF est indispensable à la prolifération des précurseurs ostéoclastiques, mais ne serait pas nécessaire à leur fusion, c'est-à-dire à leur différenciation en ostéoclastes matures.

L'action du M-CSF sur les ostéoclastes passe par l'intermédiaire de son récepteur qui a pu être mis en évidence à la surface des précurseurs ostéoclastiques et surtout des ostéoclastes matures (HOFSTETTER *et col.*, 1992; WEIR *et col.*, 1993). Le M-CSF a la propriété de stimuler la migration des ostéoclastes de rat, isolés (OWENS *et col.*, 1993). Dans le modèle de calvaria de souris, le M-CSF marqué à l'iode 125 se fixe sur son récepteur à la surface des ostéoclastes, les active (phosphorylation des résidus tyrosines et libération de radicaux libres de l'oxygène) et induit la résorption osseuse (YANG *et col.*, 1996). D'autre part, il serait le médiateur de l'interaction ostéoblastes/ostéoclastes dans la résorption osseuse induite par la PTH (hormone parathyroïdienne) et la PTH-rP (peptide apparenté à la PTH) (WEIR *et col.*, 1993). Le M-CSF produit par les ostéoblastes (FELIX *et col.*, 1989) possède donc un rôle critique dans le développement et l'activation des ostéoclastes.

FELIX *et col.* (1996) ont montré que les cellules ostéoblastiques (ostéoblastes primaires et lignées ostéoblastiques murines MC 3T3-E1 et KS-4) étaient capables de produire la forme protéoglycane (PG-M-CSF) et la forme membranaire du M-CSF. La plus grande partie du M-CSF est sécrétée sous forme protéoglycane et une petite portion se lie à la matrice extra-cellulaire. Antérieurement, OHTSUKI *et col.* (1993 et 1995) avaient montré que le PG-M-CSF était détectable à la surface de l'os par immunomarquage et qu'il était capable d'interagir avec les composants de la matrice extra-cellulaire, notamment le collagène de type V et le basic fibroblast growth factor (bFGF).

### G- M-CSF ET INFLAMMATION.

La formation de lésions inflammatoires nécessite l'afflux de leucocytes à partir de la circulation, à travers l'endothélium vasculaire et vers les sites inflammatoires.

En fonction de l'étiologie, le site inflammatoire peut contenir des quantités variables de granulocytes, monocytes, macrophages et lymphocytes. Chacun de ces types cellulaires est attiré dans le site inflammatoire par des chémoattracteurs spécifiques et les activités biologiques de ces cellules sont régulées par des cytokines bien définies.

Au sein de l'articulation, le M-CSF peut être produit par les fibroblastes, les cellules endothéliales, les phagocytes mononucléés, les chondrocytes et les ostéoblastes (FALKENBURG *et col.*, 1990; FIBBE *et col.*, 1989; RAMBALDI *et col.*, 1987; CAMPBELL *et col.*, 1993; OHTSUKI *et col.*, 1993). Il joue probablement un rôle important dans la réaction inflammatoire, à travers ses actions sur les monocytes/macrophages. En effet, il est capable de stimuler la prolifération et certaines fonctions des macrophages et la synthèse par ces macrophages de différents médiateurs de l'inflammation et cytokines (HAMILTON *et col.*, 1993 a).

### 1- M-CSF ET CYTOKINES.

#### a- Régulation de la synthèse de M-CSF par les cytokines.

La régulation de la production du M-CSF est essentiellement un phénomène inductible, même si celle-ci peut être constitutive à un faible niveau dans les fibroblastes et les cellules endothéliales (FALKENBURG *et col.*, 1990; SEELTAG *et col.*, 1987) ou dans différentes lignées cellulaires carcinomateuses (HORIGUCHI *et col.*, 1988).

Un réseau complexe de cytokines intervient dans la régulation de sa synthèse. L'action de différentes cytokines en fonction de leur cible cellulaire est passée en revue et résumée dans le tableau 1.

#### a.1 - Interleukine-1 (IL-1)

L'IL-1 est une cytokine produite essentiellement par les monocytes. Elle joue un rôle important dans les réponses inflammatoires. KU *et col.* (1992) ont montré que l'IL-1 $\alpha$  était capable d'induire l'expression du M-CSF dans les cellules Mia Pa Ca.

L'IL-1 $\beta$  induit la synthèse du M-CSF dans les cultures de cellules stromales médullaires humaines (FIBBE *et col.*, 1988). Ainsi, l'IL-1 interviendrait dans la régulation de la production de M-CSF par les cellules du microenvironnement hématopoïétique.

La production de protéine M-CSF est augmentée dans les monocytes humains traités par un anticorps anti-CD45 et l'IL-1 $\beta$  a un effet additif. Elle stimule la transcription du gène du M-CSF, mais ne modifie pas la 1/2 vie des transcrits du M-CSF. Après stimulation par l'anticorps anti-CD45, l'IL-1 $\beta$  pourrait représenter le second signal nécessaire à la transcription du gène du M-CSF dans les monocytes (GRUBER *et col.*, 1994). De même, l'IL-1 en synergie avec le PMA induit la production de M-CSF par les lymphocytes T (PRALORAN *et col.*, 1990 a).

L'IL-1 $\alpha$  entraîne également une augmentation de l'expression du gène du M-CSF dans les fibroblastes quiescents, mais aussi en phase de prolifération (FALKENBURG *et col.*, 1990). L'IL-1 $\beta$  a les mêmes propriétés dans les cellules ostéoblaste-like MC 3T3-E1 (TAKAISHI *et col.*, 1994) et dans les cellules mésangiales glomérulaires (ZOJA *et col.*, 1991). Dans les cultures de cartilage articulaire humain et dans les cultures de chondrocytes, la production de M-CSF peut être induite par l'IL-1 $\alpha$  et  $\beta$  (CAMPBELL *et col.*, 1993).

#### a.2 - Tumor necrosis factor (TNF)

Le TNF est une autre cytokine clé de la réaction inflammatoire. Il est responsable d'une augmentation de la transcription du gène du M-CSF mais également du gène du récepteur au M-CSF, au cours de la différenciation des cellules HL-60. PGE<sub>2</sub> et AMPc ont un rôle régulateur négatif sur l'induction de l'expression du gène du M-CSF par le TNF (SHERMAN *et col.*, 1990).



La lignée de cellules stromales humaines KM102 produit de façon constitutive 2 formes de protéines M-CSF: le M-CSF de 85 kDa et le PG-M-CSF. Après stimulation par du TNF- $\alpha$ , les cellules KM102 augmentent leur production de M-CSF et notamment de PG-M-CSF. La chaîne de chondroïtine sulfate du PG-M-CSF, produit après stimulation par le TNF- $\alpha$ , est plus courte et a une affinité plus faible pour le collagène de type V. Dans les sites inflammatoires, le PG-M-CSF présent dans la matrice extra-cellulaire aurait ainsi un meilleur potentiel de diffusion, grâce à une moindre affinité pour le collagène de type V (OHTSUKI *et col.*, 1994 a).

Le TNF- $\alpha$  entraîne une augmentation de la transcription du gène du M-CSF, de façon dose-dépendante dans les ostéoblastes de souris (KAPLAN *et col.*, 1996).

Les TNF- $\alpha$  et - $\beta$  induisent la production de M-CSF dans les cultures de cartilage articulaire humain et dans les cultures de chondrocytes (CAMPBELL *et col.*, 1993). Des résultats identiques sont obtenus avec le TNF- $\alpha$  et les fibroblastes humains (AKASHI *et col.*, 1989).

### a.3 - Interféron (IFN)

Les monocytes humains non stimulés ne produisent pas de M-CSF. L'exposition de ces cellules à l'IFN- $\gamma$  ou au PMA induit l'expression du gène du M-CSF et la libération de M-CSF biologiquement actif (RAMBALDI *et col.*, 1987).

L'ARNm du M-CSF de 4 kb est la forme exprimée de façon majoritaire dans la lignée de cellules stromales humaines KM102, dans des conditions basales. Par contre, lorsque les cellules sont stimulées par l'IFN- $\gamma$ , l'expression de l'ARNm du M-CSF de 1,6 kb semble plus importante que celle de l'ARNm de 4 kb (OHTSUKI *et col.*, 1994 b). Ces résultats suggèrent que, dans les états inflammatoires où intervient l'IFN- $\gamma$ , le M-CSF sous forme membranaire serait produit de façon plus abondante. Ce phénomène pourrait contribuer à l'augmentation locale de M-CSF dans le site de l'inflammation.

Par contre, les IFN- $\alpha$  et - $\gamma$  n'ont aucun effet sur la production de M-CSF du cartilage articulaire et des chondrocytes humains en culture (CAMPBELL *et col.*, 1993).

#### a.4 - Interleukine-2 (IL-2)

L'IL-2 est synthétisée par les lymphocytes helper de type TH-1. L'IL-2 et l'IFN- $\gamma$  font partie des facteurs majeurs d'activation macrophagique. La cytotoxicité directe ou anticorps dépendante des macrophages, ainsi que la production d'IL-1 $\beta$ , d'IL-6 et de TNF- $\alpha$  peuvent être induites par l'IL-2 (VERSTOVSEK *et col.*, 1992). ESPINOZA-DELGADO *et col.* (1990) ont montré que l'IL-2 augmentait l'expression du gène du récepteur au M-CSF (ou proto-oncogène c-fms) dans les monocytes humains.

Par contre, DELLO SBARBA *et col.* (1996) ont mis en évidence que l'IL-2 diminuait la prolifération, dépendante du M-CSF, des macrophages (lignée cellulaire BAC-1,2F5 murine) et diminuait également l'expression des récepteurs au M-CSF. L'IFN- $\gamma$  et le LPS agissaient en synergie avec l'IL-2 sur la régulation des récepteurs au M-CSF. Les auteurs suggèrent que les actions combinées de l'IL-2 et de l'IFN- $\gamma$  augmenterait en fait les concentrations de protéine kinase C et de phospholipase C de façon suffisante pour déclencher le processus de dégradation des récepteurs au M-CSF.

#### a.5 - Interleukine-3 (IL-3)

L'IL-3 est un facteur de croissance du système hématopoïétique. Elle est produite essentiellement par les lymphocytes T, les monocytes/macrophages et les mastocytes. Elle intervient principalement dans la régulation de la prolifération et de la différenciation des cellules souches hématopoïétiques multipotentes.

Elle augmente le taux des transcrits du M-CSF et le taux de protéines M-CSF dans les monocytes humains (VELLENGA *et col.*, 1988). Pour ERNST *et col.* (1989), son mécanisme d'action est post-transcriptionnel avec une augmentation de la stabilité des ARNm du M-CSF.

#### a.6 - Interleukine-4 (IL-4)

L'IL-4 induit la production de M-CSF dans les monocytes humains (WIESER *et col.*, 1989). Par contre, l'IL-4 n'aurait aucun effet sur cette production dans les cultures de cartilage articulaire et de chondrocytes humains (CAMPBELL *et col.*, 1993).

Pour GRUBER *et col.* (1994), l'IL-4 et l'IL-10 diminueraient de façon significative la sécrétion de protéines M-CSF par les monocytes humains stimulés par un anticorps

anti-CD45 et l'IL-1 $\beta$ . Cette diminution de synthèse serait liée à une inhibition de la transcription du gène du M-CSF. La demi-vie des transcrits du M-CSF ne serait pas affectée. Ainsi, la production de M-CSF par les monocytes pourrait dépendre de la balance IL-1/IL-4 et IL-10 et donc, de l'équilibre TH-1/TH-2 au cours de la réponse immunitaire. La synthèse de M-CSF et par conséquent le degré d'activation des monocytes seraient régulés par la balance de ces cytokines.

#### a.7 - Interleukine-6 (IL-6)

L'IL-6 augmente le taux de protéines et d'ARNm du M-CSF dans les fibroblastes pulmonaires d'embryons humains en culture. Le mécanisme d'action de l'IL-6 est à la fois transcriptionnel et post-transcriptionnel, avec augmentation de la stabilité des ARNm (MANTOVANI *et col.*, 1991).

Pour CAMPBELL *et col.* (1993), par contre, l'IL-6 n'aurait aucun effet sur la production de M-CSF du cartilage articulaire et des chondrocytes humains en culture.

#### a.8 - Le transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ )

Le TGF- $\beta$  est un polypeptide intervenant dans la régulation de la différenciation et de la croissance de nombreux types cellulaires. Il est abondant dans la matrice osseuse où il est stocké sous forme latente, activé par les ostéoclastes au cours de la résorption osseuse et où il stimulerait la formation osseuse.

Il augmente l'expression de l'ARNm du M-CSF dans différentes lignées cellulaires mésenchymateuses, incluant ostéoblastes, cellules stromales médullaires, fibroblastes et myoblastes (TAKAISHI *et col.*, 1994; FELIX *et col.*, 1996). Dans les cellules ostéoblaste-like MC 3T3-E1, il est responsable d'une augmentation de la production de M-CSF par augmentation de la transcription du gène du M-CSF, mais également par stimulation de la synthèse de PDGF-A et -B (platelet derived growth factor-A et -B), eux-mêmes induisant la transcription du gène du M-CSF. L'IL-1 semble avoir les mêmes activités, avec une cinétique différente sur l'induction de PDGF-A et -B (TAKAISHI *et col.*, 1994). Ces résultats soulignent la complexité du réseau de cytokines modulant la production de M-CSF dans différentes conditions physiologiques et pathologiques.

Le TGF- $\beta$  n'a, par contre, aucune action sur la production de M-CSF du cartilage articulaire et chondrocytes humains en culture (CAMPBELL *et col.*, 1993).

### a.9 - Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)

Le GM-CSF est un facteur de croissance hématopoïétique qui possède des activités synergiques et en partie superposables à celles de l'IL-3 sur les cellules souches multipotentes. Il stimule et recrute également les macrophages, les polynucléaires neutrophiles ou éosinophiles et induit la production de cytokines telles que l'IL-1 et le TNF. Il a également la propriété de stimuler la production de M-CSF (VELLENGA *et col.*, 1988; ERNST *et col.*, 1989).

### a.10 - Facteurs de croissance sans tropisme hématopoïétique

Il s'agit principalement de l'epidermal growth factor (EGF), du platelet derived growth factor (PDGF) et du fibroblast growth factor (FGF).

L'EGF est présent essentiellement dans les granules plaquettaires et induit la prolifération de nombreux types de cellules épithéliales et des fibroblastes.

Le PDGF est produit par les plaquettes, les cellules endothéliales, placentaires et les macrophages activés. Il s'agit d'un agent mitogène de nombreux types cellulaires, notamment des fibroblastes, des ostéoblastes, des cellules musculaires lisses artérielles et des chondrocytes articulaires.

Le FGF sous forme acide ou basique appartient à une famille de protéines capables de se fixer à l'héparine. Il est produit par les macrophages, les fibroblastes, les cellules endothéliales et épithéliales et exerce une action mitogène *in vitro* sur les ostéoblastes et les chondrocytes. Il a la propriété de se fixer aux protéoglycanes dans la matrice cartilagineuse.

Le PDGF, l'EGF associé à l'insuline, le PDGF avec l'EGF et l'insuline ou le FGF avec l'EGF et l'insuline, entraînent une augmentation de l'expression du gène du M-CSF dans les fibroblastes humains en culture (FALKENBURG *et col.*, 1990). Le PDGF augmente également l'expression de l'ARNm du M-CSF dans les cellules ostéoblaste-like MC 3T3-E1 (TAKAISHI *et col.*, 1994).

Pour CAMPBELL *et col.* (1993), par contre, le bFGF et le PDGF n'ont que peu d'effets sur la production du M-CSF dans les cultures de cartilage articulaire et de chondrocytes humains.

**Tableau 1** : Induction de la synthèse de M-CSF par les différentes cytokines.

Cytokines		Cellules cibles	Auteurs
	$\alpha$	fibroblastes humains cellules Mia PaCa	FALKENBURG, 1990 KU, 1992
	$\beta$	cellules stromales médullaires humaines phagocytes mononucléés humains cellules ostéoblaste-like MC 3T3-E1 lymphocytes T humains	FIBBE, 1988 GRUBER, 1994 TAKAISHI, 1994 PRALORAN, 1990 a
	$\alpha$ et $\beta$	cartilage articulaire et chondrocytes humains	CAMPBELL, 1993
TNF	$\alpha$	lignée de cellules stromales humaines KM102	OHTSUKI, 1994 a
	$\alpha$ et $\beta$	ostéoblastes murins cellules HL-60 fibroblastes humains	KAPLAN, 1996 SHERMAN, 1990 AKASHI, 1989
IFN- $\gamma$		cellules stromales humaines KM102 monocytes humains	OHTSUKI, 1994 b RAMBALDI, 1987
IL-3		monocytes humains	VELLENGA, 1988 ERNST, 1989
IL-4		monocytes humains régulation négative pour les phagocytes mononucléés humains	WIESER, 1989 ERNST, 1989
IL-6		fibroblastes humains	MANTOVANI, 1991
IL-10		régulation négative dans les phagocytes mononucléés humains	GRUBER, 1994
TGF- $\beta$		ostéoblastes cellules ostéoblaste-like MC 3T3-E1 cellules stromales médullaires MC 3T3-PA6 fibroblastes NIH/3T3 myoblastes G-8	FELIX, 1996 TAKAISHI, 1994 TAKAISHI, 1994 TAKAISHI, 1994 TAKAISHI, 1994
GM-CSF		monocytes humains	VELLENGA, 1988 ERNST, 1989
PDGF		fibroblastes humains cellules ostéoblaste-like MC 3T3-E1	FALKENBURG, 1990 TAKAISHI, 1994
EGF		fibroblastes humains	FALKENBURG, 1990
FGF		fibroblastes humains	FALKENBURG, 1990

IL-1 (interleukine-1); TNF (tumor necrosis factor), IFN- $\gamma$  (interféron- $\gamma$ ); IL-3 (interleukine-3); IL-4 (interleukine-4); IL-6 (interleukine-6); IL-10 (interleukine-10); TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ); GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); PDGF (platelet derived growth factor); EGF (epidermal growth factor); FGF (fibroblast growth factor).

## b- Induction de la synthèse de cytokines par le M-CSF.

Les données de la littérature concernant l'induction de la synthèse de différentes cytokines par le M-CSF sont multiples et parfois contradictoires (HAMILTON, 1993 a). La difficulté d'interprétation est liée à différentes variables comme la pureté des populations cellulaires étudiées, la contamination éventuelle des cytokines recombinantes et du sérum par du LPS auquel les monocytes/macrophages sont très sensibles, l'état adhérent ou non des cellules (l'adhérence serait responsable d'une activation des monocytes et ainsi de l'augmentation de l'expression des ARNm des cytokines), la sensibilité et la spécificité des méthodes de dosage des cytokines, l'interférence de certains inhibiteurs des cytokines au cours des expériences, etc... (HAMILTON, 1993 a).

L'action du M-CSF sur la production des principales cytokines est résumée dans le tableau 2.

La production d'IL-1 est stimulée par le M-CSF dans les macrophages péritonéaux de souris (MOORE *et col.*, 1980). Pour OSTER *et col.* (1992), le M-CSF augmente le taux d'ARNm de l'IL-1 $\beta$  par augmentation de la transcription du gène avec une probable intervention du facteur de transcription NF- $\kappa$ B, et par augmentation de la stabilité de l'ARNm de l'IL-1 $\beta$ . Cette stimulation se traduit également par une augmentation de la sécrétion de protéine IL-1 $\beta$ . En induisant la synthèse d'IL-1 $\beta$ , le M-CSF amplifie ses propres effets sur l'hématopoïèse, mais pourrait également intensifier la réaction inflammatoire notamment dans les rhumatismes inflammatoires comme la PR.

Pour EVANS *et col.* (1995), le M-CSF recombinant humain induit la transcription des gènes de l'IL-1 $\alpha$ , de l'IL-1 $\beta$  et de l'IL-6 dans les cellules péritonéales de souris. La diminution de concentration en sérum dans le milieu de culture réduit significativement la transcription induite par le M-CSF, est associée à l'adhérence des cellules et à une diminution du taux d'ARNm et de protéine du récepteur au M-CSF. Bien que le niveau de transcription des cytokines soit élevé, seule l'IL-6 est libérée en grande quantité. L'activité IL-1 reste associée aux cellules. Pour les auteurs, la stimulation des cellules par le M-CSF déclencherait la transcription des gènes des cytokines comme l'IL-1, mais la sécrétion de ces cytokines nécessiterait un second signal. Ce mécanisme d'action du M-CSF ou « priming » éviterait la libération des cytokines ou la traduction de leurs ARNm tant que les cellules n'ont pas reçu un second signal. Le second signal pourrait être fourni grâce aux interactions entre

phagocytes mononucléés et cellules endothéliales vasculaires par l'intermédiaire de molécules d'adhésion, au cours de la migration vers le site inflammatoire.

Le M-CSF recombinant humain augmente l'expression de l'ARNm de l'IL-6 et l'activité IL-6 dans les monocytes humains adhérents (NAVARRO *et col.*, 1989). Les monocytes humains traités par M-CSF (purifié à partir de la lignée cellulaire Mia Pa Ca), puis par LPS et PMA augmentent leur activité TNF et IFN (WARREN *et col.*, 1986). L'activité anti-tumorale des monocytes humains est augmentée par le M-CSF recombinant humain, avec une élévation parallèle de la production de TNF (SAMPSON-JOHANNES *et col.*, 1988). Dans les cellules leucémiques myélomonocytaires THP-1, le traitement simultané par M-CSF et INF- $\gamma$  aboutit à une augmentation des taux d'ARNm et de protéines IL-1 $\beta$  et TNF- $\alpha$ , comparés aux taux obtenus après stimulation par M-CSF seul ou INF- $\gamma$  seul (KIMBALL *et col.*, 1995).

Le M-CSF semble capable d'induire également la production de GM- et G-CSF (HAMILTON, 1993 a). *In vivo*, après chimiothérapie, l'administration de M-CSF stimule la production de GM- et G-CSF par les monocytes (MOTOYOSHI *et col.*, 1994).

Le M-CSF recombinant humain augmente le taux d'ARNm, le taux de protéine et l'activité de l'IL-8 dans les monocytes humains (HASHIMOTO *et col.*, 1996). Il pourrait par cet intermédiaire augmenter le chimiotactisme et l'activité phagocytaire des polynucléaires neutrophiles, le chimiotactisme des lymphocytes et amplifier les interactions entre monocytes et lymphocytes dans la réaction inflammatoire.

Cependant, plusieurs auteurs ont publié des résultats contraires concernant l'induction de cytokines pro-inflammatoires par le M-CSF. En effet, pour STRASSMANN *et col.* (1991), le M-CSF n'induit pas l'expression de l'ARNm de l'IL-1 $\alpha$  dans les macrophages péritonéaux de souris. HAMILTON *et col.* (1993 d) ont montré que le M-CSF recombinant humain n'augmentait ni le taux d'ARNm, ni l'activité de l'IL-1 $\beta$ , de l'IL-6 et du TNF- $\alpha$  dans les monocytes humains. Pour EVANS *et col.* (1995), le M-CSF ne module pas l'expression de l'ARNm du TNF- $\alpha$ , ni l'activité GM-CSF des cellules péritonéales de souris.

*In vivo*, des souris C57 Black/6 ont été vaccinées par le BCG à J0 puis ont été traitées par du M-CSF recombinant humain à partir de J2 (30  $\mu$ g/souris tous les 2 jours, 6 fois) et par du LPS à J14 (25  $\mu$ g/souris). La production d'IFN et de TNF- $\alpha$  est supprimée par ce traitement. Ces effets suppressifs du M-CSF ont été vérifiés *in vitro* dans des cultures de cellules spléniques prélevées chez la souris à J14. Par contre, il n'existe

aucune suppression de l'IFN et du TNF- $\alpha$  chez la souris nude BALB/c. La réaction lymphocytaire mixte, réalisée avec des cellules spléniques de souris C57 Black/6 traitées par M-CSF et utilisées comme cellules répondeuses et des cellules spléniques de souris C3H traitées par mitomycine C comme cellules stimulatrices, est négative (KOJIMA *et col.*, 1996). Ainsi, le mécanisme d'action de la diminution de production d'IFN et de TNF- $\alpha$  par le M-CSF pourrait faire intervenir les lymphocytes T.

**Tableau 2** : M-CSF et induction de la synthèse de cytokines.

Cytokines	Type cellulaire	Réponse	Auteurs
IL-1	macrophages péritonéaux de souris	+	MOORE, 1980
	macrophages péritonéaux de souris	+	EVANS, 1995
	phagocytes mononucléés humains	+	OSTER, 1992
	monocytes humains	-	HAMILTON, 1993 d
	macrophages péritonéaux de souris	-	STRASSMANN, 1991
TNF- $\alpha$	cellules péritonéales de souris	-	EVANS, 1995
	monocytes humains	-	HAMILTON, 1993 d
	monocytes humains	+	WARREN, 1986
	monocytes humains	+	SAMPSON-JOHANNES, 1988
IFN	monocytes humains	+	WARREN, 1986
IL-6	monocytes humains	+	NAVARRO, 1989
	macrophages péritonéaux de souris	+	EVANS, 1995
	monocytes humains	-	HAMILTON, 1993 d
	macrophages de souris	-	STRASSMANN, 1991
IL-8	monocytes humains	+	HASHIMOTO, 1996
GM-CSF	cellules péritonéales de souris	-	EVANS, 1995
	monocytes humains	+	MOTOYOSHI, 1994

IL-1: interleukine-1. TNF- $\alpha$ : tumor necrosis factor- $\alpha$ . IFN: interféron. IL-6: interleukine-6. IL-8: interleukine-8. GM-CSF: granulocyte monocyte colony-stimulating factor. Réponse (+) : stimulation de la synthèse de cytokine par le M-CSF, réponse (-) : pas de stimulation.

Le M-CSF participe certainement à la réaction inflammatoire, notamment dans la PR, par l'intermédiaire de ses actions sur les monocytes/macrophages. Dans la synovite rhumatoïde, les monocytes/macrophages produisent de l'IL-1 et du TNF- $\alpha$ , qui



peuvent à leur tour induire la synthèse de M-CSF par les cellules endothéliales, les phagocytes mononucléés, les fibroblastes synoviaux, les chondrocytes et les ostéoblastes. La capacité du M-CSF à stimuler la synthèse d'IL-1 et de TNF- $\alpha$  par les monocytes/macrophages reste incertaine et débattue. Cependant, le M-CSF intervient probablement dans une étape de préparation des cellules (« priming ») à la synthèse de diverses cytokines, notamment de l'IL-1. Cette boucle de stimulation pourrait également dépendre de costimulations de natures diverses s'exerçant sur les cellules *in vivo*.

## 2- M-CSF ET METABOLISME DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE.

Parmi les médiateurs et les effecteurs de l'inflammation, notamment dans la PR, les prostaglandines (Pgs) jouent un rôle important. Elles appartiennent à la famille des eicosanoïdes, molécules dérivées de l'oxydation enzymatique de l'acide arachidonique, acide gras polydésaturé des phospholipides membranaires. Les cyclooxygénases sont des enzymes clefs dans la synthèse des Pgs. Il existe 2 isoformes: la cyclooxygénase-1 (COX-1), exprimée de façon constitutive et la cyclooxygénase-2 (COX-2), isoforme inductible exprimée sous l'influence de nombreux stimuli, dont l'IL-1 et le TNF- $\alpha$  (HLA *et col.*, 1992). Les Pgs ont des propriétés vasodilatatrices et potentialisent les effets d'autres médiateurs comme la bradykinine, le leucotriène B<sub>4</sub> et l'histamine. Ce sont de puissants stimulateurs de l'angiogénèse (SALMON *et col.*, 1987). Elles ont également des propriétés immunorégulatrices en inhibant certaines fonctions des cellules B et T, en potentialisant le switch des immunoglobulines et la synthèse de certaines cytokines et de leurs récepteurs (PHIPPS *et col.*, 1991).

Des taux élevés de PGE<sub>2</sub> ont été détectés dans le liquide articulaire de PR, comparé à ceux dans l'arthrose. Les protéines COX-1 et COX-2 sont présentes dans la synoviale de PR. Les taux d'ARNm et de protéine COX-2 sont augmentés après stimulation par l'IL-1 dans les explants de tissu synovial et dans les cultures primaires de synoviocytes de PR (CROFFORD, 1995). PGE<sub>2</sub> interviendrait dans la destruction du cartilage et dans la résorption osseuse ostéoclastique locale de la PR (MARIE *et col.*, 1993).

Les macrophages sont capables de libérer de la PGE<sub>2</sub>, qui en retour peut moduler certaines fonctions macrophagiques comme la phagocytose. KURLAND *et col.* (1978), ont proposé un modèle de feed back négatif où le M-CSF stimulerait la prolifération et la différenciation des précurseurs macrophagiques en macrophages matures et

induirait la synthèse de PGE<sub>2</sub> par les cellules matures. En retour, PGE<sub>2</sub> inhiberait la prolifération des précurseurs.

PGE<sub>2</sub> inhibe l'expression des ARNm du M-CSF et diminue la production de protéines M-CSF dans les monocytes humains en culture stimulés par du LPS (LEE *et col.*, 1990).

PGE<sub>2</sub> diminue également l'expression des ARNm du M-CSF, induite par le TNF dans les cellules HL-60 et ceci de façon dose dépendante (SHERMAN *et col.*, 1990).

Dans les monocytes humains, NAKAMURA *et col.* (1992) ont montré que le M-CSF entraînait la phosphorylation et l'activation de la PLA<sub>2</sub> cytosolique, suivies de la libération d'acide arachidonique et de la production de PGE<sub>2</sub>.

Cependant des résultats contraires ont été obtenus par d'autres auteurs. En effet, le M-CSF n'augmente pas la production de PGE<sub>2</sub> dans les cultures de macrophages de souris (STRASSMANN *et col.*, 1991) et dans les cultures de monocytes humains (HAMILTON *et col.*, 1993 d). SHIBATA *et col.* (1994) ont montré que les macrophages médullaires adhérents de souris stimulés par le M-CSF n'expriment qu'une très faible quantité d'ARNm et de protéine COX-1, contrairement aux mêmes cellules stimulées par l'IL-3 et le GM-CSF. L'activité enzymatique de la COX-1 est faible contrairement à l'activité enzymatique de la PLA<sub>2</sub> qui reste comparable à celle des cellules traitées par GM-CSF ou IL-3. L'ARNm et la protéine COX-2 sont absents, que les cellules soient traitées par M-CSF, GM-CSF ou IL-3. La production de PGE<sub>2</sub> et autres eicosanoïdes des cellules traitées par le M-CSF est significativement plus basse que celle des cellules traitées par GM-CSF ou IL-3.

Pour XU *et col.* (1994), le M-CSF entraîne la phosphorylation et l'activation de la PLA<sub>2</sub> cytosolique dans la lignée cellulaire BAC1.2F5 de macrophages murins et dans les macrophages péritonéaux de souris. Par contre, la libération d'acide arachidonique n'est pas augmentée et la production de PGE<sub>2</sub> diminue après stimulation par le M-CSF dans les 2 types cellulaires.

### 3 - M-CSF ET ACTIVATEUR DU PLASMINOGENE

L'activateur du plasminogène de type urokinase (u-PA) est une sérine protéase qui est responsable du clivage du plasminogène en plasmine. La plasmine catalyse directement la dégradation de la matrice extra-cellulaire et agit également de façon indirecte en activant les métalloprotéinases comme la collagénase et la stromélysine. L'activité u-PA est associée au remodelage tissulaire et à la migration cellulaire. En

effet, l'u-PA pourrait permettre la dégradation de la matrice extra-cellulaire et ainsi la migration des macrophages à travers les tissus.

Les taux d'u-PA sont élevés dans le liquide synovial de PR (SAXNE *et col.*, 1993). *In vitro*, les synoviocytes fibroblastiques de PR produisent de l'u-PA. Cette production est augmentée par l'IL-1 et diminuée par la dexaméthasone et l'indométacine (HAMILTON *et col.*, 1991).

D'autre part, le M-CSF augmente le taux d'ARNm et l'activité u-PA dans les macrophages et les monocytes humains (HAMILTON *et col.*, 1993 d). Ainsi, le M-CSF pourrait augmenter la production d'u-PA des synoviocytes et macrophages de la synoviale rhumatoïde et être responsable, tout comme l'IL-1, de la destruction articulaire.

