

La fibrose hépatique, une « itopathie » ?

La fibrose hépatique, dont la complication terminale est la cirrhose, est due au dépôt de matériel fibreux dans le parenchyme hépatique. Toutes les cellules hépatiques sont concernées, mais les cellules périsinusoïdales ou cellules de Ito semblent jouer un rôle majeur dans ce processus. Ces cellules, impliquées normalement dans le métabolisme du rétinol, prolifèrent et, sous l'effet notamment du TGF β 1, modifient leur phénotype pour devenir myofibroblastiques. Elles restent activées de manière autocrine et paracrine. La matrice extracellulaire normale, attaquée par les métalloprotéinases sécrétées par les cellules de Ito et de Kupffer, fait place à une nouvelle matrice ; les modifications de la régulation physiologique (défaut de synthèse de collagénase, expression accrue de l'inhibiteur tissulaire des métalloprotéinases) en permettent l'accumulation.

Jean Rosenbaum
Ariane Mallat
Philippe Mavrier

La fibrose hépatique est définie par l'accumulation excessive de matrice extracellulaire dans le parenchyme hépatique. C'est la complication majeure de toutes les maladies chroniques du foie, qu'elles soient d'origine alcoolique, virale, parasitaire, biliaire ou autre. Son expression ultime est la cirrhose, processus irréversible, cause de morbidité et de mortalité importante. Des progrès considérables dans la compréhension des mécanismes de la fibrogenèse hépatique ont été faits au cours des 10 dernières années. Ces progrès sont dus à une meilleure connaissance des molécules composant la fibrose, des cellules synthétisant ces molécules et des médiateurs impliqués. Quoique toutes les cellules hépatiques participent, à des degrés divers, à la formation de la fibrose hépatique, l'accent sera mis dans cette revue sur le rôle prépondérant des cellules de Ito. La

fibrose hépatique n'apparaît plus comme une substance inerte, figée, mais comme un tissu en perpétuel remodelage, interagissant de façon dynamique avec les cellules environnantes et avec les médiateurs de la fibrogenèse. Plus qu'une simple accumulation de tissu conjonctif, la fibrose commence à être perçue comme la conséquence de la faillite de mécanismes régulateurs physiologiques : régulation de la quiescence des cellules de Ito, de la synthèse de collagène, de la fibrolyse etc.

Composition et localisation de la fibrose hépatique

Dans le foie normal, la matrice extracellulaire ne représente qu'une faible proportion du volume hépatique. On en trouve dans les espaces portes où elle s'organise notamment en une lame basale autour des vais-

ADRESSE

J. Rosenbaum : docteur en médecine, chargé de recherches à l'Inserm. A. Mallat : attachée des hôpitaux. J. Mavrier : professeur des universités, praticien hospitalier. Inserm U.99, hôpital Henri-Mondor, 51, avenue du Maréchal-de-Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil, France.

TIRÉS À PART

J. Rosenbaum.

RÉFÉRENCES

- Schuppan D. Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver : collagens and glycoproteins. *Sem Liv Dis* 1990 ; 10 : 1-10.
- Couvelard A, Scoazec JY, Feldman G. Expression of cell-cell and cell-matrix adhesion proteins by sinusoidal endothelial cells in the normal and cirrhotic human liver. *Am J Pathol* 1993 ; 143 : 738-52.
- McGuire RF, Bissell DM, Boyles J, Roll FJ. Role of extracellular matrix in regulating fenestrations of sinusoidal endothelial cells isolated from normal rat liver. *Hepatology* 1992 ; 15 : 989-97.
- Rockey DC, Housset CN, Friedman SL. Activation-dependent contractility of rat hepatic lipocytes in culture and *in vivo*. *J Clin Invest* 1993 ; 92 : 1795-804.
- Milani S, Herbst H, Schuppan D, Surrenti C, Riecken EO, Stein H. Cellular localization of type I, III, and IV procollagen gene transcripts in normal and fibrotic human liver. *Am J Pathol* 1990 ; 137 : 59-70.
- Clément B, Grimaud JA, Campion JP, Deugnier Y, Guillouzo A. Cell types involved in collagen and fibronectin production in normal and fibrotic human liver. *Hepatology* 1986 ; 6 : 225-34.
- Maher JJ, McGuire RF. Extracellular matrix gene expression increases preferentially in rat lipocytes and sinusoidal endothelial cells during hepatic fibrosis *in vivo*. *J Clin Invest* 1990 ; 86 : 1641-8.
- Geerts A, Greenwel P, Cunningham M, et al. Identification of connective tissue gene transcripts in freshly isolated parenchymal, endothelial, Kupffer and fat-storing cells by Northern hybridization analysis. *J Hepatol* 1993 ; 19 : 148-54.
- Schmitt-Gräff A, Krüger S, Bochar F, Gabbiani G, Denk H. Modulation of alpha smooth muscle actin and desmin expression in perisinusoidal cells of normal and diseased human livers. *Am J Pathol* 1991 ; 138 : 1233-42.
- Hendriks HFJ, Brouwer A, Knook DL. The role of hepatic fat-storing (stellate) cells in retinoid metabolism. *Hepatology* 1987 ; 7 : 1368-71.
- Rockey DC, Boyles JK, Gabbiani G, Friedman SL. Rat hepatic lipocytes express smooth muscle actin upon activation *in vivo* and in culture. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1992 ; 24 : 193-203.
- Hruban Z, Russell RM, Boyer JL, Glagov S, Bagheri SA. Ultrastructural changes in livers of two patients with hypervitaminosis A. *Am J Pathol* 1974 ; 76 : 451-68.
- Milani S, Herbst H, Schuppan D, Kim KY, Riecken EO, Stein H. Procollagen expression by nonparenchymal rat liver cells in experimental biliary fibrosis. *Gastroenterology* 1990 ; 98 : 175-84.

