

5

Rôle des cytokines dans les maladies alcooliques du foie

Le développement de traitements efficaces dans la maladie alcoolique du foie dépend de la compréhension des mécanismes contribuant à la progression des lésions dans le parenchyme hépatique. De nombreux travaux expérimentaux ont démontré le rôle prépondérant des cytokines pro-inflammatoires dans la maladie alcoolique du foie. Elles interviennent dans l'activation de la cellule de Kupffer, la nécrose hépatique, les lésions endothéliales et le recrutement tissulaire des polynucléaires neutrophiles.

Cellule de Kupffer

La cellule de Kupffer, macrophage résident du foie, produit après activation des quantités importantes de cytokines pro-inflammatoires : elle est ainsi le principal site de synthèse cellulaire du TNF (*tumor necrosis factor*) α , dont le rôle majeur a été démontré dans l'hépatotoxicité de l'alcool (Thurman et coll., 1997 ; Thurman, 1998 ; Kamimura et Tsukamoto, 1995 ; Hansen et coll., 1994 ; Yin et coll., 1999).

Dans le modèle de maladie alcoolique du foie chez le rat, l'administration de chlorure de gadolinium ($GdCl_3$) provoque une déplétion du foie en cellules de Kupffer et prévient le développement des lésions hépatiques (Adachi et coll., 1994). Ce résultat démontre l'intervention de la cellule de Kupffer dans la pathogénie de la maladie alcoolique du foie.

Activation

Plusieurs travaux ont exploré les mécanismes d'activation de la cellule de Kupffer. Il est admis que de nombreuses substances telles que l'endotoxine (lipopolysaccharide ou LPS) dans la veine porte, l'acétaldéhyde, les produits de la peroxydation lipidique, les cytokines inflammatoires, le facteur de transactivation NF (*nuclear factor*) κ B et le fer interviennent dans son activation (Thurman et coll., 1997 ; Thurman, 1998 ; Enomoto et coll., 1998 ; Enomoto et coll., 1999 ; Goto et coll., 1994 ; Hart et coll., 1995 ; Heumann et coll.,

1992 ; Jarvelein et coll., 1997 ; Limuro et coll., 1996 ; Lin et coll., 1997 ; Lukkari et coll., 1999 ; Tomita et coll., 1994 ; Tsukamoto et coll., 1999 ; Wright et coll., 1990). Ces facteurs d'activation exercent entre eux des phénomènes de régulation. Ainsi, le facteur transcriptionnel NFκB, stimulateur puissant des régions promotrices des gènes des cytokines inflammatoires (TNFα, IL (interleukine) 6, IL8) et des molécules d'adhésion (ICAM-1 (*intracellular cell adhesion molecule*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule*), E-sélectine), est lui-même activé par le TNFα, l'acétaldéhyde, le fer et les formes réactives de l'oxygène (Lin et coll., 1997 ; Tsukamoto et coll., 1999 ; Shreck et coll., 1991 ; Nanji et coll., 1999 ; May et Ghosh, 1998 ; Roman et coll., 1999). Ces phénomènes de rétrocontrôle positif expliquent en partie la synthèse excessive de cytokines pro-inflammatoires par la cellule de Kupffer activée.

Le LPS est un puissant activateur de la cellule de Kupffer. Sa fixation au récepteur CD14 de la membrane cellulaire par l'intermédiaire du complexe LPS-LBP (*LPS-binding protein*) est suivie d'une production importante de cytokines (Wright et coll., 1990 ; Schumann et coll., 1990 ; Ulevitch et Tobias, 1995). Le TNFα libéré est un puissant inducteur de la synthèse d'IL8, qui favorise le recrutement du polynucléaire neutrophile, cellule importante dans la pathogénie de l'hépatite alcoolique aiguë (May et Ghosh, 1998).

Effets de l'alcool

L'influence de l'alcool sur la réponse des cellules de Kupffer au LPS varie en fonction du temps. Les cellules de Kupffer isolées précocement, 2 heures après l'administration de l'alcool, expriment une tolérance au LPS tandis qu'elles ont une sensibilisation exacerbée au LPS après une exposition plus longue de 24 heures, comme en témoigne l'augmentation du calcium intracellulaire, de l'expression de CD14 et de la production du TNFα (Enomoto et coll., 1998 ; Enomoto et coll., 1999).

