

## Stimulation de la croissance hépatocytaire par les proliférateurs de peroxyosomes

Stephan Chevalier  
Neil Macdonald  
Nathalie Chevalier  
Ruth Roberts

Les proliférateurs de peroxyosomes, utilisés en médecine comme médicaments hypolipémiants, sont des composés chimiques induisant des hépatocarcinomes chez les rongeurs sans provoquer de lésions de l'ADN. Cependant, ils n'induisent pas de tumeurs du foie chez l'homme. Chez les rongeurs, les proliférateurs de peroxyosomes induisent la réplication de l'ADN des hépatocytes et inhibent la mort cellulaire par apoptose. Les proliférateurs de peroxyosomes activent le récepteur nucléaire PPAR $\alpha$  (*peroxyosome proliferator activated receptor  $\alpha$* ) qui contrôle l'expression des gènes des enzymes de la voie de  $\beta$ -oxydation des acides gras. Le TNF $\alpha$  (*tumour necrosis factor  $\alpha$* ) semble nécessaire à l'action des proliférateurs de peroxyosomes mais les gènes contrôlant la croissance hépatocytaire et réglés par PPAR $\alpha$  n'ont pas été identifiés. La compréhension des mécanismes moléculaires induisant la prolifération hépatocytaire chez les rongeurs devrait permettre de mieux évaluer les risques que représentent les proliférateurs de peroxyosomes pour l'homme.

**A**u cours du développement industriel de nouveaux composés chimiques, il est nécessaire d'évaluer le risque d'induction de tumeurs par ces nouvelles molécules. Bien que nous n'ayons qu'une vue incomplète des processus de tumorigénèse, une batterie de tests est disponible pour détecter les composés chimiques qui portent atteinte à l'ADN et induisent ainsi des lésions génétiques. Cependant, il n'existe pas de test rapide pour détecter les molécules chimiques qui sont des carcinogènes non génotoxiques, c'est-à-dire des molécules capables d'induire des

tumeurs sans provoquer de lésions de l'ADN. Le foie des rats et des souris, ainsi que, dans une moindre mesure, leurs reins sont les cibles principales des carcinogènes non génotoxiques [1]. Les proliférateurs de peroxyosomes, utilisés comme pesticides, herbicides, solvants organiques et assouplisseurs de matériaux plastiques, représentent la famille de carcinogènes non génotoxiques la mieux caractérisée [2, 3]. L'incidence des tumeurs provoquées par les proliférateurs de peroxyosomes dépend en particulier des espèces étudiées [2]. Chez les rongeurs, les proliférateurs de peroxyosomes induisent la produc-

### ADRESSES

S. Chevalier, N. Macdonald, R. Roberts : AstraZeneca Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, SK10 4TJ, Royaume-Uni. N. Chevalier : Teamwork, Armstrong House, Swallow Street, Stockport, SK1 3LG, Royaume-Uni.

tion de peroxysomes (organites accomplissant des fonctions essentielles dans le foie dont la plus caractéristique est la  $\beta$ -oxydation des acides gras à longue chaîne) [5, 6]. La prolifération de peroxysomes dans le foie et l'activation des enzymes de la  $\beta$ -oxydation des acides gras dans les hépatocytes s'accompagnent souvent d'hypertrophie et d'hyperplasie hépatiques. La régulation du métabolisme des lipides par les proliférateurs de peroxysomes a été abondamment documentée récemment et n'est pas l'objet de cet article [4, 7]. Nous nous focaliserons sur les différents mécanismes moléculaires induits par les proliférateurs de peroxysomes et impliqués dans les processus de tumorigénération. Les proliférateurs de peroxysomes pourraient induire des tumeurs chez les rongeurs, soit en stimulant la synthèse d'ADN et la prolifération des hépatocytes, et en réduisant la mort cellulaire par apoptose [3, 6], soit en augmentant la concentration intracellulaire en  $H_2O_2$ , le stress oxydant résultant pouvant être une cause de carcinogénèse [6, 8]. Les fibrates représentent un sous-groupe de proliférateurs de peroxysomes utilisés depuis 30 ans comme médicaments hypolipémiants qui diminuent le risque cardiovasculaire chez l'homme [2, 4]. Les patients traités avec des fibrates ne présentent pas les effets secondaires et néfastes des proliférateurs de peroxysomes et n'ont pas plus de risque de développer de tumeur hépatique qu'un groupe non traité [2]. En revanche, les rats et les souris répondent fortement aux proliférateurs de peroxysomes qui provoquent non seulement une hépatomégalie après quelques jours de traitement mais également des tumeurs hépatiques après un an de traitement [2, 3]. La compréhension des mécanismes induisant la prolifération cellulaire et les tumeurs en réponse aux proliférateurs de peroxysomes devrait permettre d'identifier ces molécules à un stade préliminaire de développement industriel et d'évaluer les risques encourus par l'homme.