seaux et des canaux biliaires, dans l'espace périsinusoïdal de Disse et dans la paroi des veines centrolobulaires. La matrice extracellulaire normale présente dans l'espace de Disse ne forme pas une lame basale continue. Elle est composée de collagène de type IV, de fibronectine, de laminine, de ténascine et de protéoglycannes riches en héparan sulfate [1]. Elle joue un rôle important en contribuant à l'expression de gènes spécifiques dans les hépatocytes. La localisation initiale de la fibrose est superposable à celle de la lésion causale : ainsi, la fibrose des hépatites virales chroniques ou des maladies des voies biliaires est à point de départ portal, tandis que celle de la maladie alcoolique du foie débute dans la région centrolobulaire. Avec la progression de la fibrose, des ponts fibreux s'établissent, allant d'un espace porte à l'autre, ou d'un espace porte à une veine centrolobulaire. La fibrose de l'espace de Disse, ou fibrose périsinusoïdale, s'observe précocement au cours de la fibrogenèse hépatique, quelle que soit son étiologie (figure 1). Les principales molécules composant la fibrose hépatique sont indiquées dans le *Tableau I*. Les plus abondantes sont les collagènes interstitiels de type I et III et la fibronectine. Ces molécules sont assemblées de façon complexe entre elles, par l'intermédiaire de séquences de reconnaissance spécifiques. Il est clair que la fibrose n'est pas qu'un tissu conjonctif inerte. Les molécules qui la composent interagissent avec les cellules de leur environnement *via* des récepteurs comme les intégrines et, du fait de ces interactions, elles

modulent le phénotype et les activités métaboliques de ces cellules. Il est intéressant de constater qu'au cours de la fibrogenèse, le répertoire d'intégrines exprimé par les différentes cellules hépatiques se modifie, avec, notamment, l'apparition de nombreux récepteurs pour la laminine [2], suggérant un rôle important pour cette molécule dans l'organisation de la fibrose. Enfin, de nombreuses molécules matricielles possèdent des sites récepteurs de forte affinité pour des cytokines pouvant contrôler la fibrogenèse, comme l'interféron- γ , le GM-CSF, ou le TGF β 1.

Conséquences physiopathologiques de la fibrose hépatique

Le capillaire sinusoiïde normal est très spécialisé, dévolu aux fonctions d'échange entre les hépatocytes et le sang circulant. La fibrose périsinusoïdale constitue une néo-membrane basale et est probablement à l'origine de modifications phénotypiques des cellules endothéliales qui perdent leurs fenestrations [2, 3]. Ces deux éléments concourent à la réduction de la perméabilité du sinusoiïde avec, pour conséquence, une diminution des échanges de substances solubles du sang vers les hépatocytes, et des hépatocytes vers le sinusoiïde. Les anomalies hémodynamiques intrahépatiques sont une autre caractéristique majeure de la fibrose hépatique et ont deux conséquences principales : (1) la diminution de la perfusion hépatocytaire, due à l'établissement d'une circulation collatérale, responsable d'une diminution des activités métaboliques des hépa-

Tableau I		
PRINCIPAUX COMPOSANTS DE LA FIBROSE HÉPATIQUE ¹		
Collagènes	Glycoprotéines	Protéoglycannes
Interstitiels : types I, III, V, VI	Fibronectine Laminine Entactine Ténascine Unduline	Perlecan Syndecans Biglycan Décorine
De lame basale : type IV		

1. L'élastine, principal composant des fibres élastiques et l'acide hyaluronique, glycosaminoglycane non associé à une chaîne protéique, ne figurent pas dans le tableau.

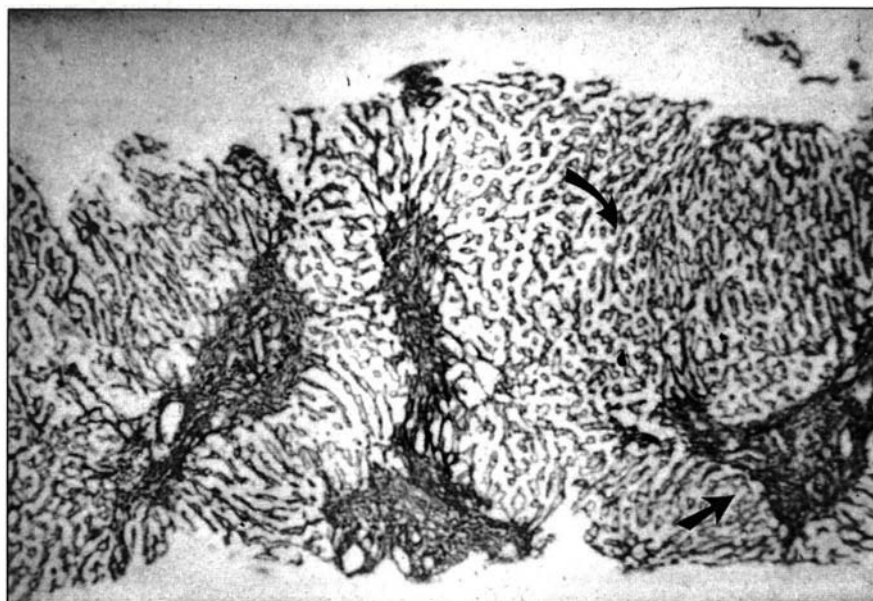


Figure 1. **Exemple de fibrose hépatique.** Section de biopsie hépatique provenant d'un patient atteint d'hépatite chronique due au virus de l'hépatite C. Coloration par la réticuline. Notez la fibrose portale et péri-portale (flèche droite) et la fibrose périsinusoidale (flèche courbe). (Photo aimablement fournie par le Pr E.S. Zafrani.)

toocytes ; (2) l'hypertension portale avec ses conséquences cliniques bien connues (hémorragies digestives, ascite, etc.). L'hypertension portale peut s'expliquer mécaniquement par la présence de la fibrose qui « rigidifie » le sinusoïde. Il est vraisemblable qu'elle a aussi une composante dynamique, due aux propriétés contractiles qu'acquière les cellules de Ito au cours de la fibrose [4].