La supplémentation en fer de l'alimentation aggrave les lésions hépatiques avec, dans certains cas, apparition de lésions de cirrhose, atteinte histologique non décrite dans le modèle de Tsukamoto et French (Tsukamoto et coll., 1995). Les cellules de Kupffer présentaient des concentrations élevées de fer intracellulaire en partie responsables d'une augmentation de l'activité de NFκB et de la synthèse des ARNm du TNFα (Lin et coll., 1997 ; Tsukamoto et coll., 1999 ; Tsukamoto et coll., 1995). En effet, le traitement *ex vivo* de cellules de Kupffer par du fer augmentait l'activité de NFκB et la synthèse d'ARNm du TNFα (Tsukamoto et coll., 1999). Inversement, l'adjonction d'un chélateur du fer dénommé L1 à une culture de cellules de Kupffer isolées de rats alcooliques diminuait l'activité de NFκB et la synthèse d'ARNm du TNFα (Tsukamoto et coll., 1999), et était capable d'inhiber en grande partie la stimulation des cellules de Kupffer par du LPS (Lin et coll., 1997).

Endotoxine (LPS) et NFκB

L'endotoxine est un puissant activateur de NFκB, lui-même promoteur de la synthèse des cytokines pro-inflammatoires impliquées dans les dommages hépatiques liés à la consommation excessive d'alcool.

LPS

Le LPS est le constituant principal de la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Il est constitué de trois régions distinctes : le lipide A, site actif de la molécule, une région centrale, indispensable à l'activité biologique du lipide A et une chaîne polysaccharidique ayant principalement une fonction antigénique (Darveau, 1998). Le mécanisme d'activation cellulaire par le LPS résulte d'une interaction entre le LBP, protéine plasmatique synthétisée par l'hépatocyte, et un récepteur membranaire, le CD14, présent à la surface des cellules de la lignée monocyttaire (Wright et coll., 1990 ; Schumann et coll., 1990 ; Ulevitch et Tobias, 1995). *In vitro*, la stimulation de culture de monocytes par du LPS et du LBP induit une production de TNFα beaucoup plus importante que celle produite par le LPS seul (Heumann et coll., 1992). Par ailleurs, l'IL6 et le TNFα stimulent en synergie la synthèse du LBP, permettant ainsi un rétrocontrôle positif responsable d'une sécrétion importante de cytokines pro-inflammatoires (Grube et coll., 1994).

Le LPS est un puissant inducteur du NFκB. Dans la cellule quiescente, NFκB existe dans le cytoplasme sous forme inactive par liaison non covalente avec son inhibiteur IκB. Tous les stimuli capables d'induire une activation du NFκB entraînent une phosphorylation des IκB, suivie d'une dégradation complète et rapide dans le cytoplasme. Ainsi libéré de son inhibiteur, NFκB expose sa séquence du signal d'adressage nucléaire, lui permettant une translocation vers le noyau où il se fixe sur les séquences κB du promoteur des gènes cibles (des cytokines pro-inflammatoires) pour activer leur transcription (May et Ghosh, 1998 ; Barnes et Karin, 1997). Les IκB sont phosphorylés par deux protéines-kinases très homologues, les IKKα (IκB-kinase-α) et les IKKβ (IκB-kinase-β), appartenant à la famille des MAP2K (*mitogen activated protein kinase kinase*) (DiDonato et coll., 1997 ; Mercurio et coll., 1997 ; Woronicz et coll., 1997).

Le rôle prépondérant du LPS dans la maladie alcoolique du foie a été démontré dans des travaux chez l'animal, mais également chez l'homme. Après administration aiguë d'alcool, l'endotoxine dans la veine porte augmente progressivement pour atteindre les taux les plus élevés à la deuxième heure (Rivera et coll., 1998). Après 2 à 4 semaines d'administration continue d'alcool, les rats alcooliques ont des taux plasmatiques de LPS élevés par rapport à des rats contrôles qui n'ont pas d'endotoxine décelable dans le plasma (Enomoto et coll., 1998 ; Nanji et coll., 1993 ; Nanji et coll., 1997). Chez les rats alcooliques, il existe une induction précoce du récepteur CD14 à la surface des

cellules de Kupffer (Jarvelainen et coll., 1997 ; Lukkari et coll., 1999). De surcroît, les taux plasmatiques de LPS, l'expression tissulaire de CD14 et les taux hépatiques de LBP sont corrélés à la sévérité des lésions histologiques (Rivera et coll., 1998 ; Nanji et coll., 1993 ; Su et coll., 1998). Enfin, il a été démontré que l'alcool sensibilise l'hépatocyte aux effets délétères du LPS. L'injection intraveineuse d'endotoxine induit peu de lésions hépatiques chez les rats normaux, alors qu'elle est responsable de lésions tissulaires chez les rats alcooliques (Hansen et coll., 1994 ; Bhagwandeem et coll., 1987 ; Honchel et coll., 1992 ; Shibamaya et coll., 1991). Le rôle du LPS a été confirmé par l'observation d'une atténuation des lésions hépatiques chez les rats alcooliques après inhibition du passage du LPS dans la circulation splanchnique. Après administration d'antibiotiques ou de lactobacilles, on observait une diminution de l'endotoxine plasmatique associée à une réduction des lésions hépatiques. Le mécanisme impliqué serait une inhibition de l'activation des cellules de Kupffer (Nanji et coll., 1994a ; Adachi et coll., 1995).