## II- IMMUNOLOGIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.

La PR est un rhumatisme inflammatoire chronique fréquent, dont la prévalence pourrait être de 1% dans la population adulte. Elle atteint trois fois plus la femme que l'homme, surtout entre 30 et 50 ans. Sa pathogénie reste obscure, même si l'on pense qu'il s'agit d'une affection auto-immune, impliquant préférentiellement les lymphocytes T, en réponse à une stimulation antigénique de nature variable (antigènes ou super-antigènes, endogènes ou exogènes), dans un contexte de susceptibilité génétique. Après une phase variable d'installation de la maladie, la période d'état se caractérise par une polyarthrite bilatérale, symétrique et destructrice, d'évolution chronique entrecoupée de phases aiguës et parfois compliquée de manifestations systémiques.

### A- ANATOMIE DE LA SYNOVITE RHUMATOÏDE.

#### 1- HISTOLOGIE DU TISSU NORMAL.

La membrane synoviale normale est constituée de 2 à 3 couches cellulaires composées de synoviocytes et appelée intima, reposant sur un tissu fibro-adipeux vascularisé appelé sous-intima. L'absence de membrane basale entre tissu synovial et tissu sous-synovial facilite les échanges. Sur le plan histologique, il existe 2 types de synoviocytes (FITZGERALD *et col.*, 1995). Les synoviocytes de type A ou « macrophage-like »

représentent 20 à 30% des cellules synoviales et ont un aspect macrophagique: appareil lysosomal très riche, reticulum endoplasmique réduit, noyau riche en hétérochromatine et extensions digitiformes. Elles expriment des marqueurs macrophagiques, notamment CD14 et CD68. Ce sont des cellules d'origine hématopoïétique.

Les synoviocytes de type B ou « fibroblaste-like » représentent 70 à 80% des cellules synoviales. Leur aspect suggère une nature fibroblastique: forme allongée, reticulum endoplasmique et appareil de Golgi très développé, peu de vacuoles, extensions digitiformes et noyau pâle. Leur origine serait locale, dérivant des fibroblastes du tissu sous-synovial, dont elles se distinguent par l'expression d'UDPGD (uridine diphosphoglucose dihydrogénase) et de VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule).

Les synoviocytes sont des cellules à faible pouvoir de division. Les cellules de type A ont surtout une activité phagocytaire. Elles peuvent également présenter l'antigène puisqu'elles sont porteuses de molécules HLA de classe II. Les cellules de type B ont une activité de synthèse protéique: synthèse des constituants de la matrice extracellulaire, mais aussi des métalloprotéinases.

## 2- LA SYNOVITE RHUMATOÏDE.

La synovite rhumatoïde est caractérisée par une hyperplasie de la membrane synoviale, avec un épaissement de la couche cellulaire bordante (intima), un infiltrat de cellules inflammatoires périvasculaires, un œdème interstitiel et une angiogénèse exagérée (PALMER *et col.*, 1995). L'épaississement de l'intima est probablement le résultat d'une prolifération des synoviocytes de type B et d'un recrutement important de macrophages (FITZGERALD *et col.*, 1995). Dans la sous-intima, l'infiltrat inflammatoire périvasculaire est composé essentiellement de macrophages, de lymphocytes T avec une prédominance des CD4 par rapport aux CD8. Le nombre de lymphocytes B est faible. Les lymphocytes T CD4+ prédominent en effet dans les zones denses périvasculaires autour des macrophages. Cependant, les lymphocytes T CD8+ sont bien représentés dans les zones dites « transitionnelles » à la périphérie des agrégats cellulaires (FITZGERALD *et col.*, 1995).

Les premiers événements restent obscurs. Plusieurs arguments plaident pour une accumulation initiale de cellules macrophagiques avec un phénotype activé, suivie d'une prolifération des cellules fibroblastiques, caractérisées également par des modifications phénotypiques (PALMER *et col.*, 1995).

Cependant, il a été mis en évidence récemment, dans les PR débutantes, un autre type de cellules synoviales appelées « pannocytes ». Ces cellules n'ont pas les caractéristiques des synoviocytes de type A ou B et sont probablement d'origine mésenchymateuse. Elles siègent à la jonction pannus et zones d'érosions osseuses et ont un potentiel important d'expression de molécules d'adhésion VCAM. Elles pourraient avoir un rôle précoce dans l'initiation de la synovite rhumatoïde (ZVAIFLER *et col.*, 1994).

## **B- LES ACTEURS CELLULAIRES.**

### **1- RÔLE DES LYMPHOCYTES T.**

De nombreux arguments cliniques et expérimentaux plaident en faveur de l'hypothèse selon laquelle la PR serait une maladie à médiation cellulaire T (PANAYI *et col.*, 1992):

- La grande richesse de la synoviale rhumatoïde en lymphocytes T notamment dans la région sous-intimale et autour des vaisseaux.
- La plupart des lymphocytes T synoviaux possèdent un aspect « mémoire », défini par l'expression sur la membrane de l'antigène CD45RO, témoin de la préactivation précédant leur migration dans la membrane synoviale.
- La possibilité de transférer l'arthrite à l'adjuvant, modèle animal de la PR, à des animaux sains par l'intermédiaire de clones T issus des animaux malades.
- L'efficacité des traitements ayant pour cible les lymphocytes T: irradiation lymphoïde totale, ciclosporine et anticorps anti-CD4.

Le rôle pivot du lymphocyte T, dans la pathogénie de la PR, est renforcé par l'hypothèse du peptide arthritogène. Le peptide arthritogène pourrait être d'origine exogène (agents infectieux ou super-antigènes) ou endogène (collagène, protéoglycanes, super-antigènes, etc...). Il serait reconnu de façon anormale par les lymphocytes T CD4, avec comme conséquences la prolifération et l'activation des lymphocytes T, des lymphocytes B, la sécrétion de cytokines et de médiateurs inflammatoires.

Cependant, d'autres constats font des lymphocytes synoviaux des cellules peu actives (CANTAGREL *et col.*, 1995):

- A la surface des lymphocytes, les marqueurs tardifs d'activation (HLA-DR ou VLA-1) sont principalement présents, alors que le CD25, récepteur de haute affinité à l'IL-2 et marqueur d'activation précoce, est rarement exprimé.
- Les lymphocytes T sont petits et quiescents. Le nombre de cellules T en phase de multiplication est très faible, évalué à 1%.
- Les cytokines produites par les lymphocytes T activés sont en faible quantité: IL-2, IL-3, IL-4 et IFN- $\gamma$ .
- L'absence d'oligoclonalité des lymphocytes T dans la synoviale rhumatoïde.

Chaque lymphocyte T possède un récepteur ou TCR constitué de 2 chaînes peptidiques  $\alpha$  et  $\beta$  ( $\gamma$  et  $\delta$  plus rarement). Chaque chaîne comporte, de manière analogue aux immunoglobulines, une partie constante et une partie variable. La partie variable (régions CDR) est responsable de la reconnaissance des antigènes présentés par les molécules HLA de classe II. La région CDR3, unique pour chaque cellule T, est plus particulièrement impliquée dans la reconnaissance fine de l'antigène (figure 5).

La recherche d'une oligoclonalité des lymphocytes T dans le tissu synovial par les études des régions variables du TCR (répertoire T) a donné au départ des résultats conflictuels. Cependant, certaines études ont souligné l'utilisation préférentielle par les cellules T synoviales de certaines familles de gènes V $\beta$  (gènes codant pour la partie variable de la chaîne  $\beta$  du TCR): V $\beta$ 3, V $\beta$ 14 et V $\beta$ 17 (CANTAGREL *et col.*, 1995).

Plusieurs travaux récents permettent de penser qu'il existe dans la synoviale rhumatoïde une activation spécifique d'un nombre restreint de clones T. L'existence des mêmes clones T dans différentes articulations ou à des temps différents de la maladie est un argument important pour penser que cette activation est spécifique de la maladie. La fréquence de ces clones dominants est difficile à définir, mais représenterait 1 à 2 % de l'ensemble des cellules T synoviales. L'intérêt de ces travaux est de pouvoir isoler les lymphocytes T susceptibles de reconnaître de façon spécifique le ou les antigènes associés à la PR.

En fait, la grande majorité des cellules T serait activée de façon non spécifique dans le tissu synovial. Ainsi, l'interaction entre les cellules endothéliales des capillaires

synoviaux et les lymphocytes T lors de leur migration dans la membrane synoviale entraînerait la coexpression de CD69 (marqueur d'activation précoce) et de HLA DR, à l'origine d'une activation non spécifique des lymphocytes T (IANNONE *et col.*, 1994). D'autres voies d'activation, toujours non spécifiques, pourraient être utilisées indépendamment du TCR, par l'intermédiaire de molécules de surface comme CD2 (ligand de LFA-3) et VLA 4/5 (ligand de la fibronectine) (YAMADA *et col.*, 1991).

En ce qui concerne le ou les antigène(s) arthritogène(s), les questions restent encore ouvertes. Il existe 2 hypothèses, celle des antigènes classiques et celle des super-antigènes, qui ne sont pas forcément contradictoires.

Trois familles de gènes V $\beta$  (V $\beta$ 3, V $\beta$ 14 et V $\beta$ 17), utilisées préférentiellement par les lymphocytes T synoviaux, possèdent une importante homologie dans leur région CDR4, région reconnue comme impliquée dans la reconnaissance des super-antigènes (figure 5 B). Un super-antigène est porté mais non processé par les molécules HLA et est capable d'activer de façon polyclonale tous les lymphocytes T porteurs d'une région CDR4 identique appartenant à une famille unique de gènes V $\beta$  (HOWELL *et col.*, 1991). Le MAM (mycoplasma arthritidis mitogen) est un super-antigène capable de stimuler les lymphocytes utilisant les gènes V $\beta$  des familles V $\beta$ 3 et V $\beta$ 17. Ce super-antigène est aussi capable d'induire chez la souris des manifestations articulaires similaires à la PR (FRIEDMAN *et col.*, 1991). Il est probable que d'autres super-antigènes d'origine bactérienne ou virale, ayant les mêmes propriétés, restent à identifier.

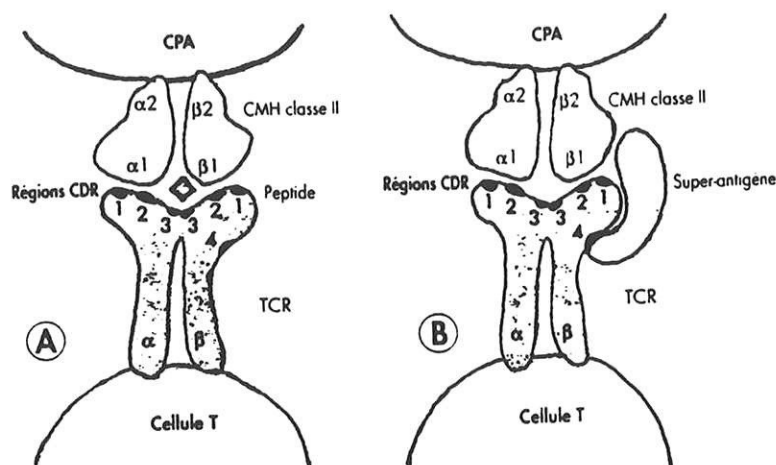
L'autre hypothèse concerne les antigènes classiques (figure 5 A). Certaines protéines sont des candidats potentiels à la fonction d'antigène activateur dans la PR : le collagène II, IX ou XI, les protéoglycanes, les antigènes mycobactériens, les protéines de choc thermique, la fillagrine, etc... (CANTAGREL *et col.*, 1995). De nombreux fragments peptidiques d'agents infectieux ont des similitudes de séquence avec des antigènes du soi. La présence de ces agents infectieux pourrait stimuler des clones de lymphocytes T auto-réactifs, normalement quiescents (principe du mimétisme moléculaire).

D'autre part au cours du développement lymphocytaire, les lymphocytes fortement réactifs contre une protéine du soi sont éliminés dans le thymus (sélection négative). Cependant, des lymphocytes T auto-réactifs peuvent passer à travers cette sélection négative thymique, notamment lorsqu'ils sont dirigés contre certaines protéines du soi normalement « cachées » (collagène, protéoglycanes, etc...). Ces protéines, une fois

« démasquées », peuvent activer les clones T auto-réactifs (principe de l'antigène caché).

Cependant aucun de ces antigènes ou super-antigènes n'a pu être formellement retenu dans ce rôle.

**Figure 5 :** Reconnaissance par le récepteur du lymphocyte T (TCR) de l'antigène ou du super-antigène.

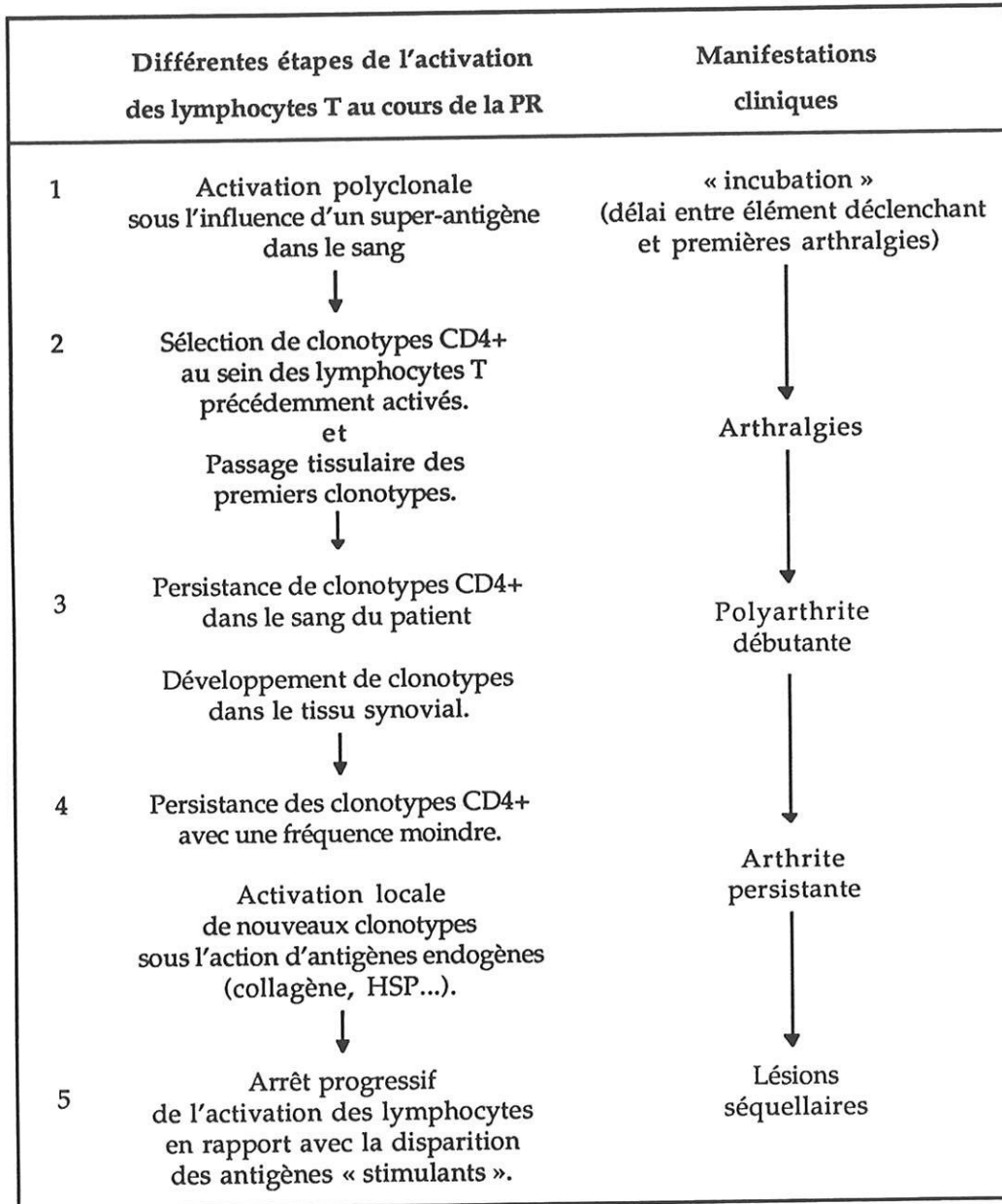


**A** - Interaction entre le récepteur de la cellule T (TCR) et le complexe molécule de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité/peptide. **B** - Interaction entre le récepteur de la cellule T, la molécule du complexe majeur d'histocompatibilité et un super-antigène (CPA : cellule présentatrice d'antigène ; CDR : région hyper-variable, ou complementary determining region ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité).

C'est dans le sang que GORONZY *et col.* (1994) situent les événements les plus précoces de la PR. En effet, ils ont identifié des clonotypes fréquents au sein des cellules T CD4+ de patients souffrant de PR depuis moins de 6 mois. Ces clonotypes sont rares dans le liquide articulaire et sont absents chez des sujets témoins. Cette activation dans le sang pourrait rendre compte du phénotype « mémoire » CD45R0 des lymphocytes T dans la synoviale. Il serait en fait possible que l'élément initial soit une activation des lymphocytes T dans le sang par un super-antigène, suivie d'une sélection et d'une prolifération clonale. Ces clonotypes se développeraient dans le tissu synovial. Après plusieurs mois ou années, d'autres clones T seraient activés sous l'influence de protéines du soi, libérées sous l'action des premiers événements lésionnels,



entretenant l'activation des cellules T par l'intermédiaire de certains épitopes cryptiques vis à vis desquels la tolérance n'a pas été acquise (figure 6).



**Figure 6:** Hypothèse retraçant les différentes étapes de la stimulation spécifique (engageant le TCR) des cellules T au cours de l'évolution de la maladie.

## 2 - ROLE DES MACROPHAGES ET FIBROBLASTES SYNOVIAUX

FIRESTEIN *et col.* (1990) remettent en question le rôle principal et initiateur du lymphocyte T dans la physiopathogénie de la PR. En effet, dans la synoviale rhumatoïde, les lymphocytes T CD4+ paraissent quiescents, n'expriment pas leurs marqueurs d'activation (IL-2R, VLA-1, transferrine) et surtout les cytokines produites par les lymphocytes T activés sont en très faible quantité (IL-2, IL-3, IL-4 et IFN- $\gamma$ ). Au contraire, les synoviocytes macrophage-like (type A) et fibroblaste-like (type B) expriment des marqueurs d'activation. Les cytokines majoritaires dans le liquide articulaire ou la synoviale de PR (IL-1, TNF- $\alpha$  et IL-6) sont produites par ces cellules. Dans l'arthrite à l'adjuvant complet de Freund, les synoviocytes sont activés et expriment des molécules HLA de classe II avant le début de l'arthrite et surtout avant l'afflux de cellules mononucléées dans la membrane synoviale (LOPEZ-BOTE *et col.*, 1988).

### a - Fibroblastes synoviaux

Les fibroblastes synoviaux expriment des proto-oncogènes et autres facteurs de transcription, comme c-fos, jun-B, c-myc, myb et Ras. Ces gènes (immediate-early response genes) sont induits par différents stimuli et sont des marqueurs d'activation cellulaire, dont la finalité est la prolifération et sécrétion cellulaires. Ils sont par contre exprimés de façon beaucoup moins importante dans les fibroblastes synoviaux d'arthrose (KINNE *et col.*, 1995). Les anomalies morphologiques des fibroblastes synoviaux et l'expression massive de proto-oncogènes pourraient correspondre à une transformation pseudo-tumorale de ces cellules, bien que le taux de prolifération cellulaire soit faible.

D'autre part, ces cellules produisent *in vitro*, après stimulation par l'IL-1 ou le TNF- $\alpha$ , de nombreuses enzymes protéolytiques de type métalloprotéinases, cystéine et sérine protéases, impliquées dans la dégradation du cartilage articulaire.

L'induction d'érosions du cartilage par greffe de fibroblastes synoviaux chez la souris SCID, déficiente en lymphocytes T et B, indique également que ces cellules jouent un rôle primordial dans le développement de l'arthrite et qu'elles sont capables d'induire une arthrite sans l'intervention des lymphocytes (SACK *et col.*, 1994).

## b - Les macrophages synoviaux

Le système phagocytaire mononucléé de la membrane synoviale est représenté par les synoviocytes macrophagiques de type A de la région intimale et les macrophages de la région sous-intimale et du liquide synovial.

Les études d'immunophénotype ont montré que la prolifération synoviale, dans la PR, était largement liée au recrutement des macrophages (ATHANASOU *et col.*, 1995).

D'autre part, les macrophages de l'intima et de la sous-intima n'ont pas exactement le même phénotype. Il existe notamment une absence ou une diminution d'expression de CD25 (IL-2R), CD35 (récepteur de C3b) et CD34 à la surface des macrophages de l'intima par rapport à ceux de la sous-intima (ATHANASOU *et col.*, 1991). Ceci pourrait refléter des différences de statut fonctionnel ou de microenvironnement des 2 types cellulaires. Cette modification d'expression des antigènes de surface pourrait également correspondre à une différenciation des macrophages de la région sous-intimale en macrophages de la région intimale.

L'ensemble des macrophages synoviaux est également caractérisé par une augmentation de l'expression de diverses molécules d'adhésion : l'intégrine  $\beta 2$ , CD11a, CD11b, CD11c, VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), E-sélectine, LAF-3 (lymphocyte function associated antigen-3) et ICAM-3 (ATHANASOU *et col.*, 1995).

Dans une étude sur 6 ans en moyenne et portant sur 28 patients atteints de PR, MULHERIN *et col.* (1996) ont mis en évidence une corrélation entre le nombre de macrophages synoviaux et la destruction articulaire radiologique.

Pour FIRESTEIN *et col.* (1990), il existerait entre macrophages et fibroblastes synoviaux un système paracrine/autocrine complexe. En effet, les macrophages sont capables de libérer de l'IL-1 et du TNF- $\alpha$  qui stimulent la prolifération des fibroblastes et augmentent la production d'IL-6 et de GM-CSF. Le GM-CSF peut stimuler la synthèse d'IL-1 et augmenter l'expression des molécules HLA de classe II sur les macrophages.

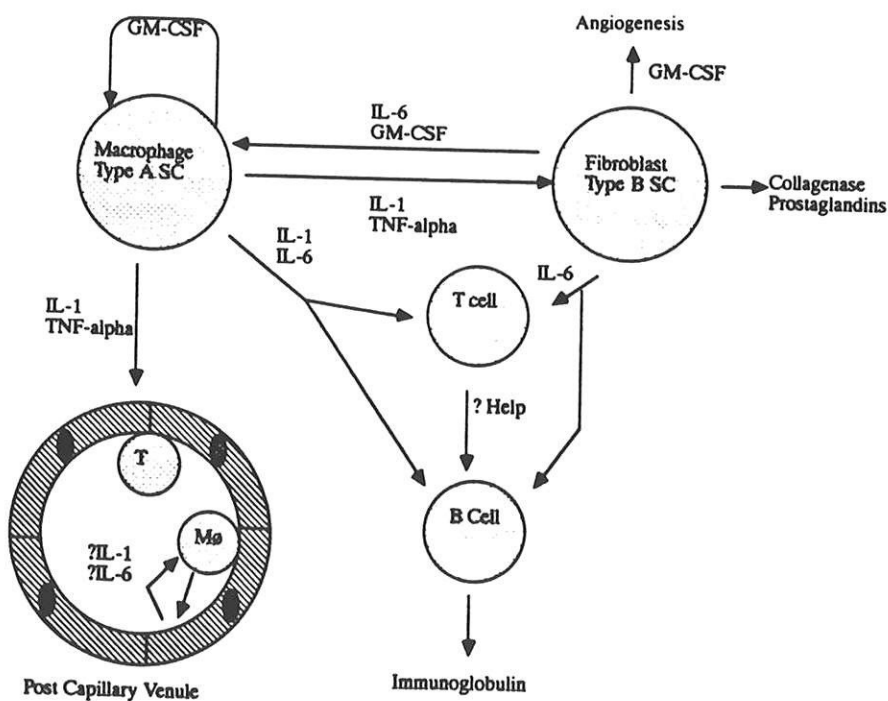
Le TNF- $\alpha$  peut agir en synergie avec le GM-CSF. La production locale de cytokines pourrait avoir un impact sur les cellules T et contribuer à leur faible degré d'activation. L'activation des cellules B et la production de facteurs rhumatoïdes pourraient être le résultat de mécanismes indépendants des cellules T.

La destruction articulaire est probablement liée à la libération de cytokines par les macrophages et les fibroblastes activés. Ces cellules, beaucoup plus que les lymphocytes

T, prédominant à la jonction synoviale/cartilage où débutent les érosions. La libération d'IL-1 et de TNF- $\alpha$  par les macrophages synoviaux stimule la synthèse par les synoviocytes de collagénase, élastase, activateur du plasminogène et prostaglandines, qui sont les principaux effecteurs de la destruction articulaire.

Les cytokines et en particulier l'IL-1 et le TNF- $\alpha$  augmentent l'expression de molécules d'adhésion (ICAM-1, LFA-3, VCAM-1 et E-sélectine) à la surface des cellules endothéliales et permettent ainsi la migration des cellules T à travers l'endothélium vasculaire vers la synoviale. Les lymphocytes T seraient ainsi de simple « spectateurs », attirés par le processus inflammatoire, et n'auraient aucun rôle initiateur dans la synovite rhumatoïde.

La PR pourrait ainsi résulter d'un dérèglement local des fonctions des macrophages et fibroblastes synoviaux, entraînant une hyperproduction de cytokines et une stimulation aspécifique des lymphocytes T et B (figure 7).



**Figure 7** : Interaction des cytokines dans la synoviale de polyarthrite rhumatoïde (FIRESTEIN *et col.*, 1990). GM-CSF : granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, SC : synoviocyte, IL : interleukine, TNF : tumor necrosis factor, Mø : monocyte.

## C - CYTOKINES ET POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* montrent que les cytokines sont parmi les principaux médiateurs des maladies immuno-inflammatoires. L'importance de ces cytokines, et notamment de l'IL-1 et du TNF- $\alpha$ , dans l'inflammation et la destruction articulaire a été bien établie dans la PR (DAYER, 1994). Ce sont des glycoprotéines solubles de faible poids moléculaire, libérées par des cellules en réponse à des signaux spécifiques et influençant la fonction de cellules cibles de façon autocrine ou paracrine. Leurs effets sont multiples, parfois opposés, parfois synergiques. Elles constituent un réseau complexe où l'on peut artificiellement séparer les cytokines « pro-inflammatoires », telles l'IL-1, le TNF- $\alpha$  et l'IL-6 et les cytokines « anti-inflammatoires » telles l'IL-4, l'IL-10 et le TGF- $\beta$ . Leurs activités sont dues à leur liaison à des récepteurs spécifiques sur les cellules cibles. Il existe également des protéines possédant une activité inhibitrice contre l'IL-1 et le TNF- $\alpha$  (AREND *et col.*, 1995).

### 1 - LES CYTOKINES PRO-INFLAMMATOIRES

#### a - L'interleukine-1 (IL-1)

L'IL-1 est produite par les monocytes/macrophages, mais aussi les cellules endothéliales, les lymphocytes B et les lymphocytes T activés. Elle existe sous 2 formes : l'IL-1 $\alpha$ , protéine essentiellement associée à la cellule, consistant en 159 acides aminés d'un poids moléculaire de 17,5 kDa et l'IL-1 $\beta$  (153 acides aminés et 17,3 kDa) libérée en grande partie dans le milieu extra-cellulaire. Ces 2 cytokines sont synthétisées dans un premier temps sous forme de peptides précurseurs de 31 kDa. Le précurseur de l'IL-1 $\alpha$  a une activité biologique. Ce n'est pas le cas du précurseur de l'IL-1 $\beta$ , qui nécessite d'être scindé par une enzyme, appelée « IL-1 converting enzyme » (ICE) (DAYER, 1994). Deux récepteurs distincts de l'IL-1 ont été caractérisés : l'IL-1 RI et l'IL-1 RII. L'IL-1 $\alpha$  et  $\beta$  se lient aux 2 récepteurs avec des affinités différentes. Le récepteur de type II n'induit aucun signal intracellulaire, mais fonctionne uniquement comme « récepteur piège » (decoy receptor). Les domaines extra-cellulaires des récepteurs peuvent être clivés et agir comme des inhibiteurs solubles de l'IL-1 (DINARELLO *et col.*, 1994).

Dans la PR, l'IL-1 a probablement un rôle très important (figure 8). Des taux élevés d'IL-1 ont été détectés dans le liquide synovial. Le tissu synovial *in vitro* produit spontanément de l'IL-1 $\alpha$  et  $\beta$ , associées à une expression importante des ARNm des 2 cytokines. L'IL-1 $\beta$  est présente dans le sang périphérique avec parfois des taux corrélés à l'activité de la maladie (DAYER, 1994).

Les injections intra-articulaires d'IL-1 chez le rat provoquent une arthrite destructrice. Les arthrites au collagène ou l'arthrite de la souris MRL-lpr sont aggravées par l'administration locale ou systémique d'IL-1 (AREND *et col.*, 1995).

L'IL-1 peut exercer différents effets systémiques, incluant fièvre, inappétence, synthèse de protéines de la phase aiguë.

Dans la synovite rhumatoïde, l'IL-1 contribue au chimiotactisme des neutrophiles, lymphocytes et monocytes, stimule les fonctions des lymphocytes T et B, et augmente l'expression des molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales. D'autre part, elle stimule la production de nombreux médiateurs intervenant dans la destruction articulaire : collagénase, autres protéinases neutres, PGE<sub>2</sub> et activateur du plasminogène. Elle induit également la synthèse d'IL-6, d'IL-8 par les fibroblastes et d'IL-2 par les lymphocytes T (KOCH *et col.*, 1995).

L'inhibiteur spécifique de l'IL-1 $\alpha$  et  $\beta$  est le récepteur antagoniste de l'IL-1 (IL-1Ra). Il se lie au récepteur de l'IL-1, mais n'est pas capable de déclencher la transduction d'un signal intracellulaire. Il est essentiellement produit par les monocytes/macrophages. Des taux élevés d'IL-1Ra ont été détectés dans le liquide synovial de PR. La transfection *in vivo* des cellules synoviales de lapin avec l'ADNc de l'IL-1Ra prévient l'inflammation articulaire déclenchée par l'injection intra-articulaire d'IL-1. Une étude multicentrique de phase II avec l'IL-1Ra recombinant chez 175 patients atteints de PR montre une amélioration clinique, maintenue sur plusieurs mois par des injections hebdomadaires (AREND *et col.*, 1995).

#### b - Le facteur de nécrose tumorale ou tumor necrosis factor (TNF)

Le TNF- $\alpha$  est produit dans la cellule sous la forme d'un pro-peptide de 26 kDa. La molécule biologiquement active du TNF- $\alpha$  existe en solution sous la forme d'un trimère possédant des sous-unités d'environ 17 kDa. Il existe également une forme membranaire du TNF- $\alpha$  (environ 1 à 2%) qui est biologiquement active.

Le TNF- $\alpha$  exerce ses activités en se liant à des récepteurs spécifiques, qui sont de 2 types : un récepteur de 55 kDa (TNF-R55) et un autre de 75 kDa (TNF-R75). La portion extracellulaire des 2 récepteurs peut être clivée et cette forme soluble de récepteur peut se lier au TNF- $\alpha$  et inhiber ses activités biologiques (DAYER, 1994).

Le TNF- $\alpha$  est essentiellement produit par les monocytes/macrophages. Comme l'IL-1, il stimule la production de collagénase et de PGE2 par les synoviocytes et l'expression de molécules d'adhésion par les cellules endothéliales. Il s'agit d'un facteur de croissance des fibroblastes. De plus, il induit la production d'autres cytokines comme l'IL-6 et l'IL-8 par les synoviocytes. Pour illustrer la complexité du réseau des cytokines, la production de TNF- $\alpha$  est stimulée par l'IFN- $\gamma$  et l'IL-1 et la production d'IL-1 par les cellules synoviales en culture est réduite après incubation avec des anticorps anti-TNF- $\alpha$  (KOCH *et col.*, 1995) (figure 8).