Les cellules responsables de la fibrose hépatique

Des études par hybridation *in situ* chez l'homme et l'animal ont établi que les ARNm des composants de la fibrose sont exprimés essentiellement dans des cellules mésenchymateuses, caractérisées par leur expression de l'isoforme de type muscle lisse de l' α -actine et possédant les particularités ultrastructurales des myofibroblastes [5]. Ces résultats sont corroborés par ceux d'études immunohistochimiques [6], et par d'autres obtenus après isolement des différentes populations cellulaires

hépatiques [7, 8]. Dans le foie de rat normal, l'expression de l' α -actine de type muscle lisse est restreinte aux cellules musculaires lisses des parois vasculaires. Dans le foie humain normal, un nombre variable, mais faible, de cellules sinusoidales exprime également ce marqueur [9]. Quelle est l'origine des cellules contenant de l' α -actine présentes dans la fibrose? Pour la plupart des auteurs, la majorité de ces cellules provient de la transformation phénotypique des cellules de Ito. Ces cellules, également appelées lipocytes, cellules périsinusoidales, ou *fat-storing cells*, sont situées dans l'espace périsinusoidal de Disse, entre les hépatocytes et les cellules endothéliales sinusoidales (figure 2). Dans le foie normal, elles sont le site principal de stockage de la vitamine A dans l'organisme [10]. Il a été clairement montré qu'au cours de la fibrogenèse hépatique, les cellules de Ito perdaient progressivement leur contenu en vitamine A, proliféraient et acquerraient un phénotype myofibroblastique [11], ces modifications correspondant à « l'activation » de ces cellules. La perte

de la vitamine A n'est cependant pas nécessaire pour l'activation des cellules de Ito: au cours des intoxications chroniques par la vitamine A, responsables de fibrose hépatique, le contenu en vitamine A des cellules de Ito est augmenté [12]. Des études *in vitro* ont confirmé la capacité des cellules de Ito à synthétiser l'ensemble des molécules composant la fibrose hépatique [1].

D'autres cellules peuvent également évoluer vers le phénotype myofibroblastique. Ainsi, il a été récemment suggéré que les fibroblastes des espaces portes se transformaient en myofibroblastes dans le modèle de fibrose induite par la ligature de la voie biliaire principale chez le rat (A. Desmoulières, communication personnelle).

Les cellules de Ito/myofibroblastes ne sont pas seules en cause dans la formation de la fibrose hépatique: les cellules épithéliales biliaires synthétisent plusieurs composants de la fibrose (collagène de type IV, laminine) au cours des fibroses secondaires à des maladies des voies biliaires, chez l'homme et dans des modèles expérimentaux [13]. Les cellules endothéliales sinusoidales [14] et, dans certaines circonstances, les hépatocytes, peuvent aussi synthétiser certains composants de la fibrose hépatique. Les hépatocytes pourraient aussi jouer un rôle modulateur important, dans l'organisation et/ou l'agrégation des molécules matricielles [15].

Dynamique de la fibrose hépatique

La fibrose hépatique est souvent considérée comme un phénomène irréversible, persistant même si sa cause a pu être éliminée. Cela est probablement exact pour les fibroses anciennes, où le collagène a subi des modifications post-traductionnelles majeures [16]. Il a cependant été démontré expérimentalement qu'une fibrose, même importante, pouvait régresser en grande partie. Après création d'une fibrose hépatique chez le rat, par ligature de la voie biliaire principale, le rétablissement de la continuité des voies biliaires provoque la régression de la plus grande partie de la fibrose [17]. Ces résultats, ainsi que d'autres, similaires, obtenus au cours de la bilharziose hépatique chez la souris, indiquent que