L'endotoxine est détectée fréquemment chez les patients consommateurs excessifs ayant des lésions histologiques du foie (Khoruts et coll., 1991 ; Deviere et coll., 1990 ; Bode et coll., 1987 ; Bird et coll., 1990 ; Sheron et coll., 1991). L'administration aiguë d'alcool augmente la perméabilité de la barrière digestive au niveau gastrique et duodénal, sans que soit modifiée la perméabilité de l'intestin grêle (Keshavarzian et coll., 1994). Les patients buveurs excessifs indemnes de lésions hépatiques ont une perméabilité intestinale au niveau de l'intestin grêle similaire à celle des patients contrôles. À l'inverse, la perméabilité intestinale des buveurs excessifs avec des lésions hépatiques est au moins 40 fois supérieure à celle de patients abstinents, avec ou sans maladie hépatique (Keshavarzian et coll., 1999). Cette augmentation de la perméabilité intestinale pourrait ainsi participer à l'augmentation de la concentration d'endotoxine plasmatique et être un cofacteur d'aggravation des lésions hépatiques chez les buveurs excessifs ayant développé des lésions hépatiques.

NFκB

Les rats alcooliques présentent une augmentation importante de l'activité de NFκB par rapport aux rats contrôles (Thurman, 1998 ; Tsukamoto et coll., 1999 ; Nanji et coll., 1999 ; Tsukamoto et coll., 1995). L'administration chronique d'alcool induit de nombreux facteurs de stimulation de NFκB. En effet, les taux d'endotoxine, le niveau de peroxydation lipidique et les taux hépatiques de TNFα sont corrélés avec l'activité de NFκB (Nanji et coll., 1999). Parmi ces stimuli de NFκB, les produits réactifs de l'oxygène semblent jouer un rôle considérable, constaté tant *in vivo* qu'*in vitro* (Thurman et coll., 1997 ; Tsukamoto et coll., 1999 ; Roman et coll., 1999 ; Tsukamoto et coll., 1995 ; Wheeler et coll., 2000).

Cytokines pro-inflammatoires

Au cours de la maladie alcoolique du foie, l'existence de taux élevés d'endotoxine, puissant stimulateur de la synthèse de cytokines pro-inflammatoires, a incité à l'étude des cytokines pro-inflammatoires. Il est maintenant admis que le TNF α y tient un rôle prépondérant dans la survenue des lésions hépatiques.

TNF α

La stimulation du TNF α emprunte une voie de signalisation liée à des récepteurs spécifiques exprimés à la surface des cellules cibles. Il existe deux récepteurs au TNF, TNFR1 (p55) et TNFR2 (p75), appartenant à une vaste famille de récepteurs se caractérisant par un domaine extracellulaire possédant des régions riches en cystéines. Après sa fixation à l'un des deux récepteurs, il survient des phénomènes d'activation en cascade faisant intervenir des intermédiaires protéiques. Ainsi, la fixation du TNF à l'un des deux récepteurs active la protéine TRAF2 (*TNF receptor-associated factor 2*), responsable en grande partie de la stimulation du facteur de transactivation NF κ B (Bradham et coll., 1998 ; Hsu et coll., 1996b). Cependant, il a été observé que la fixation du TNF α au récepteur 1 ne serait pas uniquement due à TRAF2 (Hsu et coll., 1996a). L'existence de phénomènes de régulation réciproque entre NF κ B et TNF α a été révélée par la description de nombreux sites de fixation de NF κ B sur le gène du TNF α (May et Ghosh, 1998). Cette stimulation réciproque contribue en partie à la synthèse massive de TNF α au cours des processus inflammatoires et de la maladie alcoolique du foie.

Observations chez l'homme

Les consommateurs excessifs d'alcool ont des taux de TNF α sérique plus élevés que les sujets contrôles (Khoruts et coll., 1991 ; Bird et coll., 1990 ; Felver et coll., 1990 ; Taïeb et coll., 2000). Les concentrations sériques de TNF α les plus élevées sont retrouvées chez les malades atteints d'hépatite alcoolique aiguë (Bird et coll., 1990 ; Taïeb et coll., 2000). Dans ces travaux, le taux de TNF α était corrélé aux taux de bilirubine, d'albumine et de créatinine, suggérant que le TNF α pourrait être un simple marqueur indirect de sévérité de l'hépatite alcoolique aiguë (HAA). Deux études, ne comportant cependant qu'un nombre restreint de malades, ont toutefois observé que le taux sérique de TNF α pourrait être une variable indépendante prédictive du décès (Bird et coll., 1990 ; Felver et coll., 1990).

