



# Les cellules de l'immunité

## Les Monocytes / Macrophage

### 1. Introduction :

En 1882 le microbiologiste russe Elie Metchnikoff remarque la présence des cellules mononuclées mobile dans les larves des étoiles de mer, qui ont la capacité d'ingérer des micro-organismes et des corps étrangers : ces cellules étaient des macrophages

Les macrophages sont des cellules mononuclées largement distribuées dans notre corps. Ils dérivent des monocytes sanguins et constituent une population extrêmement hétérogène. Ils sont doués d'une capacité remarquable de phagocytose. Ils jouent un rôle dans l'homéostasie et dans la réponse immunitaire.

### 2. Aspects morphologiques :

#### ♥ 2.1. Monocytes (MO) :

Ils sont exclusivement sanguins

Ils sont des précurseurs des macrophages

Leur taux : 500 à 1000 par mm<sup>3</sup> de sang (~ 5 à 10% des leucocytes) Ils sont de 10- 15 mm de diamètre

Leur noyau est réniforme et homogène

Ils circulent dans le sang, puis migrent dans les tissus pour se différencier en macrophage

Leur durée de vie dans la circulation sanguine est d'environ 24 heures.

#### ♥ 2.2. Macrophages :

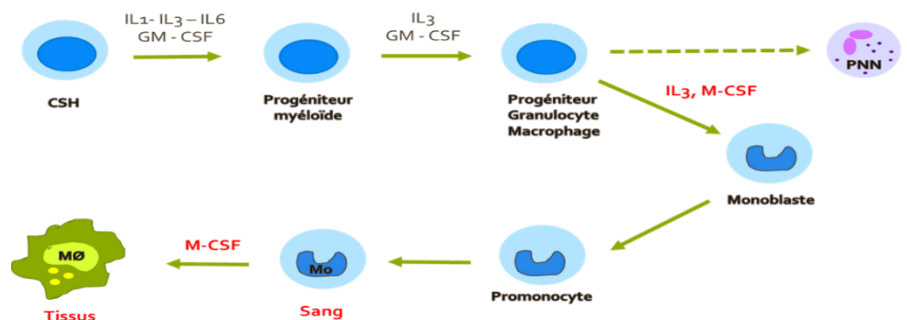
Leur morphologie est variée en fonction de leur tissu de résidence Ils sont de 20 – 25 µm de diamètre (parfois jusqu'à 70 µm)

Ils présentent un plus grand nombre d'organites par rapport aux monocytes

### 3. Ontogénie :

Les monocytes dérivent de la cellule souche hématopoïétique, qui sous l'effet d'IL1, IL3, IL6, GM – CSF donne un progéniteur commun Granulocyte-Macrophage.

Les MO migrent vers les différents tissus pour se différencier en macrophages sous l'effet de M-CSF.



Sous l'effet de M-CSF, ce progéniteur commun se différencie en monoblaste puis en promonocyte.

Les promonocytes quittent la moelle osseuse 2j et 2/1 après leur formation, pénètrent dans la circulation sanguine, où ils se différencient en monocytes matures.

#### 4. Distribution tissulaire et sous populations des macrophages :

Dans les tissus, les MO se différencient en macrophage spécifique de tissu sous l'effet de M-CSF (CSF-1) et le microenvironnement local spécifique de chaque tissu.

Ce microenvironnement spécifique de tissu est encore indéterminé chez l'homme.

Les macrophages tissulaires présentent un degré élevé d'hétérogénéité, reflétant leurs divers rôles fonctionnels à des emplacements anatomiques spécifiques.

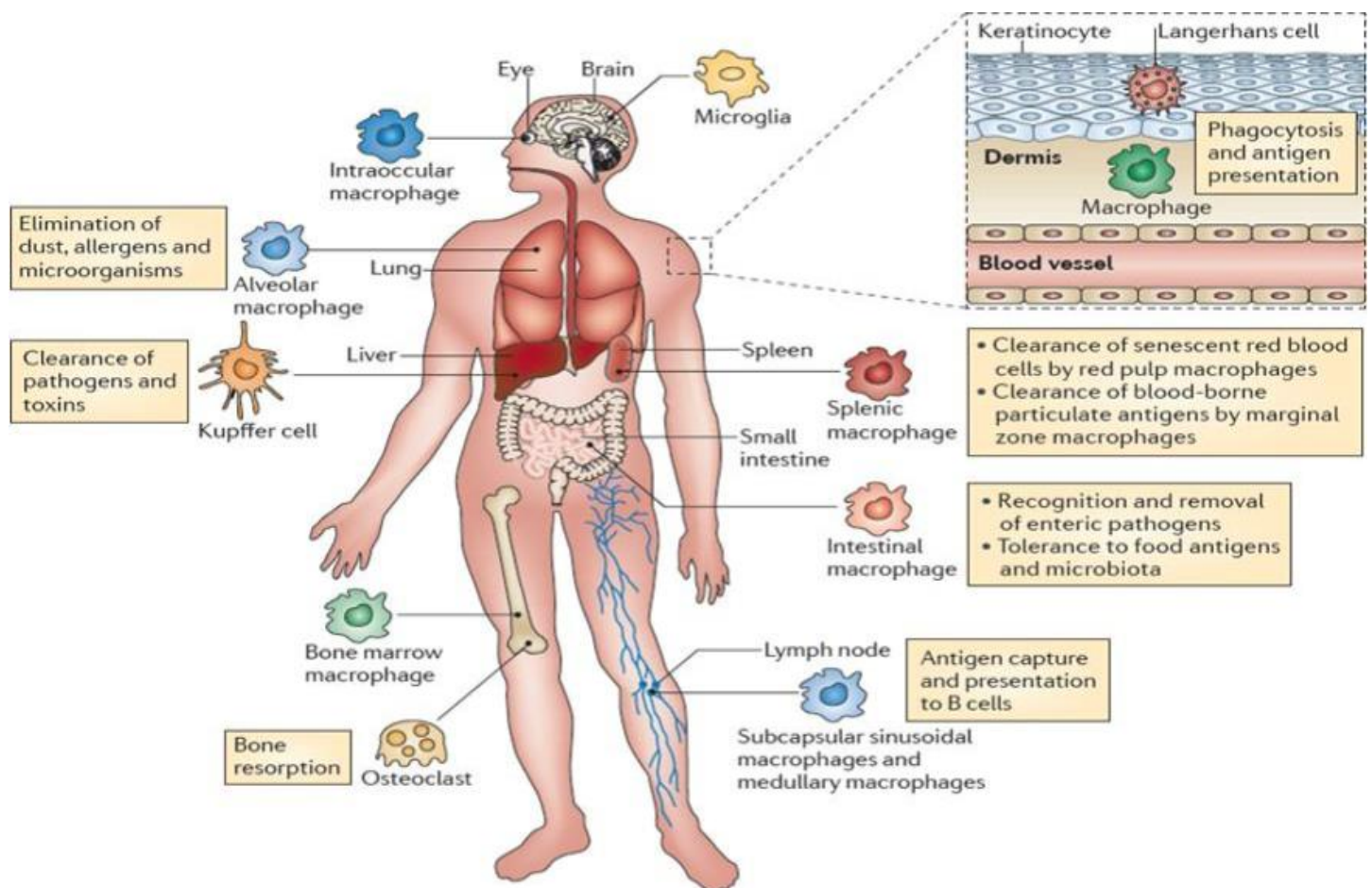
Les macrophages diffèrent par leur durée de vie (de quelques jours à des mois), leur morphologie et phénotype.