RÉFÉRENCES

14. Milani S, Herbst H, Schuppan D, Riecken EO, Stein H. Cellular localization of laminin gene transcripts in normal and fibrotic human liver. *Am J Pathol* 1989 ; 134 : 1175-82.
15. Loreal O, Levavasseur F, Fromaget C, Gros D, Guillouzo A, Clement B. Cooperation of Ito cells and hepatocytes in the deposition of an extracellular matrix *in vitro*. *Am J Pathol* 1993 ; 43 : 538-44.
16. Ricard-Blum, S, Bresson-Hadni S, Vuitton DA, Ville G, Grimaud JA. Hydroxypyridinium collagen cross-links in human liver fibrosis : study of alveolar echinococcosis. *Hepatology* 1992 ; 15 : 599-602.
17. Abdel-Aziz G, Lebeau G, Rescan PY, et al. Reversibility of hepatic fibrosis in experimentally induced cholestasis in rat. *Am J Pathol* 1990 ; 137 : 1333-42.
18. Milani S, Herbst H, Schuppan D, et al. Differential expression of matrix-metalloproteinase-1 and -2 genes in normal and fibrotic human liver. *Am J Pathol* 1994 ; 144 : 528-37.
19. Arthur MJP. Matrix degradation in the liver. In : Surrenti C, Casini A, Milani S, Pinzani M, eds. *Fat-storing cells and liver fibrosis*. Lancaster: Kluwer Academic Publisher, 1994 : 110-27.
20. Ogawa K, Suzuki JI, Mukai H, Mori M. Sequential changes of extracellular matrix and proliferation of Ito cells with enhanced expression of desmin and actin in focal hepatic injury. *Am J Pathol* 1986 ; 125 : 611-9.
21. Friedman SL. The cellular basis of hepatic fibrosis. *N Engl J Med* 1993 ; 328 : 1828-35.
22. Gressner AM, Lotfi S, Gressner G, Haltner E, Kropf J. Synergism between hepatocytes and Kupffer cells in the activation of fat-storing cells (perisinusoidal lipocytes). *J Hepatol* 1993 ; 19 : 117-32.
23. Gressner AM, Lotfi S, Gressner G, Lahme B. Identification and partial characterization of a hepatocyte-derived factor promoting proliferation of cultured fat-storing cells (parasinusoidal lipocytes). *Hepatology* 1992 ; 16 : 1250-66.
24. Tsukamoto H. Activation of fat-storing cells in alcoholic liver fibrosis : role of Kupffer cells and lipid peroxidation. In : Surrenti C, Casini A, Milani S, Pinzani M, eds. *Fat-storing cells and liver fibrosis*. Lancaster: Kluwer Academic Publisher, 1994 : 189-98.
25. Milani S, Herbst H, Schuppan D, Stein H, Surrenti C. Transforming growth factors $\beta 1$ and $\beta 2$ are differentially expressed in fibrotic liver disease. *Am J Pathol* 1991 ; 139 : 1221-9.
26. Bachem MG, Meyer D, Melchior R, Sell KM, Gressner AM. Activation of rat liver perisinusoidal lipocytes by transforming growth factors derived from myofibroblast-like cells. A potential mechanism of self-perpetuation in liver fibrogenesis. *J Clin Invest* 1992 ; 89 : 19-27.
27. Friedman SL, Yamasaki G, Wong L. Modulation of TGF β receptors during the hepatic wound healing response ; enhanced binding and reduced gene expression accompany cellular activation in culture and *in vivo*. *J Biol Chem* 1994 ; 269 : 10551-8.

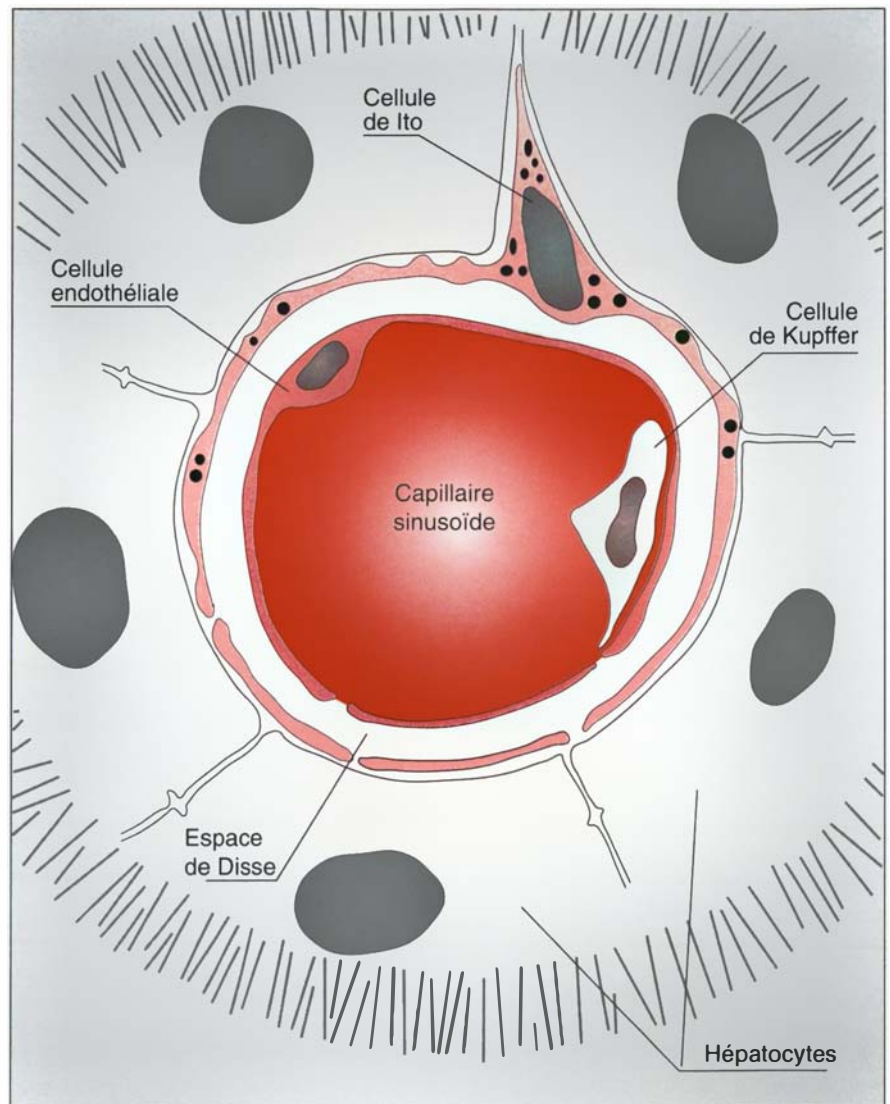


Figure 2. Représentation schématique d'un capillaire sinusoidal hépatique. Le capillaire est bordé par un endothélium fenêtré. Il n'y a pas de lame basale continue, mais des composants de matrice extracellulaire sont détectables dans l'espace de Disse, situé entre les cellules de Ito et les cellules endothéliales. Les cellules de Ito ont des contacts avec les hépatocytes visibles en microscopie électronique. Elles ont des prolongements qui encerclent le capillaire. Les microvillosités hépatocytaires n'ont pas été représentées afin de ne pas surcharger le schéma.

le foie dispose des moyens pour dégrader la fibrose, mais que ces mécanismes sont inhibés au cours de la fibrogenèse.

