



## Doctoral Thesis

# Role and regulation of acute phase proteins and their mediators interleukin-6 and leukemia inhibitory factor

**Author(s):**

Weber, Marietta A.

**Publication Date:**

1996

**Permanent Link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001761240> →

**Rights / License:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH No 11942

**ROLE AND REGULATION OF ACUTE PHASE PROTEINS AND  
THEIR MEDIATORS INTERLEUKIN-6 AND  
LEUKEMIA INHIBITORY FACTOR**

A dissertation submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZUERICH  
for the degree of  
DOCTOR OF NATURAL SCIENCES

presented by  
**MARIETTA A. WEBER**  
Dipl. Sci. ETH  
born September 23, 1968  
citizen of Tuggen (SZ), Switzerland

accepted on the recommendation of  
Prof. Dr. F.E. Würigler, examiner  
Prof. Dr. M. Baggiolini-Blumensaat, co-examiner  
Dr. C.L. Stewart, co-examiner

Zürich, 1996

## **SUMMARY**

In the present study, the role and regulation of the acute phase response and its mediators IL-6 and LIF are examined for their interactions in murine endotoxic shock. The biological effects and pathology of rhIL-6 are studied during long-term administration in marmosets (*Callithrix jacchus*) and rats.

### **Chapter 1.**

Mice deficient in LIF (LIF<sup>-/-</sup>) have shown to have heightened sensitivity to LPS in a LPS/D-galactosamine (D-GalN) sensitization model compared to their wild type counterparts (LIF<sup>+/+</sup>). After 6 hours of LPS/D-GalN treatment, transaminase levels (ALT and AST), indicative of hepatocellular necrosis, were more highly elevated in mutant animals than in controls. This finding correlated with a 10-fold increase and a prolonged appearance of TNF $\alpha$  and IL-6 in the serum, and with a tendency to higher mortality in LIF<sup>-/-</sup> mice at low LPS-doses. These results suggest that LIF normally acts to mitigate the endotoxic shock response and its affect in part being mediated through an inhibition of TNF $\alpha$  synthesis and release. This work has been submitted to the Journal of Experimental Medicine.

### **Chapter 2.**

IL-6-LIF-deficient mice (IL-6-LIF<sup>-/-</sup>) have a heightened sensitivity in the D-GalN/LPS sensitization model compared to their wildtype counterparts (IL-6-LIF<sup>+/+</sup>). Death occurs earlier and a higher degree of hepatocellular necrosis can be observed using aspartate and alanine transaminases as clinical markers. These findings correlate with an increase and a prolonged appearance of TNF $\alpha$  in the serum. Turpentine induces a 50% protection to the lethal toxicity of LPS in D-GalN sensitized IL-6-LIF<sup>-/-</sup> mice compared to IL-6-LIF<sup>+/+</sup> mice. These observations suggest that IL-6 and LIF are important mediators of the endotoxic shock response, in part through inhibition of TNF $\alpha$  synthesis and release as well as regulation of the acute phase proteins. This work will be submitted to Hepatology.

### **Chapter 3.**

In marmosets and rats, long-term administration of IL-6 induced quite a selective stimulation of thrombopoiesis and the immune system, which were not associated with any major adverse effect in both animal species. Hematologic alterations included sustained increase of thrombocyte counts as well as an increase in neutrophils and basophils. Thrombocyte counts and granulocyte

counts declined after 4 weeks despite continuing IL-6 administration. An acute phase protein response was observed within 24 hours after the first IL-6 administration and reached a maximum after 1 week of IL-6 administration. The increased levels of immunoglobulin and soluble IL-2 receptor in the serum levels reflected systemic immunostimulation. There was no clinical or morphological evidence of IL-6-induced renal mesangioproliferative disease. Antibodies against rhIL-6 developed in both species within 2 weeks, continued to increase during the course of the study, and neutralized the biological effects of rhIL-6. This work appeared in the *Journal of Applied Toxicology*, 15(1):19-26, 1995.

### **Discussion**

The described studies have contributed to the understanding of the role and regulation of acute phase proteins and their mediators LIF and IL-6 in the pathophysiology of shock induced by LPS in mice. It could be shown that LIF and IL-6 are not only critical mediators in the cytokine cascade after induction of shock, but play a central role in establishing normal and necessary steady state concentrations of the acute phase proteins (APP) in the healthy organism. The APPs presence and inducibility seems to help to modulate the inflammatory response in order to avoid the uncontrolled production of the triggered cytokines which act self-destructive resulting in full-blown endotoxic shock with possible lethal consequences. It could be shown that rhIL-6 as a possible therapeutic drug is well tolerated and efficacious in the absence of organ-specific and/or systemic toxicities in long-term therapy in marmosets and rats. This points to a promising role for rhIL-6 in clinical trials to ameliorate thrombocytopenia and/or immune functions in patients with cancer chemotherapy.

## Kurzfassung

Die dargelegte Studie zeigt die Rolle und Regulation von Akut Phase Proteinen im endotoxischen Schock bei Mäusen, unter spezifischer Berücksichtigung der Mediatoren Interleukin-6 (IL-6) und Leukemia Inhibitor Factor (LIF). Die biologische Wirkung und Pathologie von rekombinantem IL-6 wurde während einer Langzeitdosierung in Marmosets (*Callithrix jacchus*) und Ratten untersucht.