On sait peu sur les déterminants de la longévité et du renouvellement des macrophages.

Les facteurs de croissance tels que le M-CSF favorise la survie des C et empêchent l'induction du programme apoptotique.

Organe	Nom/Site	Fonction
<b>Moelle osseuse</b>	macrophage du stroma	Interagit avec les C. hématopoïétiques, éliminent les noyaux érythroïdes
<b>Foie</b>	C. de Kupffer	Élimination des cellules et de complexes de la circulation sanguine
<b>Rate</b>	macrophage de pulpe rouge	Élimination des C. sanguines sénescents
	macrophage de pulpe	Phagocytose des C. apoptotiques

	blanche	
	macrophage de la zone marginale	Interface entre circulation et système immunitaire
<b>Ganglions lymphatiques</b>	macrophage du sinus marginal	Interface avec la lymphe afférente Interface avec la lymphe efférente
	macrophage médullaire	
<b>Thymus</b>	macrophage thymique	Élimination des C. apoptotiques
<b>Intestin</b>	macrophage de la lamina propria	Endocytose
<b>Poumon</b>	macrophage alvéolaire	Élimination des particules
<b>Peau</b>	C. de Langerhans	Capture d'Ag
<b>Os</b>	Ostéoclastes	Remodelage osseux



## 5. Phénotype membranaire :

Même si les macrophages présentent une hétérogénéité extrême, il y a quelques marqueurs qui sont partagés parmi presque toutes les populations de macrophages étudiés à ce jour :

<b>PRRs</b>	TLRs (le macrophage a tous les TLRs) Scavenger Receptors A/B CLRs
<b>Récepteurs FC des Immunoglobulines</b>	CD16 CD 32 CD64 CD89
<b>Récepteurs du complément</b>	CR1 (CD35)

	CR3 (CD11b/CD18) CR4 (CD11c/CD18) MCP (CD46), DAF (CD55), Protectine (CD59)
<b>Récepteurs des cytokines</b>	M-CSF R, GM-CSF R, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL 4-R, IL 13-R, IL 10-R
<b>Récepteurs du chimiotactisme</b>	C5a-R LTB4-R PAF-R FMLP-R CXCR1/CXCR2/CXCR3/CX3CR1
<b>Molécules d'adhésion</b>	LFA-1, ICAM-1
<b>Molécules de présentations antigéniques</b>	CMH classe I et II
<b>Récepteurs régulateurs</b>	CD 200, SIRP $\alpha$ (signal regulatory protein-alpha).
<b>Autres</b>	CD 14

## ♥ Médiateurs libérés et leurs fonctions :

Catégorie	Exemple	Fonction
Métabolites de faible PM	Intermédiaires réactionnels d'O <sub>2</sub> (ROIs)	Destruction, inflammation
	Intermédiaires réactionnels d'azote(RNIs)	Destruction, inflammation
Cytokines	IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL-6	Inflammation locale et systémique
	IFN $\alpha$ /IFN $\beta$	Activité antivirale, immunité naturelle
	IL-10	Désactivation des macrophages, activation des Ly B
	IL-12, IL-18	Production d'IFN $\gamma$ par NK et LyT
	TGF $\beta$	Réparation, modulation, inflammation
	CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CXCL8	Chimiokines

Facteurs de coagulation	Facteur tissulaire Facteurs IX, X, V, prothrombine	Cascade de la coagulation
Complément	C3, autres composants	Opsonisation locale
Enzymes	Lysozyme	Lyse des bactéries Gram-positive fibrinolyse
	Urokinase (activateur du plasminogène)	Catabolisme de la matrice
	Collagénase Elastase	Catabolisme de la matrice
Molécules d'adhésion	Fibronectine Thrombospondine	Opsonisation, adhésion à la matrice, phagocytose des c. apoptotiques

## 6. Rôle dans l'homéostasie et la réponse immunitaire :

### ♥ 6.1. Rôle dans la clairance des corps apoptotiques :

Apparition des résidus phosphatidylsérine (PS) sur la partie externe de la membrane cytoplasmique est spécifique des cellules apoptotiques.

Reconnaissance de PS par PS-R exprimé par les macrophages stimule : la phagocytose, la production de TGF  $\beta$  (inhibition production des chimiokines et des cytokines pro- inflammatoires,

D'autres récepteurs sont impliqués dans la phagocytose des  $\phi$  apoptotiques tel que SR- A1 et CD36 (SR-B).

Une clairance altérée des  $\phi$  apoptotiques peut contribuer à de Maladies auto-immunes tels que le lupus érythémateux disséminé.

### ♥ 6.2. Rôle dans la réaction inflammatoire :

1. **Initiation de la réponse inflammatoire** : LA reconnaissance de PAMPS par PRR conduit à :

- La production de cytokine pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, TNF alpha) et des chimiokines
- Synthèse des prostaglandines et leucotriènes.

## 2. Recrutement des PNN au site d'inflammation :

- Par les CXCL5, CXCL8
- Par les métalloprotéases matricielles (MMP) : MMP2 et MMP9: dégradent la matrice extracellulaire ce qui facilite leur recrutement

