

Mécanismes moléculaires des myélofibroses

Les myélofibroses sont caractérisées par une augmentation du collagène de la trame médullaire telle qu'elle peut être appréciée par l'histologie. Cette fibrose qui résulte de la production accrue du collagène avec une diminution de sa dégradation constitue, en fait, un syndrome clinico-pathologique plus ou moins sévère. La myélofibrose primaire, encore appelée myélofibrose idiopathique ou métaplasie myéloïde, est une maladie maligne, clonale, de la cellule souche myéloïde, dans laquelle la fibrose résulte d'un excès de production de collagène par les fibroblastes qui n'appartiennent pas au clone anormal [1]. La myélofibrose peut être aussi secondaire à bien d'autres conditions malignes et non malignes. Nous nous bornerons dans cette revue à celles où le mégacaryocyte apparaît jouer un rôle majeur, qu'il s'agisse de métaplasie myéloïde ou syndrome myéloprolifératif, de leucémie aiguë mégacaryoblastique ou du syndrome congénital des plaquettes grises.

La matrice de la moelle osseuse normale se compose de collagènes de type I et III [2] synthétisés par les fibroblastes [3]. Les glycosaminoglycanes, liés à des protéines pour former des protéoglycanes, constituent, avec la thrombospondine et la fibronectine, un gel dans lequel sont incluses les fibres de collagène [4].

La quantité de collagène dans la moelle osseuse dépend de l'équilibre entre sa production et sa dégradation. Celle-ci est contrôlée par les collagénases, protéases neutres synthétisées par les neutrophiles, monocytes, cellules endothéliales et fibroblastes [5]. L'inhibition des collagénases apparaît comme un facteur clé dans le

développement d'une fibrose tissulaire. Un des inhibiteurs, *platelet-derived collagenase inhibitor* (PDCI), est contenu dans la matrice des granules alpha plaquettaires [6]. Cet inhibiteur est différent du facteur 4 plaquettaire qui est synthétisé par le mégacaryocyte [7] et empaqueté dans les granules alpha et qu'on pense être également un inhibiteur des collagénases [8].

A l'inverse, trois facteurs de croissance, synthétisés par le mégacaryocyte [9-12] et présents dans les granules alpha sont, par des mécanismes différents, des stimulants de la synthèse du collagène: il s'agit du *platelet-derived-growth-factor* (PDGF), *transforming growth factor-β* (TGFβ) et *epidermal growth factor* (EGF).

Le PDGF est un facteur chimiotactique puissant pour les monocytes et les fibroblastes; il induit une mise en cycle des fibroblastes, suivie par des mitoses. C'est par cette activité mitogène sur les fibroblastes médullaires que le PDGF augmente la production de collagène. De plus, il induit la production de TGFβ qui stimule, au niveau transcriptionnel, la synthèse de nouveau collagène par les cellules accessoires [13].

Découvert initialement dans des cellules transformées par un virus murin pour sa capacité de stimuler la croissance des fibroblastes, le TGFβ est synthétisé par de nombreuses cellules tumorales humaines et par le mégacaryocyte [11]. Son injection à la souris induit une rapide activation des fibroblastes avec dépôt de collagène au point d'injection [14]. *In vitro*, le TGFβ augmente l'incorporation de proline ou leucine dans le collagène produit par les fibroblastes, cet effet étant bloqué par les anticorps anti-TGFβ [14]. Il a été montré égale-

ment qu'il agit en augmentant les ARNm du collagène et en stabilisant les transcrits d'ARNm [15].

L'EGF a été aussi impliqué dans la pathogénie de la fibrose médullaire des syndromes myéloprolifératifs [16].

Le *Tableau 1* récapitule les protéines des granules alpha qui, anormalement excrétées dans les tissus, peuvent aboutir à un excès de collagène. En effet, à l'état normal et quelle que soit la prolifération mégacaryocytaire, tous ces facteurs sont stockés dans les granules alpha et ne sont relâchés par les plaquettes que lors d'une activation au niveau, par exemple, d'une brèche vasculaire. Au contraire, si par une anomalie de la maturation mégacaryocytaire ou par une mort intramédullaire des mégacaryocytes les protéines synthétisées sont relâchées au niveau de la moelle au lieu d'être stockées au niveau des granules α plaquettaires, elles peuvent entraîner une myélofibrose. Groopman [17] a, la première, postulé que la myélofibrose des syndromes myéloprolifératifs résulterait de la mort intramédullaire des mégacaryocytes défectueux et de la libération des facteurs entraînant la prolifération des fibroblastes. De nombreuses observations confortent cette hypothèse [4]. Dans une étude portant sur 95 sujets dont 22 malades présentaient une myélofibrose associée à une maladie myéloproliférative, les onze sujets à l'excrétion urinaire de PF4 (*platelet factor 4*) élevée avaient tous une myélofibrose [18], témoignant d'une libération de PF4 à partir des granules α dans le micro-environnement médullaire. Des concentrations faibles de PDGF dans les plaquettes de tels sujets [13], tandis que