Les monocytes isolés de patients atteints d'HAA ont une production de TNF α plus importante que les monocytes isolés de patients contrôles (Deviere et coll., 1990). Ce résultat suggère l'intervention de ces cellules dans la sécrétion élevée de TNF α chez les patients ayant une atteinte hépatique liée à l'alcool. Le TNF α accroît l'expression des récepteurs de type α 2 intégrines CD11a/CD18 et CD11b/CD18 à la surface des leucocytes et des molécules d'adhésion ICAM1 (ligand membranaire des α 2 intégrines) à la surface des

hépatocytes en voie de souffrance. En effet, au cours de la maladie alcoolique du foie, il existe une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion ICAM1 et des récepteurs de $\alpha 2$ intégrines (Olinger et coll., 1993 ; Nanji et coll., 1995). Cette stimulation de l'expression des molécules d'adhésion participe à la migration et à l'adhésion des polynucléaires neutrophiles au niveau d'hépatocytes en voie de nécrose.

Données chez l'animal

Dans les modèles animaux de maladie alcoolique du foie, l'augmentation de la production du TNF α a été constamment observée (Thurman, 1998). Le mécanisme serait transcriptionnel, comme le démontrent les taux élevés d'ARNm hépatiques du TNF α chez les rats alcooliques par rapport aux rats contrôles (Nanji et coll., 1994b). Afin de démontrer le rôle délétère du TNF α dans les lésions hépatiques de la maladie alcoolique, des équipes ont évalué les effets de l'inhibition directe du TNF α au moyen d'anticorps anti-TNF α ou de souris transgéniques déficientes pour les récepteurs du TNF α p55 ou p75. L'administration d'anticorps anti-TNF α à des rats alcooliques était associée à une diminution des lésions hépatiques et de l'activité sérique des transaminases (Limuro et coll., 1997). Les lésions hépatiques induites par l'administration chronique d'alcool chez des souris transgéniques déficientes pour le récepteur 1 (p55) ou le récepteur 2 (p75) du TNF α ont été comparées à celles observées chez des souris sauvages (Yin et coll., 1999). Les souris déficientes pour le récepteur de type 1 ne développent pas de lésions hépatiques tandis que les souris déficientes pour le récepteur de type 2 présentent des lésions hépatiques similaires à celles des souris sauvages (Yin et coll., 1999). Ces études ont confirmé le rôle délétère du TNF α et suggèrent une intervention prépondérante des signaux cellulaires induits par le récepteur p55.

Interleukine 8

L'IL8 est une cytokine chimiotactique pour le polynucléaire neutrophile (Malby et coll., 1996). Les principaux stimuli de la sécrétion de l'IL8 sont le TNF α , l'IL1 et l'endotoxine.

Observations chez l'homme

Chez l'homme, plusieurs travaux ont observé que l'IL8 intervient dans la pathogénie des lésions alcooliques. Les patients atteints d'hépatite alcoolique aiguë ont des taux sériques d'IL8 significativement supérieurs à ceux de volontaires sains abstinents et à ceux de malades atteints d'hépatopathie non alcoolique (Hill et coll., 1993 ; Sheron et coll., 1993). Ces taux diminuent durant la période d'abstinence (Martinez et coll., 1993). Les taux sériques d'IL8 des malades atteints d'hépatite alcoolique aiguë sont au moins 2 fois plus élevés que ceux des patients atteints de cirrhose alcoolique non compliquée (Masumoto et coll., 1993 ; Huang et coll., 1996). De plus, la présence constante d'un infiltrat hépatique de polynucléaires neutrophiles au cours de

L'hépatite alcoolique aiguë est un argument en faveur de l'intervention de l'IL8 (Sheron et coll., 1993). L'IL8 pourrait constituer une variable prédictive du décès (Sheron et coll., 1993 ; Huang et coll., 1996). Cependant, il n'a pas été démontré que l'IL8 sérique apporte une information pronostique additionnelle par rapport aux variables habituellement utilisées. Chez des malades atteints d'HAA modérée (selon le score discriminant de Maddrey) enrôlés dans un programme de sevrage alcoolique, les taux sériques moyens d'IL8 diminuent de façon significative à 1 mois. Certains d'entre eux conservaient toutefois un taux d'IL8 significativement élevé à l'issue du suivi, sans que mention soit faite de la poursuite ou non de l'intoxication éthylique (Hill et coll., 1993). Sous prédnisolone, molécule utilisée dans les formes sévères d'HAA et capable d'inhiber la production d'IL8, les taux sériques moyens d'IL8 diminuent de façon nette mais non significative au huitième jour chez des malades atteints d'HAA sévère par rapport aux malades non traités (Richardet et coll., 1993).