### Le récepteur nucléaire PPAR $\alpha$

Le récepteur nucléaire PPAR $\alpha$  (*peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$* )

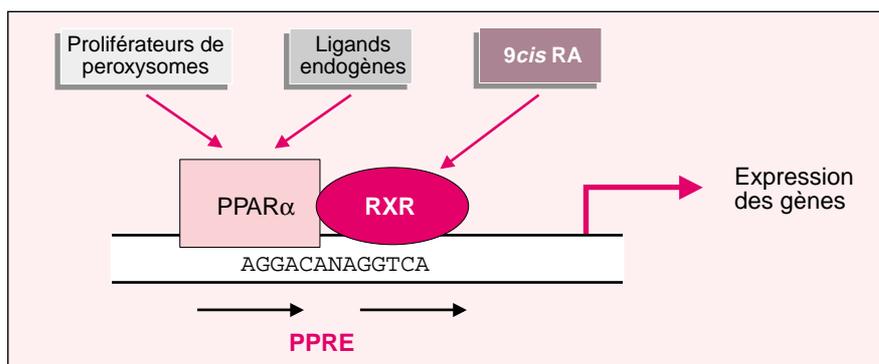


Figure 1. **Représentation schématique du rôle de PPAR $\alpha$  dans la carcinogénèse.** Le PPAR $\alpha$  est activé par les proliférateurs de peroxysomes ou les ligands endogènes (leucotriène  $B_4$ , acide 8[S]hydroxyéicosatétraénoïque, acide 8[S]hydroxyéicosapentaénoïque). Le récepteur RXR est activé par l'acide 9cis-rétinoïque (9cis RA). Le dimère PPAR $\alpha$ /RXR règle l'expression de gènes cibles en se liant à leur promoteur au niveau des sites PPRE, qui sont des motifs hexaséquentiels répétés deux fois (flèches), séparés par un nucléotide intercalant. Le dimère PPAR/RXR règle l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des acides gras, au cours duquel peut être produit l' $H_2O_2$ , mais également l'expression de gènes impliqués dans le contrôle du cycle cellulaire et de la mort cellulaire par apoptose.

est activé par les proliférateurs de peroxysomes et relaie leurs effets biologiques [6, 9] (figure 1). Le récepteur PPAR $\alpha$  est exprimé principalement dans le foie mais également dans le tube proximal du rein. Deux autres récepteurs nucléaires, PPAR $\gamma$  et PPAR $\beta$ , présentent une forte homologie de séquence avec le PPAR $\alpha$ . Le récepteur PPAR $\gamma$ , pratiquement absent du foie, est fortement exprimé dans les tissus adipeux et les macrophages [10]. Le PPAR $\gamma$ , nécessaire à la différenciation des cellules en adipocytes, est la cible de la thiazolidinedione utilisée comme médicament pour les diabétiques [11, 12]. A la différence du PPAR $\alpha$  et du PPAR $\gamma$ , le PPAR $\beta$  est exprimé de façon ubiquitaire, avec une préférence pour les cellules du système nerveux central, mais sa fonction physiologique reste inconnue [10]. Le PPAR $\alpha$  règle l'expression du cytochrome P450-4A1, des gènes des enzymes clés de la voie de  $\beta$ -oxydation des acides gras tels que l'acyl-CoA oxydase, l'énoyl-CoA hydratase-déshydrogénase et la thiolase en réponse aux proliférateurs de peroxysomes et à certains acides gras et métabolites d'acides gras endogènes [5-6]. Par exemple, l'activation du PPAR $\alpha$  par le leucotriène  $B_4$  induit l'expression d'enzymes impliqués dans le métabolisme des acides gras

et inhibe le processus d'inflammation en provoquant la dégradation du leucotriène  $B_4$  [13]. Les souris transgéniques dépourvues du gène PPAR $\alpha$  (PPAR $\alpha^{-/-}$ ) et traitées par les proliférateurs de peroxysomes ne présentent aucun des effets induits par ces composés. En effet, les hépatocytes des souris PPAR $\alpha^{-/-}$  ne produisent pas de peroxysomes, ne répliquent pas l'ADN et les souris ne développent pas de tumeurs [6, 14, 15]. Cela suggère que le PPAR $\beta$ , le PPAR $\gamma$  ou d'autres récepteurs nucléaires sont incapables de se substituer au PPAR $\alpha$  pour induire des tumeurs en réponse aux proliférateurs de peroxysomes. Le PPAR $\alpha$  s'associe avec le facteur ubiquitaire RXR (*retinoic X receptor*) et le dimère exerce ses effets biologiques en se liant à l'ADN aux sites PPRE (*peroxisome proliferator response element*) situés, en particulier, en amont des gènes de l'acyl-CoA oxydase et l'énoyl-CoA hydratase [6]. Le promoteur du gène codant pour le cytochrome P450-4A1 contient également un site PPRE activé par le PPAR $\alpha$  en réponse aux proliférateurs de peroxysomes [16]. De plus, le groupe des fibrates stimule l'expression des gènes de la lipoprotéine lipase et des apolipoprotéines A-I et A-II alors qu'il inhibe l'expression de l'apolipoprotéine C-III, ce qui diminue les concentrations