Ces constatations sont étayées par de multiples travaux qui montrent la complexité des mécanismes sous-jacents. La principale enzyme dégradant la fibrose est la collagénase interstitielle. Les cellules de Ito en culture expriment cette enzyme [18], mais également son inhibiteur, le *tissue inhibitor of metalloproteinases-1* (TIMP-1) [19]. L'expression de cet inhibiteur augmente au cours de l'activation des cellules de Ito en myofibroblastes. La situation est identique *in vivo*, où l'ARNm du TIMP-1 augmente dans le foie fibreux, alors que celui de la collagénase interstitielle n'est que peu ou pas modifié [19]. Ce déséquilibre entre une faible expression de la collagénase interstitielle et une forte expression du TIMP-1 favorise le développement de la fibrose.

L'activation des cellules de Ito

L'activation des cellules de Ito peut être réversible

Elle est l'étape initiale fondamentale de la fibrogenèse. Il existe des circonstances où les cellules de Ito ne sont activées que transitoirement : deux exemples sont les lésions focales du foie et l'intoxication aiguë par le CCl₄ chez le rat [20]. Dans ces deux cas, les cellules de Ito, exprimant l' α -actine de type muscle lisse, migrent vers le site des lésions, prolifèrent et synthétisent localement une matrice extracellulaire qui va servir de trame pour la réparation et/ou la régénération hépatique, avant de disparaître par un mécanisme encore inconnu (rétrodifférenciation, apoptose ?). Ce phénomène est très voisin de celui qui permet la réparation d'une plaie cutanée par des myofibroblastes. En revanche, pour qu'une fibrose se développe, il est nécessaire que l'activation soit durable.

Les mécanismes de l'activation des cellules de Ito

La culture sur plastique de cellules de Ito isolées de foie normal provoque des modifications phénotypiques très voisines de celles observées *in vivo* au cours de la fibrogenèse : perte de la vitamine A, expression d' α -actine de type muscle lisse, etc. Grâce à ce modèle et à l'étude de fibroses expérimentales chez le rat, de nombreux mécanismes impliqués dans l'activation des cellules de Ito ont été mis en évidence. Dans un schéma actuellement proposé (figure 3), l'activation est attribuée à l'action conjuguée de médiateurs solubles et de modifications de la matrice extracellulaire normale environnante [21, 22]. Ce schéma dérive de constatations faites *in vitro* ou dans des modèles expérimentaux de fibrose hépatique et ne peut donc, bien sûr, être immédiatement extrapolé à la situation rencontrée

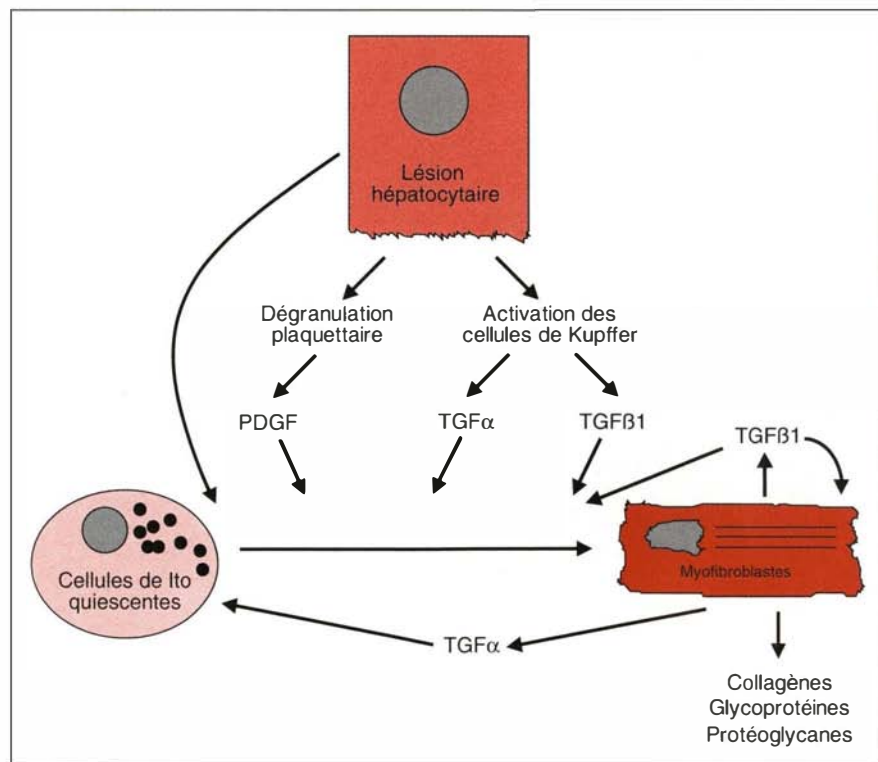


Figure 3. **Schéma de l'activation des cellules de Ito.** Les lésions hépatocytaires sont à l'origine d'une activation des cellules de Kupffer qui libèrent des cytokines (TGF α , TGF β 1). Parallèlement, la dégranulation plaquettaire sur le site des lésions provoque un relargage de PDGF. Le TGF α et le PDGF, ainsi qu'un médiateur hépatocytaire non caractérisé, sont mitogéniques pour les cellules de Ito. Le TGF β 1 accélère la transformation de ces cellules en myofibroblastes. Dans une seconde phase, les myofibroblastes synthétisent eux-mêmes ces cytokines, qui forment alors une boucle autocrine, responsable de l'amplification du phénomène. Il faut souligner que si les différents médiateurs décrits dans ce schéma ont bien été mis en évidence *in vivo*, les mécanismes suggérés n'ont, pour l'instant, été démontrés que dans des cellules en culture ou des modèles animaux.