Cytokines anti-inflammatoires : interleukine 10

L'une des propriétés les plus intéressantes de l'IL10 est l'inhibition qu'elle exerce sur les macrophages, l'une de ses principales cibles cellulaires, provoquant une diminution de leur sécrétion de cytokines pro-inflammatoires tels que le TNF α , l'IL1 α , l'IL1 β , l'IL6 et l'IL8 (Hart et coll., 1995 ; Knolle et coll., 1997 ; De Wall-Malefyt et coll., 1991).

Dans la maladie alcoolique du foie, il a été suggéré qu'un défaut de sécrétion des cytokines anti-inflammatoires pourrait être impliqué dans la pathogénie de cette maladie. Les monocytes de patients atteints de cirrhose alcoolique présentent un déficit de sécrétion de l'IL10 (Le Moine et coll., 1995). *In vitro*, l'administration d'anticorps anti-IL10 augmente la production de TNF α dans les cultures de monocytes de sujets sains, mais ne modifie pas significativement la production de TNF α des monocytes de patients cirrhotiques. En résumé, l'IL10 inhibe le TNF α chez le sujet sain, alors qu'une sécrétion déficiente d'IL10 chez les cirrhotiques pourrait être impliquée dans la production excessive de TNF α . L'hépatite alcoolique aiguë sévère est également associée à un défaut de régulation anti-inflammatoire, comme le démontrent les concentrations élevées d'IL8 et de TNF α et faibles d'IL10 (Taïeb et coll., 2000).

Dans le modèle du rat alcoolique, les animaux ayant une atteinte histologique sévère présentent un déficit de production d'IL10 et une synthèse importante de TNF α (Nanji et coll., 1999). L'ensemble de ces travaux suggère qu'un défaut de sécrétion des cytokines anti-inflammatoires, en particulier de l'IL10, pourrait intervenir dans la pathogénie de la maladie alcoolique du foie.

En conclusion, une meilleure compréhension des mécanismes intervenant dans les lésions hépatiques liées à l'alcool devrait permettre le développement

de nouvelles perspectives thérapeutiques. Les cytokines pro-inflammatoires, en particulier le TNF α , participent aux lésions hépatiques alcooliques. Le rôle de l'endotoxine est prépondérant dans l'augmentation de la synthèse des cytokines observée dans la maladie alcoolique du foie. L'inhibition des cytokines pro-inflammatoires semble être une perspective thérapeutique intéressante. Dans le modèle du rat alcoolique, l'administration d'anticorps anti-TNF α entraîne une diminution des taux de transaminases et une amélioration des lésions hépatiques. De futurs essais thérapeutiques devront évaluer le bénéfice réel de l'inhibition des cytokines pro-inflammatoires chez les malades atteints de formes sévères de maladie alcoolique du foie.

BIBLIOGRAPHIE

ADACHI Y, BRADFORD BU, GAO W, BOJES HK, THURMAN RG. Inactivation of Kupffer cells prevent liver injury in rats following long-term exposure to ethanol. *Hepatology* 1994, **20** : 453-460

ADACHI Y, MOORE LE, BRADFORD BU, GAO W, THURMAN RG. Antibiotics prevent liver injury in rats following long-term exposure to ethanol. *Gastroenterology* 1995, **108** : 218-224

BARNES PJ, KARIN M. Nuclear factor KB a pivotal factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997, **336** : 1066-1071

BHAGWANDEEN BS, APTE M, MANWARRING L, DICKESON J. Endotoxin induced hepatic necrosis in rats on alcohol diet. *J Pathol* 1987, **151** : 47-53

BIRD G, SHERON N, GOKA J, ALEXANDER G, WILLIAMS R. Increased plasma tumor necrosis factor in severe alcoholic hepatitis. *Ann Int Med* 1990, **112** : 917-920

BODE C, KUGLER V, BODE JC. Endotoxemia in patients with alcoholic and non-alcoholic cirrhosis and in subjects with no evidence of liver disease following acute alcohol excess. *J Hepatol* 1987, **4** : 8-14

BRADHAM CA, PLÜMPE J, MANNS MP, BRENNER DA, TRAUTWEIN C. Mechanisms of hepatic cytotoxicity I. TNF-induced liver injury. *Am J Physiol* 1998, **275** : G387-G392

DARVEAU RP. Lipid A diversity and the innate host response to bacterial infection. *Curr Opin Microbiol* 1998, **1** : 36-42

DE WAAL-MALEFYT R, ABRAMS J, BENNETT B, FIGDOR CG, DE VRIES JE. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes : an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med* 1991, **174** : 1209-1220