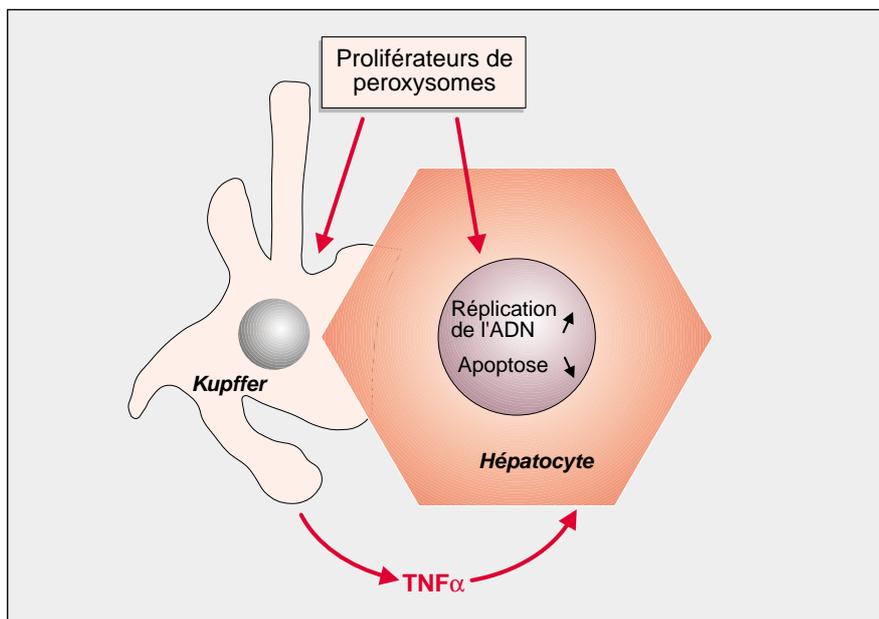


Figure 2. **Hypothèse sur le rôle de TNF $\alpha$  dans la réponse aux proliférateurs de peroxysomes.** Outre l'activation du récepteur PPAR $\alpha$  dans les hépatocytes, les proliférateurs de peroxysomes stimuleraient la production ou la libération de TNF $\alpha$  par les cellules de Kupffer. Le TNF $\alpha$  ainsi libéré participerait au contrôle de la réplication de l'ADN et de l'apoptose dans les hépatocytes.

plasmatiques de triglycérides et de cholestérol chez les patients traités [4, 17, 18].

Les PPRE sont des motifs héxanucléotiques répétés deux fois, séparés par un nucléotide intercalant (figure 1). Chez le rat, le PPRE (AGGACA A AGGTCA) du promoteur de l'acyl-CoA oxydase est activé par le proliférateur de peroxysomes Wyeth-14,643. Son homologue chez l'homme diffère de quatre bases (AGGTCA G CTGTCA) et n'est pas activé par le Wyeth-14,643 [19, 20]. Inversement, le PPRE de l'apolipoprotéine A-I humaine est activé en réponse aux fibrates mais son homologue chez le rat diffère de 3 bases et est inactif [21]. La spécificité de la réponse aux proliférateurs de peroxysomes chez les mammifères est donc liée à la présence d'un PPRE fonctionnel dans les gènes dont l'expression est réglée par le PPAR $\alpha$ . De plus, l'expression du PPAR $\alpha$  chez l'homme semble être trop faible pour conférer une réponse complète aux proliférateurs de peroxysomes [22]. Plusieurs gènes activés par le PPAR $\alpha$  et contrôlant le métabolisme des acides gras ont donc été caractérisés, mais les gènes activés par le

PPAR $\alpha$ , réglant la croissance hépatocytaire, ne sont pas identifiés.

### Le rôle de TNF $\alpha$

Plusieurs études récentes indiquent que les cytokines pourraient être des médiateurs de la réponse hépatocytaire aux proliférateurs de peroxysomes [23] (figure 2). Les cellules de Kupffer sont les macrophages du foie et les principaux producteurs de cytokines [24]. La destruction des cellules de Kupffer inhibe la réponse des hépatocytes aux proliférateurs de peroxysomes [25]. Cela suggère que la production de cytokines par ces cellules pourrait former un réseau paracrine stimulant la prolifération hépatique. Le TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ ) produit par plusieurs types cellulaires est impliqué dans diverses réponses biologiques telles que la prolifération cellulaire, la mort par apoptose et les phénomènes d'inflammation tissulaire. Le TNF $\alpha$  est capable de stimuler la réplication de l'ADN et de supprimer l'apoptose dans les cultures primaires d'hépatocytes [26, 27] (figure 2). Des anticorps anti-TNF $\alpha$  bloquent ces effets à la fois *in vivo* et *in vitro* [26, 27]. Dans les

cultures primaires d'hépatocytes isolés à partir des souris PPAR $\alpha$ <sup>-/-</sup>, le TNF $\alpha$  induit également la réplication de l'ADN et inhibe l'apoptose, mais ne stimule pas la voie de  $\beta$ -oxydation des acides gras [28]. En réponse aux proliférateurs de peroxysomes, le TNF $\alpha$  pourrait donc régler la croissance hépatocytaire, mais pas la prolifération des peroxysomes. Les mécanismes de production ou de libération du TNF $\alpha$  en réponse aux proliférateurs de peroxysomes ne sont pas encore élucidés [3, 23]. Comme le TNF $\alpha$  active des facteurs de transcription tels que le NF- $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B) et l'AP-1 (activating protein-1), ces derniers sont de bons candidats pour être des médiateurs de la réponse aux proliférateurs de peroxysomes [3, 23].

### Rôles des récepteurs des facteurs de croissance

L'activité mitotique du foie adulte est très faible et les hépatocytes sont des cellules très différenciées. La prolifération hépatocytaire est contrôlée par plusieurs facteurs de croissance parmi lesquels l'EGF (epidermal growth factor), le TGF $\alpha$  (transforming growth factor  $\alpha$ ) et le HGF (hepatocyte growth factor) [29]. Cependant, ces facteurs de croissance ont une faible capacité d'induction de la synthèse d'ADN et de la prolifération cellulaire quand ils sont injectés chez des rongeurs [29]. Des études récentes *in vivo* et dans les cultures primaires d'hépatocytes de rat ont montré que le TNF $\alpha$  sensibilise les hépatocytes aux effets proliférateurs des facteurs de croissance [30, 30 bis]. La transduction des signaux délivrés par l'EGF et le TGF $\alpha$  est réalisée par un récepteur commun, l'EGF-R (epidermal growth factor receptor). L'EGF-R est une glycoprotéine transmembranaire constituée d'un domaine extramembranaire de liaison à l'EGF et d'un domaine intracellulaire possédant une activité tyrosine kinase [31]. L'interaction de l'EGF avec son récepteur stimule l'activité tyrosine kinase de ce dernier, activant une cascade de signaux intracellulaires qui participent à la prolifération cellulaire [31]. Il a été montré par immunocytochimie que les proliférateurs de peroxysomes réduisent