## 6.3. Phagocytose et microbicidie (Voir PNN) : Les différences avec PNN :

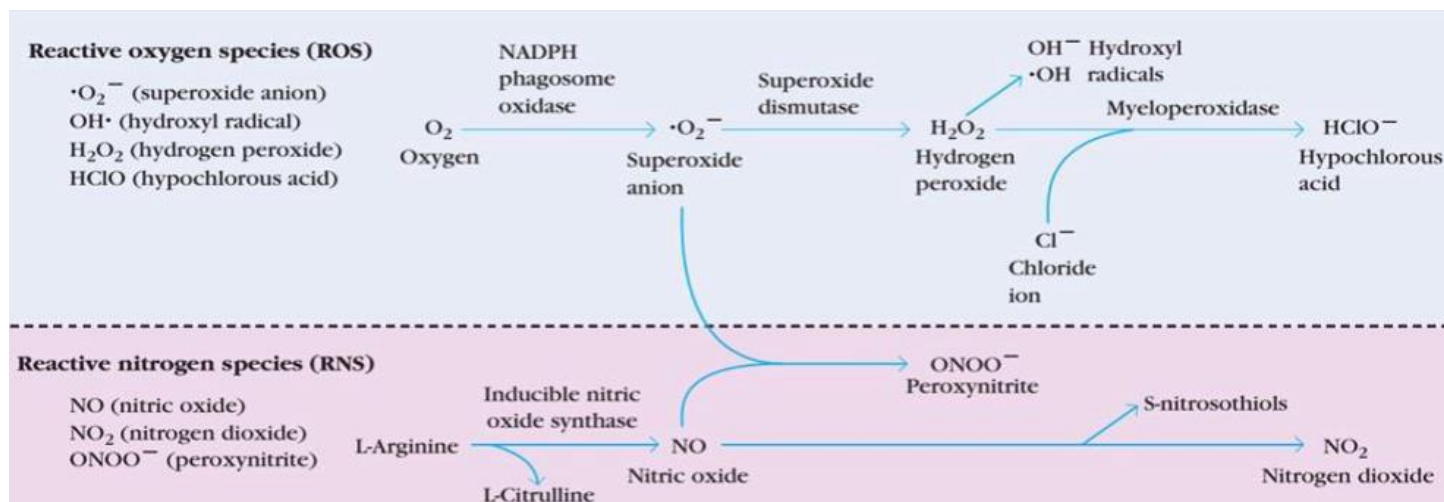
La fusion du phagosome se fait avec les endosomes précoces, puis avec les endosomes tardifs et enfin avec les lysosomes.

Les différents stades sont caractérisés par la présence de différentes hydrolases acides.

Dans le phagosome, il y a également diminution graduelle du pH due à l'action enzymatique et à l'action des pompes à protons ATPase.

Endosomes précoces (PM=6-6,5) Endosomes tardifs (PH= 5-5,5) Lysosomes (PH=4,5)

En plus des ROS, les macrophages peuvent générer les RNS :



## 6.4. Résolution de la réaction inflammatoire :

Phagocytose des PNN apoptotiques

Synthèse des lipoxines, résolvines et protectines (Lipidmediator class switch).

## 6.5. Rôle dans l'immunité adaptative :

### Les macrophages favorisent la différenciation vers la voie TH1 :

Dans les infections à germes à multiplications intracellulaires

Par la sécrétion de l'IL-12 suite à l'action de l'IFN $\gamma$  sécrété par les cellules de l'immunité innée

### Les macrophages favorisent la différenciation vers la voie TH2 :

Lors des infections parasitaires par les helminthes

Par la sécrétion de cytokines de la voie TH2 notamment l'IL-4. De plus, cette cytokine bloque la différenciation vers la voie TH1 tout en favorisant la voie TH2.



Expression des molécules de CMH II	inductible dans MØ	Constitutive dans CD
Initiation de réponse immunitaire par présentation aux LT	LT déjà activés (RI secondaire)	LT naïfs (RI primaire)
Capacité de dégradation	Forte capacité de dégradation; majorité de la substance protéique est dans le phagosome où elle est dégradé en AA	Faible capacité de dégradation (peu de lysosome), Majorité de la substance protéique est dans le MIIC
La cross présentation	oui	oui
Présentation des peptides issus des corps apoptotique	Non; la substance protéique est dans le phagosome où elle est dégradé en AA	possible

## 6

## Les polynucléaires neutrophiles

### 1. Introduction :

Le polynucléaire neutrophile a été décrit pour la première fois par Paul Ehrlich en 1900, il représente 50% à 70% des globules blancs totaux dans le sang : Il est le leucocyte le plus abondant dans la circulation sanguine.

Il est le premier leucocyte à migrer, en très grand nombre, vers le foyer inflammatoire et possède des outils très efficaces pour éliminer les invasions bactériennes de l'organisme.

Toutefois son activation exacerbée en cas d'absence ou inefficacité des mécanismes de régulation est néfaste pour l'organisme donnant lieu à l'émergence de beaucoup de maladies inflammatoires aiguës ou chroniques.

### 2. Caractéristiques morphologiques :



Aspect morphologique du neutrophile sous le microscope. (Wikimedia GFDL) Le polynucléaire est une cellule de taille moyenne (10 à 14 µ)

Il contient un noyau composé de 2 à 5 lobes, à la chromatine dense avec un cytoplasme abondant contenant de fines granulations.

Sa Demi-vie est de 6–8 h

### 3. La granulopoïèse :

#### ♥ 3.1. Phase dite mitotique :

Les PNN proviennent d'une cellule souche multipotente qui donnera naissance, sous l'influence de différentes cytokines IL1- IL3 – IL6 GM - CSF à partir d'une cellule souche myéloïde : un pro géniteur mixte des granulocytes et des monocytes-macrophages, qui se transforme en myéloblaste, puis en promyélocyte et myélocyte. Cette phase dure environ une semaine.

#### ♥ 3.2. Phase post-mitotique :

Au cours de laquelle le métamyélocyte se transforme en polynucléaire immature, puis en polynucléaire mature caractérisé par son noyau polylobé.

Au cours de cette maturation apparaissent successivement les granulations azurophiles (primaires) dans les promyélocytes, les granulations spécifiques (secondaires) dans les myélocytes ; les granulations type gélatinase apparaissent au stade de polynucléaires immatures ; enfin, les vésicules sécrétoires s'apparaissent plus tardivement vers la fin de la maturation.

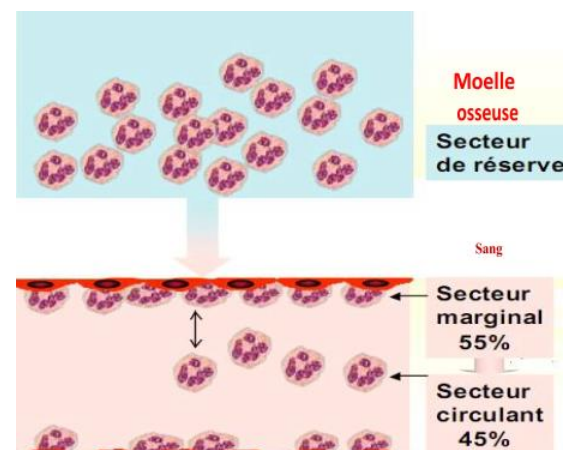
Les PNN matures restent de 0 à 5 jours dans la moelle où ils forment la réserve médullaire.