Tableau I	
PROTÉINES DES GRANULES α DU MÉGACARYOCYTE SUSCEPTIBLES D'AUGMENTER LE DÉPÔT COLLAGÈNE MÉDULLAIRE LORSQU'ELLES SONT EXCRÉTÉES	
Protéines stimulant la synthèse de collagène	Protéines inhibant les collagénases
PDGF TGF β EGF	PDCI PF4

l'ARNm du PDGF était très augmenté dans les mégacaryocytes, confortaient l'hypothèse que la libération intramédullaire de PDGF avait lieu avant l'entrée des plaquettes dans la circulation. Des concentrations élevées de PDGF étaient également trouvées dans le plasma et les urines [13]. Une sensibilité accrue des fibroblastes au PDGF dans ces maladies pourrait aussi contribuer à la myélofibrose [19]. Toutefois, dans une étude plus récente sur les myélofibroses primaires, au contraire des résultats précédents, les concentrations de PDGF et de TGF β intraplaquettaires étaient trouvées élevées tandis que celle de EGF était normale, et ces concentrations se normalisaient après traitement. Une étude très récente confirme le rôle du TGF β des mégacaryocytes dans la genèse de la myélofibrose idiopathique [20]. Le dosage sérique du pro-collagène III est augmenté, proportionnellement à l'intensité de la myélofibrose et permet donc d'évaluer l'évolution de la maladie [21].

Les leucémies mégacaryoblastiques incluses comme M7 dans la classification du FAB [22] s'accompagnent très souvent d'une myélofibrose [23]. Au début de la leucémie, il existe des relations topographiques très étroites entre promégacaryoblastes leucémiques et prolifération fibroblastique [24]. La lyse des granules des mégacaryocytes médullaires et le taux très élevé en β -thromboglobuline suggèrent que les protéines des granules alpha sont anormalement excrétées dans la moelle osseuse et responsables de la myélofibrose [24]. Cette

myélofibrose est réversible après la rémission par chimiothérapie ou transplantation médullaire [25]. Il en est de même pour la fibrose splénique. Les leucémies mégacaryoblastiques sans myélofibrose correspondent usuellement à des proliférations dans lesquelles le blocage de maturation survient à un stade très primitif où la synthèse de protéines des granules alpha n'a pas débuté.

La fibrose du poumon, du foie et de la rate [26] a été aussi reliée à la présence d'infiltration de mégacaryocytes leucémiques. Là encore, l'excrétion de PDGF et de TGF β biologiquement actifs par les mégacaryocytes leucémiques immatures peut expliquer l'augmentation de fibronectine et d'angiogenèse [27]. L'implication du TGF β dans la synthèse du collagène par les fibroblastes a été clairement montrée avec du milieu conditionné préparé à partir de promégacaryoblastes de leucémie M7. Cet effet stimulateur peut être bloqué par un anticorps anti-TGF β [28]. Enfin, dans une maladie congénitale non maligne, le syndrome des plaquettes grises, dont environ quarante cas ont été rapportés, une myélofibrose est présente dans la majorité des cas, pouvant même aboutir à l'âge adulte à une hématopoïèse splénique [29]. Cette maladie doit son nom au fait que sur frottis colorés au May-Grunwald-Giemsa, les plaquettes apparaissent grises du fait de l'absence des granules α comme le confirment les études ultrastructurales. Les protéines des granules alpha sont très diminuées dans les plaquettes alors que leur concentration plasmatique est

élevée [30]. En fait, les études ultrastructurales avec immunomarquage suggèrent qu'il existe une anomalie de l'emballage des protéines par le mégacaryocyte aboutissant à leur excrétion dans la moelle osseuse [31, 32]. Le PDGF, détecté par immunofluorescence dans les mégacaryocytes immatures de culture de ces malades, est absent des mégacaryocytes mûrs [33]. La myélofibrose serait la conséquence de cette sécrétion anormale [32, 33] ■