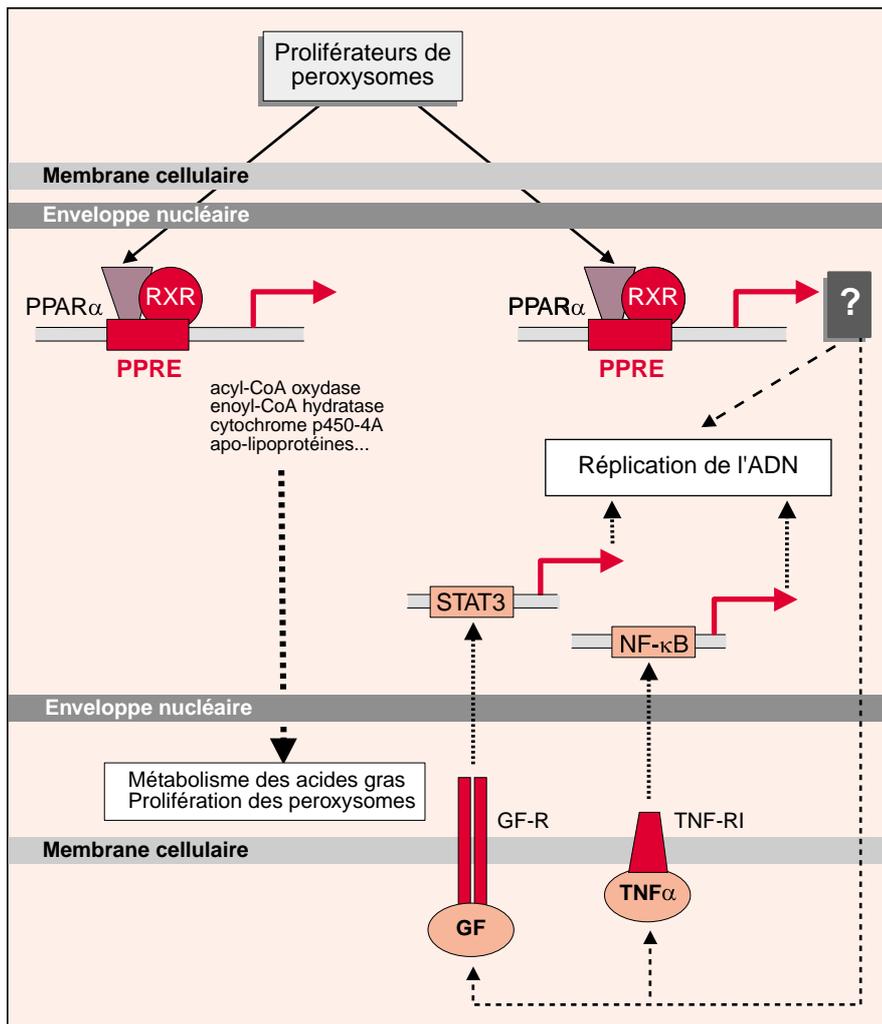


Figure 3. **Modèle de l'induction de la réplication de l'ADN par les proliférateurs de peroxysomes.** Le dimère PPAR $\alpha$ /RXR, activé par les proliférateurs de peroxysomes, induit l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des acides gras. Le PPAR $\alpha$  doit également stimuler l'expression de gènes impliqués dans le contrôle de la prolifération cellulaire mais ceux-ci ne sont pas encore identifiés. Certains pourraient être des gènes de cytokines. En effet, le TNF $\alpha$  sensibilise les hépatocytes aux effets proliférateurs des facteurs de croissance. L'activation des voies de transduction du TNF $\alpha$  et des facteurs de croissance, en particulier l'activation des facteurs de transcription NF- $\kappa$ B et STAT3, conduit à la réplication de l'ADN de la cellule et à la prolifération hépatocytaire.

l'expression de l'EGF-R dans le foie, suggérant que des proliférateurs de peroxysomes pourraient induire des tumeurs en modifiant la voie de transduction dépendante de l'EGF-R [32]. Cependant, l'activité mitotique du proliférateur de peroxysomes nafénopine est maintenue quand l'activité tyrosine kinase de l'EGF-R est inhibée dans les cultures primaires d'hépatocytes [30 bis]. La prolifération cellulaire induite par la nafénopine est donc indépendante de l'activation de l'EGF-R, mais il

n'est pas exclu que certains médiateurs de la voie de transduction dépendante de l'EGF-R soient directement activés par les proliférateurs de peroxysomes. Contrairement au TNF $\alpha$ , la nafénopine ne semble pas sensibiliser les hépatocytes aux effets proliférateurs des facteurs de croissance EGF et HGF. Cependant, le TNF $\alpha$  a également une activité mitotique propre *in vivo* et *in vitro*, qui pourrait être stimulée par les proliférateurs de peroxysomes (figure 3) [30 bis].