RÉFÉRENCES

28. Friedman SL, Wong L, Yamasaki G. Gene expression of cytokine receptors during lipocyte activation. In : Surrenti C, Casini A, Milani S, Pinzani M, eds. *Fat-storing cells and liver fibrosis*. Lancaster : Kluwer Academic Publisher, 1994 : 236-42.
29. Parés A, Potter JJ, Rennie L, Mezey E. Acetaldehyde activates the promoter of the mouse $\alpha_1(I)$ collagen gene. *Hepatology* 1994 ; 19 : 498-503.
30. Greenwell P, Wyler DJ, Rojkind M, Prakash S. Fibroblast-stimulating factor 1, a novel lymphokine produced in schistosomal egg granulomas, stimulate liver fat-storing cells *in vitro*. *Infect Immun* 1993 ; 61 : 3985-7.
31. Win KM, Charlotte F, Mallat A, et al. Mitogenic effect of transforming growth factor $\beta 1$ for human Ito cells in culture. Evidence for a mediation by endogenous platelet-derived growth factor. *Hepatology* 1993 ; 18 : 137-45.
32. Charlotte F, Win KM, Préaux AM, et al. Immunolocalization of heparin-binding growth factors (HBGF) types 1 and 2 in rat liver. Selective hyperexpression of HBGF-2 in carbon tetrachloride-induced fibrosis. *J Pathol* 1993 ; 169 : 471-6.
33. Bachem MG, Meyer D, Schäfer W, et al. The response of rat liver perisinusoidal lipocytes to polypeptide growth regulator changes with their transdifferentiation into myofibroblast-like cells in culture. *J Hepatol* 1993 ; 18 : 40-52.
34. Ikeda H, Wu GY, Wu CH. Lipocytes from fibrotic rat liver have an impaired feedback response to procollagen propeptides. *Am J Physiol* 1993 ; 264 : G157-62.
35. Chen B, Polunovsky V, White J, et al. Mesenchymal cells isolated after acute lung injury manifest an enhanced proliferative phenotype. *J Clin Invest* 1992 ; 90 : 1778-85.
36. Friedman SL. Substraction cloning of lipocyte activating genes. *Hepatology* 1993 ; 18 : 107A.
37. Mavier P, Rosenbaum J. Perspectives in the treatment of liver fibrosis. *J Hepatol* 1994 (sous presse).
38. Czaja MJ, Weiner FR, Takahashi D, et al. γ -Interferon treatment inhibits collagen deposition in murine schistosomiasis. *Hepatology* 1989 ; 10 : 795-800.
39. Manabe N, Chevallier M, Chossegros P, et al. Interferon- α_{2b} therapy reduces liver fibrosis in chronic non-A, non-B hepatitis : a quantitative histological evaluation. *Hepatology* 1993 ; 18 : 1344-9.
40. Li J, Leo MA, Mak KM, Rojkind M, Lieber CS. Polyunsaturated lecithin prevents acetaldehyde-mediated hepatic collagen accumulation by stimulating collagenase activity in cultured lipocytes. *Hepatology* 1992 ; 15 : 373-81.
41. Border WA, Noble NA, Yamamoto T, et al. Natural inhibitor of transforming growth factor- β protects against scarring in experimental kidney disease. *Nature* 1992 ; 360 : 361-4.
42. Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, et al. Transforming growth factor $\beta 1$ null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 770-4.
- chez l'homme. Au cours de la fibrogenèse, la matrice sous-endothéliale physiologique est remplacée par un tissu fibreux riche, notamment, en collagènes interstitiels. La dégradation de la matrice normale pourrait être due à des métalloprotéases sécrétées par les cellules de Ito elles-mêmes et les cellules de Kupffer [19]. Parallèlement, les médiateurs solubles trouvent leur place dans un schéma d'activation séquentiel dans lequel une lésion hépatocytaire constitue l'élément déclenchant. Les conséquences de la lésion hépatocytaire sont multiples : les hépatocytes lésés libèrent un médiateur préformé qui stimule la prolifération des cellules de Ito [23] ; la nécrose hépatocytaire s'accompagne d'une activation des cellules de Kupffer et d'une infiltration du foie par des cellules mononucléées sanguines qui vont sécréter des cytokines ; enfin, les lésions membranaires hépatocytaires sont à l'origine de la formation de lipoperoxydes qui vont contribuer à l'activation des cellules de Kupffer et à l'augmentation de la synthèse de collagène par les cellules de Ito activées [24]. Il est probable qu'un mécanisme similaire existe lorsque la lésion initiale n'est pas hépatocytaire, mais biliaire. En effet, outre leur rôle propre déjà souligné dans la synthèse de composants matriciels, les cellules épithéliales des néo-canaux biliaires synthétisent aussi des médiateurs de l'inflammation, comme le *transforming growth factor* (TGF) $\beta 2$ [25], ou le *fibroblast growth factor* (FGF)-1 (J. Rosenbaum, F. Charlotte, résultats non publiés) qui peuvent influencer le recrutement, l'activation et/ou la prolifération des myofibroblastes.