RÉFÉRENCES

- Jacobsen RJ, Salo A, Fialkow PJ. Agnogenic myeloid metaplasia: a clonal proliferation of hematopoietic stem cells with secondary myelofibrosis. *Blood* 1978 ; 51 : 189-94.
- Reddi AJ, Gay R, Gay S, Miller E. Transitions in collagen types during matrix induced cartilage, bone and bone marrow formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977 ; 74 : 5589-92.
- Castro-Malaspina H, Gay RE, Resnick G, Kapoor N, Meyers P, Chiarieri D, McKenzie S, Broxmeyer HE, Moore MAS. Characterization of human bone marrow fibroblast colony-forming cells (CFU-F) and their progeny. *Blood* 1980 ; 56 : 289-301.
- Childs BH, Castro-Malaspina H. Matrix-associated abnormalities in myelofibrosis. In : MW Long, Wicha MD, eds. *The hematopoietic microenvironment*. Baltimore : The Johns Hopkins University Press, 1993 : 249-65.
- Castro-Malaspina H, Moore MAS. Pathophysiological mechanisms operating in the development of myelofibrosis; role of megakaryocytes. *Nouv Rev Fr Hematol* 1982 ; 24 : 221-6.
- Cooper TW, Eisen AZ, Stricklin GP, Welgus HG. Platelet-derived collagenase inhibitor: characterization and subcellular localization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985 ; 82 : 2779-83.
- Poncz M, Surrey S, La Rocco P, Weiss MJ, Rappaport EF, Conway TM, Schwartz E. Cloning and characterization of platelet factor 4 cDNA derived from a human erythroleukemic cell line. *Blood* 1987 ; 69 : 219-23.