## Entrée en phase S du cycle cellulaire

La plupart des hépatocytes *in situ* et en culture primaire sont à un stade quiescent (G<sub>0</sub>) et ne prolifèrent pas [33]. Les facteurs de croissance induisent l'expression des régulateurs du cycle cellulaire associée à la progression de la phase G<sub>0</sub> en G<sub>1</sub> et en phase S du cycle cellulaire au cours de laquelle l'ADN de la cellule est répliqué. La régulation précise de l'expression des cyclines, des protéines kinases CDK (*cyclin-dependent kinases*) et des protéines inhibitrices des CDK (CKI, *cyclin dependent kinase inhibitors*) contrôle le cycle de division cellulaire [34, 35]. La progression des cellules de la phase G<sub>1</sub> du cycle cellulaire en phase S est contrôlée par l'activation successive des complexes CDK4/cycline D et CDK2/cycline E. L'activité kinase de ces complexes CDK/cyclines est réglée négativement par les CKI tels que p16<sup>INK4</sup>, p27<sup>KIP1</sup> et p21<sup>CIP1</sup> [34]. Comme il a été proposé que la stimulation de la réplication de l'ADN est la composante critique du mécanisme de carcinogenèse hépatique induite par les proliférateurs de peroxysomes [2], plusieurs études concernant l'expression des CDK, des cyclines et des CKI en réponse aux proliférateurs de peroxysomes ont été réalisées *in vivo*, dans les cultures primaires d'hépatocytes et dans des lignées cellulaires dérivées d'hépatomes [36-39]. Le profil d'expression des CDK et cyclines induit par les proliférateurs de peroxysomes est semblable à celui induit par les facteurs de croissance hépatiques.

## La polypléidisation des hépatocytes

Les hépatocytes ont la capacité de répliquer plusieurs fois leur génome sans se diviser. En effet, le développement du foie normal passe par un processus de polypléidisation et 75 % des noyaux hépatocytaires chez l'adulte sont polypléidés avec un contenu en ADN supérieur à 2N chromosomes [40]. Outre cette polypléidisation, les hépatocytes peuvent devenir binucléés et même tétranucléés. De nombreux composés chimiques induisent des changements

dans la ploïdie des hépatocytes et l'induction de carcinomes hépatiques est en général accompagnée de variations de la ploïdie des hépatocytes [41, 42]. En réponse aux mitogènes chimiques, ce sont les hépatocytes à 8N chromosomes qui, proportionnellement, entrent le plus en phase de réplication de l'ADN et les hépatocytes binucléés (2 x 4N) seraient les plus susceptibles de répliquer leur ADN en réponse aux proliférateurs de peroxysomes [42]. Cette observation pourrait permettre d'augmenter la précision avec laquelle les composés chimiques sont identifiés comme hépatocarcinogènes.

### Suppression de la mort cellulaire par apoptose

Outre la stimulation de la la réplication de l'ADN, les proliférateurs de peroxysomes ont la capacité d'inhiber la mort des hépatocytes par apoptose [43] (figure 2). La mort cellulaire par apoptose a plusieurs fonctions chez les eucaryotes multicellulaires, dont l'élimination des cellules endommagées et le maintien du nombre correct de cellules dans un organe [44]. Les proliférateurs de peroxysomes ont la capacité de supprimer la mort cellulaire par apoptose intervenant spontanément ou après induction par le TGF $\beta$ 1 (*transforming growth factor  $\beta$ 1*), un inhibiteur physiologique de la croissance hépatocytaire [45, 46]. Les cellules endommagées, normalement retirées d'un organe, restent alors en place et peuvent continuer de proliférer pour éventuellement provoquer des tumeurs [43]. Le mode de régulation de l'apoptose par le TNF $\alpha$  dans le foie est encore mal compris. En effet, certains groupes ont montré que le TNF $\alpha$  stimule l'apoptose [47] et d'autres qu'il la supprime [27]. De plus, les proliférateurs de peroxysomes n'induisent pas l'expression de TNF $\alpha$ , ni l'activation des facteurs de transcription NF- $\kappa$ B ou AP-1 dans les hépatocytes [48].

### Rôle du stress oxydant

Il a été proposé que les proliférateurs de peroxysomes induisent indirectement des mutations génétiques, et

donc des tumeurs, en élevant la concentration intracellulaire en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [8]. En effet, l'activité de l'acyl CoA oxydase, une enzyme majeure de la voie de la  $\beta$ -oxydation des acides gras, est fortement induite par les proliférateurs de peroxysomes, ce qui provoque l'accumulation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [6, 49]. Au contraire, l'activité de la catalase qui dégrade l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> n'est que faiblement induite par les proliférateurs de peroxysomes. Ce déséquilibre provoque l'accumulation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui, en modifiant les bases nucléiques, pourrait induire des tumeurs du foie [8, 50]. Cependant, la proportion de bases modifiées chez le rat, après traitement avec des médicaments hypolipémiants, reste très faible [6] et il est possible qu'elles soient corrigées par les mécanismes de réparation de l'ADN. Par ailleurs, dans un modèle de souris transgéniques surexprimant la catalase, le ciprofibrate n'induit plus la réplication de l'ADN, ni l'activation de NF- $\kappa$ B [51]. L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pourrait donc être impliqué par un mécanisme encore inconnu dans la transduction du signal qui induit la prolifération cellulaire [51]. L'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et l'acyl CoA oxydase pourraient avoir un rôle direct dans la régulation de la prolifération hépatocytaire. En effet, les souris adultes déficientes en acyl CoA oxydase présentent une forte induction de peroxysomes et de carcinomes hépatiques [52]. Cependant, l'invalidation du gène de l'acyl CoA oxydase induit paradoxalement une élévation de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par un mécanisme mal compris. Cela suggère qu'en l'absence de  $\beta$ -oxydation des acides gras, un métabolite, dont l'identité reste à définir, s'accumule et stimule le PPAR $\alpha$ , mimant ainsi les proliférateurs de peroxysomes. Dans ce cas, l'acyl CoA oxydase agirait comme un suppresseur de tumeur et le PPAR $\alpha$  comme un oncogène [52].