### 1. Kapitel

LIF-defiziente Mäuse (LIF<sup>-/-</sup>) waren im D-Galaktosamin(D-GalN)/LPS-Lebertoxizitätsmodell empfindlicher gegenüber LPS als LIF<sup>+/+</sup> Mäuse. Die Konzentrationen der leberspezifischen Enzyme Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und Glutamat-oxalacetat-Transaminase (GOT), welche das Ausmass einer Leberschädigung anzeigen, waren 6 Stunden nach Behandlung der LIF<sup>-/-</sup> Mäuse mit LPS/D-GalN deutlich erhöht im Vergleich mit LIF<sup>+/+</sup> Mäusen. Dies korrelierte sowohl mit einer bis zu 10-fachen Konzentrationserhöhung und verlängerten Bioverfügbarkeit von TNF $\alpha$  und IL-6 im Serum, als auch mit einer früheren Sterblichkeit der LIF<sup>-/-</sup> Mäuse bei niedrigen LPS-Dosen. Diese Resultate weisen darauf hin, dass LIF normalerweise die endotoxische Schockantwort vermindert. Vermutlich wird diese Wirkung teilweise durch die Hemmung der TNF $\alpha$  Synthese und dessen Freisetzung hervorgerufen. Diese Arbeit wurde beim J. Exp. Med. eingereicht.

### 2. Kapitel

Verglichen mit Kontrollmäusen waren IL-6-LIF-defiziente Mäuse (IL-6-LIF<sup>-/-</sup>) empfindlicher gegenüber LPS im D-GalN/LPS-Lebertoxizitäts Modell. Sowohl verfrühte Sterblichkeit wie auch eine verstärkte Form von Leberschäden, gemessen an den GOT- und GPT-Konzentrationen, wurden beobachtet. Erhöhte TNF $\alpha$ -Konzentration sowie verlängerte Bioverfügbarkeit im Serum stimmten mit diesen Befunden überein. Eine Vorbehandlung mit Turpentin induzierte eine 50%ige Protektion der IL-6-LIF<sup>-/-</sup> Mäuse vor LPS-induziertem Tod durch D-GalN/LPS Behandlung, im Vergleich zu 100% in IL-6-LIF<sup>+/+</sup> Mäusen. Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass IL-6 und LIF wichtige Mediatoren im Verlauf des endotoxischen Schocks sind, einerseits durch die Hemmung der TNF $\alpha$  Synthese und/oder Freisetzung, andererseits durch die Regulierung der Akut Phase Proteine. Diese Arbeit wird bei Hepatology eingereicht.

### 3. Kapitel

IL-6 führt zu einer Stimulation der Thrombopoese und des Immunsystems. Diese Effekte waren in Marmosets und Ratten nicht mit grösseren toxischen Nebenerscheinungen verbunden. Die hämatologischen Veränderungen zeigten unter anderem eine anhaltende Erhöhung von Thrombozyten, Neutrophilen und Basophilen. Die Zahl der Thrombozyten und Granulozyten begannen sich trotz Verabreichung von IL-6 nach 4 Wochen zu verringern. Die Akut Phase Antwort wurde innerhalb 24 Stunden nach der ersten IL-6 Dosis induziert, und Maximalkonzentrationen wurden nach einer Woche ununterbrochener IL-6 Verabreichung erreicht. Erhöhte Konzentrationen von Immunoglobulin und löslichem IL-2 Rezeptor wiesen auf systemische Immunstimulation hin. Es traten weder klinische noch morphologische Hinweise auf eine IL-6-induzierte mesangioproliferative Schädigung auf. Beide Spezies entwickelten innerhalb 2 Wochen Antikörper gegen rhIL-6, deren Konzentrationen im Verlauf der Studie anstiegen und die IL-6 Wirkungen neutralisierten. Diese Arbeit erschien im J. Appl. Toxicol., 15(1):19-26, 1995.

### Diskussion

Die beschriebenen Studien trugen zum Verständnis der Rolle und Regulation von Akut Phase Proteinen und deren Mediatoren LIF und IL-6 in der Pathophysiologie des LPS-induzierten Schocks bei Mäusen bei. Es konnte gezeigt werden, dass LIF und IL-6 nicht nur kritische Mediatoren in der nach Auslösung von Schocks auftretenden Zytokin-Kaskade sind, sondern auch eine zentrale Rolle bei der Etablierung eines Gleichgewichtes der Akut Phase Proteine (APP) im gesunden Organismus spielen. Die Anwesenheit und Induzierbarkeit der APPs scheinen den Entzündungsverlauf zu beeinflussen, und verhindern somit die unkontrollierte Produktion der ausgelösten Zytokine, welche zum endotoxischen Schock mit Letalität führen können. RhIL-6 zeigte als therapeutisches Medikament, während einer Langzeit-Therapie in Marmosets und Ratten, gute Verträglichkeit und Effizienz ohne organ- und/oder system-spezifische Toxizität. Dies lässt, in klinischen Versuchen, auf vielversprechende Ergebnisse von rhIL-6 für die Behandlung von Thrombozytopenie und/oder Immundefunktionen bei Krebspatienten unter Chemotherapie hoffen.