De nombreux arguments plaident pour une participation importante du TNF- $\alpha$  dans la PR. En effet, des concentrations élevées de TNF- $\alpha$  ont été détectées dans le sérum et le liquide synovial de PR. Les études immunohistochimiques ont mis en évidence la présence de TNF- $\alpha$  à la jonction pannus synovial/cartilage, alors qu'il est indétectable dans la membrane synoviale de sujets sains (KOCH *et col.*, 1995). Les taux sériques et synoviaux de TNF- $\alpha$  sont corrélés aux critères cliniques et biologiques d'activité de la PR (EMILIE *et col.*, 1995 a).

L'arthrite au collagène de la souris est aggravée par l'injection de TNF- $\alpha$  et améliorée par les anticorps anti-TNF- $\alpha$  administrés avant le début de la maladie. Les souris transgéniques surexprimant le TNF- $\alpha$  développent une arthrite avec destruction articulaire (KOCH *et col.*, 1995). Chez l'homme, des études récentes ont montré l'efficacité d'un anticorps monoclonal chimérique anti-TNF- $\alpha$  dans la PR, avec 30 à 50% de réponse positive en fonction des doses utilisées (COMBE *et col.*, 1995).

### c - L'interleukine-6 (IL-6)

L'IL-6 est une cytokine de 26 kDa produite par les monocytes, les lymphocytes T et les fibroblastes. Son action principale est la stimulation de la synthèse des protéines de la phase aiguë par les hépatocytes. Elle induit également la différenciation des

lymphocytes B et des cellules myélomonocytaires, et l'activation des cellules T. Elle augmente la production de protéases induites par l'IL-1 (KOCH *et col.*, 1995) (figure 8). La production d'IL-6 par les synoviocytes en culture est augmentée après stimulation par l'IL-1 et le TNF- $\alpha$  (EMILIE *et col.*, 1995 a).

Les concentrations d'IL-6 sont plus élevées dans le liquide synovial de PR que dans celui d'arthrose. Dans la PR, les taux sériques d'IL-6 sont corrélés aux critères cliniques et biologiques d'activité de la maladie (KOCH *et col.*, 1995).

#### d - L'interleukine-8 (IL-8)

L'IL-8 est une protéine de 8 kDa, produite par les macrophages et fibroblastes synoviaux. Il s'agit d'un facteur chimiotactique et activateur des neutrophiles, produit par les synoviocytes en réponse à l'IL-1 et au TNF- $\alpha$ . L'IL-8 aurait également des propriétés d'induction de l'angiogénèse.

L'injection intra-articulaire d'IL-8 chez le lapin est responsable d'une inflammation articulaire intense (KOCH *et col.*, 1995).

## 2 - LES CYTOKINES D'ORIGINE LYMPHOCYTAIRE

L'une des acquisitions récentes et importantes de l'immunologie a été l'identification de sous-populations lymphocytaires T CD4+ fonctionnellement distinctes, car exprimant après stimulation un profil de cytokines opposé.

La première sous-population, dite TH-1 pour T helper de type 1, est définie par sa capacité à produire de l'IFN- $\gamma$  et de l'IL-2. La seconde sous-population, dite TH-2, produit principalement de l'IL-4, de l'IL-5, de l'IL-10 et de l'IL-13.

L'IFN- $\gamma$  ayant pour action prépondérante de stimuler diverses fonctions macrophagiques, les lymphocytes TH-1 occupent un rôle central dans les réactions immunitaires à médiation cellulaire. L'IL-4, l'IL-5, l'IL-10 et l'IL-13 participent à l'activation des cellules B et stimulent la synthèse d'immunoglobulines E et G1.

Il existe une régulation réciproque des TH-1 et des TH-2, car l'IFN- $\gamma$  inhibe la production d'IL-4 et d'IL-10, tandis que l'IL-4, l'IL-13 et surtout l'IL-10 inhibent la prolifération des lymphocytes TH-1 et s'opposent aux effets de l'IFN- $\gamma$  sur les macrophages (LIBLAU *et col.*, 1995).

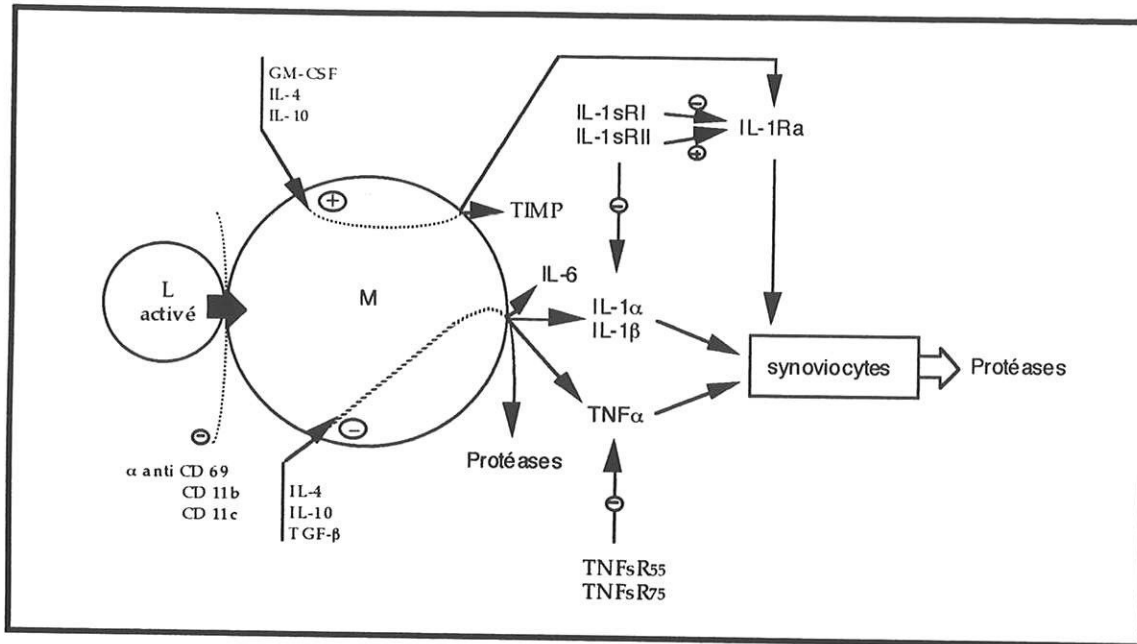


Cette dichotomie des lymphocytes T CD4+ a été mise en évidence chez la souris et à partir de clones lymphocytaires T. La situation *in vivo* chez l'homme est moins tranchée. L'expression de cytokines d'origine lymphocytaire T au cours de la PR a été difficile à mettre en évidence. Cela s'explique par le faible niveau de production habituel de ces cytokines par rapport aux cytokines pro-inflammatoires. Cependant, il apparaît maintenant que le profil lymphocytaire T de la PR est plutôt orienté dans un sens TH-1. En effet, la plupart des clones obtenus par expansion de lymphocytes T synoviaux produisent de l'IFN- $\gamma$  et seule une minorité produit de l'IL-4 (EMILIE *et col.*, 1995 a). Les techniques de RT-PCR et d'hybridation *in situ* ont permis de mettre en évidence une production d'IFN- $\gamma$  par la synoviale rhumatoïde. D'autre part, l'IFN- $\gamma$  stimule la production des cytokines « pro-inflammatoires »: IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  et IL-6. En retour, les cellules productrices des cytokines « pro-inflammatoires » sont capables d'activer les lymphocytes TH-1. L'IFN- $\gamma$ , le TNF- $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  agissent en synergie pour induire l'expression de molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales, pour stimuler la production de cytokines ayant une activité chémo-attractante, comme l'IL-8 et la MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) (EMILIE *et col.*, 1995 a).

En ce qui concerne les cytokines produites par les lymphocytes TH-2, l'IL-4 est présente à des taux faibles dans le liquide synovial de PR. L'IL-10 a été mise en évidence dans la synoviale rhumatoïde. Elle est aussi produite par les cellules circulantes des patients. Elle a pour origine à la fois les lymphocytes T, B et les macrophages. Avec l'IL-4, elle inhibe la production des cytokines pro-inflammatoires par les macrophages et les synoviocytes en culture (SUGIYAMA *et col.*, 1995). Elle diminue l'expression des molécules HLA de classe II des macrophages. Elle inhibe la prolifération des lymphocytes T helper et leur production d'IFN- $\gamma$ . La neutralisation de l'effet de l'IL-10 entraîne une augmentation importante de la production *in vitro* de TNF- $\alpha$  et d'IL-1 $\beta$  par les synoviocytes rhumatoïdes (EMILIE *et col.*, 1995 b). L'IL-4 et surtout l'IL-10 préviennent *in vitro* la dégradation du cartilage par les cellules mononucléées du sang périphérique et du liquide synovial de PR (VAN ROON *et col.*, 1996).

Les taux d'IL-13 dans le liquide articulaire de PR sont plus élevés que ceux de l'IL-4 et de l'IL-10. L'IL-13 diminue la production d'IL-1 $\beta$  et de TNF- $\alpha$ , ainsi que l'expression de CD16 et CD64 des macrophages du liquide synovial (ISOMAKI *et col.*, 1996).

Il apparaît donc que ces 3 cytokines de type TH-2, IL-4, IL-10 et IL-13, occupent une place importante dans la régulation négative de l'inflammation au cours de la PR (figure 8).



**Figure 8:** Représentation schématique de certains aspects de la cascade des cytokines (DAYER, 1994). Lymphocyte (L), macrophage (M) et synoviocyte, interleukine (IL), transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), récepteur soluble de l'IL-1 de type I et II (IL-1sRI et IL-1sRII), antagoniste du récepteur à l'IL-1 (IL-1Ra), récepteurs solubles du TNF de 55 et 75 kDa (TNFsR55 et TNFsR75), inhibiteurs des métalloprotéinases (TIMP).

### 3 - LES FACTEURS DE CROISSANCE

Le TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) est une cytokine de 25 kDa, dont les effets sont complexes. Le TGF- $\beta$  est un stimulateur de l'angiogénèse et de la croissance des fibroblastes. Il est sécrété sous forme latente et peut être activé *in vivo* par la chaleur, l'acidification ou certaines protéases (KOCH *et col.*, 1995). Les 2 formes de TGF- $\beta$ , latente et active, ont été mises en évidence dans le liquide synovial de PR. Les études immunohistochimiques ont montré qu'il se localisait dans l'intima de la synoviale rhumatoïde et à la jonction pannus/cartilage. Le TGF- $\beta$  inhibe l'activité IL-1 du liquide synovial de PR et la prolifération des lymphocytes T CD4+. Il entraîne un recrutement

des neutrophiles et une inflammation, lorsqu'il est injecté dans les articulations du rat et paradoxalement supprime l'arthrite induite par les parois streptococciques chez le rat. Globalement, il semble stimuler la synthèse et inhiber la dégradation de la matrice extra-cellulaire du cartilage (BRENNAN *et col.*, 1995).

Le PDGF (platelet derived growth factor) a été détecté dans le liquide synovial de PR. L'immunomarquage du PDGF est plus important sur les macrophages synoviaux de PR que d'arthrose. Il a une action mitogène puissante sur les fibroblastes synoviaux et a donc été impliqué dans la prolifération synoviale exubérante de la PR (KOCH *et col.*, 1995).

Le GM-CSF (granulocyte macrophage colony-stimulating factor) est un facteur de croissance hématopoïétique. Le GM-CSF a été détecté dans le liquide synovial de PR (BELL *et col.*, 1995). Les macrophages synoviaux produisent du GM-CSF de façon constitutive, ce qui n'est pas le cas des fibroblastes synoviaux. L'IL-1 et le TNF- $\alpha$  sont capables d'induire la sécrétion de GM-CSF par les fibroblastes synoviaux, mais aussi les chondrocytes en culture. Parmi ses activités biologiques, le GM-CSF a des propriétés chimiotactiques sur les monocytes et stimule l'expression des molécules HLA de classe II sur les macrophages. Ainsi, le GM-CSF libéré par les chondrocytes, sous l'influence de l'IL-1 et du TNF- $\alpha$ , pourrait jouer un rôle chimiotactique important en attirant les macrophages à la jonction pannus synovial/cartilage et en regard des lésions destructrices (KOCH *et col.*, 1995; ALSALAMEH *et col.*, 1994).

#### D - GENETIQUE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.

La PR est une maladie multifactorielle, au cours de laquelle le processus pathologique conduisant à la maladie est la conséquence de la combinaison spécifique de 3 éléments: une susceptibilité génétique de l'individu prédisposé, des facteurs d'environnement propices et une réponse immunitaire anormale. Le composant génétique n'intervient au maximum que pour 30% dans le risque global de développer la maladie. Plusieurs études ont permis l'analyse des gènes candidats, c'est-à-dire des gènes dont la fonction a un rapport direct avec la physiopathologie de la maladie: composant HLA et gènes du récepteur des lymphocytes T.

## 1 - RISQUE GENETIQUE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET COMPOSANT

### HLA

La première phase de la réponse immunitaire est caractérisée par la reconnaissance par les récepteurs (TCR) des lymphocytes T CD4 du peptide antigénique présenté par les molécules HLA de classe II présentes sur les macrophages et les cellules dendritiques. Ce complexe trimoléculaire HLA II/peptide/TCR forme le véritable « pivot » de la réponse immunitaire. Le système HLA II pourrait ainsi tenir une place particulièrement importante dans le processus d'auto-immunisation conduisant à la maladie.

Il existe en effet une association génétique entre la PR et les allèles HLA-DR4 et/ou DR1 (DR1\*0401, DRB1\*0404, DRB1\*0405, DRB1\*01) puisque plus de 85% des patients sont porteurs de ces allèles contre 23% des sujets témoins, donnant un risque relatif de 15 (ELIAOU *et col.*, 1995). Ceci a été confirmé dans les études familiales. Il existe en effet pour les familles concernées une transmission non indépendante entre la maladie et les gènes du système HLA. Le risque qu'un germain d'un malade soit lui-même atteint peut être 10 à 15 fois supérieur au risque de la population générale, variant en fonction du nombre de gènes HLA-DR en commun avec le malade.

De nombreuses études s'accordent pour montrer qu'il existe une association étroite entre les allèles HLA-DR de susceptibilité et les formes classiques et/ou sévères de la maladie. Cette association est par contre beaucoup plus faible, voire absente, dans les formes modérées ou régressives. De plus, au sein d'un groupe de PR avérées, le poids de chacun des allèles DRB n'est pas le même. Ainsi, l'allèle DRB1\*0401 est pratiquement constamment associé aux formes de PR agressives et facteurs rhumatoïdes positives, ainsi qu'aux formes avec manifestations extra-articulaires. Les allèles DRB1\*0404 et DRB1\*01 sont plutôt présents chez les patients atteints de PR avec absence de facteurs rhumatoïdes, généralement moins graves. Il existerait même une sorte « d'effet dose » des allèles à risque, où la présence de 2 de ces allèles aurait un pronostic péjoratif. Ainsi, les génotypes DRB1\*0401/DRB1\*0401 et DRB1\*0401/DRB1\*0404 ont été retrouvés associés aux formes graves de PR, leur fréquence dans les formes bénignes étant identique aux témoins (WORDSWORTH *et col.*, 1992).

D'un point de vue clinique, l'intérêt des gènes HLA-DR apparaît donc plus pronostique que diagnostique.

Les différents allèles à risque partagent des séquences d'acides aminés identiques (QKRAA) entre les positions 70-74 de la 3<sup>ème</sup> région hypervariable du domaine NH-2 terminal. Plusieurs hypothèses ont été proposées. Cette région et le motif QKRAA en particulier seraient impliqués dans la présentation des peptides antigéniques aux TCR. Il y aurait ainsi sélection et présentation de peptide(s) auto-réactif(s) qui serai(en)t responsable(s) de l'initiation du processus pathologique (ELIAOU *et col.*, 1995). HLA DR1 et DR4 avec leur séquences QKRAA pourraient également intervenir dans la sélection thymique, en influençant la sélection des lymphocytes T (BLACKMAN *et col.*, 1990). Un autre phénomène pourrait expliquer l'association PR/HLA-DR, lié à la variation du niveau d'expression des molécules HLA-DR secondaire au polymorphisme des régions régulatrices.

## 2- POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET GENES DU RECEPTEUR DES LYMPHOCYTES T (TCR).

La très grande majorité des lymphocytes T expriment à leur surface un récepteur (TCR) hétérodimérique formé d'une chaîne  $\alpha$  et d'une chaîne  $\beta$ . Le répertoire potentiel des lymphocytes T est de  $10^{15}$  à  $10^{22}$  spécificités, correspondant au nombre théorique de combinaisons possibles des gènes variables (V) $\alpha$  et  $\beta$  du TCR. Il est en réalité beaucoup plus restreint.

Dans la PR, les lymphocytes T synoviaux et du sang périphérique expriment l'ensemble des gènes V $\beta$ . Néanmoins, une surexpression de certaines familles de gènes V $\beta$  par les lymphocytes T de la synoviale par rapport à ceux du sang circulant a pu être mise en évidence: V $\beta$ 14 ; V $\beta$ 3, 14 et 17 ; V $\beta$ 6 et 15 ; V $\beta$ 2 et 6 selon les études (ELIAOU *et col.*, 1995 ; CANTAGREL *et col.*, 1995). Pour expliquer ces résultats, deux hypothèses peuvent être formulées. Soit, un nombre restreint de lymphocytes T est sélectionné et activé par un antigène arthritogène hypothétique, ces lymphocytes T étant alors responsables des lésions observées dans la PR. Soit, l'activation des lymphocytes T pathogènes est due à l'effet d'un super-antigène. L'absence de biais d'expression des gènes V $\alpha$  des lymphocytes T synoviaux, notée par la majorité des auteurs, est en faveur de cette dernière hypothèse.

### III- M-CSF ET POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.

La destruction des articulations chez les patients atteints de PR est secondaire à la prolifération pathologique de la membrane synoviale et à la formation du pannus synovial. Les macrophages jouent un rôle important, car ce sont les sources prépondérantes des effecteurs de la destruction articulaire. Le M-CSF étant un facteur de croissance et d'activation des monocytes/macrophages, il est possible d'imaginer qu'il intervienne dans la physiopathogénie de la PR. Ainsi, quelques études ont été réalisées *in vivo* dans le liquide synovial de PR et surtout *in vitro* dans les cultures de synoviocytes.

#### A- ETUDES IN VIVO.

La première étude de WILLIAMSON *et col.* (1988) concernait la détection d'une activité stimulant la croissance de colonies hématopoïétiques (activité CSF) dans le liquide synovial de 14 patients, dont 7 atteints de PR, 2 de rhumatisme psoriasique, 1 de monoarthrite, 2 d'arthrose et 2 de pathologies traumatiques. Sept échantillons de liquide synovial sur 14 stimulaient la croissance des colonies hématopoïétiques humaines après 14 jours d'incubation, ainsi que la croissance de colonies murines. Six des 7 échantillons provenaient d'arthropathies inflammatoires (PR ou rhumatisme psoriasique). Le développement de colonies éosinophiles et les proportions relatives de colonies de granulocytes-macrophages dans les cultures de moelle osseuse humaine suggéraient la présence de GM-CSF. La stimulation de la formation de colonies murines avec une prédominance de monocytes/macrophages plaidait pour la présence de M-CSF et l'induction de la différenciation des cellules leucémiques WEHI-3B (D+) pour la présence de G-CSF. Ces résultats suggéraient donc la présence de divers CSFs dans le liquide synovial des arthropathies inflammatoires.

FIRESTEIN *et col.* (1988) ont confirmé ces résultats, en montrant que le liquide synovial de PR et les surnageants de culture de synoviocytes rhumatoïdes contenaient une activité stimulant la formation de colonies hématopoïétiques murines (4 liquides synoviaux sur 5, 5 surnageants de culture sur 5). La majorité de cette activité était liée au M-CSF car elle était neutralisée par des anticorps spécifiques du M-CSF et les colonies étaient formées essentiellement de macrophages. D'autre part, la présence de M-CSF a été mise en évidence par technique RIA dans les 2 liquides synoviaux et les 2

surnageants de culture testés. Les ARNm du M-CSF ont été détectés par la technique de protection contre la ribonucléase dans 4 échantillons de cellules synoviales sur 5.

SMITH *et col.* (1990) ont étudié le liquide synovial de patients atteints d'arthrose, de polyarthrite rhumatoïde et d'arthrite septique. Une activité stimulant la formation de colonies hématopoïétiques murines a été détectée dans 54% des arthroses (7 liquides synoviaux sur 13), dans 67% des PR (8 sur 12) et dans 100% des arthrites septiques (5 sur 5). Les cellules formant des colonies avaient en grande majorité une morphologie macrophagique. Le nombre de colonies formées était significativement plus élevé pour le liquide synovial des arthrites septiques comparé à celui des PR et pour le liquide synovial des PR comparé à celui des arthroses. Le nombre de colonies était corrélé au nombre de leucocytes dans le liquide synovial. Les études d'inhibition avec des antisérums monospécifiques anti-M-CSF, anti-GM-CSF et anti-G-CSF montraient que l'activité de stimulation de la formation de colonies était liée essentiellement au M-CSF.

D'autre part dans l'arthrite du rat induite par le streptocoque agalactiae, le traitement par M-CSF entraîne une exacerbation de l'arthrite (ABD *et col.*, 1991).

### **B - ETUDES IN VITRO.**

YAMAMOTO *et col.* (1991) ont étudié les effets du M-CSF et du GM-CSF sur la prolifération des cellules synoviales d'arthrose en culture. Dans ce système de culture, les macrophages (synoviocytes de type A) représentent 30% des cellules au premier passage, puis moins de 5% des cellules au cours des passages ultérieurs. Le M-CSF recombinant humain ne stimule pas la prolifération des cellules synoviales mesurée par incorporation de thymidine tritiée, quel que soit le passage étudié. Par contre, le GM-CSF induit une prolifération des synoviocytes fibroblastiques (type B), qui est potentialisée par l'addition d'indométacine, un inhibiteur de la synthèse de PGE<sub>2</sub>. Le M-CSF et le GM-CSF n'augmentent pas la production d'IL-1 $\beta$ . L'absence d'action du M-CSF et du GM-CSF sur les macrophages synoviaux est difficile à expliquer. Les auteurs concluent qu'il manque probablement, dans ce système de culture, un facteur essentiel à la survie des macrophages et à leur capacité de réponse au M-CSF et au GM-CSF. D'autre part, les expériences ont été réalisées sur des synoviocytes d'arthrose et les résultats sont difficilement transposables à la physiopathogénie de la PR.

HAMILTON *et col.* (1993 c) ont étudié la régulation du M-CSF dans les cellules synoviales en culture, recueillies également chez des patients non atteints de PR. La production de M-CSF, mesurée par technique RIA, est constitutive, alors que le G-CSF et le GM-CSF ne sont pas détectables. L'IL-1 $\alpha$  et le TNF- $\alpha$  augmentent le taux de M-CSF. La production de G-CSF et de GM-CSF est stimulée par l'IL-1 $\alpha$  de façon plus intense que par le TNF- $\alpha$ . Les synoviocytes non stimulés expriment l'ARNm du M-CSF et les taux d'ARNm sont augmentés en présence d'IL-1 $\alpha$  ou de TNF- $\alpha$ . L'indométacine, un inhibiteur des cyclooxygénases, augmente l'expression de l'ARNm et la production de M-CSF induite par l'IL-1 $\alpha$ . L'addition de PGE2 exogène dans les cultures inhibe cet effet, suggérant un rôle régulateur négatif de PGE2 sur la production de M-CSF. La dexaméthasone augmente la production basale de M-CSF des synoviocytes et n'a pas d'effet sur cette production stimulée par l'IL-1 $\alpha$ . Les résultats sont identiques avec le TNF- $\alpha$ . L'acide rétinolique augmente globalement la synthèse de M-CSF des cellules stimulées ou non par l'IL-1 $\alpha$ . L'IFN- $\gamma$  et l'IL-4 augmentent la production de M-CSF et non celle du G-CSF ou du GM-CSF.

SEITZ *et col.* (1994) ont confirmé le caractère constitutif de la synthèse de M-CSF dans les synoviocytes d'arthrose et de PR en culture. Les synoviocytes de PR ont une production de M-CSF plus élevée que ceux d'arthrose. Les autres cytokines, GM-CSF, IL-8 et IL-6 ne sont pas détectables. L'IL-1 $\beta$  est responsable d'une augmentation du taux d'ARNm et de protéine M-CSF, GM-CSF, IL-8 et IL-6 dans les 2 types cellulaires. Parmi les ARNm, seul celui du M-CSF a une stabilité importante, supérieure à 8 heures, dans les cellules stimulées ou non par l'IL-1 $\beta$ . Ces résultats suggèrent un rôle important du M-CSF dans l'afflux, la survie et l'activation à long terme des macrophages au sein de la synovite rhumatoïde et dans la chronicité des lésions inflammatoires.

Globalement, les études *in vivo* suggèrent l'intervention de divers CSFs (M-, G- et GM-CSF) dans les arthropathies inflammatoires. Le M-CSF, en particulier, semble plus élevé dans le liquide synovial de PR que d'arthrose. Cependant, les études n'ont été réalisées que dans le liquide synovial et les techniques utilisées n'étaient pas spécifiques, ni quantitatives.



Les objectifs de notre étude étaient donc d'obtenir un dosage quantitatif du M-CSF dans le sérum et le liquide synovial de patients atteints de PR et de comparer les résultats obtenus à ceux d'une population de patients souffrant d'arthrose symptomatique. En effet, le M-CSF étant un facteur de régulation et d'activation des macrophages, il pourrait par cet intermédiaire jouer un rôle important dans la physiopathogénie de la PR.

Si le M-CSF s'avérait être plus élevé dans la PR, il devenait alors intéressant de rechercher d'éventuelles corrélations entre le taux de M-CSF et les critères cliniques et biologiques d'activité de la PR.

**PATIENTS,  
MATERIELS ET  
METHODES**

## I- PATIENTS

Dans l'étude ont été inclus 56 patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR), dont 10 de façon rétrospective et 46 de façon prospective sur 2 ans. Il s'agissait dans tous les cas d'une PR répondant aux critères de l'ACR 1987 (American college of Rheumatology 1987) (ARNETT *et col.*, 1988) (voir annexes).

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- un âge compris entre 18 et 80 ans,
- une PR active définie par la présence d'au moins 3 critères parmi les 4 suivants : (1) au moins 3 articulations tuméfiées, (2) au moins 6 articulations douloureuses, (3) raideur matinale  $\geq$  45 minutes, (4) VS  $\geq$  28 mm à la première heure.

Les critères d'exclusion étaient représentés par la présence de pathologies néoplasiques ou infectieuses associées et la présence d'une insuffisance rénale, pouvant influencer les concentrations de M-CSF.

La population de PR n'a pas été ciblée. En effet, les patients ont été recrutés en fonction des critères d'inclusion ci-dessus, sans tenir compte de l'ancienneté de la maladie, de sa gravité ou du traitement administré.

Les critères démographiques et cliniques recueillis ont été les suivants :

- l'âge et le sexe (1 = masculin, 2 = féminin),
- la durée de la maladie (en années),
- la raideur matinale (en heures),
- le nombre de réveils nocturnes,
- le nombre d'articulations tuméfiées,
- le score de RITCHIE (voir annexes),
- l'indice fonctionnel de LEE (voir annexes),
- le score de la douleur évalué sur une échelle visuelle analogique (voir annexes),
- la présence de manifestations extra-articulaires (0 = absence, 1 = présence),
- la présence d'érosions osseuses (0 = absence, 1 = présence).

Le ou les traitements pris au moment des prélèvements pour dosage de M-CSF ont été enregistrés pour chaque patient (anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) = 1,

corticoïdes = 2, méthotrexate = 3, sels d'or = 4, ciclosporine = 5, autres traitements de fond [salazopyrine, acadione, trolovol, plaquénil] = 6, méthotrexate + corticoïdes = 7, méthotrexate + AINS = 8, sels d'or + corticoïdes = 9, autres traitements de fond + corticoïdes = 10, autres traitements de fond + AINS = 11, ciclosporine + corticoïdes = 12).

La population témoin est composée de sujets sains du centre de transfusion sanguine (CTS) (59 hommes de moins de 60 ans) et de patients atteints d'une arthrose de la (des) hanche(s) et/ou du (des) genoux symptomatique. Un groupe témoin « arthrose », composé de 30 patients, a permis de comparer les concentrations de M-CSF dans les pathologies articulaires inflammatoires et dégénératives.

Les critères d'inclusion du groupe « arthrose » étaient les suivants :

- un âge compris entre 18 et 80 ans,
- une atteinte douloureuse de la (des) hanche(s) et/ou du (des) genoux,
- des critères radiologiques de coxarthrose ou de gonarthrose de grade 2 à 4 dans la classification de KELLGREN et LAWRENCE (1975) (voir annexes).

Les critères d'exclusion étaient identiques à ceux du groupe « PR ».

Les critères démographiques et cliniques recueillis ont été les suivants :

- l'âge et le sexe (1 = masculin, 2 = féminin),
- la durée de la maladie (en années),
- le ou les articulations douloureuses,
- l'indice algo-fonctionnel de LEQUESNE (voir annexes),
- le score de la douleur évalué sur une échelle visuelle analogique (voir annexes).

Les patients traités par anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ont été notés (1 = prise d'AINS, 0 = pas de traitement AINS).

## II - MATERIELS ET METHODES

### A - DONNEES DE LA BIOLOGIE STANDARD

Pour chaque patient, les critères biologiques suivants ont été mesurés :

- la vitesse de sédimentation (VS) en mm à la première heure,
- la protéine C réactive (CRP) en mg/l,
- le taux d'hématies (nombre/mm<sup>3</sup>) et le taux d'hémoglobine (g/dl),
- le taux de leucocytes, de lymphocytes et de monocytes (nombre/mm<sup>3</sup>),
- le taux de plaquettes (nombre/mm<sup>3</sup>).

La positivité ou la négativité des facteurs rhumatoïdes (Latex dosé par méthode néphélométrique et Waaler-Rose par hémagglutination en microplaque) a été recherchée pour tous les patients atteints de PR (0 = négatif, 1 = positif).

### B - DOSAGE DU M-CSF DANS LE SERUM ET LE LIQUIDE ARTICULAIRE PAR METHODE IMMUNO-ENZYMATIQUE

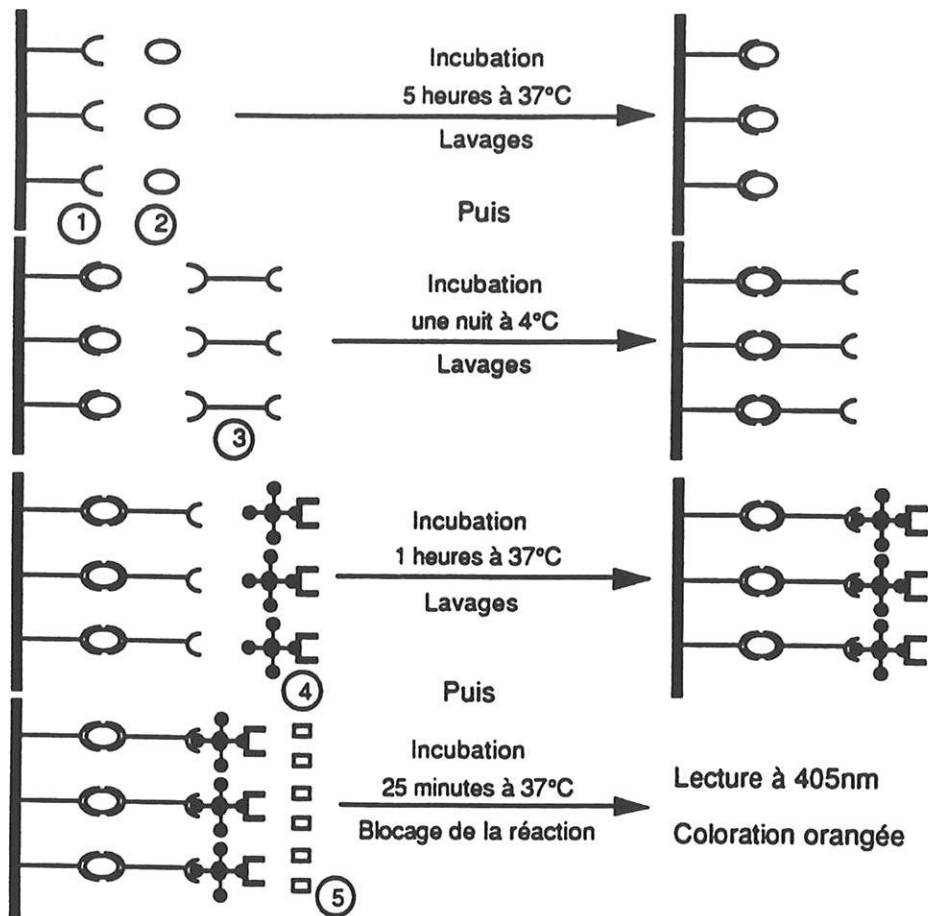
Le sang a été recueilli sur tube hépariné pour chaque patient (PR et arthrose), puis centrifugé à 1500 tours/minute afin de prélever le plasma. Ce dernier a été congelé à - 70°C jusqu'au dosage du M-CSF. Le liquide synovial a été prélevé, quand cela a été possible (PR et arthrose), sur tube sec stérile, puis centrifugé à 1500 tours/minute. Le surnageant a été prélevé et congelé à - 70°C jusqu'au dosage du M-CSF. Aucun des patients n'avait reçu de corticoïdes intra-articulaires dans les 3 derniers mois.