DEVIERE J, CONTENT J, DENYS C, VANDENBUSSCHE P, SCHANDENE L et coll. Excessive in vitro bacterial lipopolysaccharide-induced production of monokines in cirrhosis. *Hepatology* 1990, **11** : 628-634

DIDONATO JA, HAYAKAWA M, ROTHWARF DM, ZANDI E, KARIN M. A cytokine-responsive I κ B kinase that activates the transcription factor NF- κ B. *Nature* 1997, **388** : 548-554

ENOMOTO N, IKEJIMA K, BRADFORD B, RIVERA C, KONO H et coll. Alcohol causes both tolerance and sensitization of rat Kupffer cells via mechanisms dependent on endotoxin. *Gastroenterology* 1998, **115** : 443-451

ENOMOTO N, YAMASHINA S, KONO H, SCHEMMER P, RIVERA CA et coll. Development of a new simple rat model of early alcohol-induced liver injury based on sensitization of Kupffer cells. *Hepatology* 1999, **29** : 1680-1689

FELVER ME, MEZEY E, MCGUIRE M, MITCHELL MC, HERLONG HF et coll. Plasma tumor necrosis factor alpha predicts decreased long-term survival in severe alcoholic hepatitis. *Alcohol Clin Exp Res* 1990, **14** : 255-259

GOTO M, LEMASTERS JJ, THURMAN RG. Activation of voltage-dependent calcium channels in Kupffer cells by chronic treatment with alcohol in therat. *J Pharmacol Exp Ther* 1994, **267** : 1264-1268

GRUBE B, COCHANE C, YE R, GREEN C, MCPHAIL M et coll. Lipopolysaccharide binding protein expression in primary human hepatocytes and hepG2 hepatoma cells. *J Biol Chem* 1994, **269** : 8477-8482

HANSEN J, CHERWITZ DL, ALLEN JI. The role of tumor necrosis factor alpha in acute endotoxin-induced hepatotoxicity in ethanol-fed rats. *Hepatology* 1994, **20** : 461-474

HART PH, JONES CA, FINLAY-JONES JJ. Monocytes cultured in cytokine-defined environments differ from freshly isolated monocytes in their responses to IL-4 and IL-10. *J Leukoc Biol* 1995, **57** : 909-918

HEUMANN D, GALLAY P, BARRAS C, ZAECH P, ULEVITCH R et coll. Control of lipopolysaccharide (LPS) binding and LPS-induced tumor necrosis factor secretion in human peripheral blood monocytes. *J Immunol* 1992, **148** : 3505-3512

HILL DB, MARSANO LS, MCCLAIN CJ. Increased plasma interleukin-8 concentrations in alcoholic hepatitis. *Hepatology* 1993, **18** : 576-580

HONCHEL R, RAY MB, MARSANO L, COHEN D, LEE E et coll. Tumor necrosis factor in alcohol enhanced liver injury. *Alcohol Clin Exp Res* 1992, **16** : 665-669

HSU H, HUANG J, SHU HB, BAICHWAL V, GOEDEL DV. TNF-dependent recruitment of the protein kinase RIP to the TNF receptor-1 signaling complex. *Immunity* 1996a, **4** : 387-396

HSU H, SHU HB, PAN MG, GOEDEL DV. TRADD-TRAF2 and TRADD-FADD interactions define two distincts TNF receptor 1 signal transduction pathways. *Cell* 1996b, **84** : 299-308

HUANG YS, CHAN CY, WU JC, PAI CH, CHAO Y, LEE SD. Serum levels of interleukin-8 in alcoholic liver disease : relationship with disease stage, biochemical parameters and survival. *J Hepatol* 1996, **24** : 377-384

JARVELAINEN HA, OINONEN T, LINDROS KO. Alcohol-induces expression on of the CD14 endotoxin receptor protein in rat Kupffer cells. *Alcohol Clin Exp Res* 1997, **21** : 1547-1551

KAMIMURA S, TSUKAMOTO H. Cytokine gene expression by Kupffer cells in experimental alcoholic liver disease. *Hepatology* 1995, **21** : 1304-1309