### 4. Répartition :

Les PNN se répartissent :

Le secteur circulant : le seul mesuré directement lors de la prise de sang pour numération sanguine.

Le secteur marginal : les polynucléaires sont plaqués contre les parois des vaisseaux surtout dans la rate, le foie et les poumons. Elles sont fonctionnelles et immédiatement mobilisables. Ce secteur n'est pas mesurable alors qu'il représente une quantité égale au secteur circulant.



### 5. Caractéristiques phénotypiques :

Antigènes pan leucocytaire	CD43/CD44/CD45/CD58
Antigènes pan myéloïde	CD13/CD65
Récepteurs de reconnaissance	TLR1/TLR2/TLR4/TLR6++ TLR5/TLR7/TLR9/TLR10+
Récepteurs de la phagocytose	Récepteur FC des Immunoglobulines CD16/CD32/CD89 RMMF (R - mannanesmannosyl-fucosyl) CD14 (R - LPS)
Récepteurs du complément	CR1 (CD35), CR3 (CD11b/CD18), CR4 (CD11c/CD18) MCP (CD46), DAF (CD55), Protectine (CD59)
Récepteurs du chimiotactisme	C5a-R LTB4-R PAF-R FMLP-R CXCR1/CXCR2

## 6. Devenir du PNN :

En absence de stimulus inflammatoire : Apoptose en 6 à 8 h

En présence de Stimulus inflammatoire : Les PNN sont les premières cellules qui arrivent au niveau d'un foyer inflammatoire. Leur recrutement se fait par des facteurs chimio attractants.

## 7. Le chimiotactisme :

### ♥ 7.1. Foyer inflammatoire bactérien (non stérile) :

La migration dirigée des neutrophiles vers le site infectieux est donc un processus intégré de plusieurs étapes hautement complexes. Elle est initiée par des molécules appelées : chimio attractants.

Ces molécules sont libérées par les microorganismes invasifs (Formyl methionyl leucyl phenylalanine fMLP) ou générées de manière endogène par l'hôte (C5a LTB<sub>4</sub>, PAF et des Chimioamines: dont celles qui sont spécifiques des PNN sont l'IL-8, GRO, NAP-2)

Elles diffusent en formant un gradient continu de concentration décroissante à partir du site inflammatoire. Le mouvement dirigé des PNN vers le site infectieux est initié par la fixation de ces molécules chimiotactiques sur des récepteurs membranaires spécifiques, appelés récepteurs de chimio attractants.

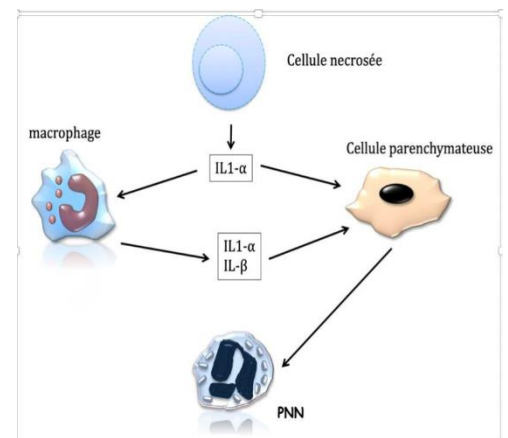
L'activation de ces récepteurs déclenche des cascades de signalisation intracellulaires via les récepteurs couplés à protéines G (Récepteurs à 7 passages transmembranaires couplés à un trimère  $\alpha\beta\gamma$ )

### ♥ 7.2. Foyer inflammatoire stérile

La réponse inflammatoire durant une infection est similaire d'une réponse induite par des stimuli stériles, mais les molécules impliquées ne sont pas toutes identiques.

La chimiokine clef pour le recrutement des PNN au niveau d'un foyer inflammatoire stérile est la CXCL1.

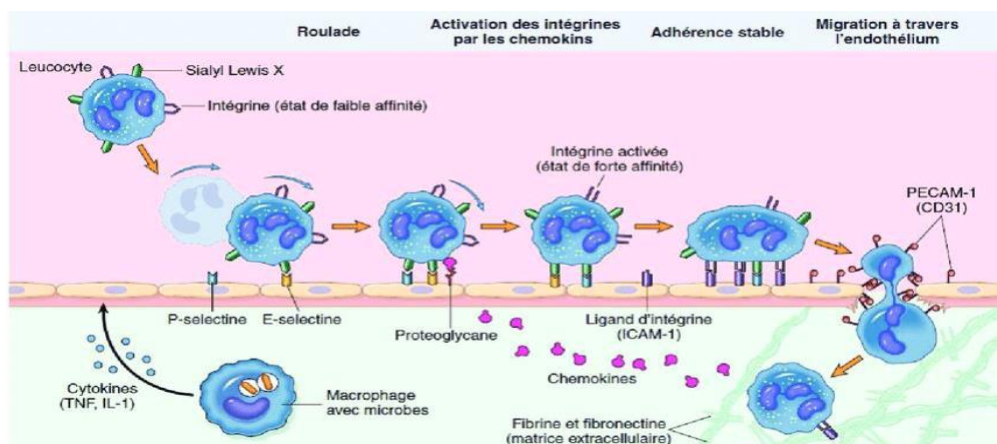
Cette chimiokine est libérée par les cellules parenchymateuses en réponse à l'IL1 libérée par les cellules nécrosées.



## 8. Mécanisme de la migration du PNN

Les PNN, par l'intermédiaire de molécules PSGL (p selectine glycoprotéine ligand), vont adhérer de façon transitoire aux cellules endothéliales (activées par IL1 et TNF sécrétés suite à une infection bactérienne) exprimant à leur surface les E et P sélectine, ceci permettra au PNN de rouler à la surface de L'endothélium. Ce roulement permettra l'activation des intégrines du PNN : CD11 b/CD18 =LFA1, afin d'assurer une liaison plus ferme avec l'endothélium nécessaire à la migration transendothéliale.

Les PNN subissent une dégranulation libérant des gélatinases et métalloprotéases au niveau de l'espace transendothélial qui vont dissocier les jonctions de ce dernier et permettre aux PNN d'arriver au site où ils exerceront leurs fonctions effectrices.





## 9. Les fonctions effectrices du PNN :

### ♥ 9.1. La fonction phagocytaire du PNN

#### 9.1.1. Reconnaissance et Capture : Reconnaissance dépendante des opsonines :

La plupart des microorganismes ne peuvent être reconnus et phagocytés par les PNN qu'après avoir été opsonisés : c'est-à-dire recouverts de facteurs du complément et d'anticorps pouvant être reconnus par les récepteurs des neutrophiles. La paroi bactérienne peut être chargée en facteur activé C3b du complément qui est reconnu par les récepteurs CR1 et CR3 du neutrophile. Des immunoglobulines (Ig) G1 et G3 se fixent à des antigènes spécifiques à la surface des bactéries et servent de ligands aux neutrophiles qui présentent des récepteurs aux fragments Fc de ces IgG.