Dans une deuxième phase, les acteurs essentiels sont les macrophages hépatiques et, en particulier, les cellules de Kupffer

Activées à la suite des lésions hépatocytaires, les cellules de Kupffer sécrètent plusieurs médiateurs importants :

- le TGF $\beta 1$. Ce médiateur joue un rôle pivot dans la fibrogenèse (*m/s n° 6, vol. 7, p. 633*) (figure 4). Il est capable, *in vitro*, d'accélérer la transformation des cellules de Ito en myofibroblastes [26]. C'est aussi un puissant stimulant de la synthèse des composants de la matrice extracellu-

laire par les cellules de Ito. Enfin, il a été montré qu'il diminue l'expression de la collagénase interstitielle et stimule celle du TIMP-1 dans des fibroblastes. Toutefois, comme les cellules de Ito n'expriment les récepteurs du TGF β qu'après qu'elles ont été activées [27], cette cytokine n'est probablement pas le premier médiateur de la cascade d'activation des cellules de Ito ;

- le *lipocyte stimulating factor* (LSF), partiellement caractérisé, induit *in vitro* l'expression, sur les cellules de Ito, de récepteurs de type β pour le *platelet-derived growth factor* (PDGF) [28]. Le PDGF est un puissant mitogène pour les cellules de Ito. Le rôle du LSF n'a pas été démontré *in vivo*. Il est probable qu'il existe d'autres voies d'induction du récepteur du PDGF car des transcrits du récepteur β sont déjà détectables dans les cellules de Ito une heure après injection de CCl_4 [28] ;

- du TGF α , mitogénique pour les cellules de Ito [26] ;

- de l'interleukine 6, qui stimule la synthèse de collagène par les cellules de Ito [24].

A cette étape, le schéma d'activation peut être enrichi d'éléments propres à l'étiologie de la fibrose. Au cours de la maladie alcoolique du foie, l'acétaldéhyde, produit d'oxydation de l'éthanol par l'alcool déshydrogénase, pourrait jouer un rôle car, *in vitro*, il augmente le taux de l'ARNm du procollagène de type I dans les cellules de Ito de rat [29]. Au cours de la bilharziose hépatique, il a été montré que les granulomes bilharziens sécrétaient une cytokine, le *fibroblast stimulating factor 1*, qui stimule la prolifération des cellules de Ito [30].

La troisième étape est celle de l'indépendance

Les cellules de Ito de phénotype myofibroblastique deviennent capables, en culture, de proliférer et de synthétiser les composants de la fibrose, en l'absence de cytokines stimulatrices. Ces résultats sont en partie expliqués par la mise en place de boucles paracrines bien démontrées chez le rat, impliquant le TGF α et le TGF $\beta 1$ [26]. Ce dernier stimule la production de matrice extracellulaire par les myofibroblastes et permet la transformation phénotypique de cel-

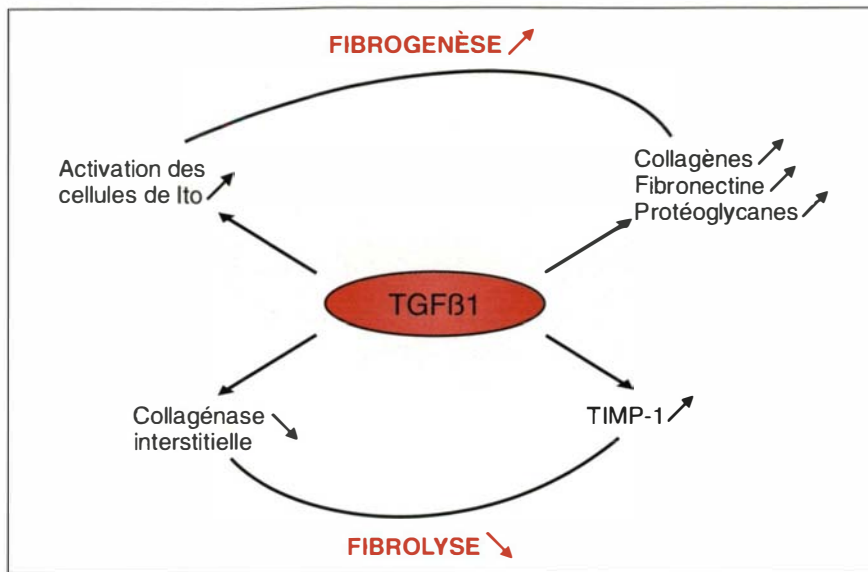


Figure 4. **Rôle central du TGFβ1 dans la fibrogenèse hépatique.** Le TGFβ1 accélère la transformation phénotypique des cellules de Ito en myofibroblastes. Il stimule leur synthèse de composants de la fibrose. Parallèlement, il diminue l'expression de la collagénase interstitielle et augmente celle de son inhibiteur, le TIMP-1. L'augmentation de la fibrogenèse et le blocage de la fibrolyse aboutissent à un effet net profibrogénique.

lules encore quiescentes. De plus, chez l'homme, le TGFβ1 est un facteur mitogénique pour les cellules de Ito dans leur phénotype myofibroblastique [31]. Il a été montré que cet effet était indirect, sous la dépendance de facteurs de croissance produits par les cellules de Ito, elles-mêmes exposées au TGFβ1. Deux boucles auto-croisées potentielles, induites par le TGFβ1, ont été mises en évidence : l'une implique le PDGF [31], l'autre, le FGF2 (J. Rosenbaum *et al.*, soumis pour publication). Le PDGF, comme le FGF2 ont été mis en évidence *in vivo* dans des lésions de fibrose hépatique expérimentale et humaine, ce qui suggère la pertinence des données obtenues en culture [32].

Le TGFα, produit aussi par les cellules myofibroblastiques, est mitogénique pour les cellules de Ito, mais son effet disparaît progressivement avec le temps de culture des cellules [33]. Cette perte de réponse n'est pas expliquée par une diminution du nombre de récepteurs pour le TGFα. Enfin, les cellules de Ito activées, isolées de foies fibreux, perdent aussi le rétrocontrôle de la synthèse de collagène par le propeptide carboxyterminal du procollagène de type I, un fragment clivé lors de la maturation du procollagène en collagène [34].