- KERSHAVARZIAN A, HOLMES EW, PATEL M, IDER F, FIELDS JZ, PETHKAR S. Leaky gut in alcoholic cirrhosis : a possible mechanism for alcohol-induced liver damage. *Am J Gastroenterol* 1999, **1** : 200-207
- KESHAVARZIAN A, FIELDS JZ, VAETH J, HOLLMES EW. The differing effects of acute and chronic alcohol on gastric and intestinal permeability. *Am J Gastroenterol* 1994, **89** : 2205-2211
- KHORUTS A, STAHNKE L, MCCLAIN CJ, LOGAN G, ALLEN JI. Circulating tumor necrosis factor, interleukin-1 and interleukin 6 concentrations in cirrhotic alcoholic patients. *Hepatology* 1991, **13** : 267-276
- KNOLLE PA, LOSER E, PROTZER U, DUCHMANN R, SCHMITT E et coll. Regulation of endotoxin-induced IL-6 production in liver sinusoidal endothelial cells and Kupffer cells by IL-10. *Clin Exp Immunol* 1997, **107** : 555-561
- LE MOINE O, MARCHANT A, DE GROOTE D, AZAR C, GOLDMAN M, DEVIERE J. Role of defective monocyte interleukin-10 release in tumor necrosis factor-alpha overproduction in alcoholic cirrhosis. *Hepatology* 1995, **22** : 1436-1439
- LIMURO Y, GALLUCCI RM, LUSTER MI, KHONO H, THURMAN RG. Antibodies to tumor necrosis factor alpha attenuate hepatic necrosis and inflammation due to chronic exposure to ethanol in rats. *Hepatology* 1997, **26** : 1530-1537
- LIMURO Y, IKEJIMA K, ROSE ML, BRADFORD BU, THURMAN RG. Nimodipine, a dihydropyridine-type calcium channel blocker, prevents alcoholic hepatitis caused by chronic intragastric ethanol exposure in the rat. *Hepatology* 1996, **24** : 391-397
- LIN M, RIPPE RA, NIEMELÄ O, BRITTENHAM G, TSUKAMOTO H. Role of iron in NF-KB activation and cytokine gene expression by rat hepatic macrophages. *Am J Physiol* 1997, **272** : G1355-G1364
- LUKKARI TA, JARVELAINEN HA, OINONEN T, KETTUNEN E, LINDROS KO. Short term ethanol increases the expression of Kupffer cell CD14 receptor and lipopolysaccharide binding protein in rat liver. *Alcohol Alcohol* 1999, **34** : 311-319
- MALBY J, WRIGHT S, BIRD G, SHERON N. Chemokine levels in human liver homogenates : associations between GRO alpha and histopathological evidence of alcoholic hepatitis. *Hepatology* 1996, **24** : 1156-1160
- MARTINEZ F, THOMAS NM, DARBAN H, COX TJ, WOOD S, WATTSON RR. Interleukin-6 and interleukin-8 production by mononuclear cells of chronic alcoholics during treatment. *Alcohol Clin Exp Res* 1993, **17** : 1193-1107
- MASUMOTO T, ONJI M, HORIIKE N, OHTA Y. Assay of serum interleukin 8 levels in patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol Alcohol* 1993, **28** : 99S-102S
- MAY MJ, GHOSH S. Signal transduction through NF-KB. *Immunology Today* 1998, **19** : 80-88
- MERCURIO F, ZHU H, MURRAY BW, SEVCHENKO A, BENNETT BL et coll. IKK-1 and IKK-2 ; cytokine-activated I κ B kinases essential for NF-k κ B activation. *Science* 1997, **278** : 860-866
- NANJI AA, KHETTRY U, SADRZADEH SMH, YAMANAKA T. Correlation with plasma endotoxin, prostaglandin E2, leukotriene B4, and thromboxane B2. *Am J Pathol* 1993, **142** : 367-373