Reconnaissance indépendante des opsonines

D'autres récepteurs, reconnaissent directement les pathogènes tels que les TLR exprimés à la surface des PNN.

Après reconnaissance, les pathogènes sont capturés par les PNN grâce à l'émission de pseudopodes qui entourent les microorganismes et vont permettre leur englobement par fusion membranaire

dans une vacuole appelée le phagosome : C'est dans ce compartiment isolé du reste de la cellule que le pathogène va être tué et digéré par de divers mécanismes de bactéricides.

#### 9.1.2. Mécanismes bactéricides :

##### Bactéricidie oxygène-dépendante : Explosion oxydative

Un des mécanismes utilisés chez les PNN pour éliminer les pathogènes consiste à produire des formes réactives de l'oxygène à partir des anions superoxydes ( $O_2^-$ ).

Ces anions sont formés par le complexe multimérique de la NADPH oxydase, situé à la membrane cytoplasmique, et sont libérés à la face externe de cette membrane. Ainsi, les ions peuvent agir à l'extérieur du neutrophile et à l'intérieur du phagosome, la face externe de la membrane plasmique devenant la face interne du phagosome lors de l'invagination phagocytaire.

L'anion superoxyde est un précurseur de plusieurs autres formes de l'oxygène fortement réactives et plus toxiques pour le pathogène :

Le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), le radical hydroxyle (OH) et l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ).

Le peroxyde d'hydrogène peut être transformé en acide hypochloreux (HOCl), un composé bactéricide (très ressemblant à l'eau de Javel) par la myéloperoxydase libérée dans le phagosome.

Ces produits engendrent des dommages tissulaires dus à la peroxydation lipidique, l'altération de protéines et d'acides nucléiques.

##### Bactéricidie oxygène-indépendante :

Dégranulation : Les PNN matures ne synthétisent que peu de protéines de novo. Ils possèdent des stocks de protéines qu'ils peuvent mobiliser très rapidement suivant les besoins. Ces protéines sont compartimentées dans des organelles de stockage intracellulaires appelées granules qui peuvent fusionner avec le phagosome contenant le pathogène. Ce processus, la dégranulation, permet le déversement dans les vacuoles de phagocytose de nombreuses enzymes lysosomales, donnant ainsi naissance au phagolysosome.

D'autre part, la fusion des granules peut avoir lieu avec la membrane plasmique, ce qui permet de compenser la surface membranaire perdue lors de la phagocytose mais aussi d'augmenter rapidement la quantité des protéines membranaires, notamment les récepteurs de surface ("up- régulation").

Dans les granules primaires (ou granules denses azurophiles) sont contenus des peptides et des protéines visant principalement à la destruction des bactéries, comme la myéloperoxydase, le lysozyme (hydrolyse des parois bactériennes), la cathepsine G et l'élastase.

Dans les granules secondaires (ou granules spécifiques), on note, entre autres, la présence de lysozyme, lactoferrine, gélatinase et de protéines membranaires comme le flavocytochrome b558 de la NADPH oxydase.

Les granules tertiaires (ou granules gélatinase) contiennent de la gélatinase mais pas de lactoferrine.

Les vésicules sécrétrices sont les vésicules les plus rapidement mobilisables et contiennent, entre autres, la phosphatase alcaline et le flavocytochrome b558 de la NADPH oxydase, Elles présentent également dans leur membrane une réserve de récepteurs, notamment de récepteurs de chimioattractants, qui peut être mobilisée rapidement ; Ces granules fusionnent avec la membrane plasmique des PNN activés pour augmenter le nombre de récepteurs en surface et amplifier la réponse aux chimioattractants.

Au cours de la granulopoïèse on observe l'apparition successive de différentes granulations : les granulations azurophiles , les granulations spécifiques, les granulations gélatinases et enfin les granulations sécrétoires.

NB : les granules apparus tardivement sont les premiers à subir la dégranulation.

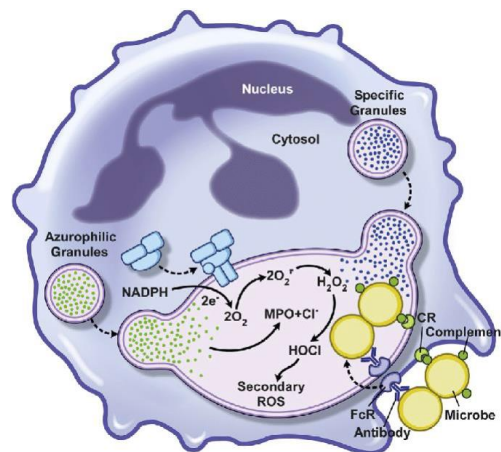


Figure 5. Étapes de la phagocytose. Pathogenesis of Staphylococcus aureus Abscesses. The American journal of pathology. 2014)

### 9.1.3. La fonction sécrétrice du PNN : Médiateurs lipidiques :

Les médiateurs lipidiques sont des composés formés à partir des phospholipides membranaires. Ceux issus du métabolisme de l'acide arachidonique, Les principaux métabolites générés par le neutrophile sont le leucotriène (LT) B<sub>4</sub>, la prostaglandine (PG) E<sub>2</sub> et le thromboxane (TX) A<sub>2</sub>.

#### Rôle des leucotriènes

- Augmentation de la perméabilité vasculaire
- Augmentation de l'adhésion aux cellules endothéliales
- Action paracrine sur les PNN : activation et chimioattraction

#### Rôle de la TXA<sub>2</sub> :

Activation de l'agrégation plaquettaire

Induction de la production du TNF $\alpha$  et IL1 B chez monocytes

Médiateurs protéiques :

Les PNN sont la source de nombreux médiateurs de l'inflammation : des cytokines [IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , des chimiokines [CXCL8, CCL3 et 4 (MIP-1 $\alpha$  et  $\beta$ )], des facteurs de croissance [G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor), GM-CSF (granulocyte/macrophage colony-stimulating factor)] Ces médiateurs peuvent agir de manière paracrine ou autocrine.

Les PNN peuvent ainsi orchestrer la suite de la réponse immunitaire en influençant les cellules environnantes et en attirant d'autres leucocytes vers ce site. Cette production de médiateurs inflammatoires est en grande partie influencée par des agents stimulants, les cytokines et les endotoxines bactériennes (LPS) comptent parmi les inducteurs les plus efficaces.