### Conclusions

Les carcinogènes non génotoxiques, dont les proliférateurs de peroxysomes, n'induisent pas de lésion de l'ADN mais leur administration prolongée chez des rongeurs induit des carcinomes hépatiques [1]. Il y a une forte corrélation entre la capacité d'un composé chimique non génotoxique de stimuler la synthèse de

l'ADN dans les hépatocytes et sa capacité d'induire des tumeurs hépatiques. Cela suggère que les mécanismes qui contrôlent la progression de la cellule en phase S sont potentiellement la cible des proliférateurs de peroxysomes [2, 3]. Les mécanismes moléculaires stimulant la prolifération cellulaire et activés par le récepteur nucléaire PPAR $\alpha$  en réponse aux proliférateurs de peroxysomes ne sont pas encore caractérisés. Plusieurs études indiquent que le TNF $\alpha$  est nécessaire pour que les proliférateurs de peroxysomes induisent la prolifération hépatocytaire [23]. Comme les hépatocytes octoploïdes et binucléés (2 x 4N) semblent être une cible privilégiée des carcinogènes non génotoxiques, cela suggère que les mécanismes contrôlant le bon déroulement du cycle cellulaire pourraient être la cible des proliférateurs de peroxysomes [3, 43]. Cependant, la stimulation des hépatocytes en phase S par les proliférateurs de peroxysomes n'est pas associée à une dérégulation de l'expression des cyclines et des CDK [38, 39]. L'étude des mécanismes contrôlant la prolifération hépatocytaire en réponse aux proliférateurs de peroxysomes devrait permettre de mieux évaluer le risque qu'ils représentent pour l'homme ■

### Remerciements

Nous remercions C. Thoraval, F. Pognan et S. Humeau pour leur lecture critique de ce manuscrit. Nous présentons nos excuses à nos collègues dont les travaux n'ont pu être cités en raison des normes éditoriales.

### RÉFÉRENCES

1. Ashby J, Tennant RW. Definitive relationships among chemical structure, carcinogenicity and mutagenicity for 301 chemicals tested by the US. NTP. *Mutat Res* 1991; 257: 229-306.
2. Cattley RC, DeLuca J, Elcombe C, *et al.* Do peroxisome proliferating compounds pose a hepatocarcinogenic hazard to humans? *Regul Toxicol Pharmacol* 1998; 27: 47-60.
3. Chevalier S, Roberts RA. Perturbation of rodent hepatocyte growth control by non-genotoxic hepatocarcinogens: mechanisms and lack of relevance for human health. *Oncol Rep* 1998; 5: 1319-27.