- NANJI A, KHETTRY U, SADRZADEH S. Lactobacillus feeding reduces endotoxemia and severity of experimental alcoholic liver disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994a, **205** : 243-247
- NANJI AA, ZHAO S, SADRZADEH SMH, WAXMAN DJ. Use of reverse transcription-polymerase chain reaction to evaluate in vivo cytokine gene expression in rats fed ethanol for long periods. *Hepatology* 1994b, **19** : 1483-1487
- NANJI AA, GRINIUVIENE B, YACOUB LK, FOGT F, TAHAN SR. Intercellular adhesion molecule-1 expression in experimental alcoholic liver disease : relationship to endotoxemia and TNF alpha messenger RNA. *Exp Mol Pathol* 1995, **62** : 42-51
- NANJI AA, MIAO L, THOMAS P, RAHEMTULLA A, KHWAJA S et coll. Enhanced cyclooxygenase-2 gene expression in alcoholic liver disease in the rat. *Gastroenterology* 1997, **112** : 943-951
- NANJI AA, JOKELAINEN K, RAHEMTULLA A, MIAO L, FOGT F et coll. Activation of nuclear factor Kappa B and cytokine imbalance in experimental alcoholic liver disease in the rat. *Hepatology* 1999, **30** : 934-943
- OLINGER W, DINGES HP, ZATLOUKAL K, MAIR S, GOLLOWITSCH F, DENK H. Immunohistochemical detection of tumor necrosis factor-alpha, other cytokines and adhesion molecules in human livers with alcoholic hepatitis. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1993, **423** : 169-176
- RICHARDET J, DEHOUX M, MAL F, ROULOT D, LABADIE H et coll. Influence of corticosteroids on plasma cytokines concentrations in patients with severe alcoholic hepatitis. *J Hepatol* 1993, **18** : S75
- RIVERA CA, BRADFORD BU, SEABRA V, THURMAN RG. Role of endotoxin in the hypermetabolic state after acute ethanol exposure. *Am J Physiol* 1998, **275** : G1252-G1258
- ROMAN J, COLELL A, BLASCO C, CABALLERIA J, PARES A et coll. Differential role of ethanol and acetaldehyde in the induction of oxidative stress in Hep G2 cells : Effect on transcription factors AP-1 and NF-KB. *Hepatology* 1999, **30** : 1473-1480
- SCHUMANN RR, LEONG SR, FLAGGS GW, GRAY PW, WRIGHT SD et coll. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science* 1990, **249** : 1429-1431
- SHERON N, BIRD G, GOKA G, ALEXANDER G, WILLIAMS R. Elevated plasma interleukin-6 and increased severity and mortality in alcoholic hepatitis. *Clin Exp Immunol* 1991, **84** : 449-453
- SHERON N, BIRD G, KOSKINAS J, PORTMANN B, CESKA M et coll. Circulating and tissue levels of the neutrophil chemotaxin IL8 are elevated in severe acute alcoholic hepatitis, and tissue level correlate with neutrophil infiltration. *Hepatology* 1993, **18** : 41-46
- SHIBAYAMA Y, ASAKA S, NAKATA K. Endotoxin hepatotoxicity augmented by ethanol. *Exp Mol Pathol* 1991, **55** : 196-202
- SHRECK R, RIEBER P, BAEUERLE PA. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-KB transcription factor and HIV-1. *EMBO J* 1991, **10** : 2247-2258
- SU GL, RAHEMTULLA A, THOMAS P, KLEIN RD, WANG SC, NANJI AA. CD14 and lipopolysaccharide binding protein expression in a rat model of alcoholic liver disease. *Am J Pathol* 1998, **152** : 841-849

- TAÏEB J, MATHURIN P, ELBIM C, CLUZEL P, ARCE-VICIOSO M et coll. Blood neutrophil functions and cytokine synthesis in severe alcoholic hepatitis. Effect of corticosteroids. *J Hepatol* 2000, **32** : 579-586
- THURMAN RG, BRADFORD BU, LIMURO Y, KNECHT KT, CONNOR HD et coll. Role of Kupffer cells, endotoxin and free radicals in hepatotoxicity due to prolonged alcohol consumption : studies in female and male rats. *J Nutr* 1997, **127** : 903S-906S
- THURMAN RG. Alcoholic liver injury involves activation of Kupffer cells by endotoxin. *Am J Physiol* 1998, **275** : G605-G611
- TOMITA M, YAMAMOTO K, KOBASCHI H, OHMOTO M, TSUJI T. Immunohistochemical phenotyping of liver macrophages in normal and diseased human liver. *Hepatology* 1994, **20** : 317-325
- TSUKAMOTO H, HORNE W, KAMIMURA S, NIEMELÄ O, PARKKILA S et coll. Experimental liver cirrhosis induced by alcohol and iron. *J Clin Invest* 1995, **96** : 620-630
- TSUKAMOTO H, LIN M, OHATA M, GIULIVI C, FRENCH SW, BRITTENHAM G. Iron primes hepatic macrophages for NF- κ B activation in alcoholic liver injury. *Am J Physiol* 1999, **277** : G1240-G1250
- ULEVITCH RJ, TOBIAS PS. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. *Annu Rev Immunol* 1995, **13** : 437-457
- WHEELER MD, KONO H, RUSYN I, ARTEEL GE, MCCARTY D et coll. Chronic ethanol increases adeno-associated viral transgene expression in rat liver via oxidant and NF κ B-dependent mechanisms. *Hepatology* 2000, **32** : 1050-1059
- WORONICZ JD, GAO X, CAO Z, ROTHE M, GOEDDEL DV. IkappaB kinase-beta : NF-kappaB activation and complex formation with IkappaB kinase-alpha and NIK. *Science* 1997, **278** : 866-869
- WRIGHT SD, RAMOS RA, TOBIAS PS, ULEVITCH RJ, MATHISON JC. CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990, **249** : 1431-1433
- YIN M, WHEELER MD, KONO H, BRADFORD BU, GALLUCCI RM et coll. Essential role of tumor necrosis factor α in alcohol-induced liver injury in mice. *Gastroenterology* 1999, **117** : 942-950