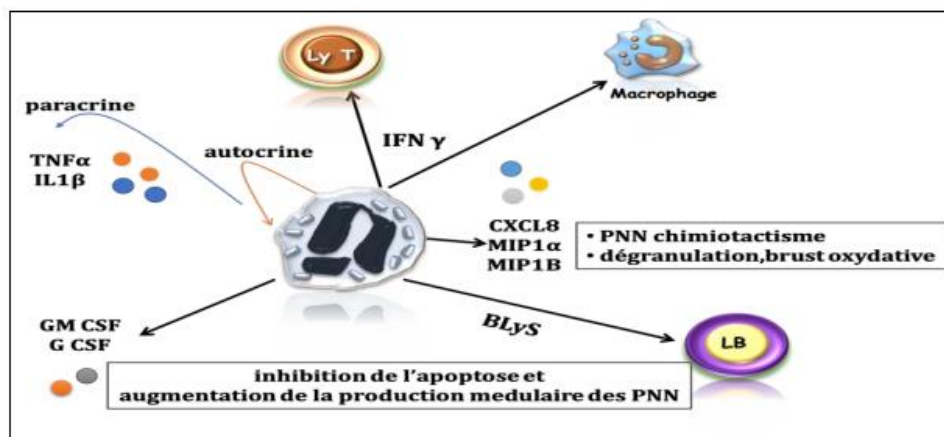
Le TNF $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  sont deux des principales cytokines pro-inflammatoires sécrétées par le PNN. Par leur action autocrine, elles amplifient plusieurs fonctions du neutrophile comme l'adhérence aux cellules endothéliales ou la production de ROS. Elles agissent aussi sur de nombreux types cellulaires et permettent, entre autres, le recrutement et l'activation des macrophages et des cellules dendritiques

La chimiokine CXCL8 est la chimiokine que le neutrophile sécrète en plus grande quantité.

Elle cible presque exclusivement le neutrophile et déclenche sa migration dirigée, sa dégranulation, ainsi que l'explosion oxydative

Les facteurs de croissance [G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor), GM-CSF

(granulocyte/macrophage colony-stimulating factor)] augmentent le recrutement des PNN à partir de la moelle et inhibe leur l'apoptose.



## 7

## Le mastocyte

### 1. Introduction :

Le mastocyte est une cellule du système immunitaire qui fascine le monde de la recherche biomédicale depuis de nombreuses années. C'est en 1878, lors de l'analyse de tissus connectifs humains, que le scientifique allemand Paul Ehrlich découvre avec stupeur une grosse cellule au contenu cytoplasmique granuleux et métachromatique. Il baptise alors cette étrange cellule « mastzellen » signifiant littéralement « cellule bien nourrie », qui deviendra par la suite « mastcell » en anglais ou bien « mastocyte » en français.

Les mastocytes sont caractérisés par l'expression de deux molécules à leur surface, le récepteur de haute affinité aux immunoglobulines de type E (Fc $\epsilon$ RI) et le récepteur au stem cell factor (KIT ou SCFR).

Ils sont facilement visualisables au sein des tissus humains en mettant en évidence la tryptase, une protéase constitutivement exprimée dans leurs granules cytoplasmiques.

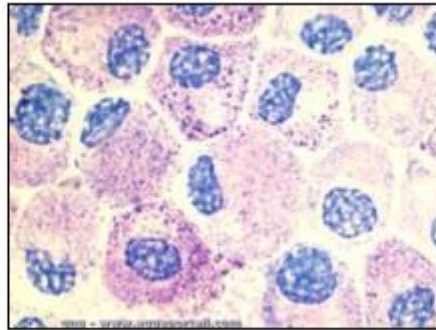
Ces cellules sont célèbres pour leur capacité à exociter leur contenu granulaire riches en histamine, lors des réactions allergiques. Cependant, leur rôle au sein de l'organisme ne se restreint pas à la seule fonction de dégranulation sous l'influence d'allergènes.

Leurs localisations stratégiques, près des voies d'entrées de pathogènes, permet aux mastocytes d'être fortement impliqués dans la lutte contre les divers micro-organismes : Ils ont non seulement la capacité d'agir « en première ligne » au sein de l'immunité innée, mais peuvent aussi influencer et moduler la réponse immunitaire adaptative.

## **2. Aspect morphologique :**

Les mastocytes sont morphologiquement identifiables dans les différents tissus de l'organisme au terme de leur différenciation. Ils y sont révélés grâce à leurs propriétés métachromatiques.

En microscopie optique après coloration par le May-Grünwald Giemsa, le mastocyte au repos est classiquement décrit comme une cellule mononuclée de 8 à 20  $\mu\text{m}$  de diamètre, de forme variable (ronde, ovale, polygonale ou fusiforme), présentant un noyau rond central ou légèrement excentré, et un cytoplasme basophile rempli de très nombreuses granulations denses de 0,3 à 1,5  $\mu\text{m}$  colorées en violet foncé.



**Figure 1.** Aspect morphologique du mastocyte sous microscope.

Le mastocyte est une cellule mononuclée de 20 à 30  $\mu\text{m}$

Il contient un noyau rond central, avec un cytoplasme basophile ou incolore (bleu de toluidine), avec des granulations violettes (MGG).

## **3. Ontogenèse :**

Chez l'homme, la différenciation des mastocytes s'effectue à partir des progéniteurs hématopoïétiques CD34+ ou CD133+ (une sous-population de cellules CD34+ considérées comme particulièrement immatures) présents dans la moelle osseuse.

Cette différenciation s'accompagne de l'apparition séquentielle de trois catégories de marqueurs :

Des antigènes précoces présents sur des progéniteurs mastocytaires retrouvés en circulation (CD34, le CD13 et le c-Kit ou CD117)

Des marqueurs de différenciation mastocytaire précoce (FceRI ou récepteur de haute affinité des IgE, histamine, tryptase)

Des marqueurs de différenciation mastocytaire tardive (héparine, chymase)

Ces deux derniers types de marqueurs sont retrouvés uniquement dans les cellules mastocytaires ayant déjà gagné les tissus.

La tryptase étant actuellement le marqueur de choix pour identifier ces cellules, car elle est présente dans tous les mastocytes.

NB. Le mastocyte sort de la moelle osseuse sous forme immature, il termine sa maturation dans les tissus.