## RÉFÉRENCES

4. Pineda Tora I, Gervois P, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  in metabolic disease, inflammation, atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1999; 10: 151-9.
5. Latruffe N. Les peroxysomes et la prolifération cellulaire ou la prise en considération d'un organe méconnu. *Med Sci* 1992; 8: 239-48.
6. Gonzalez FJ, Peters JM, Cattley RC. Mechanism of action of the nongenotoxic peroxisome proliferators: role of the peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ . *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1702-9.
7. Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JC. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 1998; 98: 2088-93.
8. Reddy JK, Rao MS. Oxidative DNA damage caused by persistent peroxisome proliferation: its role in hepatocarcinogenesis. *Mutat Res* 1989; 214: 63-8.
9. Issemann I, Green S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature* 1990; 347: 645-50.
10. Lemberger T, Braissant O, Juge-Aubry C, et al. PPAR tissue distribution and interactions with other hormone-signalling pathways. *Ann N Y Acad Sci* 1996; 804: 231-51.
11. Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Willson TM, Kliewer SA. An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ). *J Biol Chem* 1995; 270: 12953-6.
12. Spiegelman BM, Flier JS. Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell* 1996; 87: 377-89.
13. Devchand PR, Keller H, Peters J, Vazquez M, Gonzalez F, Wahli W. The PPAR $\alpha$ -leukotriene B4 pathway to inflammation control. *Nature* 1996; 384: 39-43.
14. Lee SS, Pineau T, Drago J, et al. Targeted disruption of the alpha isoform of the peroxisome proliferator-activated receptor gene in mice results in abolishment of the pleiotropic effects of peroxisome proliferators. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 3012-22.
15. Peters JM, Cattley RC, Gonzalez FJ. Role of PPAR $\alpha$  in the mechanism of action of the nongenotoxic carcinogen and peroxisome proliferator, Wy-14,643. *Carcinogenesis* 1997; 18: 2029-33.
16. Aldridge TC, Tugwood JD, Green S. Identification and characterization of DNA elements implicated in the regulation of CYP4A1 transcription. *Biochem J* 1995; 306: 473-9.
17. Hertz R, Bishara-Shieban J, Bar-Tana J. Mode of action of peroxisome proliferators as hypolipidemic drugs. *J Biol Chem* 1995; 270: 13470-5.
18. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. Role of the peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J Lipid Res* 1996; 37: 905-25.
19. Woodyatt N, Lambe K, Myers K, Tugwood J, Roberts R. The peroxisome proliferator (PP) response element (PPRE) upstream of the human acyl CoA oxidase gene is inactive in a sample human population: significance for species differences in response to PPs. *Carcinogenesis* 1999; 20: 369-75.
20. Varanasi U, Chu R, Huang Q, Castellon R, Yeldandi A, Reddy J. Identification of a peroxisome proliferator-responsive element upstream of the human peroxisomal fatty acyl coenzyme A oxidase gene. *J Biol Chem* 1998; 273: 30842.
21. Vu-Dac N, Chopin-Delannoy S, Gervois P, et al. The nuclear receptors PPAR $\alpha$  and Rev-erb $\alpha$  mediate the species specific regulation of apolipoprotein A1 expression by fibrates. *J Biol Chem* 1998; 273: 25713-22.
22. Palmer CNA, Hsu M, Griffin KJ, Raucy JL, Johnson EF. Peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$  expression in human liver. *Mol Pharmacol* 1998; 53: 14-22.
23. Rose ML, Rusyn I, Bojes HK, Germolec DR, Luster M, Thurman RG. Role of Kupffer cells in peroxisome proliferator-induced hepatocyte proliferation. *Drug Metab Rev* 1999; 31: 87-116.
24. Decker K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells). *Eur J Biochem* 1990; 192: 245-61.
25. Rose ML, Germolec D, Schoonhoven R, Thurman RG. Kupffer cells are causally responsible for the mitogenic effect of peroxisome proliferators. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1453-56.
26. Bojes HK, Germolec DR, Simeonova P, et al. Antibodies to tumor necrosis factor  $\alpha$  prevent increases in cell replication in liver due to the potent peroxisome proliferator WY-14,643. *Carcinogenesis* 1997; 18: 669-74.
27. Rolfe M, James NH, Roberts RA. Tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) suppresses apoptosis and induces DNA synthesis in rodent hepatocytes: a mediator of the hepatocarcinogenicity of peroxisome proliferators? *Carcinogenesis* 1997; 18: 2277-80.
28. Hasmall SC, James NH, Macdonald N, Gonzalez FJ, Peters JM, Roberts RA. Suppression of mouse hepatocyte apoptosis by peroxisome proliferators: role of PPAR $\alpha$  and TNF $\alpha$ . *Mutat Res* 1999 (sous presse).
29. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science* 1997; 276: 60-6.
30. Webber EM, Bruix J, Pierce RH, Fausto N. Tumor necrosis factor primes hepatocytes for DNA replication in the rat. *Hepatology* 1998; 28: 1226-34.
- 30 bis. Chevalier S, Macdonald N, Roberts RA. Induction of DNA replication by peroxisome proliferators is independent of both tumour necrosis factor  $\alpha$  priming activity and EGF-receptor tyrosine kinase activity. *J Cell Sci* 1999; 112: 4785-91.
31. Yarden Y, Ullrich A. Growth factor receptor tyrosine kinases. *Ann Rev Biochem* 1998; 57: 443-78.
32. Garcia-Allan C, Loughlin J, Orton T, Lord P. Changes in protein and mRNA levels of growth factor/growth factor receptors in rat livers after administration of phenobarbitone or methylclofenapate. *Arch Toxicol* 1997; 71: 409-15.
33. Loyer P, Ilyin G, Cariou S, Glaise D, Corlu A, Guguén-Guillouzo C. Progression through G1 and S phases of adult rat hepatocytes. *Prog Cell Cycle Res* 1996; 2: 37-47.
34. Sherr CJ, Roberts JM. Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. *Genes Dev* 1995; 9: 1149-63.
35. Chevalier S, Chevalier N. Comment mettre en route un cycle de réplication de l'ADN chez les eucaryotes? *Med Sci* 1996; 11: I-X.
36. Rininger JA, Goldsworthy TL, Babish JG. Time-course comparison of cell cycle protein expression following partial hepatectomy and Wy-14,643-induced hepatic proliferation in F344 rats. *Carcinogenesis* 1997; 18: 935-41.
37. Gill JH, Brickell P, Dive C, Roberts RA. The rodent non-genotoxic hepatocarcinogen nafenopin suppresses apoptosis preferentially in non-cycling hepatocytes but also elevates CDK4, a cell cycle progression factor. *Carcinogenesis* 1998; 19: 1743-7.
38. Peters JM, Aoyama T, Cattley RC, Nobumitsu U, Hashimoto T, Gonzalez FJ. Role of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  in altered cell cycle regulation in mouse liver. *Carcinogenesis* 1998; 19: 1989-94.
39. Chevalier S, Roberts RA. G1-arrested FaO cells re-enter the cell cycle upon stimulation with the rodent nongenotoxic hepatocarcinogen nafenopin. *Carcinogenesis* 1999; 20: 1209-13.
40. Brodsky WY, Uryvaeva IV. Cell ploidy: its relation to tissue growth and function. *Int Rev Cytol* 1977; 50: 275-332.
41. Styles JA, Kelly M, Pritchard NR, Elcombe CR. A species comparison of acute hyperplasia induced by the peroxisome proliferator methylclofenapate: involvement of the binucleated hepatocyte. *Carcinogenesis* 1988; 9: 1647-55.
42. Hasmall SC, Roberts RA. Hepatocyte ploidy, nuclearity and distribution of DNA synthesis: a comparison of nongenotoxic hepatocarcinogens with noncarcinogenic liver mitogens. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 144: 287-93.
43. Hasmall S, Roberts RA. The perturbation of apoptosis and mitosis by drugs and xenobiotics. *Pharmacol Ther* 1999 (sous presse).
44. Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 1998; 281: 1305-8.
45. James NH, Roberts RA. Species differences in response to peroxisome proliferators correlate *in vitro* with induction of DNA synthesis rather than with suppression of apoptosis. *Carcinogenesis* 1996; 17: 1623-32.
46. Christensen J, Gonzalez A, Cattley R, Goldsworthy T. Regulation of apoptosis in mouse hepatocytes and alteration of apoptosis by nongenotoxic carcinogens. *Cell Growth Diff* 1998; 9: 815-25.