La technique réalisée pour la détermination de la concentration du M-CSF est une technique EIA (enzymo-immunoassay) sandwich utilisant des anticorps polyclonaux de lapin (FIXE *et col.* , 1996). Les différentes étapes, schématisées figure 9, sont les suivantes :

#### 1 - IMMUNISATION DES LAPINS

L'immunisation des lapins se fait par voie intra-ganglionnaire selon un protocole mis au point dans le laboratoire (PRALORAN *et col.* , 1990 b). La première injection (10 µg) de M-CSF recombinant humain (Dr P. Ralph, Cetus Corporation, Emeryville, CA)

**Figure 9** : Représentation schématique de la réalisation du test EIA



- 1 - Anticorps polyclonal anti-M-CSF fixé au fond des plaques
- 2 - M-CSF présent dans l'échantillon et l'étalon
- 3 - Anticorps polyclonal anti-M-CSF marqué à la biotine
- 4 - Phosphatase alcaline marquée à la streptavidine
- 5 - Substrat phosphatase (para-nitrophényl-phosphate disodium)

dans l'adjuvant complet de Freund et les rappels sont réalisés à 3 semaines d'intervalle. Les lapins sont saignés de façon hebdomadaire et le sérum ainsi récupéré est congelé à - 20°C.

## 2 - PURIFICATION ET BIOTINYLATION DES ANTICORPS POLYCLONAUX

Le titre de l'anti-sérum anti-M-CSF a été mesuré par sa capacité à précipiter 30% de M-CSF marqué à l'Iode 125 (COUPEY *et col.* , 1993). Les immunoglobulines ont été purifiées par précipitation à l'acide caprylique, puis au sulfate d'ammonium (STEINBUCH *et col.* , 1969 ; MACKINNEY *et col.* , 1987). Après purification, les immunoglobulines sont couplées de façon covalente à la biotine, sous sa forme N-hydroxysuccinimide ester (NHS-biotine), selon le procédé suivant : les immunoglobulines sont dialysées 3 fois à 4°C contre du tampon carbonate-bicarbonate 0,1M PH 9,6. Leur concentration est ajustée à 2 mg/ml avec le même tampon. Dix µl de NHS-biotine 0,1M dans du DMSO (diméthylsulfoxyde) sont ajoutés par ml de solution d'immunoglobulines. Le mélange est incubé 1 heure à 20°C et dialysé 3 fois contre du tampon TBS (Tris Base 10 mM, NaCl 150 mM PH 7,4) à 4°C. La concentration de la solution d'anticorps biotinylés est ajustée à 1 mg/ml avec du tampon TBS et la solution est congelée à - 20°C.

## 3 - REALISATION DE L'EIA

### a - Fixation des premiers anticorps en fond de plaque et saturation

Les anticorps polyclonaux de lapin sont dilués dans du tampon carbonate-bicarbonate 0,1M PH 9,6 à la concentration de 10 µg/ml. Cette solution est distribuée dans une plaque 96 puits (100 µl par puits). La plaque est alors placée à 4°C pendant 24 heures. Puis elle est lavée 3 fois avec du tampon de lavage (TBS contenant 0,1% de Tween 20 et 0,2% d'albumine sérique bovine [BSA] ). La saturation des sites de liaison non spécifique est réalisée en ajoutant 200 µl par puits de solution de BSA à 5% dans du

TBS pendant 4 heures à 37°C. La plaque est à nouveau lavée 3 fois avec du tampon de lavage et stockée à 4°C jusqu'à son utilisation.

### b - Réaction immunologique

La plaque est lavée 3 fois avec le tampon de lavage. Une gamme étalon est réalisée par dilution du M-CSF standard (préparation spécifique de M-CSF à 60.000 UI/ml, NIBSC, UK), dans du TBS avec 0,05% de Tween 20 et 0,2% de BSA (tampon de dilution). Dans chaque puits correspondant, sont distribués 100 µl des dilutions standards (en triplicate) et 100 µl de chaque échantillon à tester (dilué dans le tampon de dilution). Des puits blancs sont réalisés avec uniquement le tampon de dilution. Après 24 heures d'incubation à 4°C, la plaque est lavée 3 fois avec le tampon de lavage.

Les immunoglobulines biotinylées à la concentration de 1 µg/ml sont réparties dans tous les puits (100 µl par puits). La plaque est alors placée à 4°C pendant une nuit. Les puits sont lavés 3 fois avec le tampon de lavage, puis incubés pendant 1 heure à 37°C avec 100 µl de solution de phosphatase alcaline streptavidine (1 µg/ml dans du TBS).

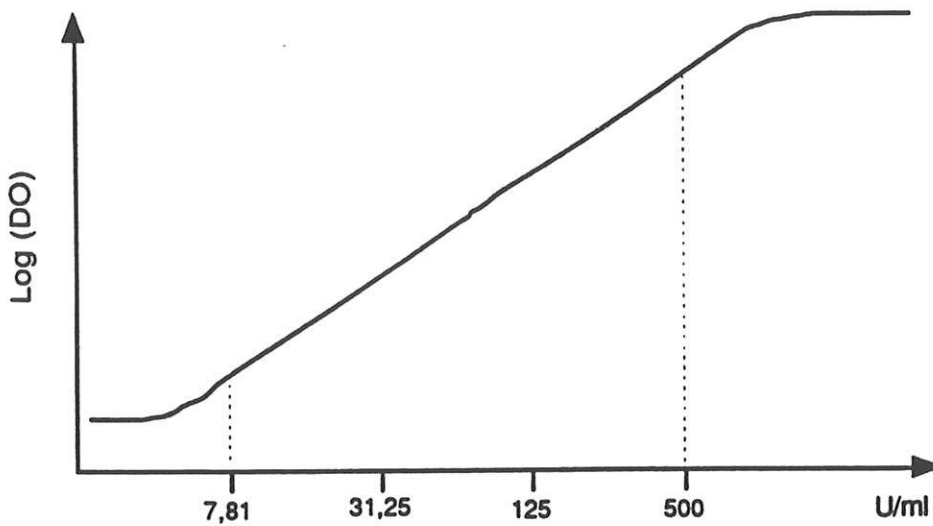
La plaque est à nouveau lavée 3 fois dans du tampon de lavage et 100 µl de substrat phosphatase (para-nitrophényl-phosphate disodium, 4 mg/ml dans une solution contenant Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 21 mM, NaHCO<sub>3</sub> 38 mM, NaCl 150 mM et MgCl<sub>2</sub> 0,5 mM, PH 9,6) sont distribués dans chaque puits. Après 10 minutes d'incubation à 37°C et à l'abri de la lumière ou après coloration des puits blancs, la réaction est arrêtée en ajoutant 50 µl par puits de solution NaOH 1M.

La plaque est alors lue dans un spectrophotomètre (Titertek Twinreader spectrophotometer, Eflab, Finlande) à 405 nm de longueur d'onde. L'absorbance spécifique est calculée par soustraction de l'absorbance des puits blancs.

La gamme étalon permet d'établir une courbe étalon représentant le logarithme de la concentration en fonction du logarithme de la densité optique (Figure 10). La portion linéaire de la courbe permet le calcul de la concentration des échantillons (comprise entre 8 et 500 UI/ml) en fonction des résultats de densité optique.



Les résultats sont donnés en UI/ml (correspondant à environ 16,6 pg/ml).



**Figure 10** : représentation graphique du logarithme de la densité optique (DO) en fonction du logarithme de la concentration de M-CSF

#### 4 - SENSIBILITE ET SPECIFICITE DU TEST EIA

Le seuil de détection du test, c'est à dire la plus petite concentration de M-CSF significativement différente de la valeur 0 de l'étalon, est de 10 UI/ml. Le test EIA utilisé a donc une sensibilité équivalente aux tests ELISAs publiés dans la littérature (HANAMURA *et col.*, 1988). L'intervalle de détection se situe entre 10 et 500 UI/ml, ce qui permet l'utilisation de ce test EIA pour la mesure des concentrations de M-CSF dans la plupart des liquides biologiques.

Afin d'évaluer la spécificité du test EIA, 12 cytokines recombinantes humaines (3 UI/ml d'érythropoïétine, 100 UI/ml de G-CSF et 5 ng/ml d'IL-1 $\beta$ , d'IL-2, d'IL-3, d'IL-6, d'IL-11, d'IL-13, de CNTF et d'oncostatine M) éventuellement présentes dans les milieux de culture ou les liquides biologiques humains, ont été testées à la recherche de réactions croisées (FIXE *et col.*, 1996). Aucune de ces cytokines n'a été détectée, permettant de conclure à une bonne spécificité pour le M-CSF de ce test EIA.

### III - ANALYSES STATISTIQUES

Les moyennes des variables quantitatives ont été comparées entre patients atteints de PR et patients atteints d'arthrose ou en fonction d'autres variables qualitatives par un test t de Student ou par un test U de Mann-Whitney selon les effectifs. Les moyennes du M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial ont été comparées par un test de Wilcoxon sur séries appariées. Un coefficient de corrélation ou un test des rangs de Spearman a été utilisé pour évaluer la corrélation entre deux variables quantitatives. Le seuil de significativité choisi pour l'ensemble des analyses était de 0,05.

# RESULTATS

# I - DONNEES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES DES GROUPES POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET ARTHROSE.

Notre étude a porté sur une population de 86 patients, dont 56 patients dans le groupe « PR » et 30 dans le groupe « AR ».

## A - CRITERES COMMUNS A LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET A L'ARTHROSE

### 1 - SEXE

Dans l'ensemble de la population, il y avait 61 femmes (71%) et 25 hommes (29%).

La répartition des sexes dans les 2 groupes est la suivante :

- dans le groupe « PR »: 42 (75%) femmes et 14 (25%) hommes,
- dans le groupe « AR »: 19 (63,3%) femmes et 11 (36,7%) hommes.

Il n'existe aucune différence significative dans la répartition des sexes entre les 2 groupes (tableau 3).

### 2 - AGE

L'âge moyen de la population générale est de  $63,4 \pm 13,3$  ans. Cet âge moyen est de  $61,2 \pm 13,2$  ans dans le groupe « PR » et de  $67,7 \pm 12,8$  ans dans le groupe « AR », avec une différence significative entre les 2 groupes ( $p < 0,05$ ) (tableau 3).

### 3 - DUREE DE LA MALADIE

La durée moyenne de la maladie est de  $8,4 \pm 9,2$  années dans la population générale, de  $10,3 \pm 10,4$  années dans le groupe « PR » et de  $4,9 \pm 5,2$  années dans le groupe « AR ». Il existe là aussi une différence significative entre les 2 groupes ( $p < 0,01$ ) (tableau 3).

**Tableau 3:** Résultats des critères démographiques dans les 2 populations, PR et arthrose

CRITERES DEMOGRAPHIQUES		POLYARTHRITE RHUMATOÏDE	ARTHROSE	P
Sexe	M	25 %	37 %	NS
	F	75 %	63 %	NS
Age moyen (années)		61,2	67,7	<0,05
Durée de la maladie (années)		10,3	4,9	<0,01

## **B - CRITERES SPECIFIQUES DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE**

### **1 - VARIABLES ET SCORES CLINIQUES**

Il s'agit du nombre d'articulations tuméfiées, du nombre de réveils nocturnes, de la raideur matinale, du score de RITCHIE, de l'indice fonctionnel de LEE et du score de la douleur évalué grâce à une échelle visuelle analogique (EVA). Le tableau 4 donne les valeurs moyennes des variables et le nombre de patients pour lesquels elles ont été recueillies.

**Tableau 4:** Variables et scores cliniques dans la population de PR

VARIABLES	VALEURS MOYENNES	NOMBRE DE PATIENTS SUR 56
raideur matinale (heure)	1,9 ± 1,4	55
nb d'articulations tuméfiées	6,6 ± 3,5	56
nb de réveils nocturnes	1,9 ± 1,4	54
score de RITCHIE	12,2 ± 6,7	55
indice fonctionnel de LEE	11,9 ± 7,6	42
EVA (cm)	6,8 ± 2,4	40

## 2 - PRESENCE D'EROSIONS OSSEUSES

Le nombre de patients atteints de PR avec présence d'érosions osseuses sur les clichés radiographiques des mains ou des pieds est de 45 sur 56, soit 80,4%. Il est cependant difficile de tenir compte de cette variable dans les analyses statistiques ultérieures car les érosions osseuses n'ont pas été quantifiées.

## 3 - PRESENCE DE MANIFESTATIONS EXTRA-ARTICULAIRES

Sur les 56 patients atteints de PR, 13 patients (23%) avaient des manifestations extra-articulaires attribuées à la PR. Ces manifestations se répartissaient de la façon suivante:

- présence de nodules rhumatoïdes dans 5 cas,
- présence d'un syndrome de Gougerot Sjögren secondaire dans 5 cas,
- présence de manifestations pulmonaires dans 3 cas, dont 1 cas de fibrose pulmonaire, 1 cas de pleurésie rhumatoïde et 1 cas de dilatation des bronches.

## C - L'INDICE ALGO-FONCTIONNEL DE LEQUESNE ET LE SCORE DE LA DOULEUR DANS L'ARTHROSE

La valeur moyenne de l'indice algo-fonctionnel de LEQUESNE est de  $14,8 \pm 4,5$  pour les 22 patients pour lesquels il a pu être recueilli. La valeur moyenne du score de la douleur (EVA) est de  $6,8 \pm 1,5$  cm pour les 20 patients pour lesquels il a pu être recueilli.

## D - TRAITEMENTS

### 1 - DANS LE GROUPE POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

Nous avons séparé 12 groupes de traitements correspondant à un traitement unique et aux associations de traitements. La répartition de notre population de PR dans chacun de ces groupes de traitements est indiquée dans le tableau 5.

**Tableau 5:** Répartition des différents traitements et associations de traitements dans la population de PR.

TRAITEMENTS		NOMBRE DE PATIENTS	POURCENTAGE
1	AINS (anti-inflammatoires non stéroïdiens)	9	16 %
2	CORTICOÏDES	15	26,7 %
3	METHOTREXATE	3	5,3 %
4	SELS D'OR	2	3,5 %
5	CICLOSPORINE	1	1,7 %
6	AUTRES (salazopyrine, acadione, trolovol, plaquénil)	6	10,7 %
7	METHOTREXATE + CORTICOÏDES	4	7,1 %
8	METHOTREXATE + AINS	5	8,9 %
9	SELS D'OR + CORTICOÏDES	1	1,7 %
10	AUTRES + CORTICOÏDES	4	7,1 %
11	AUTRES + AINS	4	7,1 %
12	CICLOSPORINE + CORTICOÏDES	2	3,5 %

Le pourcentage de patients sous AINS seuls ou en association est 32,1 %.

Le pourcentage de patients sous corticoïdes seuls ou en association est de 46,4 %.

Le pourcentage de patients sous méthotrexate seul ou en association est de 21,4 %.

## 2 - DANS LE GROUPE ARTHROSE

Le nombre de patients traités par AINS est de 11 sur 30 au total, soit 36,6 %.

## II - DONNEES DE LA BIOLOGIE STANDARD DANS LES GROUPES POLYARTHRITE RHUMATOIDE ET ARTHROSE

Les valeurs moyennes de la vitesse de sédimentation (VS), de la protéine C réactive (CRP), du taux de leucocytes (GB), de lymphocytes (Lympho), de monocytes (Mono), d'hématies (GR), d'hémoglobine (Hb), de plaquettes (Plaq) sont différentes de façon significative entre les 2 groupes « PR » et « AR », comme le montre le tableau 6. En effet, Les valeurs moyennes de la VS, de la CRP, du taux de leucocytes, de monocytes et de plaquettes sont plus élevées dans la PR que dans l'arthrose. Par contre, les taux moyens d'hématies, d'hémoglobine et de lymphocytes sont plus bas dans la PR que dans l'arthrose.

**Tableau 6:** Résultats de la biologie standard dans les 2 populations, PR et arthrose.

Valeurs moyennes	Polyarthrite rhumatoïde	Arthrose	p
VS	58,7 ± 27,8	13,3 ± 9,0	< 0,001
CRP (mg/l)	65,7 ± 56,1	6,5 ± 3,6	< 0,001
GB (nb/mm <sup>3</sup> )	8716 ± 2445	6683 ± 1404	< 0,001
Lympho (nb/mm <sup>3</sup> )	1672 ± 677	2013 ± 689	< 0,001
Mono (nb/mm <sup>3</sup> )	589 ± 493	397 ± 131	< 0,001
GR (nb/mm <sup>3</sup> )	4.060.000 ± 450.000	4.500.000 ± 400.000	< 0,001
Hb (g/dl)	11,9 ± 1,5	13,8 ± 1,6	< 0,001
Plaq (nb/mm <sup>3</sup> )	328.000 ± 116.300	241.367 ± 68.246	< 0,001

Dans le groupe « PR », le nombre de patients ayant un Latex et Waaler-Rose positifs est de 34 sur 56, soit 60,7 %.



### III - RESULTATS DU DOSAGE DE MACROPHAGE COLONY- STIMULATING FACTOR (M-CSF) DANS LES GROUPES POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET ARTHROSE

Le dosage du M-CSF a été réalisé dans le sérum et le liquide articulaire, lorsqu'il était disponible, des patients atteints de PR et d'arthrose. Il a également été effectué dans le sérum de sujets sains du centre de transfusion sanguine (CTS).

#### A - TAUX MOYEN DE M-CSF DANS CHAQUE GROUPE ET COMPARAISONS

(figures 11 et 12)

- Dans le groupe de sujets sains du CTS (59 hommes de moins de 60 ans) : le taux moyen de M-CSF sérique est de  $205,9 \pm 82,3$  UI/ml.

- Dans l'arthrose : - le taux moyen de M-CSF sérique, sur 30 échantillons, est de  $194,6 \pm 156,3$  UI/ml,

- le taux moyen de M-CSF dans le liquide synovial, sur 12 échantillons, est de  $97,3 \pm 84,1$  UI/ml.

- Dans la PR : - le taux moyen de M-CSF sérique, sur 56 échantillons, est de  $548,6 \pm 291,9$  UI/ml,

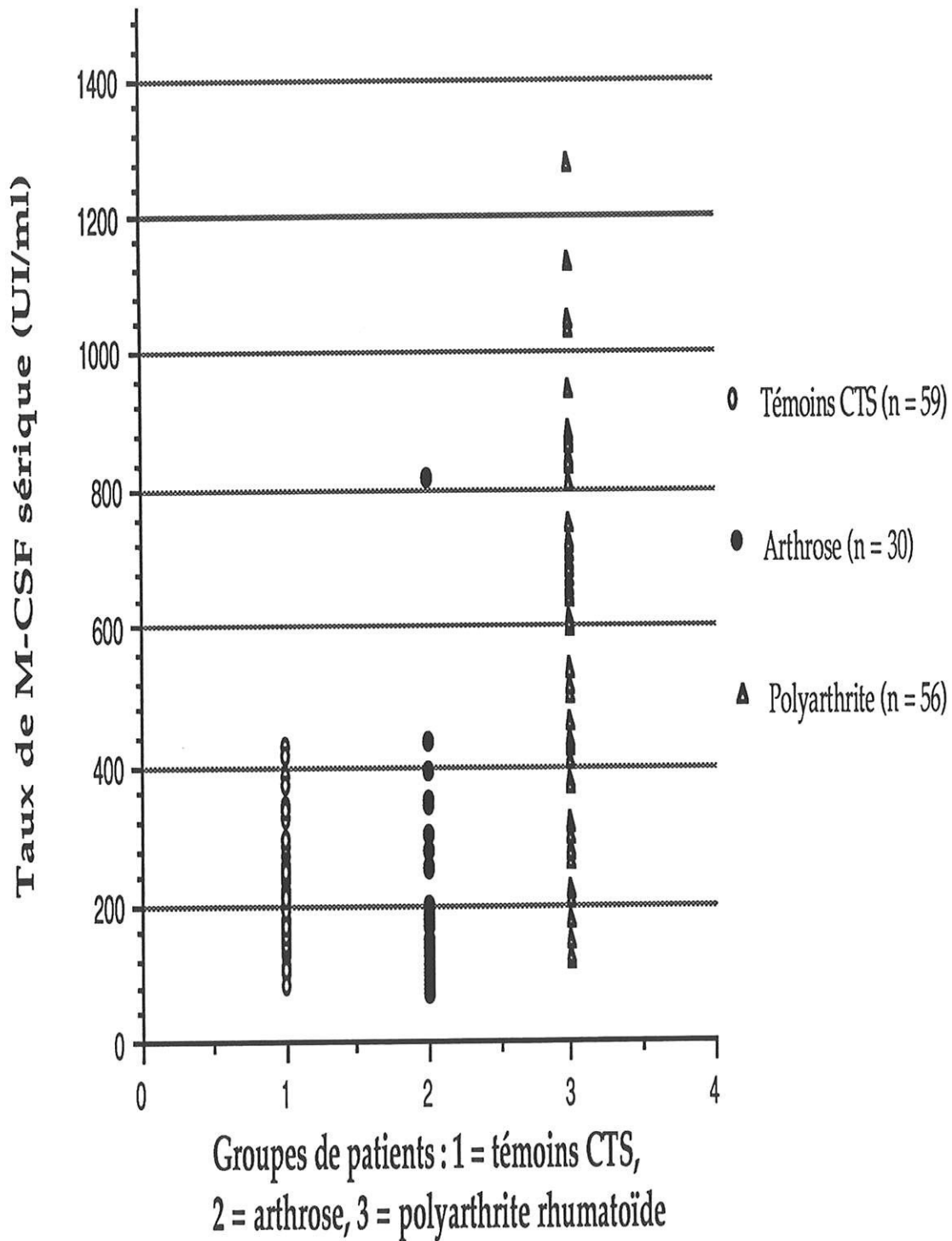
- le taux moyen de M-CSF dans le liquide synovial, sur 13 échantillons, est de  $544,3 \pm 289,4$  UI/ml.

- Les taux de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial sont statistiquement différents entre la PR et l'arthrose ( $p < 0,001$  pour les 2) (tableau 7).

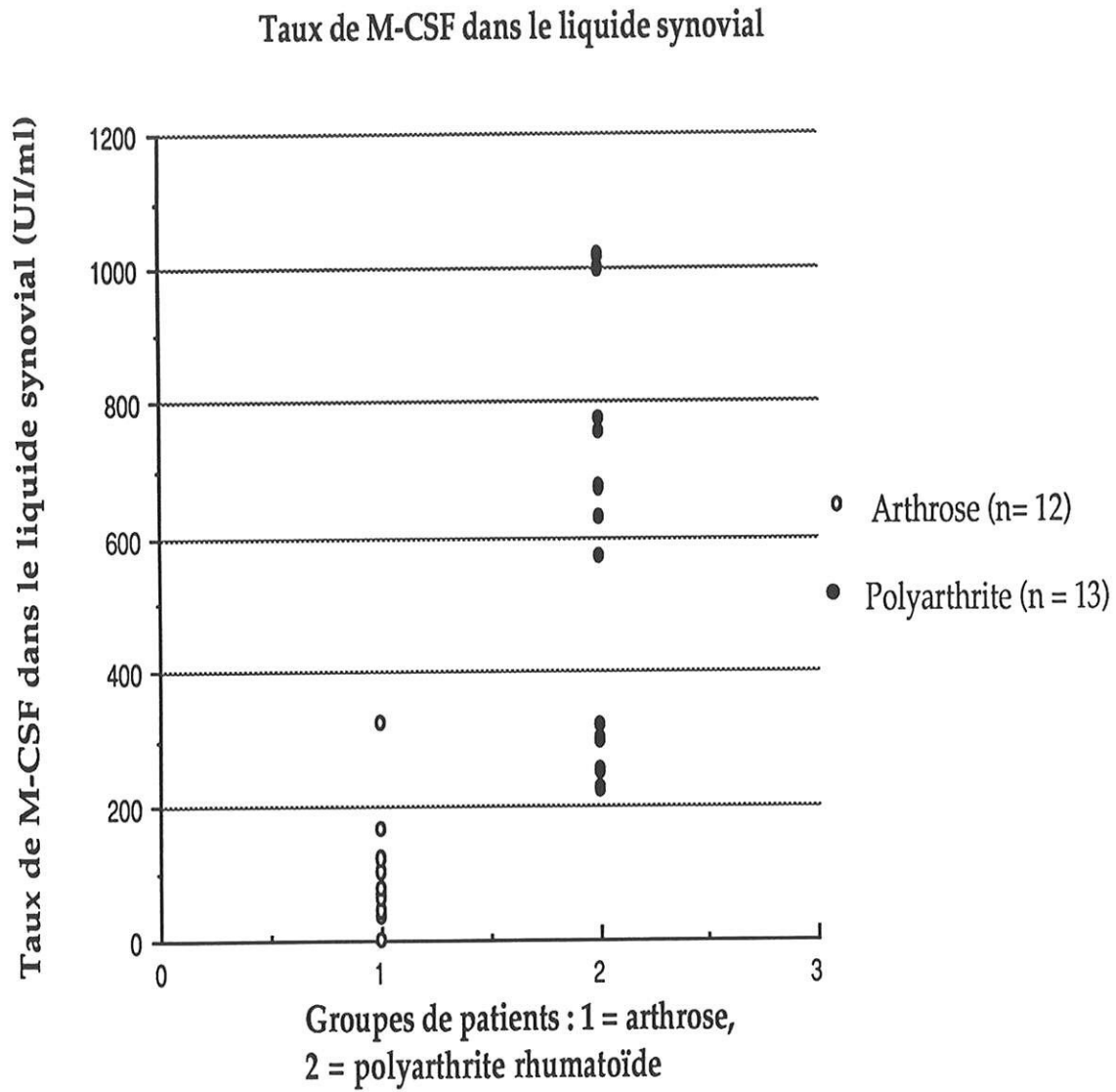
**Tableau 7:** Taux moyen de M-CSF dans le sérum et le liquide synovial dans les 2 populations, PR et arthrose.

Taux moyen de M-CSF (UI/ml)	Arthrose	Polyarthrite rhumatoïde	p
M-CSF sérique	194,6	548,6	<0,001
M-CSF liquide synovial	97,3	544,3	<0,001

## Taux de M-CSF sérique



**Figure 11** : répartition des taux de M-CSF sérique dans chaque population (témoins CTS, arthrose et polyarthrite rhumatoïde).



**Figure 12** : répartition des taux de M-CSF du liquide synovial dans la population d'arthrose et de polyarthrite rhumatoïde.

- Comme cela a été réalisé dans une étude récente (SCHOLL *et col.* , 1996), nous avons choisi de séparer nos populations de PR et d'arthrose en 2 groupes en fonction d'une valeur seuil (cut-off) de M-CSF, correspondant à la valeur moyenne sur l'ensemble de la population.

Cette valeur moyenne (sur 86 patients) est de 425,1 UI/ml.

Dans la PR : 62,5 % (35 patients/56) ont un M-CSF sérique supérieur à 400 UI/ml et 53,8 % (7 patients/13) ont un M-CSF dans le liquide synovial supérieur à 400 UI/ml (tableau 8).

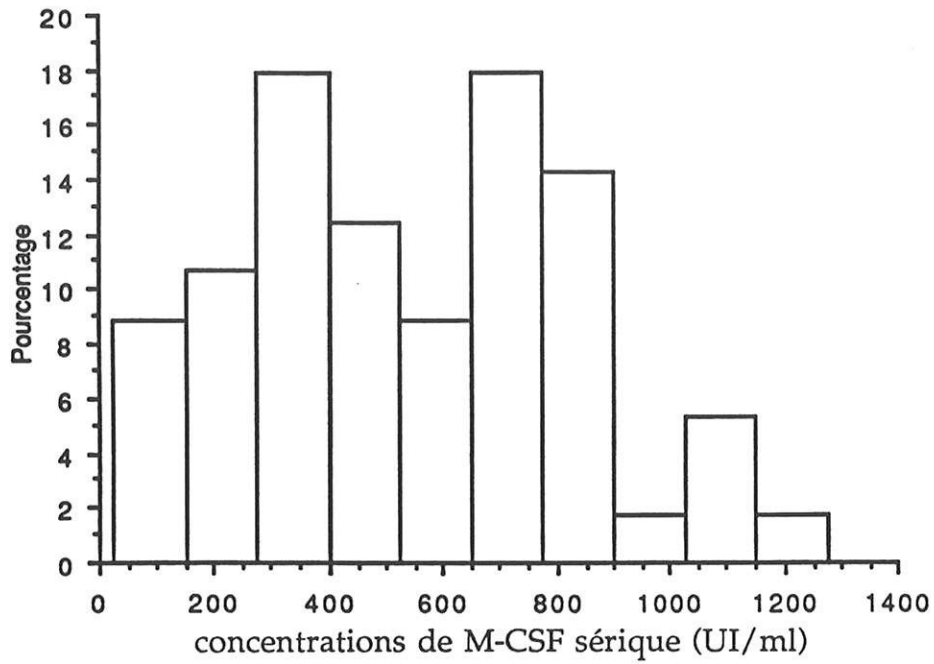
Dans l'arthrose : 93,3 % (28 patients/30) ont un M-CSF sérique inférieur à 400 UI/ml et 100 % (12/12) ont un M-CSF dans le liquide synovial inférieur à 400 UI/ml.

**Tableau 8:** Répartition des 2 populations de PR et d'arthroses en fonction d'une valeur seuil de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial, fixée à 400 UI/ml.

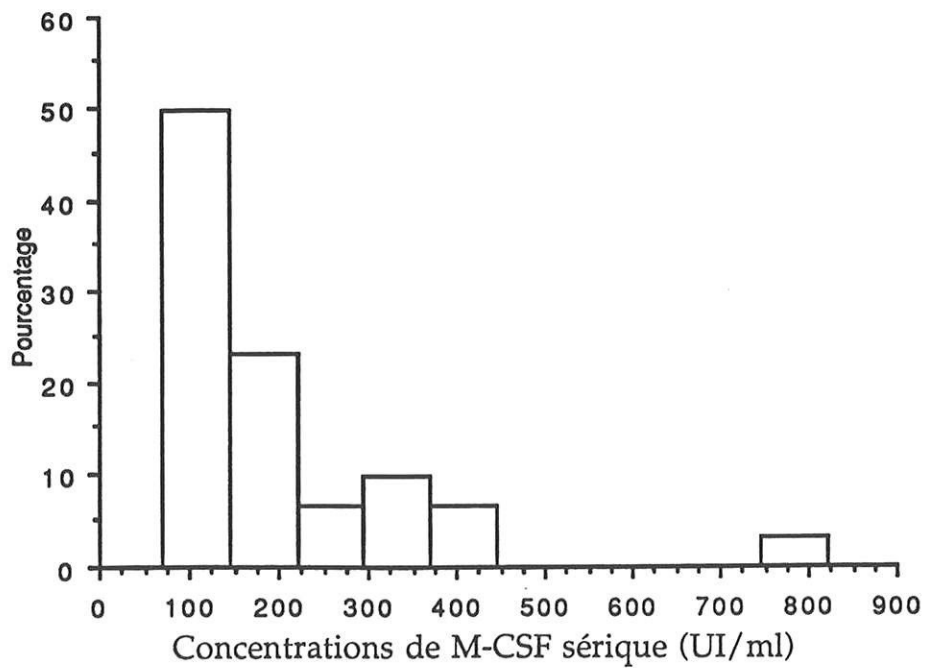
Pathologies	M-CSF sérique > 400 UI/ml	M-CSF liquide synovial > 400 UI/ml
Polyarthrite rhumatoïde	62,5 %	53,8 %
Arthrose	6,7 %	0 %

Les histogrammes (figures 13, 14, 15 et 16) montrent la répartition des concentrations de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial pour chaque population de PR ou d'arthroses.