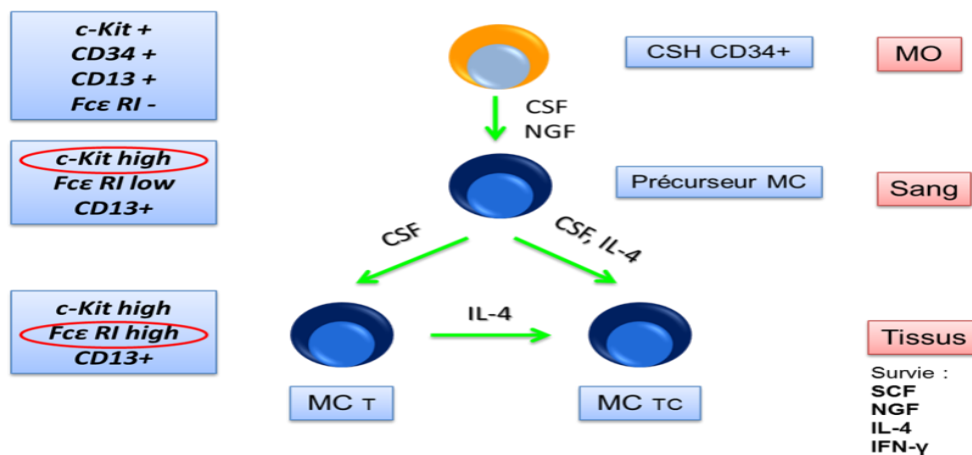


Figure 2. Schéma simplifié de l'ontogenèse mastocytaire chez l'homme à partir de la cellule souche médullaire (MCC : mastocyte tryptase - chymase +, MCTC : mastocyte tryptase + chymase +, MCT : mastocyte tryptase + chymase -).

#### 4. Distribution tissulaire et sous populations des mastocytes :

Les mastocytes constituent une population hétérogène. Chez l'homme, on distingue deux types de mastocytes, en rapport avec la localisation anatomique des cellules et d'après leur contenu en protéases neutre : les mastocytes ne renfermant que de la tryptase appelés MCT, les mastocytes comportant, outre de la tryptase, de la chymase, carboxypeptidase et cathepsine G dénommés MCTC.

D'une façon extrêmement schématisée, on peut dire que les mastocytes de type MCT seraient des équivalents muqueux, tandis que les mastocytes MCTC seraient approximativement comparables à des mastocytes séreux. Ces deux sous populations mastocytaires ont des fonctions différentes.

Les MCTC sont localisés essentiellement au niveau de la rate et les conjonctives. Ils sont absents du revêtement alvéolaire, tandis que les MCT sont localisés principalement au niveau de la muqueuse intestinale et bronchique mais ils sont présents de façon importante au niveau du revêtement alvéolaire.

Notant que la muqueuse nasale comporte les deux sous populations de mastocytes.

Cette hétérogénéité est plastique de telle sorte que les sous types de mastocyte sont interchangeables en fonction du microenvironnement.

La distribution tissulaire de ces deux types de mastocytes est décrite dans ce tableau :

Distribution tissulaire	MC tryptase	MC tryptase chymase
Peau	-	++
Sous-muqueuse intestinale	+	++
Muqueuse intestinale	++	+
Paroi alvéolaire	++	-
Bronches, bronchioles	++	+
Muqueuse nasale	++	++
Tissu conjonctif	+	++

#### 5. Phénotype membranaire :

Les mastocytes expriment de façon constitutive le récepteur de haute affinité des IgE : FcεRI. Ces cellules maintiennent l'expression du CD117 après leurs maturations, elles expriment aussi de façon constitutive des molécules HLA de classe I et II et de nombreux TLRs à savoir TLR 1, 2, 3, 4, 6 et 9.



La molécule CD14, une molécule requise pour la signalisation via TLR4 est présente chez la souris mais absente chez l'homme.

Les mastocytes humains expriment aussi de façon constitutive des récepteurs pour les fragments de dégradation du système du complément notamment : C5aR, C3aR, CR4, CR2 et C1qR, des récepteurs pour les chimiokines : CXCR4, CCR5, CCR3 et le récepteur du TNF $\alpha$  (TNF $\alpha$ R). Ils expriment aussi des récepteurs d'IgG, notamment : Fc $\gamma$ RIIA/C, Fc $\gamma$ RIII. De plus, les mastocytes des muqueuses expriment la molécule d'adhésion  $\alpha$ 4 $\beta$ 7 Intégrine.

Après activation, les mastocytes expriment de façon très importante des molécules de costimulation de la famille B7 (B7-1, B7-2), des récepteurs de nombreuses cytokines notamment : IL-1R ou IL-33R, IL-10R, IFN $\gamma$ R et IL-12R, d'autres récepteurs d'IgG ayant pour rôle régulateur comme : Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RIIb et le PAR qui est un récepteur des protéases.

## **6. Activation des mastocytes :**

On a récemment pu individualiser les voies de l'activation de mastocyte en : activation IgE dépendante ou IgE indépendante.

Mais vu l'apparition de plusieurs voies d'activations et la connaissance accrue à propos du rôle joué par les mastocytes dans les réactions immunitaires, l'activation des mastocytes a été revue, et que ça se sera plus approprié de classer les voies d'activations de mastocyte en Direct et Indirect.

### **♥ 6.1. Activation Directe :**

TLRs sont au centre de la reconnaissance directe de pathogène par les cellules de l'immunité innée et sont un lien critique entre l'immunité innée et adaptative.

Les mastocytes expriment plusieurs TLRs, à savoir : TLR 1, 2, 3, 4, 6 et 9.

Le rôle in vivo de l'expression de TLR par des mastocytes a été démontré pour TLR2, TLR 4, et TLR 3, qui se lient respectivement : peptidoglycane (PGN), lipopolysaccharide (LPS), et l'ARN à double brin viral.

D'autres stimulus peuvent activer le mastocyte : Composés polybasiques

Dextran Protéases

Des médiateurs endogènes dans le système nerveux notamment : CRH (corticotropin- releasing hormone), CGRP (calcitonin gene related peptide) et les neuropeptides : la substance P.

### **♥ 6.2. Activation indirecte :**

Les mastocytes peuvent être activés indirectement faisant intervenir d'autres récepteurs qui se lient indirectement à l'antigène. Parmi ces récepteurs :

Récepteurs Fc : Fc $\epsilon$ RI, Fc $\gamma$ RI, -III.

Récepteurs du complément : CR2, CR4, C5aR, C3aR, C1qR

Autres récepteurs : Récepteurs couplés à la protéine G (PGE2-R), récepteurs de cytokines (C-kit+++, TNF $\alpha$ ).

Ex : l'activation indirecte par les récepteurs Fc $\epsilon$ RI :

L'activation de mastocyte dans ce cas-là, dépend de la génération d'une réaction immunitaire adaptative qui mène à la génération de plasmocytes producteurs d'IgE.

Cette activation implique les molécules d'IgE secrétées et les récepteurs d'IgE de haute affinité Fc $\epsilon$ RI.

Le prototype de ce type d'activation est l'hypersensibilité type I appelé encore allergie IgE dépendante.