8. Hiti-Harper J, Wohl H, Harper E. Platelet factor 4: an inhibitor of collagenase. *Science* 1978 ; 199 : 991-2.
9. Handagama P, Rappolee DA, Werb Z, Bainton DF. Certain platelet alpha-granule proteins, PF-4, PDGF-A chain and TGF- α are synthesized by developing megakaryocytes. *J. Cell Biol* 1988 ; 107 : 659 (abstr.).
10. Gladwin AM, Carrier MJ, Beesley JE, Lelchuk R, Hancock V, Martin JF. Identification of mRNA for PDGF- β chain in human megakaryocytes isolated using a novel immunomagnetic separation method. *Br J Haematol* 1990 ; 76 : 333-9.
11. Fava R, Casey T, Wilcox J, Pelton RW, Moses HL, Nanney LB. Synthesis of transforming growth factor β 1 by megakaryocytes and its localization to megakaryocyte and platelet α -granules. *Blood* 1990 ; 76 : 1946-55.
12. Ben-Ezra J, Sheibani K, Hwang DL, Levran A. Megakaryocyte synthesis is the source of epidermal growth factor in human platelets. *Am J Pathol* 1990 ; 137 : 755-9.
13. Bryckaert M, Fontenay M, Tobelem G. Le PGDF (*platelet derived growth factor*) et ses implications en pathologie humaine. *médecine/sciences* 1991 ; 7 : 478-84.
14. Roberts AB, Sporn MB, Assoian RK, Smith JM, Roche NS, Wakefield LM, Heine UI, Liotta LA, Falanga V, Kehrl JH, Fauci A. Transforming growth factor type β : rapid induction of fibrosis and angiogenesis *in vivo* and stimulation of collagen formation *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986 ; 83 : 4167-71.
15. Varga J, Rosenloom J, Jiminez SA. Transforming growth factor β causes a persistent increase in steady-state amounts of type I and type II collagen and fibronectin mRNAs in normal human dermal fibroblasts. *Biochem J* 1987 ; 247 : 597-604.
16. Kimura A, Katoh O, Hyodo H, Kuramoto A. Transforming growth factor- β regulates growth as well as collagen and fibronectin synthesis of human marrow fibroblasts. *Br J Haematol* 1989 ; 72 : 486-91.
17. Groopman JE. The pathogenesis of myelofibrosis in myeloproliferative disorders. *Ann Intern Med* 1980 ; 92 : 857-8.
18. Burstein SA, Malpass TW, Yee E, Kadin M, Brigden M, Adamson JW, Harker LA. Platelet factor-4 excretion in myeloproliferative disease: implications for the aetiology of myelofibrosis. *Br J Haematol* 1984 ; 57 : 383-92.
19. Kimura A, Katoh O, Kuramoto A. Marrow fibroblasts from patients with myeloproliferative disorders show increased sensitivity to human serum mitogens. *Br J Haematol* 1988 ; 69 : 153-6.
20. Martyré MC, Romquin N, Le Bousse-Kerdiles MC, Chevillard S, Benyahia B, Dupriez B, Demory JL, Bauters F. Transforming growth factor- β and megakaryocytes in the pathogenesis of idiopathic myelofibrosis. *Br J Haematol* 1994 ; 88 : 9-16.
21. Barosi G, Costa A, Liberato LN, Polino G, Spriano P, Magrigni U. Serum procollagen III peptide level correlates with disease activity in myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 1989 ; 72 : 16-20.
22. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, Sultan C. Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocyte lineage (M7). *Ann Intern Med* 1985 ; 103 : 460-2.
23. Tabilio A, Vainchenker W, Van Haeke D, Vinci G, Guichard J, Henri A, Reyes F, Breton-Gorius J. Immunologic characterization of the leukemic megakaryocytic line at light and electron microscopic level. *Leuk Res* 1984 ; 8 : 769-81.
24. Breton-Gorius J, Bizet M, Reyes F, Dupuy E, Mearc C, Vannier JR, Tron P. Myelofibrosis and acute megakaryoblastic in a child: topographic relationship between fibroblasts and megakaryocytes with a α -granule defect. *Leuk Res* 1982 ; 6 : 97-110.
25. Mehta AB, Baughan ASJ, Catovsky D, Goldman JM, Johnson SA, Galton DAG. Reversal of bone marrow fibrosis in acute megakaryoblastic leukemia after remission-induction and consolidation chemotherapy followed by bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 1983 ; 53 : 445-9.
26. Miyauchi J, Ito Y, Kawano T, Tsunematsu Y, Shimizu K. Unusual diffuse liver fibrosis accompanying transient myeloproliferative disorder in Down's syndrome: a report of four autopsy cases and proposal of a hypothesis. *Blood* 1992 ; 80 : 1521-7.
27. Reilly JT, Barnett D, Dolan G, Forrest P, Eastham J, Smith A. Characterization of an acute micromegakaryocytic leukaemia: evidence for the pathogenesis of myelofibrosis. *Br J Haematol* 1993 ; 83 : 58-62.
28. Terui T, Niitsu Y, Mahara K, Fujisaki Y, Urushizaki Y, Mogi Y, Kohgo Y, Watanabe N, Ogura M, Saito H. The production of transforming growth factor β in acute megakaryoblastic leukemia and its possible implications in myelofibrosis. *Blood* 1990 ; 75 : 1540-8.
29. Jantunen E, Hänninen A, Naukkarinen A, Vornanen M, Lahtinen R. Gray platelet syndrome with splenomegaly and signs of extramedullary hematopoiesis: a case report with review of the literature. *Am J Hematol* 1994 ; 46 : 218-24.
30. Nurden A, Kunicki TJ, Dupuis D, Soria C, Caen JP. Specific protein and glycoprotein deficiencies in platelet isolated from two patients with the gray platelet syndrome. *Blood* 1982 ; 59 : 709-18.
31. Breton-Gorius J, Vainchenker W, Nurden A, Levy-Toledano S, Caen J. Defective α -granule production in megakaryocytes from gray platelet syndrome: ultrastructural studies of bone marrow cells and megakaryocytes growing in culture from blood precursors. *Am J Pathol* 1981 ; 102 : 10-9.
32. Cramer EM, Vainchenker W, Vinci G, Guichard J, Breton-Gorius J. Gray platelet syndrome: immunoelectronmicroscopic localization of fibrinogen and von Willebrand factor in platelets and megakaryocytes. *Blood* 1985 ; 66 : 1309-16.
33. Deschamps JF, Caen JP. Abnormal megakaryocyte release and myelofibrosis. *Lancet* 1984 ; 10 : 567-8.

Janine Breton-Gorius

Directeur de recherche à l'Inserm, Inserm U. 91, hôpital Henri-Mondor, 94010 Créteil France.

TIRÉS À PART

J. Breton-Gorius.