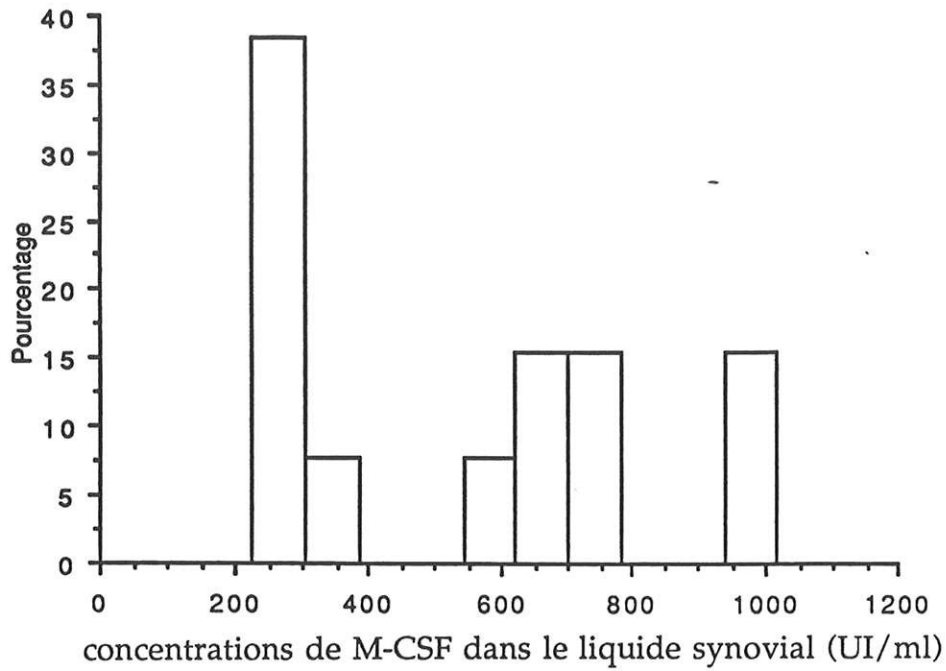
**Figure 13** : répartition des taux de M-CSF sérique dans la PR



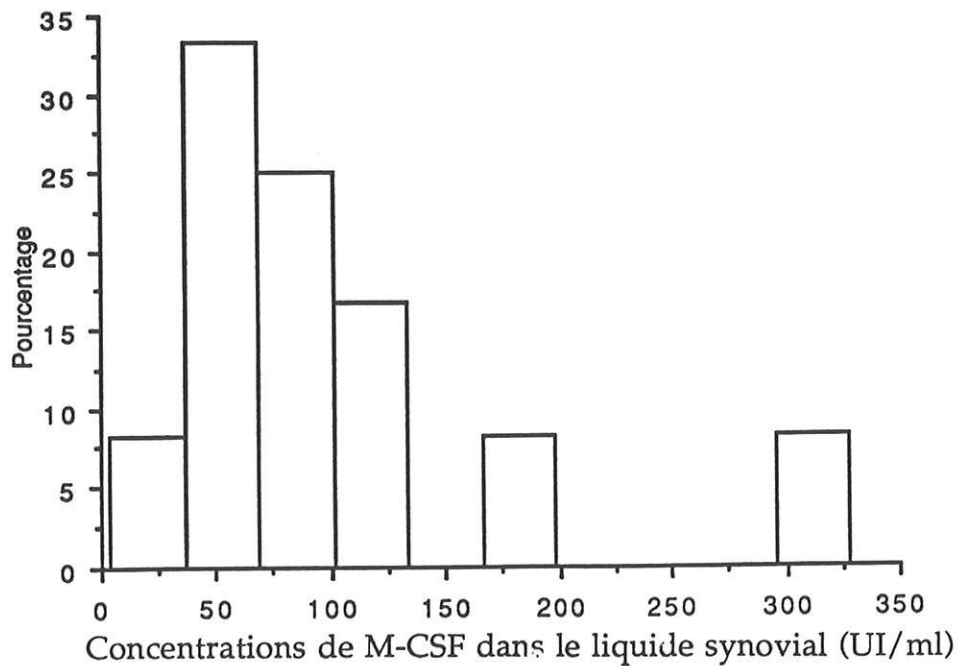
**Figure 14** : répartition des taux de M-CSF sérique dans l'arthrose



**Figure 15 : répartition des taux de M-CSF du liquide synovial dans la PR**



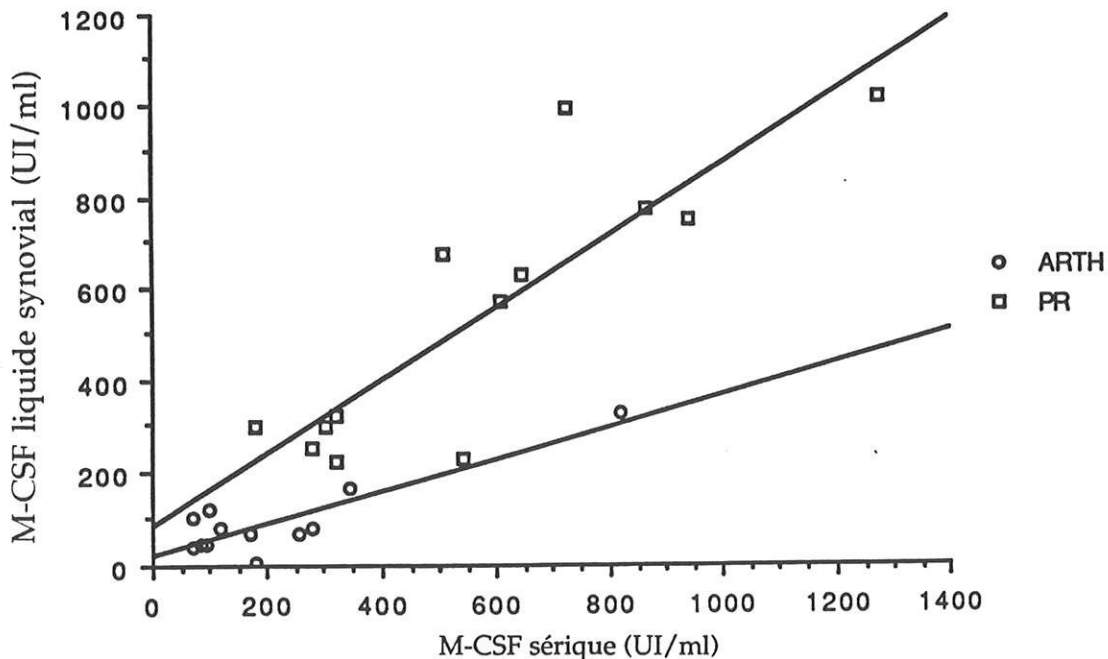
**Figure 16 : répartition des taux de M-CSF du liquide synovial dans l'arthrose**



**B - COMPARAISON DES TAUX DE M-CSF DANS LE SERUM ET DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL :**

- Dans la population générale des 86 patients, une corrélation statistiquement significative existe entre les taux de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial ( $\rho = 0,866$  et  $p < 0,0001$ ).
- Dans le groupe arthrose, les taux de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial sont statistiquement différents ( $p < 0,01$ ). D'autre part, il n'y a pas de corrélation entre ces 2 taux ( $\rho = 0,47$  et  $p = 0,12$ ).
- Dans le groupe « PR », il n'existe, par contre, aucune différence statistiquement significative entre les taux de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial. Le test de Spearman permet de mettre en évidence une corrélation entre ces 2 taux ( $\rho = 0,8$  et  $p < 0,01$ ).

Droites de corrélation entre le taux de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial dans la polyarthrite rhumatoïde (PR) et dans l'arthrose (ARTH).



## IV - CORRELATIONS ENTRE TAUX DE M-CSF ET CRITERES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DANS LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

### A - M-CSF SERIQUE

#### 1 - CRITERES CLINIQUES ET DEMOGRAPHIQUES

Il n'existe aucune corrélation statistiquement significative entre le taux de M-CSF sérique et l'âge, le sexe, la durée de la maladie, la raideur matinale, le nombre de réveils nocturnes, le nombre d'articulations tuméfiées, le score de la douleur et l'indice fonctionnel de LEE.

Par contre, le taux de M-CSF sérique est corrélé de façon négative au score de RITCHIE ( $\rho = -0,24$  et  $p = 0,07$ ).

D'autre part, le taux moyen de M-CSF sérique est significativement plus élevé dans le groupe de PR avec manifestations extra-articulaires que dans le groupe de PR sans manifestation extra-articulaire ( $p < 0,05$ ) (tableau 9).

**Tableau 9:** Taux moyen de M-CSF sérique dans les 2 sous-populations de PR, avec ou sans manifestations extra-articulaires.

Manifestations extra-articulaires	nombre de patients	Taux moyen de M-CSF sérique (UI/ml)
Présentes	13	686 ± 238
Absentes	43	507 ± 296

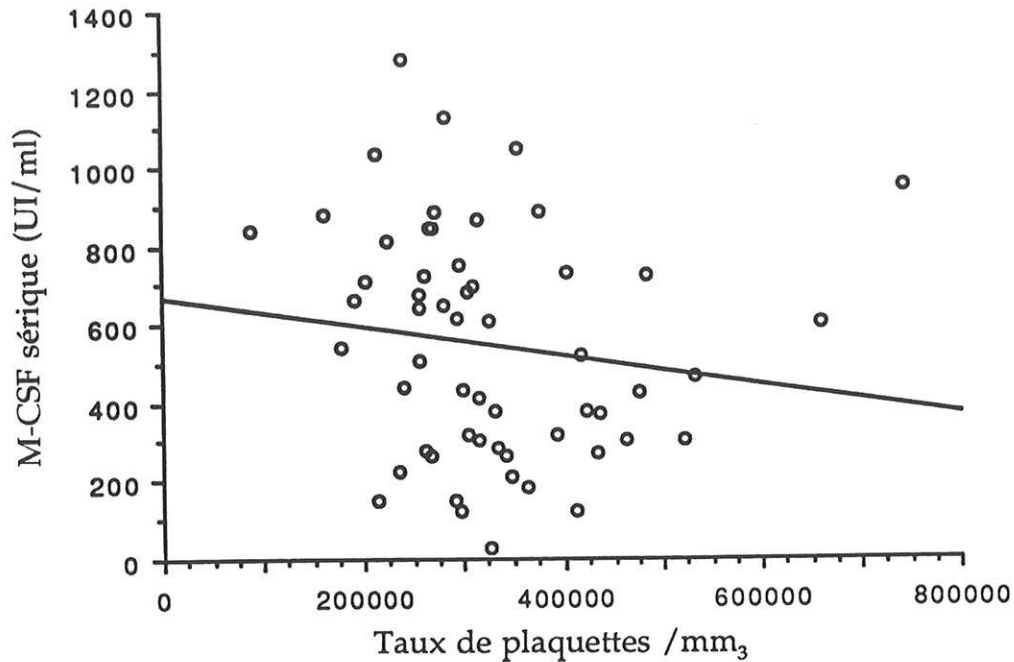
#### 2 - CRITERES BIOLOGIQUES

Il n'existe aucune corrélation statistiquement significative entre le taux de M-CSF sérique et la VS, la CRP, le taux de leucocytes, de lymphocytes, de monocytes, d'hématies et d'hémoglobine.

Par contre le taux de M-CSF sérique est corrélé de façon négative au taux de plaquettes ( $\rho = -0,25$  et  $p = 0,06$ ).



Droite de corrélation entre le taux de M-CSF sérique et le taux de plaquettes.



D'autre part, il existe une différence significative entre les patients avec des facteurs rhumatoïdes (FR) positifs et ceux avec des FR négatifs ( $p < 0,005$ ). Le taux moyen de M-CSF sérique est de 632,9 UI/ml dans le groupe FR positifs et de 418,4 UI/ml dans le groupe FR négatifs (tableau 10).

**Tableau 10:** Taux moyen de M-CSF sérique dans les 2 sous-populations de PR, avec ou sans facteurs rhumatoïdes (FR (+) et FR (-) respectivement).

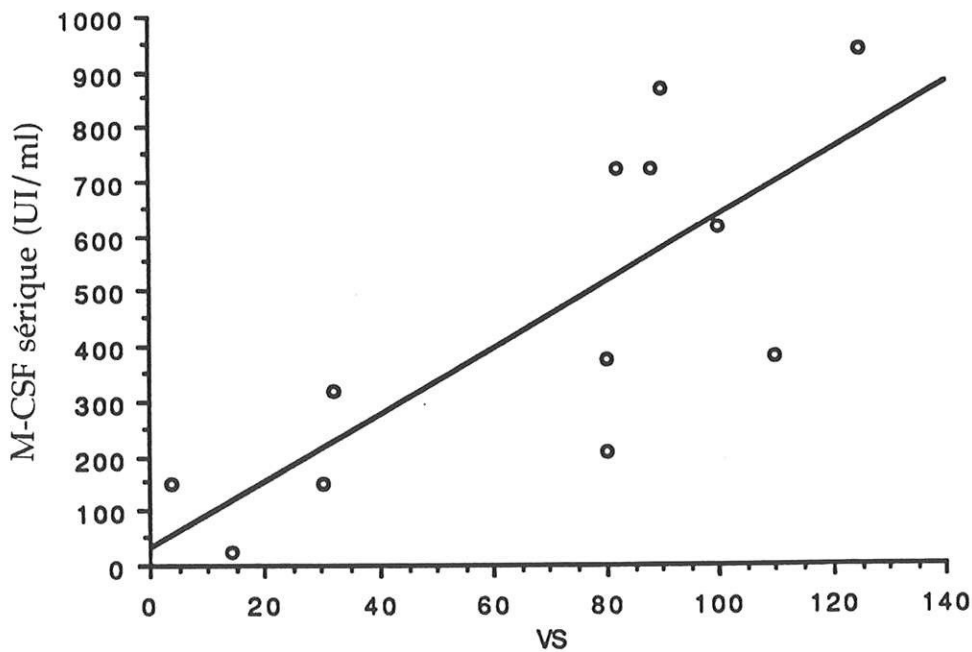
Facteurs rhumatoïdes	Nombre de patients	Taux moyen de M-CSF (UI/ml)
FR (+)	34	632,9 ± 279
FR (-)	22	418,4 ± 267,4

Si l'on utilise d'autres critères d'activité de la PR que ceux choisis initialement, il est possible de sélectionner des sous-groupes de patients, avec des résultats différents en ce qui concerne les relations entre M-CSF et VS.

Des critères plus sélectifs ont été appliqués en les associant 2 par 2 :

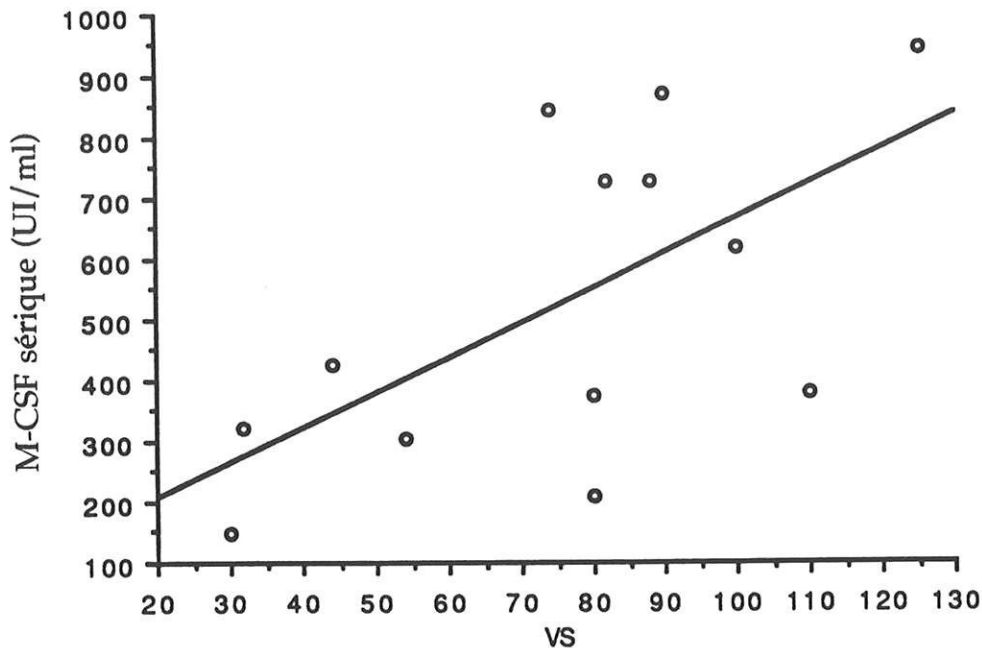
⇒ Ainsi, pour les patients avec une VS  $\geq 28$  et un nombre d'articulations tuméfiées  $\geq 9$  (n = 13), il apparaît une corrélation entre M-CSF sérique et VS ( $p < 0,03$  et  $\rho = 0,64$ ).

Droite de corrélation entre M-CSF sérique et VS.



⇒ Pour les patients avec une raideur matinale  $\geq 45$  minutes et un nombre d'articulations tuméfiées  $\geq 9$  (n = 12), il apparaît une corrélation entre M-CSF sérique et VS ( $p < 0,005$  et  $\rho = 0,86$ ).

Droite de corrélation entre M-CSF sérique et VS.



Ainsi, le M-CSF sérique pourrait être corrélé à la VS, uniquement dans les PR très actives. Cependant, ces résultats restent à confirmer sur des populations plus importantes.

### 3 - TRAITEMENTS

Le taux de M-CSF sérique n'est pas statistiquement différent entre les divers groupes de patients classés selon le traitement, qu'il s'agisse du traitement seul ou en association.

### B - M-CSF DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL

#### 1 - CRITERES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES

Il n'y a aucune corrélation entre le taux de M-CSF dans le liquide synovial et l'ensemble des critères démographiques et cliniques (âge, sexe, durée de la maladie,

raideur matinale, nombre de réveils nocturnes, nombre d'articulations tuméfiées, RITCHIE, EVA et LEE).

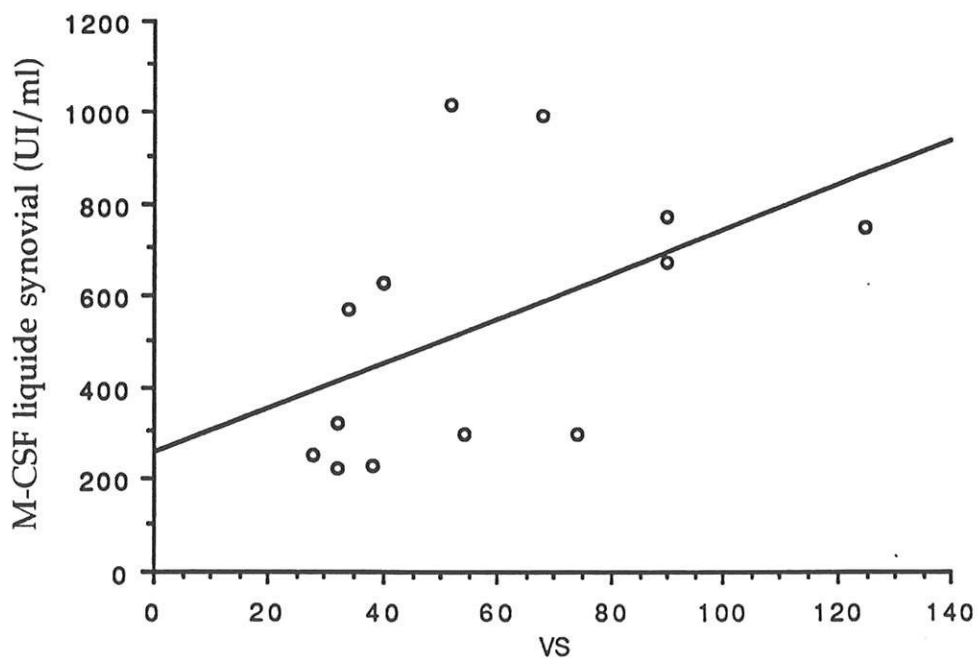
Le taux de M-CSF n'est pas non plus significativement différent entre les sous-groupes de PR avec ou sans manifestations articulaires.

## 2 - CRITERES BIOLOGIQUES

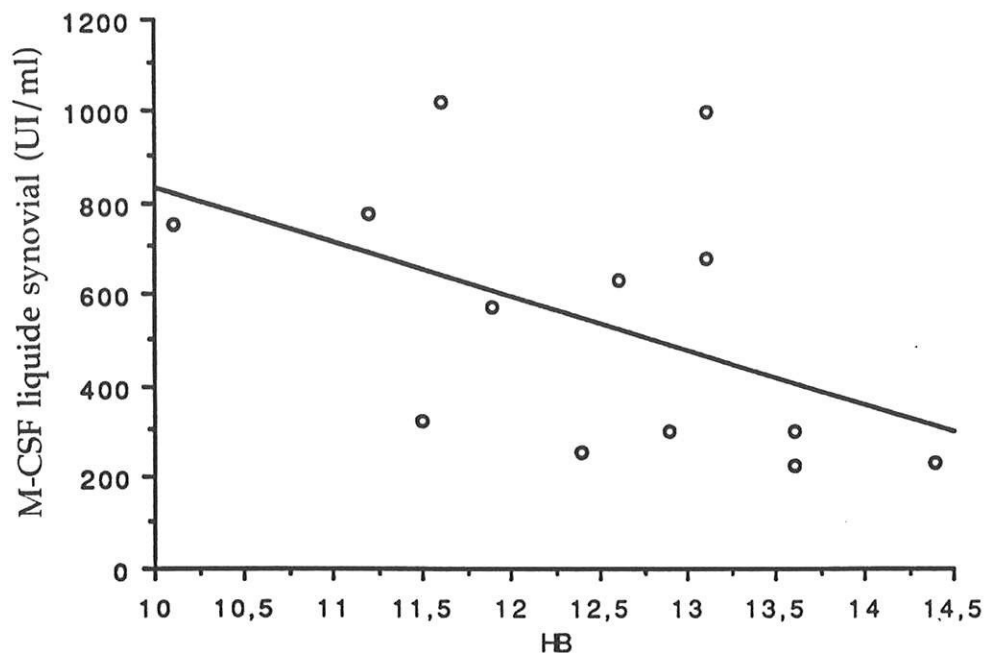
Aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre le taux de M-CSF dans le liquide synovial et la CRP, le taux de leucocytes, de lymphocytes, de monocytes, d'hématies et de plaquettes.

Par contre, il existe une corrélation positive entre le M-CSF dans le liquide synovial et la VS ( $\rho = 0,6$  et  $p < 0,05$ ) et une corrélation négative entre le M-CSF dans le liquide synovial et le taux d'hémoglobine ( $\rho = -0,56$  et  $p < 0,05$ ).

Droite de corrélation entre le M-CSF dans le liquide synovial et la VS.



Droite de corrélation entre le M-CSF dans le liquide synovial et le taux d'hémoglobine (HB).



Le taux de M-CSF dans le liquide synovial est statistiquement différent entre les patients FR positifs (756 UI/ml) et les patients FR négatifs (412 UI/ml) ( $p < 0,05$ ) (tableau 11).

**Tableau 11:** Taux moyen de M-CSF synovial dans les 2 sous-populations de PR, avec ou sans facteurs rhumatoïdes (FR (+) et FR (-) respectivement).

Facteurs rhumatoïdes	Nombre de patients	Taux moyen de M-CSF (UI/ml)
FR (+)	5	756 ± 158,3
FR (-)	8	412 ± 277,9

### 3 - TRAITEMENTS

Le taux de M-CSF dans le liquide synovial n'est pas statistiquement différent entre les divers groupes de patients classés selon le traitement, qu'il s'agisse du traitement seul ou en association.

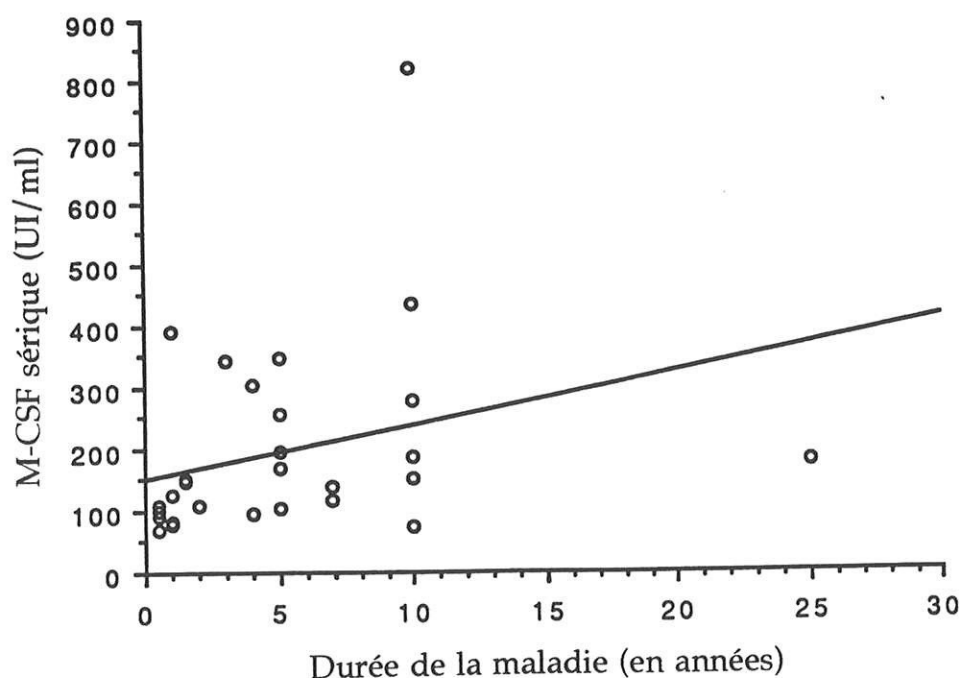
## V - CORRELATIONS ENTRE TAUX DE M-CSF ET LES CRITERES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DANS L'ARTHROSE

### A - M-CSF SERIQUE

#### 1 - CRITERES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES

Il n'y a aucune corrélation entre le taux de M-CSF sérique et l'âge, le sexe, le score de la douleur et l'indice algo-fonctionnel de LEQUESNE. Par contre, le taux de M-CSF sérique est corrélé à la durée de la maladie ( $p = 0,52$  et  $p < 0,01$ ).

Droite de corrélation entre M-CSF sérique et durée de la maladie.



## **2 - CRITERES BIOLOGIQUES**

Aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre le taux de M-CSF sérique et les différents critères biologiques (VS, CRP, taux de leucocytes, de lymphocytes, de monocytes, d'hématies, d'hémoglobine et de plaquettes).

## **3 - TRAITEMENTS**

Le taux de M-CSF sérique n'est pas statistiquement différent entre les patients traités ou non par AINS.

## **B - M-CSF DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL**

### **1 - CRITERES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES**

Il n'y a pas non plus de corrélation entre le taux de M-CSF dans le liquide synovial et l'âge, le sexe, la durée de la maladie, le score de la douleur et l'indice fonctionnel de LEQUESNE.

### **2 - CRITERES BIOLOGIQUES**

Aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre le taux de M-CSF dans le liquide synovial et les critères biologiques, en dehors de la VS qui est inversement corrélée au taux de M-CSF ( $\rho = -0,63$  et  $p < 0,05$ ).

### **3 - TRAITEMENTS**

Il n'y a aucune corrélation entre le taux de M-CSF dans le liquide synovial et la prise ou non d'AINS.

# DISCUSSION



Le dosage de M-CSF a été réalisé dans le sérum de 86 patients, dont 56 PR et 30 arthroses, et dans le liquide synovial de 25 patients, dont 13 PR et 12 arthroses. Au moment des prélèvements, les PR étaient actives et répondaient toutes aux critères de l'ACR 1987. La population témoin est constituée de patients souffrant d'arthrose symptomatique de la (des) hanche(s) et/ou du(des) genou(x). Les 2 populations de PR et d'arthrose sont identiques en termes de répartition des sexes; par contre, elles sont différentes en termes d'âge et de durée de la maladie.

L'analyse des données biologiques dans les 2 populations a donné les résultats suivants : la VS, la CRP, le taux de leucocytes et de plaquettes sont statistiquement plus élevés dans la PR que dans l'arthrose ( $p < 0,001$ ), ce qui paraît cohérent car ces différentes variables sont des marqueurs de l'inflammation. Par contre, le taux de monocytes est également plus élevé dans la PR que dans l'arthrose. Cette monocytose avait déjà été soulignée par d'autres auteurs (BUCHAN *et col.*, 1985) et représente un des éléments en faveur de la participation des monocytes/macrophages dans la physiopathogénie de la PR.

Le taux de M-CSF sérique et dans le liquide synovial est significativement plus élevé dans la PR, par rapport à l'arthrose ( $p < 0,001$ ) et par rapport aux témoins CTS. Le M-CSF semble donc intervenir dans la réaction inflammatoire. Au même titre que les autres cytokines, comme l'IL-1 et le TNF, il pourrait participer aux anomalies immunologiques de la PR.

L'analyse de la répartition du M-CSF dans chaque groupe PR ou arthrose, que ce soit dans le sérum ou dans le liquide synovial, montre une répartition beaucoup plus étendue dans la PR que dans l'arthrose (figures 13, 14, 15 et 16). En effet, en déterminant une valeur seuil de 400 UI/ml, correspondant à la valeur moyenne du M-CSF sur la population générale, 62,5 % des PR et 6,7 % des arthroses sont au dessus de cette valeur pour le M-CSF sérique. En ce qui concerne le M-CSF dans le liquide synovial, 53,8 % des PR et 0 % des arthroses sont au dessus de cette valeur seuil. Ces résultats confirment la répartition inhomogène du taux de M-CSF dans la PR. Cette répartition ne semble pas pouvoir s'expliquer par l'évolutivité de la maladie puisque toutes les PR ont été sélectionnées sur des critères d'activité de leur maladie. Dans une

population de PR actives, il pourrait donc exister des sous-populations différentes, se traduisant par des taux de M-CSF différents. Ces résultats sont compatibles avec la conception actuelle de la PR. En effet, il s'agit d'une maladie hétérogène, caractérisée par d'importantes variations dans les manifestations cliniques, le profil évolutif et la réponse aux traitements. Il existe des formes sévères avec des atteintes viscérales ou des destructions articulaires rapides. A l'opposé, la PR peut être bénigne, pouvant guérir complètement ou entraîner peu ou pas de gêne fonctionnelle ou de lésions radiographiques, même après de longues années d'évolution. Les marqueurs génétiques HLA-DR permettent également de séparer des sous-populations de PR correspondant aux formes les plus sévères de la maladie (PR homozygotes DR4 et hétérozygotes DR4 0401 et 0404 et DR4-DR1).

Si l'on tient compte de la population générale (sur les 86 patients), il existe une corrélation entre le taux de M-CSF sérique et celui dans le liquide synovial ( $p < 0,001$  et  $\rho = 0,86$ ). Dans la PR, le M-CSF dans le liquide synovial n'est pas significativement différent du M-CSF sérique et il existe une corrélation entre ces 2 taux ( $p < 0,01$  et  $\rho = 0,8$ ). Par contre, le M-CSF dans le liquide synovial est significativement différent du M-CSF sérique dans l'arthrose ( $p < 0,01$ ) et il n'existe aucune corrélation entre eux ( $p < 0,12$  et  $\rho = 0,47$ ). Ces résultats pourraient suggérer une production locale articulaire du M-CSF dans la PR. Dans l'arthrose par contre, les différences de taux entre sérum et liquide synovial pourraient refléter une simple diffusion.

A notre connaissance, il n'y a pas eu d'étude publiée concernant le dosage du M-CSF dans le sérum, aussi bien dans la PR que dans l'arthrose.

Par contre, WILLIAMSON *et col.* (1988) ont mis en évidence une activité CSF (stimulant la croissance de colonies hématopoïétiques) non spécifique dans le liquide synovial de 6 patients sur 7 atteints d'arthropathies inflammatoires et de 1 patient sur 2 atteints d'arthrose. Leurs résultats suggéraient la présence de divers CSFs (M-, G- et GM-CSF) dans le liquide synovial des arthropathies inflammatoires.