Cette dérégulation n'est pas, ici non plus, due à une modification de la capture ou du métabolisme du propeptide par les cellules.

L'ensemble de ces anomalies de régulations permet de suggérer qu'au cours de la fibrogenèse hépatique, les cellules de Ito ont acquis un phénotype stable, largement indépendant des *stimuli* extérieurs. Une hypothèse séduisante est que cette modification serait due à une mutation somatique. Ce mécanisme a été suggéré pour les cellules mésenchymateuses isolées de poumon fibreux qui prolifèrent spontanément en culture, ou les cellules dérivées de plaques athéromateuses, qui sont mono ou oligoclonales et possèdent une activité transformante [35].

Les événements précoces de l'activation des cellules de Ito sont encore mal connus

Il s'agit là d'un problème fondamental à résoudre car l'interruption précoce du cycle d'activation des cellules de Ito pourrait avoir des conséquences thérapeutiques importantes. Le premier marqueur d'activation des cellules de Ito actuellement connu est l'induction de l'ARNm du récepteur β du PDGF qui survient

une heure après l'injection de CCl₄ [28]. A quoi est due cette induction *in vivo*? Quels sont les facteurs responsables de l'induction, également précoce, des récepteurs du TGFβ1 ? Pour tenter d'identifier ces facteurs, S. Friedman a construit une banque d'ADNc différentielle en utilisant de l'ARNm de foie de rat normal ou ayant reçu une injection de CCl₄ trois heures auparavant. Il a pu ainsi isoler plusieurs ARNm exprimés uniquement après injection de CCl₄. L'étude de ces clones semble prometteuse puisqu'ils comportent notamment un ARNm codant pour une nouvelle protéine à doigts de zinc (possible facteur transcriptionnel spécifique des cellules de Ito) [36].

Le traitement de la fibrose hépatique : quelques lueurs d'espoir

Jusqu'à présent, le traitement de la fibrose hépatique est resté limité au traitement (difficile) de sa cause. La meilleure définition des mécanismes de la fibrogenèse hépatique permet maintenant de concevoir des traitements à visée physiopathologique. Un traitement efficace devrait remplir un ou plusieurs des objectifs suivants : (1) inhiber l'activation des cellules de Ito, leur prolifération et leur synthèse de composants de la fibrose ; (2) stimuler la dégradation de la fibrose ; (3) s'opposer à l'action des cytokines profibrogéniques.

Les différents traitements existants et les perspectives thérapeutiques ont été récemment passés en revue [37]. Sans être exhaustif, on peut citer quelques molécules qui répondent partiellement aux critères évoqués plus haut.

Interférons

Les propriétés antifibrogéniques de l'interféron-γ sont connues depuis longtemps [38] mais n'ont pas été étudiées en détail au cours de la fibrose hépatique chez l'homme. L'interféron-α, utilisé dans le traitement des hépatites chroniques virales pour ses effets antiviraux, s'est révélé avoir un effet antifibrosant indépendant de son effet antiviral chez des patients traités pour des hépatites chroniques dues au virus C [39]. Il pourrait agir directement sur les cellules de Ito

en diminuant leur prolifération et leur synthèse de collagène (A. Mallat *et al.*, soumis pour publication).

Phosphatidylcholine

L'administration de phosphatidylcholine de soja à des babouins intoxiqués par l'éthanol pendant plusieurs années a réduit la survenue de fibroses hépatiques sévères. Le mécanisme pourrait être une stimulation de l'activité collagénasique des cellules de Ito, démontrée *in vitro* [40]. La molécule active a été identifiée comme la dilidoleyl-phosphatidylcholine et fait actuellement l'objet d'une étude clinique multicentrique aux États-Unis.

Antagonistes du TGFβ1

Le rôle central du TGFβ1 incite à rechercher des antagonistes de son action dans le foie. Des antagonistes du TGFβ1 ont déjà été testés dans des maladies expérimentales extra-hépatiques avec un certain succès [41]. Leur utilisation est pour l'instant limitée par le risque théorique de pathologie dysimmunitaire grave liée à l'inactivation systémique du TGFβ1 [42]. Il est possible que de nouvelles stratégies, ciblant des médiateurs agissant en aval du TGFβ1 (FGF2, PDGF), permettent d'agir de façon plus sélective ■

Summary

Hepatic fibrosis. An itopathy ?

Hepatic fibrosis complicates most chronic liver diseases. It carries a high morbidity and mortality rate, due to its endpoint, cirrhosis of the liver. The cell type responsible for the major part of fibrosis deposition is the Ito cell. This perisinusoidal cell, involved in retinol metabolism in the normal liver, switches to a myofibroblastic phenotype, proliferates and synthesizes extracellular matrix components during fibrogenesis. The mechanisms responsible for this « activation » have been studied in detail. A 3-step model of activation has been proposed. In the first step, necrotic hepatocytes initiate Ito cell proliferation by releasing a mitogenic mediator. In the second step, mononuclear cells, activated by the products of hepatocyte lysis, release several cytokines, including transforming growth factor β1, that

affect the phenotypic modulation of Ito cells into myofibroblasts. Finally, myofibroblastic Ito cells are then able to sustain the activation by secreting multiple cytokines acting through an autocrine/paracrine pathway by themselves. The activation is also influenced by the disruption of the normal extracellular matrix by metalloproteinases secreted by Ito and Kupffer cells. In parallel, the breakdown of the newly synthesized matrix is impaired due to decreased expression of interstitial collagenase together with increased expression of the tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in the diseased liver. An adequate treatment for hepatic fibrosis is still lacking. Future research is aiming at several targets : decreasing the activation of Ito cells, stimulating fibrosis degradation and developing profibrogenic cytokines antagonists.