### \* GLOSSAIRE \*

- AP-1**: activating protein - 1.  
**CDK**: cyclin-dependent kinase.  
**CKI**: cyclin dependent kinase inhibitor.  
**EGF**: epidermal growth factor.  
**EGF-R**: epidermal growth factor receptor.  
**HGF**: hepatocyte growth factor.  
**IL**: interleukine.  
**NF- $\kappa$ B**: nuclear factor  $\kappa$ B.  
**PPAR $\alpha$** : peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$ .  
**PPRE**: peroxisome proliferator response.  
**RXR**: retinoid X receptor.  
**STAT3**: signal transducers and activators of transcription - 3.  
**TGF $\alpha$** : transforming growth factor  $\alpha$ .  
**TGF $\beta$ 1**: transforming growth factor  $\beta$ 1.  
**TNF $\alpha$** : tumour necrosis factor  $\alpha$ .  
**TNF-R**: tumour necrosis factor  $\alpha$  receptor.

## RÉFÉRENCES

47. Bour E, Ward LK, Cornman GA, Isom H. Tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced apoptosis in hepatocytes in long term culture. *Am J Pathol* 1996; 148: 485-95.
48. Menegazzi M, Carcereri-De Prati A, Shinozuka H, *et al.* Liver cell proliferation induced by nafenopin and cyproterone acetate is not associated with increases in activation of transcription factors NF- $\kappa$ B and AP-1 or with expression of tumor necrosis factor  $\alpha$ . *Hepatology* 1997; 25: 585-92.
49. Rao MS, Reddy JK. Peroxisome proliferation and hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* 1987; 8: 631-6.
50. Chu R, Lin Y, Rao MS, Reddy JK. Cooperative formation of higher order peroxisome proliferator-activated receptor and

retinoid X receptor complexes on the peroxisome proliferator responsive element of the rat hydratase-dehydrogenase gene. *J Biol Chem* 1995; 270: 29636-9.

51. Nilakantan V, Spear BT, Glauert HP. Liver-specific catalase expression in transgenic mice inhibits NF- $\kappa$ B activation and DNA synthesis induced by the peroxisome proliferator ciprofibrate. *Carcinogenesis* 1998; 19: 631-7.

52. Fan CY, Pan J, Usuda N, Yeldandi AV, Rao MS, Reddy JK. Steatohepatitis, spontaneous peroxisome proliferation and liver tumors in mice lacking peroxisomal fatty Acyl CoA oxidase. *J Biol Chem* 1998; 273: 15639-45.

## TIRÉS À PART

S. Chevalier.

## Summary

### Induction of liver growth by peroxisome proliferators

The majority of hepatocytes are normally quiescent in the adult liver, but can undergo rapid proliferation in response to nongenotoxic carcinogens. Nongenotoxic rodent hepatocarcinogens constitute a diverse group of chemicals of therapeutic, industrial and environmental significance. The peroxisome proliferator class of nongenotoxic carcinogens causes peroxisome proliferation and liver tumours in rats and mice, accompanied by liver enlargement and elevated transcription of cytochrome P4504A and acyl-CoA oxidase, a key enzyme in  $\beta$ -oxidation of fatty acids. This diverse family of chemicals includes fibrate hypolipidaemic drugs, plasticizers solvents and agrochemicals. Peroxisome proliferators cause tumorigenesis in rodent liver by perturbing growth regulation, leading to the induction of DNA replication and hepatocyte proliferation. However, humans appear to be refractory to such adverse effects of peroxisome proliferators. The effects of peroxisome proliferators are mediated by the nuclear receptor PPAR $\alpha$  (peroxisome proliferator activated receptor  $\alpha$ ) and the PPAR $\alpha$  null mouse is refractory to the effects of peroxisome proliferators. PPAR $\alpha$  heterodimerises with the retinoid X receptor (RXR) and binds to DNA at peroxisome proliferator response elements (PPREs) in the promoter regions of peroxisome proliferator-responsive genes such as rat acyl-CoA oxidase. The human acyl-CoA oxidase PPRE is inactive, possibly explaining the lack of peroxisome proliferation and acyl-CoA oxidase induction in humans. There is compelling evidence that tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), which acts as a primer to sensitize hepatocytes to the proliferative effects of growth factors, is necessary for peroxisome proliferators to induce hepatocytes to enter S phase in rodents. Moreover, the peroxisome proliferator-induced S phase response in hepatocytes is not associated with gross dysregulation of cell cycle regulators such as the cyclin-dependent kinases or cyclin. Since humans are exposed to peroxisome proliferators therapeutically and in the environment, there is a need to elucidate the mechanisms through which nongenotoxic carcinogens cause cell proliferation and tumours in rodents, and how humans may differ, in order to determine whether any health risk exists.