FIRESTEIN *et col.* (1988) ont confirmé la présence d'une activité CSF dans 4 liquides synoviaux de PR sur 5, activité neutralisée par des anticorps spécifiques du M-

CSF. Le dosage du M-CSF par technique RIA était positif dans les 2 liquides synoviaux testés.

SMITH *et col.* (1990) ont mis en évidence une activité CSF dans le liquide synovial de 100 % (5 sur 5) des arthrites septiques, 67 % (8 sur 12) des PR et 54 % (7 sur 13) des arthroses. Cette activité CSF était presque entièrement neutralisée par des anticorps anti-M-CSF.

L'ensemble de ces résultats suggérait une augmentation du M-CSF dans le liquide synovial de PR. Cependant les techniques utilisées n'étaient pas spécifiques, ni quantitatives.

Des études de corrélation ont été réalisées entre les taux de M-CSF sérique ou dans le liquide synovial et les critères cliniques et biologiques par un test de Spearman.

Dans la PR, il existe une corrélation négative entre le taux de M-CSF sérique et le score de RITCHIE d'une part et entre le taux de M-CSF sérique et le taux des plaquettes d'autre part.

Il existerait donc une diminution du taux des plaquettes chez les patients ayant un taux de M-CSF élevé. KHWAJA *et col.* (1991) avaient décrit une diminution du taux de plaquettes, *in vivo*, après administration de M-CSF recombinant.

Par contre, il est plus difficile d'expliquer la corrélation négative avec le score de RITCHIE.

Le taux de M-CSF sérique n'est corrélé à aucun critère clinique d'activité de la PR. Il n'existe pas non plus de relation avec les marqueurs biologiques de l'inflammation comme la VS et la CRP.

Cependant en modifiant les critères d'activité et en les associant 2 par 2, il est possible de séparer des sous-groupes de PR (13 patients avec une VS  $\geq$  28 mm et un nombre d'articulations tuméfiées  $\geq$  9 ; 12 patients avec une raideur matinale  $\geq$  45 min et un nombre d'articulations tuméfiées  $\geq$  9), où le taux de M-CSF sérique est corrélé à la VS. La moyenne des VS de ces 2 sous-groupes est plus élevée que celle de l'ensemble de la population de PR. Ainsi, le M-CSF pourrait être corrélé aux marqueurs d'inflammation seulement dans les PR les plus actives. Compte tenu du faible nombre de patients dans chaque sous-groupe, il est difficile d'en tirer des conclusions formelles.

Fait intéressant, le taux de M-CSF sérique est significativement plus élevé ( $p < 0,005$ ) dans le groupe de PR avec des facteurs rhumatoïdes, comparé au groupe de PR sans facteurs rhumatoïdes (en moyenne 632,9 UI/ml et 418,4 UI/ml respectivement). Parmi les patients FR (+), 79 % (27 sur 34) ont un taux de M-CSF supérieur à 400 UI/ml. Parmi les patients FR (-), 63,6 % (14 sur 22) ont un taux de M-CSF inférieur à 400 UI/ml.

Parmi la population de PR, un sous-groupe de 13 patients avec des manifestations extra-articulaires a été individualisé. Il se caractérise par un taux moyen de M-CSF sérique significativement plus élevé que celui des PR sans manifestation extra-articulaire (686 et 507 UI/ml respectivement).

D'autre part, le taux de M-CSF sérique est significativement plus élevé ( $p = 0,06$ ) dans le sous-groupe de PR avec érosions osseuses, comparé au sous-groupe de PR sans érosion osseuse (en moyenne 585,2 UI/ml et 398,9 UI/ml respectivement). Cependant, notre population est constituée de PR dont la durée moyenne de la maladie est de 10,3 années et dont la fréquence des érosions osseuses est de 80 %. D'autre part les érosions osseuses n'ont pas été quantifiées. Il est donc impossible de tirer des conclusions quant à la relation éventuelle entre le taux de M-CSF et le degré de destruction articulaire radiologique.

En ce qui concerne le taux de M-CSF dans le liquide synovial (13 échantillons), il existe une corrélation positive avec la VS ( $p < 0,05$  et  $\rho = 0,6$ ) et négative avec le taux d'hémoglobine ( $p < 0,05$  et  $\rho = -0,56$ ).

L'anémie dans la PR est fréquente, présente dans 50% des cas pour REMACHA *et col.* (1992). Il s'agit le plus souvent d'anémie inflammatoire, probablement liée à un dysfonctionnement de l'activité de l'érythropoïétine. Son intensité est corrélée à l'activité de la maladie.

Le taux de M-CSF dans le liquide synovial semble donc être un bon reflet du degré d'inflammation puisqu'il est corrélé à la VS et à l'anémie. Cette corrélation entre M-CSF dans le liquide synovial et degré d'inflammation plaide également en faveur d'une production locale de M-CSF par la synoviale rhumatoïde.

De la même façon que dans le sérum, le taux de M-CSF dans le liquide synovial est significativement plus élevé ( $p < 0,05$ ) dans le sous-groupe de PR FR (+), comparé au sous-groupe de PR FR (-) (en moyenne 756 UI/ml et 412 UI/ml respectivement). Les 5 patients FR (+) ont tous un taux de M-CSF dans le liquide synovial supérieur à 400 UI/ml. Parmi les 8 patients FR (-), 6 patients ont un taux de M-CSF inférieur à 400 UI/ml. Par contre, il ne varie pas avec la présence ou l'absence de manifestations extra-articulaires.

L'ensemble de ces résultats a été obtenu avec 13 échantillons et nécessite donc d'être confirmé par une étude sur un plus grand nombre de liquides articulaires.

Au total, le taux de M-CSF dans le liquide synovial semble être un bon reflet d'activité de la maladie, ce qui ne paraît pas être le cas du taux de M-CSF dans le sérum. D'autre part, les taux de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial sont significativement plus élevés chez les patients FR (+).

L'association entre facteurs rhumatoïdes et paramètres cliniques de la PR, incluant la sévérité des érosions osseuses, est relativement discutée dans la littérature. Cependant, pour la majorité des auteurs, la présence de facteurs rhumatoïdes sériques est un bon marqueur pronostique. Dans une étude contrôlée chez des femmes ayant une PR débutante, les patientes avec facteurs rhumatoïdes sériques positifs ont développé plus d'érosions osseuses et de handicap fonctionnel que celles qui étaient séronégatives. Deux études prospectives ont montré que le facteur rhumatoïde IgM était l'une des variables les plus prédictives de l'évolution ultérieure d'une PR. Dans un travail récent, le titre des facteurs rhumatoïdes semble plus important que la notion de séropositivité (COMBE *et col.*, 1996).

Compte tenu de la corrélation entre M-CSF et positivité des FR, le taux de M-CSF sérique pourrait représenter un critère de sévérité de la PR. Cette hypothèse est confortée par la mise en évidence d'un taux de M-CSF sérique plus élevé dans les PR compliquées de manifestations extra-articulaires. En effet, la présence de ces manifestations extra-articulaires est habituellement observée dans les PR sévères et compte parmi les facteurs de pronostic péjoratif (WOLFE *et col.*, 1994 ; COMBE *et col.*, 1996).

Dans l'arthrose, le taux de M-CSF sérique n'est corrélé à aucun critère biologique ou clinique, en dehors de la durée de la maladie ( $p < 0,01$  et  $\rho = 0,52$ ). Cette corrélation avec l'ancienneté de la maladie ne peut pas être liée à l'âge, car il n'y a aucune relation entre le taux de M-CSF et l'âge.

En ce qui concerne le M-CSF dans le liquide synovial, son taux n'est corrélé à aucun critère clinique ou biologique, en dehors de la VS. Il s'agit d'une corrélation négative où plus le taux de M-CSF est élevé, plus la VS est basse ( $p < 0,05$  et  $\rho = -0,63$ ), ce qui est à l'opposé des résultats obtenus dans la PR.

Les corrélations entre M-CSF et critères biologiques ou cliniques sont donc nettement différentes dans la PR et l'arthrose. Mais il faut noter que les 2 groupes PR et arthrose ne sont pas comparables en terme d'âge et de durée de la maladie. Cependant, ces 2 critères ne sont pas corrélés au taux de M-CSF, aussi bien dans la PR que dans l'arthrose.

En ce qui concerne la thérapeutique, les différents traitements de fond ou symptomatiques de la PR, seuls ou en association, ne semblent avoir aucune influence sur le taux de M-CSF sérique et dans le liquide synovial.

*In vitro*, TOBLER *et col.* (1992) avaient montré que la dexaméthasone ne diminuait pas le taux d'ARNm et de protéine M-CSF dans les fibroblastes humains stimulés par le TNF- $\alpha$ . HAMILTON *et col.* (1993 c) ont étudié la régulation du M-CSF dans les cellules synoviales en culture et ont mis en évidence l'absence d'action de la dexaméthasone sur la production de M-CSF stimulée ou non par l'IL-1 $\alpha$ .

Dans le groupe arthrose, il n'existe pas non plus de différences de concentration du M-CSF entre le sous-groupe traité par AINS et le sous-groupe non traité par AINS.

Des questions se posent également quant à la participation du M-CSF dans la physiopathogénie de la PR. Le M-CSF est essentiellement un facteur de survie et de prolifération des précurseurs de la lignée monocytaire-macrophagique. Il intervient également dans la migration et les fonctions des macrophages matures. Or, la prolifération synoviale dans la PR est en grande partie liée au recrutement de macrophages (ATHANASOU *et col.*, 1995). Ces macrophages ont un phénotype activé

(FIRESTEIN *et col.*, 1990) et leur nombre au sein de la synovite rhumatoïde semble corrélé à la destruction articulaire (MULHERIN *et col.*, 1996). Ainsi, le M-CSF, par l'intermédiaire de ses actions sur les macrophages matures ou sur leurs précurseurs, pourrait intervenir dans la physiopathologie de la PR.

En effet, l'IL-1, le TNF et l'IL-6, cytokines « pro-inflammatoires » impliquées dans les désordres immunologiques de la PR, sont capables d'induire la synthèse de M-CSF dans les lymphocytes T, les macrophages et fibroblastes synoviaux, les cellules endothéliales et même dans les chondrocytes et les ostéoblastes. En retour, le M-CSF pourrait stimuler la synthèse d'IL-1, de TNF- $\alpha$ , d'IL-6 et d'IL-8, bien que ceci reste encore un sujet de controverses. Ainsi pourrait se créer une boucle de stimulation et d'auto-entretien (figure 17). D'autre part, sous l'influence du M-CSF, l'expression des molécules HLA-DR augmente à la surface des monocytes/macrophages. Le M-CSF est capable d'induire la synthèse de PGE2 et d'activateur du plasminogène de type urokinase, eux mêmes responsables de la production de collagénase intervenant dans la destruction du cartilage.

Le M-CSF est également un facteur essentiel à la prolifération des précurseurs ostéoclastiques, il est capable d'induire l'activation des ostéoclastes matures. L'augmentation de sa production dans la PR pourrait participer à la résorption osseuse locale. Sous l'influence du M-CSF, les macrophages synoviaux pourraient même se différencier en cellules « ostéoclaste-like » osseuses (ATHANASOU *et col.*, 1995).

D'autre part, un certain nombre d'études plaident en faveur d'une initiation non pas articulaire, mais systémique voire hématopoïétique de la PR. En effet, 30 % des patients atteints de PR ont une monocytose sanguine (BUCHAN *et col.*, 1985) et la population cellulaire mononucléée des PR contient un nombre élevé de monocytes, comparé à celle de sujets sains (HAMILTON, 1993 b).

FUJII *et col.* (1990), ainsi que SHINOHARA *et col.* (1992) ont montré des anomalies phénotypiques des monocytes circulants dans la PR, avec une augmentation d'expression des marqueurs d'activation.

HAMILTON (1993 b) a suggéré qu'une myélopoïèse anormale dans la moelle de PR pourrait jouer un rôle important dans le développement de la maladie. Dans la moelle osseuse iliaque des patients atteints de PR (56 PR), le nombre absolu de cellules mononucléées est augmenté par rapport aux sujets contrôles (7 sujets contrôles).

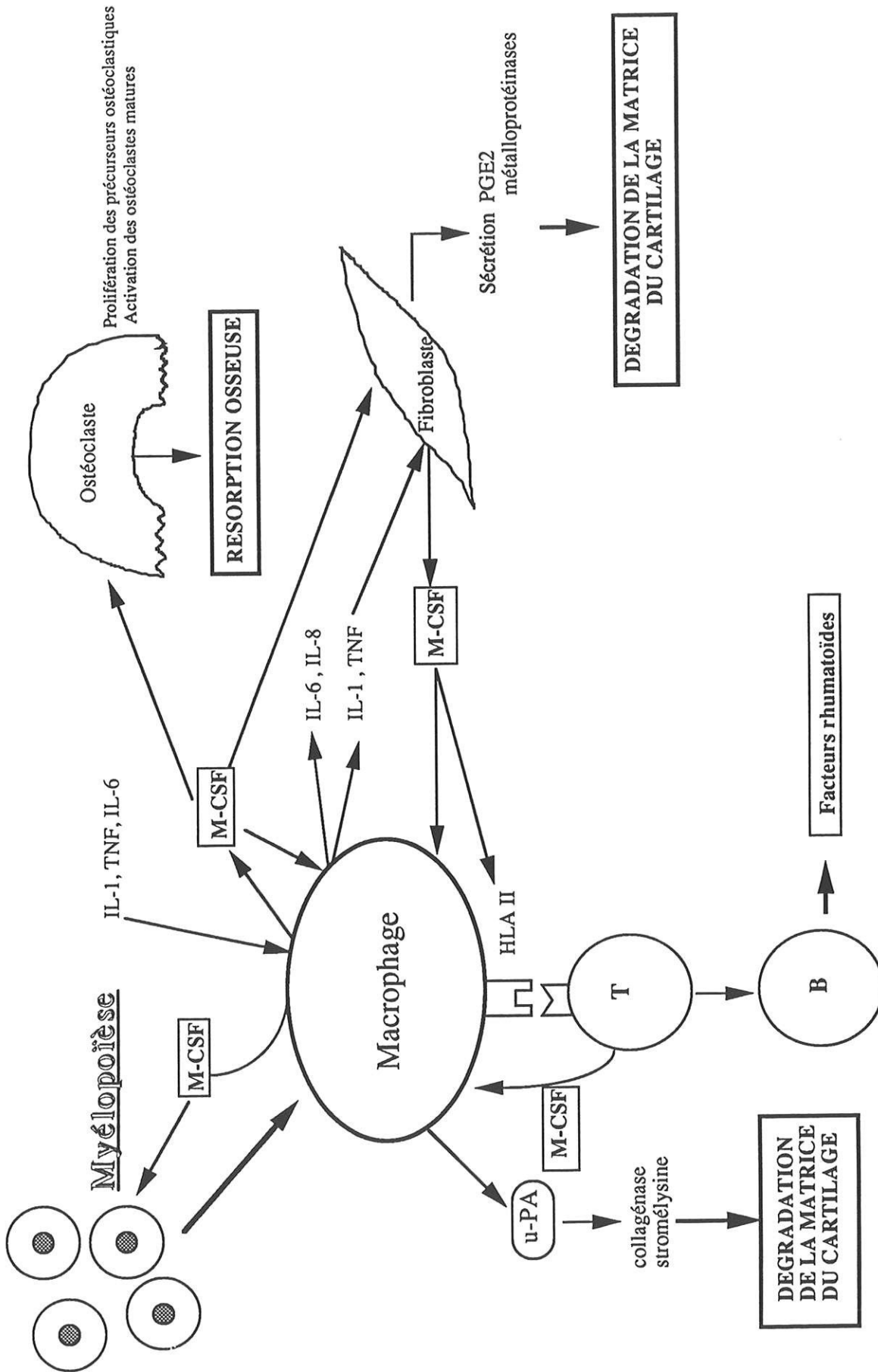


Figure 17 : Intervention du M-CSF dans l'immunopathologie de la PR.



Il existe également une proportion plus importante de cellules myéloïdes anormales (MX-GA + et MY4 +) dans les PR modérées et sévères par rapport aux PR bénignes et aux sujets contrôles (TOMITA *et col.*, 1994).

Des taux particulièrement élevés d'IL-6 et d'IL-8 ont été détectés dans la moelle osseuse iliaque au cours d'interventions chirurgicales sur des articulations de 25 patients souffrant de PR. Ces taux étaient nettement plus élevés que chez les sujets témoins et étaient corrélés à l'importance de la prolifération synoviale dans l'articulation opérée (TANABE *et col.*, 1994).

OWAKI *et col.* (1989) ont détecté une activité CSF élevée dans la moelle osseuse adjacente aux articulations touchées dans la PR.

SEITZ *et col.* (1992) ont mis en évidence dans la moelle osseuse de PR la présence de cellules mononucléées de phénotype activé avec une augmentation des molécules HLA-DR et CD14 par comparaison à des sujets sains.

HIROHATA *et col.* (1996) ont montré qu'il existe dans la PR une génération spontanée et accélérée de cellules CD14 + à partir de précurseurs médullaires CD14 -, comparé à des sujets sains. Ces cellules expriment des molécules HLA-DR de façon précoce, ne répondent pas au GM-CSF et stimulent la production de facteurs rhumatoïdes.

Dans la littérature, il existe quelques cas de PR en rémission après greffe de moelle osseuse (LOWENTHAL *et col.*, 1993). Ces cas isolés viennent renforcer l'hypothèse d'anomalies médullaires dans la PR.

Les différents traitements de fond de la PR (sels d'or, D-pénicillamine, cyclophosphamide et méthotrexate) réduisent le nombre de colonies myéloïdes *in vitro* et *in vivo* dans la PR.

La leucopénie est d'ailleurs un effet secondaire commun à tous ces traitements.

HAMILTON (1993 b) pense que ces différents traitements de fond pourraient réduire le nombre de monocytes/macrophages matures capables d'être recrutés dans la membrane synoviale, par inhibition de la myélopoïèse. L'effet retardé de ces traitements pourrait être expliqué par la demi-vie relativement longue des cellules monocytaires-macrophagiques.

Ainsi, le M-CSF pourrait intervenir sur la prolifération et l'activation locale des macrophages dans la synovite rhumatoïde. Il pourrait jouer également un rôle important dans le cadre des deux hypothèses physiopathologiques suivantes :

- L'expression constitutive de différentes cytokines et notamment du M-CSF dans la synoviale rhumatoïde pourrait exercer une stimulation systémique de la maturation monocyttaire-macrophagique. Ainsi, la boucle autocrine/paracrine du M-CSF pourrait s'étendre à la moelle osseuse. D'autres cytokines, comme l'IL-1 et l'IL-6 produites en grande quantité dans les articulations de PR, pourraient amplifier directement l'activité hématopoïétique et augmenter, elles aussi, le recrutement de macrophages dans l'articulation (figure 17).

- L'hyperplasie cellulaire synoviale pourrait être liée à une infiltration permanente par des cellules de la lignée monocyttaire-macrophagique originaires d'une moelle osseuse anormale.

**CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES**

Le M-CSF est un facteur de croissance hématopoïétique. Il régule la survie, la prolifération et la différenciation des cellules de la lignée monocytaire-macrophagique et active certaines fonctions des macrophages tissulaires.

Il est significativement plus élevé dans le sérum et dans le liquide synovial de PR, comparé à l'arthrose. Il pourrait ainsi participer au réseau de cytokines et facteurs de croissance, impliqués dans la physiopathologie de la PR.

Le taux de M-CSF dans le liquide synovial semble corrélé au degré d'activité de la PR, alors que le taux sérique pourrait être un facteur de gravité.

Compte tenu de l'hétérogénéité de la PR, l'identification de marqueurs pronostiques dans la PR serait d'une grande utilité pour le clinicien, afin de modifier son approche thérapeutique. Ceci lui permettrait de dépister plus facilement les formes à fort potentiel évolutif, pouvant justifier d'emblée une thérapeutique agressive et d'éviter les traitements potentiellement les plus toxiques dans les formes de PR a priori plus bénignes. Actuellement, aucun facteur pronostique n'est universellement accepté et validé. Néanmoins la VS, la CRP, le titre des facteurs rhumatoïdes sont les indicateurs du pronostic les plus performants au début de la maladie. Les marqueurs génétiques et notamment certains allèles HLA DRB1 seraient corrélés avec la sévérité de la maladie. Il existerait même une sorte « d'effet dose » des allèles à risque avec un risque maximum d'avoir une PR sévère pour les homozygotes DR4 (0401-0401 ou 0404-0404) et pour les hétérozygotes DR4 (0401-0404) et DR4-DR1.

Nos résultats préliminaires laissent supposer que le M-CSF pourrait être un marqueur de sévérité de la PR. Cependant, ils nécessitent d'être confirmés par des études supplémentaires et notamment:

- une étude des corrélations entre taux de M-CSF, titre des facteurs rhumatoïdes et groupage HLA-DR dans notre population de PR,
- une étude du taux de M-CSF, du titre des facteurs rhumatoïdes, de la présence d'anticorps anti-kératine et du groupage HLA-DR dans une population de PR débutantes (< 1 an d'évolution), afin de rechercher une corrélation entre ces facteurs et une corrélation éventuelle entre le taux de M-CSF et le profil évolutif des PR.

Il serait également intéressant de rechercher une corrélation entre le taux de M-CSF et l'évolution vers une PR avérée, dans une population de polyarthrites débutantes ne répondant pas aux critères de l'ACR 1987, afin de déterminer si le dosage de M-CSF a un intérêt dans le diagnostic précoce de la maladie.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- 1- ABD A.H., SAVAGE N.W., HALLIDAY W.J., HUME D.A. The role of macrophage in experimental arthritis induced by streptococcus agalactiae sonicate: actions of M-CSF and other macrophage modulating agents. *Lymphokine Cytokine Res.* , 1991, 10 : 43-50.
- 2- AKASHI M., SAITO M., KOEFFLER H.P. Lymphotoxin: Stimulation and regulation of colony-stimulating factors in fibroblasts. *Blood* , 1989, 7 : 2383-2390.
- 3- ALSALAMEH S., FIRESTEIN G.S., OEZ S., KURRLE R., KALDEN J.R., BURMESTER G.R. Regulation of granulocyte macrophage colony-stimulating factor production by human articular chondrocytes. Induction by both TNF- $\alpha$  and IL-1, downregulation by TGF- $\beta$  and upregulation by fibroblast growth factor. *J. Rheumatol.* , 1994, 21 : 993-1002.
- 4- AREND W.P., DAYER J.M. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor- $\alpha$  in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* , 1995, 38 : 151-160.
- 5- ARNETT F.C., EDWORTHY S.M., BLOCH D.A., McSHANE D.J., FRIES J.F., COOPER N.S., HEALEY L.A., KAPLAN S.R., LIANG M.H., LUTHRA H.S., MEDSGER T.A., MITCHELL D.M., NEUSTADT D.H., PINALS R.S., SCHALLER J.G., SHARP J.T., WILDER R.L., HUNDER G.G. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* , 1988, 31 : 315-324.
- 6- ATHANASOU N.A., QUINN J.M. Immunocytochemical analysis of human synovial lining cells: phenotypic relation to other marrow-derived cells. *Ann. Rheum. Dis.* , 1991, 50 : 311-315.
- 7- ATHANASOU N.A. Synovial macrophages. *Ann. Rheum. Dis.* , 1995, 54 : 392-394.
- 8- BARTOCCI A., MASTROGIANNIS D.S., MIGLIORATI G., STOCKERT R.J., WOLKOFF A.W., STANLEY E.R. Macrophages specifically regulate the concentration of their own growth factor in the circulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 1987, 84 : 6179-6183.

- 9- BECKER S., WARREN M.K., HASKILL S. Colony stimulating factor induced monocyte survival and differentiation into macrophages in serum free cultures. *J. Immunol.* , 1987, 139 : 3703-3709.
- 10- BELL A.L., MAGILL M.K., McKANE W.R., KIRK F., IRVINE A.E. Measurement of colony-stimulating factors in synovial fluid: potential clinical value. *Rheumatol. Int.* , 1995, 14 : 177-182.
- 11- BERGAMINI A., CAPOZZI M., PIACENTINI M. Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) stimulation induces cell death in HIV-infected human monocytes. *Immunology letters* , 1994, 42 : 35-40.
- 12- BISKOBING D.M., FAN X., RUBIN J. Characterization of M-CSF-induced proliferation and subsequent osteoclast formation in murine marrow culture. *J. Bone Miner. Res.* , 1995, 10 : 1025-1032.
- 13- BLACKMAN M., KAPPLER J., MARRACK P. The role of T cell receptor in positive and negative selection of developing T cells. *Science* , 1990, 248 : 1335-1341.
- 14- BRENNAN F.M., MAINI R.N., FELDMANN M. Cytokine expression in chronic inflammatory disease. *Br. Med. Bull.* , 1995, 51 : 368-384.
- 15- BUCHAN G.S., PALMER D.G., GIBBINS B.L. The response of human peripheral blood mononuclear phagocytes to rheumatoid arthritis. *J. Leukoc. Biol.* , 1985, 37 : 221-230.
- 16- CAMPBELL I.K., IANCHES G., HAMILTON J.A. Production of macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) by human articular cartilage and chondrocytes. Modulation by interleukin-1 and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Biochim. Biophys. Acta* , 1993, 1182 : 57-63.
- 17- CANTAGREL A., ALAM A., MAZIERES B., COPPIN H. Activation des lymphocytes T au cours de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev. Rhum. (Ed. Fr.)* , 1995, 62 (7-8 bis) : 166S-173S.



18- CARLBERG K., ROHRSCHEIDER L. The effect of activating mutations on dimerization, tyrosine phosphorylation and internalization of the macrophage colony stimulating factor receptor. *Mol. Biol. Cell* , 1994, 5 : 81-95.

19- CERRETTI D.P., WIGNALL J., ANDERSON D. Human macrophage colony-stimulating factor : alternative RNA and protein processing from a single gene. *Mol. Immunol.* , 1988, 25 : 761-770.

20- CHEERS C., STANLEY E.R. Macrophage production during murine listeriosis: colony-stimulating factor-1 (CSF-1) and CSF-1 binding cells in genetically resistant and susceptible mice. *Infect. Immun.* , 1988, 56 : 2972-2978.

21- CHODAKEWITZ J.A., LACY J., EDWARDS S.E., BIRCHALL N., COLEMAN D.L. Macrophage colony stimulating factor production by murine and human keratinocytes. Enhancement by bacterial lipopolysaccharide. *J. Immunol.* , 1990, 144 : 2190-2196.

22- CLARET E., PRALORAN V., ZHENG X., BONNEFOIX T., SOTTO M.F., RENVERSEZ J.C., PICCINNI M.P., SOTTO J.J. Accumulation of T cell clones producing high levels of both GM-CSF and M-CSF in lymphnodes involved by Hodgkin's disease. *Leukemia* , 1992, 6 : 820-827.

23- CLEASSON-WELSH L., ERIKSSON A., WESTERMARK B., HELDIN C.H. cDNA cloning and expression of the human A type platelet-derived growth factor (PDGF) receptor establishes structural similarity to the B-type PDGF receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 1989, 86 : 4917-4921.

24- COMBE B., SANY J. La recherche thérapeutique dans la polyarthrite rhumatoïde. *Rev. Rhum. (Ed. Fr.)* , 1995, 62 (7-8 bis) : 209S-218S.

25- COMBE B. Les facteurs de pronostic des rhumatismes inflammatoires au début de la maladie. *Rev. Méd. Interne* , 1996, 17 : 224-230.

- 26- COSMAN D.P., WIGNALL J., ANDERSON D., TUSHINSKI R.J., GALLIS B.J., URDAL D., CERETTI D.P. Human macrophage colony-stimulating factor : Alternate RNA splicing generates three different proteins that are expressed on the cell surface and secreted. *Behring. Inst. Mitt.* , 1988, 83 : 15-21.
- 27- COUPEY L., GOUBIL A., BERRADA L., BLANCHARD D., PRALORAN V. Développement et mise au point d'un ELISA anti-M-CSF : Aspects techniques et intérêt clinique potentiel en hémato-cancérologie. *Bulletin du Cancer* , 1992, 79 : 569.
- 28- COUPEY L., BERRADA L., GASCAN H., GADARD A., PRALORAN V. High titre anticytokine antibodies obtained by intra-lymphnode immunization with low amounts of antigen. *cytokine* , 1993, 5 : 564-569.
- 29- CROFFORD L. Expression and regulation of COX-2 in synovial tissues of arthritic patients. Dans « Improved non-steroid anti-inflammatory drugs » ; VANE, BOTTING and BOTTING ; Ed. William Harvey press ; 1995 : 133-144.
- 30- CSEJTEY J., BOOSMAN A. Purification of human macrophage colony stimulating factor (CSF-1) from medium conditioned by pancreatic carcinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 1986, 138 : 238-245.
- 31- CUTURI M.C., ANEGON I., SHERMANN F., LOUDON R., CLARK S.C., PERUSSIA B., TRINCHIERI G. Production of hematopoietic colony stimulating factors by human natural killer cells. *J. Exp. Med.* , 1989, 169 : 569-583.
- 32- DAS S.K., STANLEY E.R., GUILBERT L.J., FORMAN L.W. Discrimination of a colony stimulating factor subclass by a specific receptor on a macrophage cell line. *J. Cell Physiol.* , 1980, 104 : 359-366.
- 33- DAS S.K., STANLEY E.R., GUILBERT L.J., FORMAN L.W. Human colony-stimulating factor (CSF-1) radioimmunoassay : resolution of three subclasses of human colony-stimulating factors. *Blood* , 1981, 58 : 630-641.
- 34- DAYER J.M. Cytokines et anti-cytokines dans les rhumatismes inflammatoires. *Rev. Rhum. (Ed. Fr.)* , 1994, 61 (10 bis) : 173S-180S.

- 35- DELLO SBARBA P., NENCIONI L., LABARDI D., ROVIDA E., CACIAGLI B., CIPOLLESCHI M.G. Interleukin-2 down-modulates macrophage colony-stimulating factor receptor in murine macrophages. *Cytokine* , 1996, 8 : 488-494.
- 36- DINARELLO C.A. The interleukin-1 family: 10 years of discovery. *FASEB J.* , 1994, 8 : 1314-1325.
- 37- DOWNING J.R., RETTENMIER C.W., SHERR C.J. Ligand-induced tyrosine kinase activity of the colony-stimulating factor-1 receptor in a murine macrophage cell line. *Mol. Cell. Biol.* , 1988, 8 : 1797-1799.
- 38- ELIAOU J.F. Génétique de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev. Rhum. (Ed. Fr.)* , 1995, 62 (7-8 bis) : 157S-165S.
- 39- EMILIE D., MIOSSEC P., FRADELIZI D. Cytokines et polyarthrite rhumatoïde. *Rev. Rhum. (Ed. Fr.)* , 1995 a, 62 (7-8 bis) : 174S-181S.
- 40- EMILIE D., LLORENTE L., GALANAUD P. L'interleukine-10, une cytokine clé des rhumatismes inflammatoires chroniques. *Rev. Rhum. (Ed. Fr.)* , 1995 b, 62 : 239-242.
- 41- ERNST T.J., RITCHIE A.R., DEMETRI G.D., GRIFFIN J.D. Regulation of granulocyte- and monocyte-colony stimulating factor mRNA levels in human blood monocytes is mediated primarily at a post-transcriptional level. *J. Biol. Chem.* , 1989, 264 : 5700-5703.
- 42- ESPINOZA-DELGADO I., LONGO D.L., GUSELLA G.L., VARESIO L. IL-2 enhances c-fms expression in human monocytes. *J. Immunol.* , 1990, 145 : 1137-1143.
- 43- EVANS R., KAMDAR S.J., FULLER J.A., KRUPKE D.M. The potential role of the macrophage colony-stimulating factor, CSF-1, in inflammatory responses: characterization of macrophage cytokine gene expression. *J. Leukoc. Biol.* , 1995, 58 : 99-107.