## **7. Médiateurs libérés :**

Les mastocytes activés vont libérer des médiateurs biologiquement actifs qu'on peut les individualiser en médiateurs préformés et médiateurs néoformés.

Les médiateurs préformés essentiellement : Histamine, Protéases, Peroxydase, Sérotonine, Héparine, Chondroitinesulphate et certaines cytokines : IL-4, TNF, GM-CSF.

Les médiateurs néoformés comprennent :

Des médiateurs lipidiques comme Prostaglandines (PGD<sub>2</sub>, E<sub>2</sub>), Leucotriènes LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>.

Des facteurs de croissance : VEGF (vascular endothelial growth), NGF (nerve growth factor), FGF2 (factor fibroblast growth factor 2).

Des cytokines et des chimiokines : IFN- $\alpha$ , - $\beta$ , - $\gamma$ , TNF, TGF- $\beta$ , IL-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 15, 18, 21, 23, CCL3, CCL2, CCL5, CXCL8, CXCL10, TSLP.

Des antimicrobiens notamment : LL37 (Cathélicidine humaine). Des hormones notamment : CRH (corticotropin-releasing hormone). Des Dérivés actifs de l'O<sub>2</sub>.

## **8. Rôle dans l'homéostasie et dans la régulation immunitaire :**

Les mastocytes ont été traditionnellement étudiés en tant que cellules effectrices dans les maladies allergiques. Au sein des tissus, ils sont le plus souvent retrouvés autour de terminaisons nerveuses et de vaisseaux sanguins avec lesquels ils interagissent.

Enfin, leur présence dans des endroits stratégiques de l'organisme tels que la peau ou les muqueuses, font de ces cellules de redoutables sentinelles impliquées dans la reconnaissance et l'élimination de multiples pathogènes.

### **♥ 8.1. Mastocyte et homéostasie :**

Les mastocytes sont vraisemblablement critiques pour le maintien de l'intégrité et de la fonction des tissus. Ils produisent plusieurs facteurs de croissance et des médiateurs tels que le facteur de croissance nerveuse (NGF), le facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF), le facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF), le facteur de croissance des fibroblastes 2 (FGF2), l'histamine, et la tryptase, qui induisent la prolifération des cellules épithéliales et des fibroblastes.

Les mastocytes sont connus pour participer et influencer la cicatrisation à chaque étape, y compris la réponse inflammatoire initiale suivie de ré-épithélialisation et de la revascularisation du tissu endommagé, et finalement le dépôt du collagène et la retouche de la matrice.

De plus, les mastocytes interviennent aussi dans le cycle du follicule pileux.

### **♥ 8.2. Mastocyte et système immunitaire :**

#### **8.2.2. En immunité innée :**

Les mastocytes expriment de nombreux TLRs et des récepteurs des fractions du complément (CRs), ce qui leur permettent facilement de prendre en charge les pathogènes agresseurs. De même, les mastocytes, et d'après ce qui a été démontré depuis les années 70, présentent une forte activité phagocytaire, ce qui a permis de conclure le rôle important de ces cellules dans les premiers temps

de la prise en charge de l'antigène en matière de phagocytes qui peuvent reconnaître l'antigène grâce à leurs récepteurs de l'immunité innée.

De plus, et grâce aux médiateurs libérés après activation notamment les médiateurs lipidiques et les cytokines, les mastocytes participent efficacement à l'amplification de la réaction inflammatoire localement et au niveau systémique.

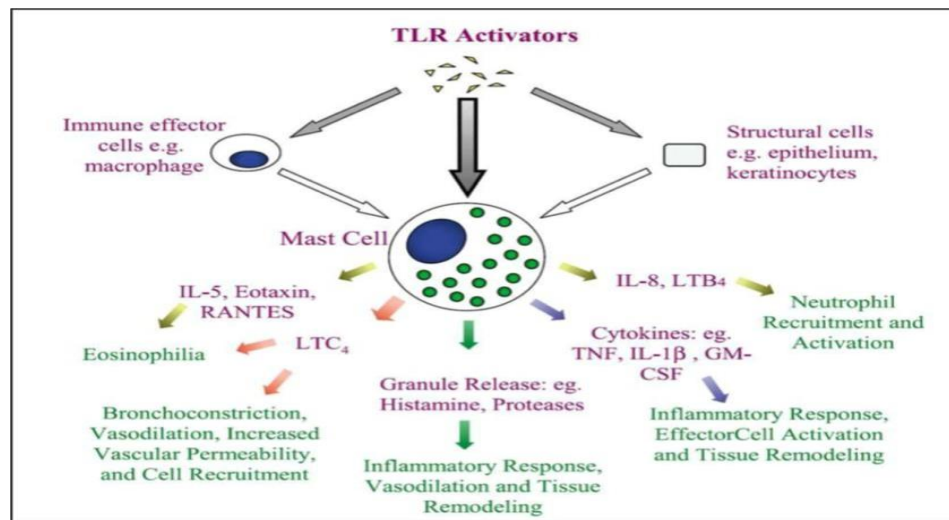


Figure 2. Conséquences de l'activation des mastocytes par les TLR. (Toll-Like Receptor- Mediated Activation of Mast Cells: Implications for Allergic Disease?. Int Arch Allergy Immunol 2003)

### 8.2.3. En immunité adaptative :

Les mastocytes participent également à la mise en place de l'immunité adaptative.

D'abord, Des mastocytes sont trouvés dans l'apposition proche des CD dans tous les tissus excepté le sang et sont eux-mêmes sujets de signaux microbiens d'activation.

Le mastocyte interagit avec la cellule dendritique pour l'initiation de la réponse immunitaire. C'est une interaction qui peut être membranaire via CD40 et CD40L entre les CD immatures et mastocytes respectivement, ou encore par l'intermédiaire de la libération des cytokines. De plus, les mastocytes peuvent libérer relativement une grande quantité de PGE2 et de TNF dans les minutes qui suivent l'activation. Tous les deux médiateurs ont la capacité d'influencer sur la migration des cellules dendritiques.

Les mastocytes affectent également la maturation des CD et influencent la différenciation des LT CD4+ et leurs polarisations par l'expression des médiateurs néosynthétisés.

L'histamine par exemple, empêche l'induction d'autres cytokines médiées par les TLRs et qui sont produites par les CD, y compris IFN- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-18, IL-6, CXCL10, CCL20, CCL5, et TNF et augmente l'expression de CXCL8 et d'IL-10.

Les mastocytes activés libèrent beaucoup de cytokines qui modifient l'expression des marqueurs d'activation des CD. Par exemple, le TNF induit des augmentations d'IFN $\gamma$ R, le CD40, ICAM-1 (CD54), CMH de classe II, et le CD86 in vivo.