- 44- FALKENBURG J.H.F., HARRINGTON M.A., WALSH W.K., DAUB R., BROXMEYER H.E. Gene-expression and release of macrophage colony stimulating factor in quiescent and proliferating fibroblasts. *J. Immunol.* , 1990, 144 : 4657-4662.
- 45- FELIX R., FLEISCH H., ELFORD P.R. Bone-resorbing cytokines enhance release of M-CSF activity by the osteoblastic cell MC3T3-E1. *Calcif. Tissue Int.* , 1989, 44 : 356-360.
- 46- FELIX R., CECCHINI M.G., HOFSTETTER W., ELFORD P.R., STUTZER A., FLEISCH H. Impairment of M-CSF production and lack of resident bone marrow macrophages in the osteopetrotic *op/op* mouse. *J. Bone Miner. Res.* , 1990 a, 5 : 781-789.
- 47- FELIX R., CECCHINI M.G., FLEISCH H. Macrophage colony-stimulating factor restores in vivo bone resorption in the *op/op* osteopetrotic mouse. *Endocrinology* , 1990 b, 127 : 2592-2594.
- 48- FELIX R., HALASY-NAGY J., WETTERWALD A., CECCHINI M.G., FLEISCH H., HOFSTETTER W. Synthesis of membrane-bound colony-stimulating factor-1 by cultured osteoblasts. *J. Cell. Physiol.* , 1996, 166 : 311-322.
- 49- FIBBE W.E., VAN DAMME J., BILLIAU A., GOSELINK H.M., VOOGT P.J., VAN EEDEN G., RALPH P., ALTROCK B.W., FALKENBURG J.H.F. Interleukin-1 induces human marrow stromal cells in long-term culture to produce granulocyte colony-stimulating factor and macrophage colony-stimulating factor. *Blood* , 1988, 71 : 430-435.
- 50- FIBBE W.E., DAHA M. IL-1 and ply IC induce production of G-, M-, GM-CSF by human endothelial cells. *Exp. Hematol.* , 1989, 17 : 229-234.
- 51- FIRESTEIN G.S., XU W.D., TOWNSEND K., BROIDE D., ALVARO-GRACIA J., GLASEBROOK A., ZVAIFLER N.J. Cytokines in chronic inflammatory arthritis. I - Failure to detect T cell lymphokines (IL-2 and IL-3) and presence of macrophage colony-stimulating factor (CSF-1) and a novel mast cell growth factor in rheumatoid synovitis. *J. Exp. Med.* , 1988, 168 : 1573-1586.
- 52- FIRESTEIN G.S., ZVAIFLER N.J. How important are T cells in chronic rheumatoid synovitis ? *Arthritis Rheum.* , 1990, 33 : 768-773.

53- FITZGERALD O., BRESNIHAN B. Synovial membrane cellularity and vascularity. *Ann. Rheum. Dis.* , 1995, 54 : 611-5

54- FIXE P., LORGEOT V., LE MEUR Y., COUPEY L., HEYMANN D., GODARD A., PRALORAN V. Development of enzyme-immunoassays (EIA) for macrophage colony-stimulating-factor (M-CSF) and leukaemia inhibitory factor (LIF) by using the same capture and signal generating polyclonal antibody. *Cytokine* , 1996, 8 : 586-591.

55- FRIEDMAN S.M., CROW M.K., TUMANG J.R., TUMANG M., XU Y., HODTSEV A.S., COLE B.C., POSNETT D.N. Characterization of human T cells reactive with mycoplasma arthritidis-derived superantigen (MAM): generation of a monoclonal anti-body against V $\beta$ 17, the T cell receptor gene product expressed by a large fraction of MAM-reactive human T cells. *J. Exp. Med.* , 1991, 174 : 891-900.

56- FUJII I., SHINJU M., NOBURAGA M. Monocyte activation in early onset rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* , 1990, 49 : 497-503.

57- GENDLEMAN H., ORENSTEIN J.M., MARTIN M.A. Efficient isolation and propagation of human immunodeficiency virus on recombinant colony-stimulating factor-1 treated monocytes. *J. Exp. Med.* , 1988, 167 : 1428-1441.

58- GORONZY J.J., BARTZ-BAZZANELLA P., HU W., JENDRO M.C., WALSER-KUNTZ D.R., WEYAND C.M. Dominant clonotypes in the repertoire of peripheral CD4+ T cells in rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.* , 1994, 94 : 2068-2076.

59- GROFFEN J., HEISTERKAMP N., SPURR N., DANA S., WASMUTH J.J., STEPHENSON J.R. Chromosomal localization of the human c-fms oncogene. *Nucleic Acid Res.* , 1983, 11 : 6331-6339.

60- GRUBER M.F., WILLIAMS C.C., GERRARD T.L. Macrophage colony-stimulating factor expression by anti-CD45 stimulated human monocytes is transcriptionally up-regulated by IL-1 $\beta$  and inhibited by IL-4 and IL-10. *J. Immunol.* , 1994, 152 : 1354-1361.

- 61- GUILBERT L.J., STANLEY E.R. Specific interaction of murine colony-stimulating factor with mononuclear phagocytic cells. *J. Cell. Biol.* , 1980, 85 : 153-159.
- 62- GUILBERT L.J., STANLEY E.R. The interaction of <sup>125</sup> I colony-stimulating factor-1 with bone marrow-derived macrophages. *J. Biol. Chem.* , 1986, 261 : 2024-2032.
- 63- HALLET M.M., PRALORAN V., VIE H., PEYRAT M.A., WONG G., WITEK-GIANNOTTI J., SOULILLOU J.P., MOREAU J.F. Macrophage colony-stimulating factor (CSF-1) gene expression in human T-lymphocytes clones. *Blood* , 1991, 77 : 780-786.
- 64- HAMILTON J.A., HART P.H., LEIZER T., VITTI G.F., CAMPBELL I.K. Regulation of plasminogen activator activity in arthritic joints. *J. Rheumatol.* , 1991, 18 (suppl. 27) : 106-109.
- 65- HAMILTON J.A. Colony stimulating factors, cytokines and monocyte-macrophages : some controversies. *Immunol. today* , 1993 a, 14 : 18-24.
- 66- HAMILTON J.A. Rheumatoid arthritis: opposing actions of haemopoietic growth factors and slow-acting anti-rheumatic drugs. *Lancet* , 1993 b, 342 : 536-539.
- 67- HAMILTON J.A., FILONZI E.L., IANCHES G. Regulation of macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) production in cultured human synovial fibroblasts. *Growth Factors* , 1993 c, 9 : 157-165.
- 68- HAMILTON J.A., WHITTY G.A., STANTON H., MEAGER A. Effects of macrophage colony-stimulating factor on human monocytes : induction of expression of urokinase-type plasminogen activator, but not of secreted prostaglandin E<sub>2</sub>, interleukin-6, interleukin-1, or tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J. leukoc. Biol.* , 1993 d, 53 : 707-714.
- 69- HANAMURA T., MOTOYOSHI K., YOSHIDA K., SAITO M., MIURA Y., KAWASHIMA T., NISHIDA M., TAKAKU F. Quantitation and identification of human monocytic colony-stimulating factor in human serum by enzyme-linked immunosorbent assay. *Blood* , 1988, 72 : 886-892.

- 70- HASHIMOTO S.I., YODA M., YAMADA M., YANAI N., KAWASHIMA T., MOTOYOSHI K. Macrophage colony-stimulating factor induces interleukin-8 production in human monocytes. *Exp. Hematol.* , 1996, 24 : 123-128.
- 71- HERRMANN F., CANNISTRA S.A., GRIFFIN J.D. T cell-monocyte interactions in the production of humoral factors regulating human granulopoiesis in vitro. *J. Immunol.* , 1986, 136 : 2856-2861.
- 72- HIROHATA S., YANAGIDA T., ITOH K., NAKAMURA H., YOSHINO S., TOMITA T., OCHI T. Accelerated generation of CD14+ monocyte-lineage cells from the bone marrow of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* , 1996, 39 : 836-843.
- 73- HLA T., NEILSON K. Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* , 1992, 89 : 7384-7388.
- 74- HOFSTETTER W., WETTERWALD A., CECCHINI M.C., FELIX R., FLEISCH H., MUELLER C. Detection of transcripts for the receptor for macrophage colony-stimulating factor, c-fms, in murine osteoclasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 1992, 89 : 9637-9641.
- 75- HORIGUCHI J., SHERMAN M.L., SAMPSON-JOHANNES A., WEBER B.L., KUFEL D.W. CSF-1 and c-fms gene expression in human carcinoma cell lines. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* , 1988, 157 : 395-401.
- 76- HOWELL M.D., DIVELEY J.P., LUNDEEN K.A., ESTY A., WINTERS S.T., CARLO D.J., BROSTOFF S.W. Limited T cell receptor  $\beta$ -chain heterogeneity among interleukin-2 receptor-positive T cells suggests a role for superantigen in rheumatoid arthritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 1991, 88 : 10921-10925.
- 77- IANNONE F., CORRIGALL V.M., KINGSLEY G.H., PANAYI G.S. Evidence for the continuous recruitment and activation of T cells into the joints of patients with rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.* , 1994, 24 : 2706-2713.

- 78- ISOMAKI P., LUUKKAINEN R., TOIVANEN P., PUNNONEN J. The presence of interleukin-13 in rheumatoid synovium and its antiinflammatory effects on synovial fluid macrophages from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* , 1996, 39 : 1693-1702.
- 79- KACINSKI B.M., CARTER D., MITTAL K., YEE L.D., SCATA K.A., DONOFRIO L., CHAMBERS S.K., WANG K.I., YANG-FENG T., ROHRSCHEIDER L.R., ROTHWELL V.M. Ovarian adenocarcinomas express fms-complementary transcripts and fms antigen, often with coexpression of CSF-1. *Am. j. Pathol.* , 1990, 137 : 135-147.
- 80- KAPLAN D.L., EIELSON C.M., HOROWITZ M.C., INSOGNA K.L., WEIR E.C. Tumor necrosis factor- $\alpha$  induces transcription of the colony-stimulating factor-1 gene in murine osteoblasts. *J. Cell Physiol.* , 1996, 168 : 199-208.
- 81- KAWASAKI E.S., LADNER M.B., WANG A.M., ARSDELL J.V., WARREN M.K., COYNE M.Y., SCHWEICKART V.L., LEE M.T., WILSON K.J., BOOSMAN A., STANLEY E.R., RALPH P., MARK D.F. Molecular cloning of a complementary DNA encoding human macrophage-specific colony-stimulating factor (CSF-1). *Science* , 1985, 230 : 291-296.
- 82- KAWASAKI E.S., LADNER M.B. Molecular biology of macrophage colony-stimulating factor. *Immunol. Ser.* , 1990, 49 : 155-176.
- 83- KHWAJA A., JOHNSON B., ADDISON I.E., YONG K., RUTHVEN K., ABRAMSON S. In vivo effects of macrophage colony-stimulating factor on human monocyte function. *Br. J. Haematol.* , 1991, 77 : 25-31.
- 84- KIMBALL E.S., KOVACS E., CLARK M.C., SCHNEIDER C.R. Activation of cytokine production and adhesion molecule expression on THP-1 myelomonocytic cells by macrophage colony-stimulating factor in combination with interferon-gamma. *J. Leukoc. Biol.* , 1995, 58 : 585-594.
- 85- KINNE R.W., PALOMBO-KINNE E., EMMRICH F. Activation of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* , 1995, 54 : 501-504.



- 86- KOCH A.E., KUNDEL S.L., STRIETER R.M. Cytokines in rheumatoid arthritis. *J. Invest. Med.* , 1995, 43 : 28-37.
- 87- KOJIMA K., NAOMOTO Y., HIZUTA A., TANAKA N., ORITA K. Cytokine production-suppressive effect by macrophage colony-stimulating factor (M-CSF). *Res. Com. Mol. Pathol. Pharmacol.* , 1996, 91 : 161-172.
- 88- KU J.C.Y., LIU M.Y., WU M.C. Stimulation of macrophage colony-stimulating factor synthesis by interleukin-1. *Arch. Biochem. Biophys.* , 1992, 295 : 42-48.
- 89- KURLAND J.I., BROXMEYER H.E., PELUS L.M., BOCKMAN R.S., MOORE M.A.S. Role for monocyte-macrophage-derived colony-stimulating factor and prostaglandin E in the positive and negative feedback control of myeloid stem cell proliferation. *Blood* , 1978, 52 : 388-407.
- 90- LADNER M.B., MARTIN G.A., NOBLE J.A. Human CSF-1 : gene structure and alternative splicing of mRNA precursors. *EMBO J.* , 1987, 6 : 2693-2698.
- 91- LE P.T., KURTZBERG J., BRANDT S.J., NIEDEL J.E., HAYNES B.F., SINGER K.H. Human thymic epithelial cells produce granulocyte and macrophage colony stimulating factors. *J. Immunol.* , 1988, 41 : 1211-1217.
- 92- LEE M.T., WARREN M.K. CSF-1 induced resistance to viral infection in murine macrophages. *J. Immunol.* , 1987, 138 : 3019-3022.
- 93- LEE M.T., KAUSHANSKY K., RALPH P., LADNER M.B. Differential expression of M-CSF, and GM-CSF by human monocytes. *J. Leukoc. Biol.* , 1990, 47 : 275-282.
- 94- LIBLAU R.S., SINGER S.M., McDEVITT H.O. Th1 and Th2 CD4+ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunol. Today* , 1995, 16 : 34-38.
- 95- LOPEZ-BOTE J.P., BERNABEU C., MARQUET A., FERNANDEZ J.M., LARRAGA V. Adjuvant-induced polyarthritis: synovial cell activation prior to polyarthritis onset. *Arthritis Rheum.* , 1988, 31 : 769-775.

- 96- LOWENTHAL R.M., COHEN M.L., ATKINSON K., BIGGS J.C. Apparent cure of rheumatoid arthritis by bone marrow transplantation. *J. Rheumatol.* , 1993, 20 : 137-140.
- 97- LYBERG T., STANLEY E.R., PRYDZ H. Colony-stimulating factor-1 induces thromboplastin activity in murine macrophages and human monocytes. *J. Cell Physiol.* , 1987, 132 : 367-376.
- 98- MAC DONALD B.R., MUNDY G.R., CLARK S., WANG E.A., KUEHL T.J., STANLEY E.R., ROODMAN G.D. Effects of human recombinant GM-CSF and highly purified CSF-1 on the formation of multinucleated cells with osteoclast characteristics in longterm bone marrow cultures. *J. Bone Miner. Res.* , 1986, 1 : 227-233.
- 99- MACKINNEY M., PARKINSON A. A simple non-chromatographic procedure to purify immunoglobulins from serum and ascitic fluid. *J. Immunol. Methods* , 1987, 98 : 271-278.
- 100- MANTOVANI L., HENSCHLER R., BRACH M.A., MERTELSMANN R.H., HERRMANN F. Regulation of gene expression of macrophage colony-stimulating factor in human fibroblasts by the acute phase response mediators interleukin(IL)-1 $\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  and IL-6. *FEBS Letters* , 1991, 280 : 97-102.
- 101- MARIE P., DE VERNEJOU M.C. Facteurs locaux du remodelage osseux. *Rev. Rhum.* , 1993, 60 : 54-63.
- 102- MATSUDA T., HIRANO T., NAGASAWA S., KISHIMOTO T. Identification of  $\alpha$ 2-macroglobulin as a carrier protein for IL-6. *J. Immunol.* , 1989, 142 : 148-152.
- 103- MAY L.T., VIGUET H., KENNEY J.S., IDA N., ALLISON A.C., SEHGAL P.B. High levels of « complexed » interleukin-6 in human blood. *J. Biol. Chem.* , 1992, 267 : 19698-19704.

- 104- MOCHIZUKI D.Y., EISENMAN J.R., CONLON P.J., LARSEN A.D., TUSHINSKI R.J. Interleukin 1 regulates hematopoietic activity, a role previously ascribed to hemopoietin 1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* , 1987, 84 : 5267-5271.
- 105- MOORE R.N., OPPENHEIM J.J., FARRAR J.J., CARTER C.S., WAHEED A., SHADDUCK R.K. Production of lymphocyte-activating factor (interleukin-1) by macrophages activated with colony-stimulating factors. *J. Immunol.* , 1980, 125 : 1302-1305.
- 106- MOREAU A., PRALORAN V., BERRADA L., COUPEY L., GAILLARD F. Immunohistochemical detection of cells positive for CSF-1 in lymphnodes from reactive lymphadenitis and hodgkin's disease. *Leukemia* , 1992, 6 : 126-130.
- 107- MORGAN C.J., STANLEY E.R. Chemical crosslinking of the mononuclear phagocyte specific growth factor CSF-1 to its receptor at the cell surface. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* , 1984, 119 : 35-41.
- 108- MORRIS S.W., VALENTINE M.B., SHAPIRO D.N., SUBLETT J.E., DEAVEN L.L., FOUST J.T., ROBERTS W.M., CERRETTI D.P., LOOK A.T. Reassignment of the human CSF1 gene to chromosome 1p13-p21. *Blood* , 1991, 78 : 2013-2020.
- 109- MOTOYOSHI K., TAKAKU F., MIZOGUCHI H., MIURA Y. Purification and some properties of colony-stimulating factor from normal human urine. *Blood* , 1978, 52 : 1012-1020.
- 110- MOTOYOSHI K. Macrophage colony-stimulating factor for cancer therapy. *Oncology* , 1994, 51 : 198-204.
- 111- MULHERIN D., FITZGERALD O., BRESNIHAN B. Synovial tissue macrophage populations and articular damage in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* , 1996, 39 : 115-124.

112- NAITO M., HAYASHI S.I., YOSHIDA H., NISHIKAWA S.I., SHULTZ L.D., TAKAHASHI K. Abnormal differentiation of tissue macrophage population in osteopetrosis (op) mice defective in the production of macrophage colony-stimulating factor. *Am. J. Pathol.* , 1991, 139 : 657-667.

113- NAKAMURA T., LIN L.L., KHARABANDA S., KNOPF J., KUFÉ D. Macrophage colony-stimulating factor activates phosphatidylcholine hydrolysis by cytoplasmic phospholipase A2. *EMBO J.* , 1992, 11 : 4917-4922.

114- NAVARRO S., DEBILI N., BERNAUDIN J.F., VAINCHENKER W., DOLY J. Regulation of the expression of IL-6 in human monocytes. *J. Immunol.* , 1989, 142 : 4339-4345.

115- NOWICKI A., SZENAJCH J., OSTROWSKA G., WOJTOWICZ A., WOJTOWICZ K., KRUSZEWSKI A.A., MARUSZYNSKI M., AUKERMAN S.L., WIKTOR-JEDRZEJCZAK W. Impaired tumor growth in colony-stimulating factor-1 (CSF-1)-deficient, macrophage-deficient op/op mouse: evidence for a role of CSF-1-dependent macrophages in formation of tumor stroma. *Int. J. Cancer* , 1996, 65 : 112-119.

116- OHTSUKI T., SUZU S., HATAKE K., NAGATA N., MIURA Y., MOTOYOSHI K. A proteoglycan form of macrophage colony-stimulating factor that binds to bone-derived collagens and can be extracted from bone matrix. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* , 1993, 190 : 215-222.

117- OHTSUKI T., HATAKE K., SUZU S., HARIGAYA K., MIURA Y., MOTOYOSHI K. Alteration of the proteoglycan form of macrophage colony-stimulating factor produced by a human stromal line stimulated by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Exp. Hematol.* , 1994 a, 22 : 366-369.

118- OHTSUKI T., IKEDA M., HATAKE K., TOMIZUKA H., HOSHINO Y., SUZU S., HARIGAYA K., MOTOYOSHI K., MIURA Y. Quantitative analysis of the two macrophage colony-stimulating factor mRNA expressed in a human stromal cell line by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). *Biochim. Biophys. Acta* , 1994 b, 1222 : 141-146.

- 119- OHTSUKI T., HATAKE K., SUZU S., SAITO K., MOTOYOSHI K., MIURA Y. Immunohistochemical identification of proteoglycan form of macrophage colony-stimulating factor on bone surface. *Calcif. Tissue Int.* , 1995, 57 : 213-217.
- 120- OHTSUKI T., HATAKE K., IKEDA M., YAMADA M., MOTOYOSHI K., MIURA Y. Binding of macrophage colony-stimulating factor to serum proteins. *Exp. Hematol.* , 1996, 24 : 101-107.
- 121- OSTER W., BRACH M.A., GRUSS H.J., MERTELSMANN R., HERRMANN F. Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) expression in human blood mononuclear phagocytes is differentially regulated by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), M-CSF and IL-3. *Blood* , 1992, 79 : 1260-1265.
- 122- OWAKI H., OCHI T., YAMASAKI K., YUKAWA K., WAKITANI S., OKAMURA M., ONO K. Elevated activity of myeloid growth factor in bone marrow adjacent to joints affected by rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* , 1989, 16 : 572-577.
- 123- OWENS J., CHAMBERS T.J. Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) induces migration in osteoclasts in vitro. *Biochem. Biophys. Res. Com.* , 1993, 195 : 1401-1407.
- 124- PALMER D.G. The anatomy of rheumatoid lesion. Dans « Immunology of rheumatoid disease » Saklatvala J. et Walport M.J. *Br. Med. Bull.* , 1995, 51 : 286-295.
- 125- PANAYI G.S., LANCHBURY J.S., KINGSLEY G.H. The importance of the T cell in initiating and maintaining the chronic synovitis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* , 1992, 35 : 729-735.
- 126- PANDIT J., BOHM A., JANCARIK J., HALENBECK R., KOTHS K., KIM S.H. Three-dimensional structure of dimeric human recombinant macrophage colony-stimulating factor. *Science* , 1992, 258 : 1358-1362.
- 127- PHIPPS R.P., STEIN S.H., ROPER R.L. A new view of prostaglandin E regulation of the immune response. *Immunol. Today* , 1991, 12 : 349-352.

128- POLLARD J.W., BARTOCCI A., ARCECI R., ORLOFSKI A., LADNER M.B., STANLEY E.R. Apparent role of the macrophage growth factor, CSF-1, in placental development. *Nature*, 1987, 330 : 484-486.

129- PRALORAN V., GASCAN H., PAPIN S., CHEVALIER S., TROSSAERT M., BOURSIER M.C. Inducible production of macrophage colony stimulating factor (CSF-1) by malignant and normal human T cells. *Leukemia*, 1990 a, 4 : 411-414.

130- PRALORAN V., MARTIN-THOUVENIN V., BERRADA L., MOREAU A., LANOTTE M. Intralymphnode injection of human monocyte macrophage colony stimulating factor (CSF-1) as a method of obtaining high titer anti-CSF-1 antibodies. *Eur. Cytokine Net.*, 1990 b, 1 : 177-183.

131- PRALORAN V. Structure, biosynthesis and biological roles of monocyte-macrophage colony stimulating factor (CSF-1 or M-CSF). *Nouv. Rev. Fr. Hematol.*, 1991, 33 : 323-333.

132- PRALORAN V., CHEVALIER S., GASCAN H. Macrophage colony-stimulating factor is produced by activated T lymphocytes in vitro and is detected in vivo in T cells from reactive lymphnodes. *Blood*, 1992, 79 : 2500-2501.

133- PRALORAN V., COUPEY L., DONNARD M., BERRADA L., NAUD M.F. Time course elevation of serum M-CSF concentrations during pregnancy and ovarian hyperstimulation. *Br. J. Haematol.*, 1994, 86 : 675-677.

134- RAMAKRISHNAN S., XU F.J., BRANDT S.J., NIEDEL J.E., BAST R.C., BROWN E.L. Constitutive production of macrophage colony-stimulating factor by human ovarian and breast cancer cell lines. *J. Clin. Invest.*, 1989, 83 : 921-926.

135- RAMBALDI A., YOUNG D.C., GRIFFIN J.D. Expression of the M-CSF (CSF-1) gene by human monocytes. *Blood*, 1987, 69 : 1409-1413.

136- RAMBALDI A., WAKAMIYA N., VELLENGA E. Expression of the macrophage colony-stimulating factor and c-fms genes in human acute myeloblastic leukemia cells. *J. Clin. Invest.*, 1988, 81 : 1030-1035.

- 137- REGENSTREIF L.J., ROSSANT J. Expression of the c-fms proto-oncogene and of the cytokine, CSF-1, during mouse embryogenesis. *Develop. Biol.* , 1989, 133 : 284-294.
- 138- REISBACH G., SINDERMAN J., KREMER J.P., HULTNER L., WOLF H., DORMER P. Macrophage colony stimulating factor (CSF-1) is expressed by spontaneously outgrown EBV-B cell lines and activated normal B lymphocytes. *Blood* , 1989, 74 : 959-964.
- 139- REMACHA A.F., RODRIGUEZ-DE LA SERNA A., GARCIA-DIE F., GELI C., DIAZ C., GIMFERRER E. Erythroid abnormalities in rheumatoid arthritis: the role of erythropoietin. *J. Rheumatol.* , 1992, 19 : 1687-1691.
- 140- RETTENMIER C.W., CHEN J.H., ROUSSEL M.F., SHERR C.J. The product of the c-fms proto-oncogene : a glycoprotein with associated tyrosine kinase activity. *Science* , 1985, 228 : 320-322.
- 141- RETTENMIER C.W., ROUSSEL M.F., ASHMUN R.A., RALPH P., PRICE K., SHERR C.J. Synthesis of membrane-bound colony-stimulating factor-1 (CSF-1) and downmodulation of CSF-1 receptors in NIH 3T3 cells transformed by cotransfection of the human CSF-1 and c-fms (CSF-1 receptor) gene. *Mol. Cell. Biol.* , 1987, 7 : 2378-2387.
- 142- RETTENMIER C.W., ROUSSEL M.F. Differential processing of colony-stimulating factor-1 encoded by two human cDNAs. *Mol. Cell. Biol.* , 1988, 8 : 5026-5034.
- 143- ROBERTS W.M., LOOK A.T., ROUSSEL M.F., SHERR C.J. Tandem linkage of human CSF-1 receptor (c-fms) and PDGF receptor genes. *Cell* , 1988, 55 : 655-661.
- 144- ROUSSEL M.F. Signal transduction by the macrophage colony-stimulating receptor (CSF-1R). *J. Cell Sci.* , 1994, suppl. 18 : 105-108.
- 145- SACK U., KUHN H., ERMANN J., KINNE R.W., VOGT S., JUNGMICHEL D., EMMRICH F. Synovial tissue implants from patients with rheumatoid arthritis cause cartilage destruction in knee joints of SCID.bg mice. *J. Rheumatol.* , 1994, 21 : 10-16.

- 146- SALMON J.A., HIGGS G.A. Prostaglandins and leukotrienes as inflammatory mediators. *Br. Med. Bull.* , 1987, 43 : 285-296.
- 147- SAMPSON-JOHANNES A., CARLINO J.A. Enhancement of human tumoricidal activity by recombinant M-CSF. *J. Immunol.* , 1988, 141 : 3680-3686.
- 148- SARIBAN E., MITCHELL T., KUFÉ D. Expression of the c-fms proto-oncogene during human monocytic differentiation. *Nature* , 1985, 316 : 64-66.
- 149- SAXNE T., LECANDER I., GEBOREK P. Plasminogen activators and plasminogen activator inhibitors in synovial fluid. Difference between inflammatory joint disorders and osteoarthritis. *J. Rheumatol.* , 1993, 20 : 91-96.
- 150- SCHOLL S.M., LIDEREAU R., DE LA ROCHEFORDIERE A., COHEN-SOLAL LENIR C., MOSSERI V., NOGUES C., POUILLART P., STANLEY E.R. Circulating levels of the macrophage colony-stimulating factor CSF-1 in primary and metastatic breast cancer patients. A pilot study. *Breast Cancer Res. Treatment* , 1996, 39 : 275-283.
- 151- SEELENTAG W.K., MERMOD J.J., MONTESANO R., VASSALLI P. Additive effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor- $\alpha$  on the accumulation of the three granulocyte and macrophage colony-stimulating factor mRNAs in human endothelial cells. *EMBO J.* , 1987, 6 : 2261-2263.
- 152- SEITZ M., ZWICKER M., PICHLER W., GERBER N. Activation and differentiation of myelomonocytic cells in rheumatoid arthritis and healthy individuals. Evidence for antagonistic in vitro regulation by interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$ , granulocyte monocyte colony stimulating factor and interleukin 1. *J. Rheumatol.* , 1992, 19 : 1038-1044.
- 153- SEITZ M., LOETSCHER P., FEY M.F., TOBLER A. Constitutive mRNA and protein production of macrophage colony-stimulating factor but not of other cytokines by synovial fibroblasts from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. *Br. J. Rheumatol.* , 1994, 33 : 613-619.



154- SENGUPTA A., LIU W.K., YEUNG Y.G., FRACKELTON A.R., STANLEY E.R. Identification and subcellular localization of proteins that are rapidly phosphorylated in tyrosine in response to CSF-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85 : 8062-8066.

155- SHADDUCK R.K., WAHEED A. Development of a radioimmunoassay for colony stimulating factor. *Blood Cells*, 1979, 5 : 421-434.

156- SHADLE P.J., ALDWIN L., NITECKI D.E., KOTHS K. Human macrophage colony-stimulating factor heterogeneity results from alternative mRNA splicing, differential glycosylation and proteolytic processing. *J. Cell. Biochem.*, 1989 a, 40 : 91-107.

157- SHADLE P.J., ALLEN J.I., GEIER M.D., KOTHS K. Detection of endogenous macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) in human blood. *Exp. Hematol.*, 1989 b, 17 : 154-159.

158- SHERMAN M.L., WEBER B.L., DATTA R., KUFEL D.W. Transcriptional and posttranscriptional regulation of macrophage specific colony-stimulating factor gene expression by tumor necrosis factor. Involvement of arachidonic acid metabolites. *J. Clin. Invest.*, 1990, 85 : 442-447.

159- SHERR C.J., RETTENMIER C.W., SACCA R., ROUSSEL M.F., LOOK A.T., STANLEY E.R. The c-fms proto-oncogene product is related to the receptor for the mononuclear phagocyte growth factor CSF-1. *Cell*, 1985, 41 : 665-676.

160- SHERR C.J. Colony-stimulating factor-1 receptor. *Blood*, 1990, 75 : 1-12.

161- SHIBATA Y., BJORKMAN D.R., SCHMIDT M., OGHISO Y., VOLKMAN A. Macrophage colony-stimulating factor-induced bone marrow macrophages do not synthesize or release prostaglandin E2. *Blood*, 1994, 11 : 3316-3323.

162- SHINOHARA S., HIROHATA S., INOUE T., ITO K. Phenotypic analysis of peripheral blood monocytes isolated from patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.*, 1992, 19 : 211-215.

- 163- SMITH J.B., BOCCHIERI M.H., SHERBIN-ALLEN L., ABRUZZO J.L. Colony stimulating factor occurs in both inflammatory and noninflammatory synovial fluids. *Rheumatol. Int.* , 1990, 10 : 131-134.
- 164- STANLEY E.R., HEARD P.M. Factors regulating macrophage production and growth. Purification and some properties of the colony stimulating factor from medium conditioned by mouse L cells. *J. Biol. Chem.* , 1977, 252 : 4305-4312.
- 165- STANLEY E.R., CHEN D.M., LIN H.S. Induction of macrophage production and proliferation by a purified colony-stimulating factor. *Nature* , 1978, 274 : 168-171.
- 166- STANLEY E.R. Colony stimulating factor (CSF) radioimmunoassay : detection of a CSF subclass stimulating macrophage production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 1979, 76 : 2969-2973.
- 167- STANLEY E.R. Colony stimulating factor-1 (macrophage colony stimulating factor). Dans « The cytokine Handbook ». A.W. Thompson, ed. Academic Press Ltd., London, 2nd ed., 1994 a : 387-418.
- 168- STANLEY E.R., BERG K.L., EINSTEIN D.B., LEE P.S.W., YEUNG Y.G. The biology and action of colony stimulating factor-1. *Stem Cells* , 1994 b, 12 (suppl. 1) : 15-25.
- 169- STEIN J., BORZILLO G.V., RETTENMIER C.W. Direct stimulation of cells expressing receptors for macrophage colony-stimulating factor (CSF-1) by a plasma membrane-bound precursor of human CSF-1. *Blood* , 1990, 76 : 1308-1314.
- 170- STEINBUCH M., AUDRAN R. The isolation of the IgG from mammalian sera with the aid of caprylic acid. *Arch. Biochem.* , 1969, 134 : 279-284.
- 171- STRASSMANN G., BERTOLINI D.R., KERBY S.B., FONG M. Regulation of murine mononuclear phagocyte inflammatory products by macrophage colony-stimulating factor. *J. Immunol.* , 1991, 147 : 1279-1285.

- 172- SUGIYAMA E., KURODA A., TAKI H., IKEMOTO M., HORI T., YAMASHITA N., MARUYAMA M., KOBAYASHI M. Interleukin-10 cooperates with interleukin-4 to suppress inflammatory cytokine production by freshly prepared adherent rheumatoid synovial cells. *J. Rheumatol.* , 1995, 22 : 2020-2026.
- 173- SUZU S., YANAI N., SATO-SOMOTO Y., YAMADA M., KAWASHIMA T., HANAMURA T., NAGATA N., TAKAKU F., MOTOYOSHI K. Characterization of macrophage colony-stimulating factor in body fluids by immunoblot analysis. *Blood* , 1991, 77 : 2160-2165.
- 174- SUZU S., OHTSUKI T., YANAI N., TAKATSU Z., KAWASHIMA T., TAKAKU F., NAGATA N., MOTOYOSHI K. Identification of high molecular weight macrophage colony-stimulating factor as a glycosaminoglycan-containing species. *J. Biol. Chem.* , 1992, 267 : 4345-4348.
- 175- TAKAISHI T., MATSUI T., TSUKAMOTO T., ITO M., TANIGUCHI T., FUKASE M., CHIHARA K. TGF- $\beta$ -induced macrophage colony-stimulating factor gene expression in various mesenchymal cell lines. *Am. J. Physiol.* , 1994, 267 : C25-C31.
- 176- TANABE M., OCHI T., TOMITA T., SUZUKI R., SAKATA T., SHIMAOKA Y., NAKAGAWA S., ONO K. Remarkable elevation of interleukin-6 and interleukin-8 levels in the bone marrow serum of patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* , 1994, 21 : 830-835.
- 177- TANAKA S., TAKAHASHI N., UDAGAWA N., TAMURA T., AKATSU T., STANLEY E.R., KUROKAWA T., SUDA T. Macrophage colony-stimulating factor is indispensable for both proliferation and differentiation of osteoclast progenitors. *J. Clin. Invest.* , 1993, 91 : 257-263.
- 178- TAYLOR E.W., FEAR A.L., BOHM A., KIM S.H., KOTHS K. Structure-function studies on recombinant human macrophage colony-stimulating factor (M-CSF). *J. Biol. Chem.* , 1994, 269 : 31171-31177.

- 179- TESHIMA S., ROKUTAN K., TAKAHASHI M., NIKAWA T., KISHI K. Induction of heat shock proteins and their possible roles in macrophages during activation by macrophage colony-stimulating factor. *Biochem. J.* , 1996, 315 : 497-504.
- 180- TOBLER A., MEIER R., SEITZ M., DEWALD B., BAGGIOLINI M., FEY M.F. Glucocorticoids downregulate gene expression of GM-CSF, NAP-1/IL-8 and IL-6, but not of M-CSF in human fibroblasts. *Blood* , 1992, 79 : 45-51.
- 181- TOMITA T., KASHIWAGI N., SHIMAOKA Y., IKAWA T., TANABE M., NAKAGAWA S., KAWAMURA S., DENNO K., OWAKI H., OCHI T. Phenotypic characteristics of bone marrow cells in patients with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol.* , 1994, 21 : 1608-1614.
- 182- TUSHINSKI R.J., STANLEY E.R. The regulation of mononuclear phagocyte entry into S phase by the colony stimulating factor CSF-1. *J. Cell Physiol.* , 1985, 122 : 221-228.
- 183- UEMURA N., OZAWA K., TAKAHASHI K., TOJO A., TANI K., HARIGAYA K., SUZU S., MOTOYOSHI K., MATSUDA H., YAGITA H., OKUMURA K., ASANO S. Binding of membrane-anchored macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) to its receptor mediates specific adhesion between stromal cells and M-CSF receptor-bearing hematopoietic cells. *Blood* , 1993, 9 : 2634-2640.
- 184- VAIRO G., HAMILTON J.A. Signalling through CSF receptors. *Immunol. today* , 1991, 12 : 362-369.
- 185- VAN ROON J.A.G., VAN ROY J.L., GMELIG-MEYLING F.H.J., LAFEBER F.P., BIJLSMA J.W.J. Prevention and reversal of cartilage degradation in rheumatoid arthritis by interleukin-10 and interleukin-4. *Arthritis Rheum.* , 1996, 39 : 829-835.
- 186- VELLENGA E., RAMBALDI A., ERNST T.J., OSTAPOVICZ D., GRIFFIN J.D. Independent regulation of M-CSF and G-CSF gene expression in human monocytes. *Blood* , 1988, 71 : 1529-1532.

- 187- VERSTOVSEK S., MACCUBBIN D., EHRKE M.J., MIHICH E. Tumoricidal activation of murine resident peritoneal macrophages by interleukin-2 and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Cancer Res.* , 1992, 52 : 3880-3885.
- 188- WANG M., FRIEDMAN H., DJEU J.Y. Enhancement of human monocyte function against candida albicans by the colony stimulating factors (CSF): IL-3, granulocyte macrophage-CSF, and macrophage-CSF. *J. Immunol.* , 1989, 143 : 671-677.
- 189- WANG Z., MYLES G.M., BRANDT C.S., LIOUBIN M.N., ROHRSCHEIDER L. Identification of the ligand-binding regions in the macrophage colony-stimulating factor receptor extracellular domain. *Mol. Cell. Biol.* , 1993, 13 : 5348-5359.
- 190- WARREN M.K., RALPH P. Macrophage growth factor CSF-1 stimulates human monocyte production of interferon, tumor necrosis factor, and colony stimulating activity. *J. Immunol.* , 1986, 137 : 2281-2285.
- 191- WEIR E.C., HOROWITZ M.C., BARON R., CENTRELLA M., KACINSKI B.M., INSOGNA K.L. Macrophage colony-stimulating factor release and receptor expression in bone cells. *J. Bone Miner. Res.* , 1993, 8 : 1507-1518.
- 192- WIESER M., BONIFER R., OSTER W., LINDEMANN A., METERLSMANN R., HERRMANN F. Interleukin-4 induces secretion of CSF for granulocytes and CSF for macrophages by peripheral blood monocytes. *Blood* , 1989, 73 : 1105-1108.
- 193- WIKTOR-JEDRZEJCZAK W., BARTOCCI A., FERRANTE J.A.W., AHMED-ANSARI A., SELL K.W., POLLARD J.W., STANLEY E.R. Total absence of colony-stimulating factor-1 in the macrophage deficient osteopetrotic (op/op) mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* , 1990, 87 : 4828-4832.
- 194- WIKTOR-JEDRZEJCZAK W., RATAJCZAK M.Z., PTASZNIK A., SELL K.W., AHMED-ANSARI A., OSTERTAG W. CSF-1 deficiency in the op/op mouse has differential effects on macrophage populations and differentiation stages. *Exp. Hematol.* , 1992, 20 : 1004-1010.

195- WILLIAMSON D.J., BEGLEY C.G., VADAS M.A., METCALF D. The detection and initial characterization of colony-stimulating factors in synovial fluid. *Clin. Exp. Immunol.* , 1988, 72 : 67-73.

196- WING E.J., AMPEL N.M., WAHEED A., SHADDUCK R.K. Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) enhances the capacity of murine macrophages to secrete oxygen reduction products. *J. Immunol.* , 1985, 135 : 2052-2057.

197- WOLFE F., MITCHELL D.M., SIBLEY J.T., FRIES J.F., BLOCH D.A., WILLIAMS C.A., SPITZ P.W., HAGA M., KLEINHEKSEL S.M., CATHEY M.A. The mortality of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* , 1994, 37 : 481-494.

198- WONG G.G., TEMPLE P.A., LEARY A.C., WITEK-GIANNOTTI J.S., YANG Y., CIARLETTA A.B., CHUNG M., MURTHA P., KRIZ R., KAUFMAN R.J., FERENZ C.R., SIBLEY B.S., TURNER K.S., HEWICK R.M., CLARK S.C., YANAI N., YOKOTA H., YAMADA M., SAITO M., MOTOYOSHI K., TAKAKU F. Human CSF-1 : Molecular cloning and expression of 4 kb cDNA encoding the human urinary protein. *Science* , 1987, 235 : 1504-1508.

199- WORDSWORTH P., PILE K.D., BUCKELY J.D., LANCHBURRY J.S.S., OLLIER B., LATHROP M., BELL J. HLA heterozygosity contributes to susceptibility to rheumatoid arthritis. *Am. J. Hum. Genet.* , 1992, 51 : 585-591.

200- XU X.X., ROCK C.O., QIU Z.H., LESLIE C.C., JACKOWSKI S. Regulation of cytosolic phospholipase A2 phosphorylation and eicosanoid production by colony-stimulating factor-1. *J. Biol. Chem.* , 1994, 269 : 31693-31700.

201- YAMADA A., NIKAIDO T., NOJIMA Y., SCHLOSSMAN S.F., MORIMOTO C. Activation of human CD4 T lymphocytes: interaction of fibronectin with VLA-5 receptor on CD4 cells induces the AP-1 transcription factor. *J. Immunol.* , 1991, 146 : 53-56.

- 202- YAMAMOTO M., YASUDA M., SHIOKAWA S., NOBUNAGA M. Effects of colony-stimulating factors on proliferation and activation of synovial cells. *Clin. Rheumatol.* , 1991, 10 : 277-282.
- 203- YAMAUCHI T., YADA K., UMEMURA A., ASAKURA E., HANAMURA T., TANABE T. Effect of recombinant macrophage colony-stimulating factor on marrow, splenic and peripheral hematopoietic progenitor cells in mice. *J. Leukoc. Biol.* , 1996, 59: 296-301.
- 204- YANG S., ZHANG Y., RODRIGUIZ R.M., RIES W.L., KEY L.L. Functions of the M-CSF receptor on osteoclasts. *Bone* , 1996, 18 : 355-360.
- 205- YARDEN Y., KUANG W.J., YANG-FENG T., COUSSENS L., MUNEMITSU S., DULL T.J., CHEN E., SCHLESSINGER J., FRANCKE U., ULLRICH A. Human proto-oncogene c-kit : a new cell surface receptor tyrosine kinase for an unidentified ligand. *EMBO J.* , 1987, 6 : 3341-3351.
- 206- YOSHIDA H., HAYASHI S.I., KUNISADA T., OGAWA M., NISHIKAWA S., OKAMURA H., SUDO T., SHULTZ L.D., NISHIKAWA S.I. The murine mutation osteopetrosis is in the coding region of the macrophage colony-stimulating factor gene. *Nature* , 1990, 345 : 442-444.
- 207- ZHANG D.E., FUJIOKA K.I., HETHERINGTON C.J., SHAPIRO L.H., CHEN H.M., LOOK A.T., TENEN D.G. Identification of a region which directs the monocytic activity of the colony-stimulating factor-1 (macrophage colony-stimulating factor) receptor promoter and binds PEBP2/CBF (AML1). *Mol. Cell Biol.* , 1994, 14 : 8085-8095.
- 208- ZHOU Y.Q., STANLEY E.R., CLARK S.C., HATZFELD J.A., LEVESQUE J.P., FEDERICI C., WATT S.M., HATZFELD A. Interleulin-3 and interleukin-1 $\alpha$  allow earlier bone marrow progenitors to respond to human colony-stimulating factor-1. *Blood* , 1988, 72 : 1870-1874.

209- ZOJA C., WANG J.M., BETTONI S., SIRONI M., RENZI D., CHIAFFARINO F., ABBOUD H.E., VAN DAMME J., MANTOVANI A., REMUZZI G., RAMBALDI A. Interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  induce gene expression and production of leukocyte chemotactic factors, colony-stimulating factors and interleukin-6 in human mesangial cells. *Am. J. Pathol.* , 1991, 138 : 991-1003.

210- ZVAIFLER N.J., FIRESTEIN G.S. Pannus and pannocytes. Alternative models of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* , 1994, 37 : 783-789.



# ANNEXES

## POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

Nombre  
de critères  
nécessaires:

CRITERES DE CLASSIFICATION PROPOSES PAR  
L'American College of Rheumatology, 1987

## 1. RAIDEUR MATINALE \*

Raideur articulaire ou péri-articulaire durant au moins une heure

## 2. ARTHRITE D'AU MOINS 3 ARTICULATIONS \*

Gonflement simultané d'au moins 3 articulations constaté par un médecin et dû à une hypertrophie des tissus mous ou à un épanchement articulaire (et non à une seule saillie osseuse).

14 articulations ou groupe d'articulations sont à prendre en compte:  
IPP - MCP - Poignets - Coudes - Genoux - Chevilles - MTP.

(les épaules, les hanches, le rachis cervical ne sont pas pris en compte).

## 3. ARTHRITE TOUCHANT LA MAIN \*

Gonflement d'au moins un des groupes articulaires suivants:  
Poignet, MCP, IPP.

4  
Critères

## 4. ARTHRITE SYMETRIQUE \*

Atteinte simultanée et bilatérale des articulations ou groupes d'articulations définis en 2. L'atteinte bilatérale des IPP, MCP, MTP est acceptable même en l'absence de symétrie parfaite.

## 5. NODULES RHUMATOÏDES

Nodosités sous-cutanées constatées par un médecin sur des crêtes osseuses ou des surfaces d'extension ou en situation péri-articulaire.

sensibilité:  
91%

## 6. PRESENCE DE FACTEUR RHUMATOÏDE

spécificité:  
89%

## 7. SIGNES RADIOLOGIQUES

Anomalies radiologiques typiques de PR sur des clichés des mains et des poignets avec érosions osseuses et déminéralisation en bande.

\* NB: les critères 1 à 4 doivent être présents depuis au moins 6 semaines.

## INDICE FONCTIONNEL DE LEE

1. Pouvez-vous tourner la tête d'un côté à l'autre ?
2. Pouvez-vous vous peigner derrière la tête ?
3. Pouvez-vous fermer un tiroir (avec les bras seulement) ?
4. Pouvez-vous ouvrir une porte ?
5. Pouvez-vous soulever une bouteille pleine ?
6. Pouvez-vous porter un verre à la bouche d'une seule main ?
7. Pouvez-vous tourner une clef dans une serrure ?
8. Pouvez-vous couper de la viande avec un couteau ?
9. Pouvez-vous beurrer une tranche de pain ?
10. Pouvez-vous remonter une montre ?
11. Pouvez-vous marcher ?
12. Pouvez-vous marcher
  - a) sans l'aide de quelqu'un ?
  - b) sans l'aide d'une béquille ?
  - c) sans l'aide d'une canne ?
13. Pouvez-vous monter un escalier ?
14. Pouvez-vous descendre un escalier ?
15. Pouvez-vous vous tenir sur les jambes tendues ?
16. Pouvez-vous vous tenir sur la pointe des pieds ?
17. Pouvez-vous vous baisser pour ramasser un objet par terre ?

NB: On attribue une note de 8 à la question 11 si la marche est totalement impossible

On fournit au malade une liste de 17 questions correspondant à des gestes de la vie courante.

Si le malade peut faire le geste avec facilité, on attribue la note 0 à la question; s'il peut le faire avec difficulté, la note 1; s'il en est incapable, la note 2. On additionne les notes obtenues.

## INDICE DE RITCHIE (1968)

	Gauche	Droite
Epaule		
Coude		
Poignet		
Métacarpo-phalangiennes		
Interphalangiennes proximales		
Hanche		
Genou		
Cheville		
Sous-astragalienne		
Médio-tarsienne		
Métatarso-phalangiennes		
<hr/>		
Les 2 temporo-maxillaires		
Les 2 sterno-claviculaires		
Les 2 acromio-claviculaires		
Le rachis cervical		

L'indice de RITCHIE tient compte seulement de la douleur à la pression de l'articulation. Si le malade n'a aucune douleur lors de la pression, on attribue à cette articulation la note 0; lorsqu'il a mal la note 1; lorsqu'il fait une grimace la note 2; lorsqu'il s'y ajoute un mouvement de retrait la note 3. Trois articulations sont explorées par mobilisation passive: flexion latérale pour le rachis cervical, flexion pour la hanche, ballottement du talon pour la sous-astragalienne.

On étudie 26 sites articulaires au total car les petites articulations sont étudiées dans leur ensemble.

## LES CRITERES RADIOLOGIQUES DE L'ARTHROSE, DEFINIS EN 1975 PAR KELLGREN ET LAWRENCE

Les critères sont au nombre de 5:

1. la diminution de l'espace articulaire,
2. la formation d'ostéophytes,
3. la condensation sous-chondrale,
4. la formation de géodes,
5. les anomalies des contours osseux,

On peut affecter à chacun de ces cinq critères une appréciation en trois degrés selon leur importance: 0 = absent, 1 = modéré, 2 = sévère.

On peut ainsi définir une arthrose selon sa gravité radiologique en cinq grades:

- grade 0 = radiographie normale,
- grade 1 = radiographie douteuse,
- grade 2 = légère diminution de l'espace articulaire, ostéophytose discrète,
- grade 3 = diminution de l'espace articulaire, ostéophytes de taille moyenne,
- grade 4 = nette diminution de l'espace articulaire, ostéophytes de grande taille.

### ECHELLE VISUELLE ANALOGIQUE DE LA DOULEUR



Nom du patient : .....

Date : .....

**INDICE ALGO-FONCTIONNEL  
de LEQUESNE  
(hanche/genou)**

**1 - DOULEUR OU GÊNE ( 0 = aucune)**

- A - Nocturne** .....  0
    - seulement aux mouvements ou dans certaines postures .....  1
    - même sans bouger .....  2
  - B - Dérouillage matinal ≤ 1 minute** .....  0
    - ≤ 1/4 heure .....  1
    - > 1/4 heure .....  2
  - C - Rester debout ou piétiner pendant environ 1/2 heure** .....  0
    - .....  1
  - D - A la marche** .....  0
    - après quelque distance .....  1
    - dès le début et de façon croissante .....  2
  - E - Problème de siège** .....  0
    - hanche : durant la station assise prolongée (2 heures) .....  1
    - genou : pour se relever d'un siège sans l'aide des bras
- sous total**

**2 - PERIMÈTRE DE MARCHÉ MAXIMALE en acceptant d'avoir mal**

- aucune limitation .....  0
  - limitée, mais > 1 km .....  1
  - environ 1 km (≈ 15 min à allure normale) .....  2
  - 500 à 900 m (≈ 7-15 min à allure normale) .....  3
  - 300 à 500 m .....  4
  - 100 à 300 m .....  5
  - < 100 m .....  6
  - 1 canne ou canne-béquille nécessaire .....  +1
  - 2 cannes ou cannes-béquilles nécessaires .....  +2
- sous total**

**3 - DIFFICULTÉS POUR ...**  
( aucune = 0 ; possible avec une petite (= 0,5), moyenne (= 1), grande (= 1,5) difficulté ; impossible = 2)

- |  |   |
|--|---|
| <p><b>HANCHE</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• mettre ses chaussettes par devant <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> 0 à 2</li> <li>• ramasser un objet à terre ..... <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> 0 à 2</li> <li>• monter ou descendre un étage ..... <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> 0 à 2</li> <li>• sortir d'une voiture, d'un fauteuil <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> 0 à 2</li> </ul> <p style="text-align: right;"><b>sous total</b> <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/></p> | <p><b>GENOU</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• monter un étage ..... <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> 0 à 2</li> <li>• descendre un étage ..... <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> 0 à 2</li> <li>• s'accroupir ..... <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> 0 à 2</li> <li>• marcher en terrain irrégulier ..... <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/> 0 à 2</li> </ul> <p style="text-align: right;"><b>sous total</b> <input type="checkbox"/> , <input type="checkbox"/></p> |
|--|---|

**SCORE TOTAL (0 à 24)**   ,

# ABREVIATIONS

ADN	acide déoxyribonucléique
AINS	anti-inflammatoires non stéroïdiens
Ala	alanine
ARNm	acide ribonucléique messenger
BFU-E	burst forming unit-erythrocyte
BSA	albumine sérique bovine
CFU-E	colony forming unit-erythrocyte
CFU-Eo	colony forming unit-eosinophile
CFU-GEMM	colony forming unit-granulocyte erythrocyte monocyte megacaryocyte
CFU-GM	colony forming unit-granulocyte monocyte
CFU-Meg	colony forming unit-megacaryocyte
COX	cyclooxygénase
CRP	protéine C réactive
CSF-1	colony-stimulating factor-1
Cys	cystéine
DMSO	diméthylsulfoxyde
EGF	epidermal growth factor
EIA	enzymo-immunoassay
Epo	érythropoïétine
EVA	échelle visuelle analogique
FGF	fibroblast growth factor
FR	Facteur Rhumatoïde
G-CSF	granulocyte colony-stimulating factor
GB	globules blancs
Gly	glycine
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GR	globules rouges
Hb	hémoglobine
HLA	Human Leukocyte Antigen
HPP-CFC	high proliferative potential-colony forming cells
ICAM	intercellular adhesion molecule
IFN	interféron
IL-1	interleukine-1
IL-10	interleukine-10
IL-13	interleukine-13
IL-1sRI	récepteur soluble de l'IL-1 de type I
IL-1sRII	récepteur soluble de l'IL-1 de type II
IL-2	interleukine-2
IL-3	interleukine-3
IL-4	interleukine-4
IL-5	interleukine-5
IL-6	interleukine-6
IL-8	interleukine-8
LAF-3	lymphocyte function associated antigen-3
LWR	Latex et Waaler-Rose
M-CSF	macrophage colony-stimulating factor
M-CSF rh	M-CSF recombinant humain
NHS	N-hydroxysuccinimide ester
PDGF	platelet derived growth factor
PG-M-CSF	proteoglycan-macrophage colony-stimulating factor



PGE2	prostaglandine E2
PHA	phytohémagglutinine
PLA2	phospholipase A2
Pla <sub>q</sub>	plaquettes
PMA	phorbol 12-myristate 13-acétate
PR	polyarthrite rhumatoïde
PTH	parathormone
PTH-rP	peptide apparenté à la parathormone
RIA	radio-immuno assay
Ser	Sérine
tampon TBS	Tris base 10 mM, NaCl 150 mM PH 7,4
TCR	récepteur du lymphocyte T
TGF- $\beta$	transforming growth factor- $\beta$
TIMP	inhibiteurs des métalloprotéinases
TNF	tumor necrosis factor
TNFR55	récepteur soluble du TNF de 55 kDa
TNFR75	récepteur soluble du TNF de 75 kDa
Tyr	tyrosine
u-PA	activateur du plasminogène de type urokinase
UDPGD	uridine diphosphoglucose dihydrogénase
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1
VLA-1	vascular lymphocyte antigen-1
VS	vitesse de sédimentation

# TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS .....	3
PLAN.....	12
INTRODUCTION.....	15
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES .....	18
I - LE MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (M-CSF).....	19
A - GENE ET TRANSCRIPTION DU M-CSF.....	19
B - MATURATION INTRACELLULAIRE DES PRECURSEURS PEPTIDIQUES.....	20
C - STRUCTURE TRIDIMENSIONNELLE .....	23
D- RECEPTEUR AU M-CSF .....	25
1- STRUCTURE DU GENE C-FMS.....	25
2- STRUCTURE DU RECEPTEUR AU M-CSF .....	25
3- TRANSDUCTION DU SIGNAL .....	26
4 - REGULATION DE L'EXPRESSION DU RECEPTEUR AU M-CSF.....	29
E - METABOLISME DU M-CSF.....	30
1 - <i>IN VIVO</i> .....	30
a - Détection du M-CSF .....	30
b - Les différentes formes de M-CSF.....	30
c - Concentrations, transport et élimination du M-CSF.....	31
2 - <i>IN VITRO</i> .....	32
F - ACTIVITES BIOLOGIQUES DU M-CSF .....	32
1- EFFETS DU M-CSF SUR L'HEMATOPOÏESE .....	32
2- EFFETS DU M-CSF SUR LES MONOCYTES/MACROPHAGES MATURES.....	35
3- M-CSF ET METABOLISME OSSEUX.....	36
G- M-CSF ET INFLAMMATION.....	37
1- M-CSF ET CYTOKINES. ....	37
a- Régulation de la synthèse de M-CSF par les cytokines.....	37
b- Induction de la synthèse de cytokines par le M-CSF.....	44
2- M-CSF ET METABOLISME DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE. ....	47
3 - M-CSF ET ACTIVATEUR DU PLASMINOGENE .....	48
II- IMMUNOLOGIE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE. ....	49
A- ANATOMIE DE LA SYNOVITE RHUMATOÏDE.....	49
1- HISTOLOGIE DU TISSU NORMAL.....	49
2- LA SYNOVITE RHUMATOÏDE.....	50
B- LES ACTEURS CELLULAIRES.....	51
1- ROLE DES LYMPHOCYTES T.....	51

2 - ROLE DES MACROPHAGES ET FIBROBLASTES SYNOVIAUX.....	56
a - Fibroblastes synoviaux .....	56
b - Les macrophages synoviaux.....	57
C - <i>CYTOKINES ET POLYARTHRITE RHUMATOÏDE</i> .....	59
1 - LES CYTOKINES PRO-INFLAMMATOIRES .....	59
a - L'interleukine-1 (IL-1).....	59
b - Le facteur de nécrose tumorale ou tumor necrosis factor (TNF) .....	60
c - L'interleukine-6 (IL-6).....	61
d - L'interleukine-8 (IL-8) .....	62
2 - LES CYTOKINES D'ORIGINE LYMPHOCYTAIRE .....	62
3 - LES FACTEURS DE CROISSANCE .....	64
D - <i>GENETIQUE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE</i> .....	65
1 - RISQUE GENETIQUE DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET COMPOSANT HLA .....	66
2 - POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET GENES DU RECEPTEUR DES LYMPHOCYTES T (TCR).....	67
III- M-CSF ET POLYARTHRITE RHUMATOÏDE .....	68
A - <i>ETUDES IN VIVO</i> .....	68
B - <i>ETUDES IN VITRO</i> .....	69
<b>PATIENTS, MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>72</b>
I- PATIENTS.....	73
II - MATERIELS ET METHODES.....	75
A - <i>DONNEES DE LA BIOLOGIE STANDARD</i> .....	75
B - <i>DOSAGE DU M-CSF DANS LE SERUM ET LE LIQUIDE ARTICULAIRE PAR METHODE         IMMUNO-ENZYMATIQUE</i> .....	75
1 - IMMUNISATION DES LAPINS.....	75
2 - PURIFICATION ET BIOTINYLATION DES ANTICORPS POLYCLONAUX.....	77
3 - REALISATION DE L'EIA .....	77
a - Fixation des premiers anticorps en fond de plaque et saturation.....	77
b - Réaction immunologique.....	78
4 - SENSIBILITE ET SPECIFICITE DU TEST EIA.....	79
III - ANALYSES STATISTIQUES .....	80
<b>RESULTATS.....</b>	<b>81</b>
I - DONNEES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES DES GROUPES POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET ARTHROSE .....	82
A - <i>CRITERES COMMUNS A LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET A L'ARTHROSE</i> ... 82	
1 - SEXE.....	82
2 - AGE .....	82
3 - DUREE DE LA MALADIE.....	82

<i>B - CRITERES SPECIFIQUES DE LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE.....</i>	83
1 - VARIABLES ET SCORES CLINIQUES .....	83
2 - PRESENCE D'EROSIONS OSSEUSES.....	84
3 - PRESENCE DE MANIFESTATIONS EXTRA-ARTICULAIRES.....	84
<i>C - L'INDICE ALGO-FONCTIONNEL DE LEQUESNE ET LE SCORE DE LA DOULEUR DANS L'ARTHROSE .....</i>	84
<i>D - TRAITEMENTS.....</i>	84
1 - DANS LE GROUPE POLYARTHRITE RHUMATOÏDE .....	84
2 - DANS LE GROUPE ARTHROSE.....	85
II - DONNEES DE LA BIOLOGIE STANDARD DANS LES GROUPES POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET ARTHROSE .....	86
III - RESULTATS DU DOSAGE DE MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (M-CSF) DANS LES GROUPES POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET ARTHROSE.....	87
A - TAUX MOYEN DE M-CSF DANS CHAQUE GROUPE ET COMPARAISONS.....	87
B - COMPARAISON DES TAUX DE M-CSF DANS LE SERUM ET DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL : .....	93
IV - CORRELATIONS ENTRE TAUX DE M-CSF ET CRITERES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DANS LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE .....	94
A - M-CSF SERIQUE.....	94
1 - CRITERES CLINIQUES ET DEMOGRAPHIQUES.....	94
2 - CRITERES BIOLOGIQUES.....	94
3 - TRAITEMENTS .....	97
B - M-CSF DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL.....	97
1 - CRITERES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES.....	97
2 - CRITERES BIOLOGIQUES.....	98
3 - TRAITEMENTS .....	100
V - CORRELATIONS ENTRE TAUX DE M-CSF ET LES CRITERES CLINIQUES ET BIOLOGIQUES DANS L'ARTHROSE.....	100
A - M-CSF SERIQUE.....	100
1 - CRITERES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES.....	100
2 - CRITERES BIOLOGIQUES.....	101
3 - TRAITEMENTS .....	101
B - M-CSF DANS LE LIQUIDE SYNOVIAL.....	101
1 - CRITERES DEMOGRAPHIQUES ET CLINIQUES.....	101
2 - CRITERES BIOLOGIQUES.....	101
3 - TRAITEMENTS .....	101
DISCUSSION.....	102
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	113

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....116**  
**ANNEXES .....143**  
**ABREVIATIONS .....149**  
**SERMENT D'HIPPOCRATE .....156**

## SERMENT D'HIPPOCRATE

---

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

BON A IMPRIMER N° 79

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

# POLYARTHRITE RHUMATOÏDE ET MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR (M-CSF) :

ETUDE PRELIMINAIRE DE 56 CAS.

## RESUME

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est un rhumatisme inflammatoire chronique, caractérisé par une réponse immunitaire anormale d'étiologie inconnue, dans un contexte de susceptibilité génétique. L'inflammation chronique de la synoviale est liée à l'activation de plusieurs types cellulaires et à la production anormale de médiateurs, notamment de cytokines. Parmi les acteurs cellulaires, les macrophages jouent un rôle important sinon dans l'initiation, au moins dans la pérennisation des lésions. Le M-CSF est un facteur de croissance hématopoïétique qui régule la survie, la prolifération et la différenciation des cellules de la lignée monocytaire-macrophagique, mais aussi les fonctions des macrophages tissulaires. Il pourrait ainsi jouer un rôle dans la physiopathogénie de la PR.

### **Patients, matériels et méthodes :**

Le M-CSF a été dosé par technique immuno-enzymatique dans le sérum de 56 patients atteints de PR actives (46 en prospectif et 10 en rétrospectif) et de 30 témoins souffrant d'arthrose symptomatique. Le dosage a également été réalisé dans 13 échantillons de liquide synovial de PR et 12 d'arthrose. Différents paramètres cliniques et biologiques ont été recueillis pour chaque patient au moment des prélèvements.

### **Résultats :**

Le taux de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial est significativement plus élevé dans le groupe PR que dans le groupe arthrose ( $p < 0,001$ ). Dans la PR, il existe une corrélation entre taux de M-CSF dans le sérum et dans le liquide synovial, absente dans l'arthrose. Le taux de M-CSF sérique n'est corrélé à aucun critère clinique ou biologique d'activité de la PR. Cependant, il est plus élevé dans les sous-groupes de PR avec facteurs rhumatoïdes et avec manifestations extra-articulaires. Le taux de M-CSF dans le liquide synovial est corrélé à la VS et à l'anémie. Il est aussi plus élevé dans le sous-groupe de PR avec facteurs rhumatoïdes. Aucune relation n'a pu être mise en évidence entre le taux de M-CSF et les différents traitements de la PR et entre le taux de M-CSF et la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens dans l'arthrose.

### **Conclusion :**

Le M-CSF est nettement plus élevé dans la PR que dans l'arthrose. Il pourrait ainsi participer au réseau de cytokines impliquées dans la physiopathogénie de la PR. Son taux dans le liquide synovial semble être un bon reflet de l'activité de la maladie. Le taux sérique pourrait être un facteur pronostique.

**MOTS CLES :** Macrophage colony-stimulating factor  
M-CSF  
Facteur de croissance hématopoïétique  
Polyarthrite rhumatoïde  
Arthrose  
Inflammation