



Disponible en ligne sur  
**ScienceDirect**  
[www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

Elsevier Masson France  
**EM|consulte**  
[www.em-consulte.com](http://www.em-consulte.com)

REVUE FRANÇAISE  
D'**Allergologie**

Revue française d'allergologie xxx (2017) xxx–xxx

Revue Générale

# *Scrambling* des phospholipides et Phospholipid Scramblase 1 (PLSCR1) dans les mastocytes activés

## *Phospholipid scrambling and phospholipid scramblase 1 (PLSCR1) in activated mast cells*

M. Benhamou

Inserm UMR 1149, centre de recherche sur l'inflammation, CNRS ERL 8252, Labex Inflamex, DHU Fire, faculté de médecine site Xavier-Bichat, université Paris-Diderot, 16, rue Henri-Huchard, 75870 Paris cedex 18, France

Reçu le 10 février 2017 ; accepté le 15 février 2017

### Résumé

Les mastocytes sont capables de libérer, après activation, de nombreux médiateurs contenus dans des granules cytoplasmiques ou synthétisés *de novo* (médiateurs lipidiques, cytokines, chimiokines, facteurs de croissance). Si ces cellules sont impliquées de manière importante dans les réactions d'hypersensibilité de type I (principalement de par la libération de leur contenu granulaire), elles jouent un grand nombre de rôles positifs dans l'organisation de la réponse immunitaire et dans la réparation tissulaire constitutive de la réaction inflammatoire. Des approches thérapeutiques nouvelles en allergologie ciblant de manière sélective la dégranulation mastocytaire pourraient permettre de maintenir des fonctions physiologiques essentielles de ces cellules tout en enrichissant la pharmacopée antiallergie. Nous avons identifié la Phospholipid Scramblase 1 (PLSCR1) comme un amplificateur des signaux d'activation responsables de la dégranulation mastocytaire induite par agrégation du récepteur aux immunoglobulines E. Nous faisons ici le point sur nos connaissances relatives au rôle de la redistribution des phospholipides membranaires (*scrambling*) et de la Phospholipid Scramblase 1 dans les mastocytes activés.

© 2017 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

**Mots clés :** Mastocyte ; Signaux d'activation ; Phospholipid Scramblase 1 ; *Scrambling* ; IgE

### Abstract

Following activation, mast cells can release an array of mediators stored in their cytoplasmic granules or synthesized *de novo* (lipid mediators, cytokines, chemokines, growth factors). While these cells are critically involved in type I hypersensitivity reactions (mainly through the release of their granule content), they also play a number of positive roles in organizing the immune response and in tissue repair constitutive of the inflammatory reaction. New therapeutic approaches in allergology selectively targeting mast-cell degranulation could enable the essential physiologic functions of these cells to be maintained while expanding available antiallergy therapeutic options. We have identified phospholipid scramblase 1 (PLSCR1) as an amplifier of mast-cell degranulation induced by immunoglobulin E receptor aggregation. Herein, we review current knowledge on the role of membrane phospholipid scrambling and of phospholipid scramblase 1 in activated mast cells.

© 2017 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

**Keywords:** Mast cell; Activation signals; Phospholipid scramblase 1; Phospholipid scrambling; IgE

### 1. Introduction

S'il est bien établi que les mastocytes jouent un rôle de premier plan dans les réactions d'hypersensibilité immédiate

de type 1, ce rôle a considérablement détourné, pendant de longues années, l'attention des chercheurs des autres fonctions physiologiques du mastocyte qui expliqueraient son maintien par la sélection naturelle dans une très large partie du règne animal. On trouve, en effet, des mastocytes chez tous les mammifères chez lesquels ils présentent les mêmes caractéristiques : cellules tissulaires au noyau unilobé, possédant des granules

Adresse e-mail : [marc.benhamou@inserm.fr](mailto:marc.benhamou@inserm.fr)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2017.02.235>

1877-0320/© 2017 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

cytoplasmiques contenant de l'histamine, des protéases, des cytokines et des facteurs de croissance, et exprimant à leur surface le récepteur de haute affinité pour l'IgE (RFcεI) ainsi que le récepteur pour le Stem Cell Factor (c-KIT). On trouve également des cellules très apparentées aux mastocytes chez les poissons, les amphibiens, les reptiles et les oiseaux ainsi que chez certaines classes d'invertébrés [1–3]. Les mastocytes doivent donc jouer des rôles physiologiques importants au-delà de leur implication dans les réactions allergiques. Un premier rôle identifié il y a plus de 40 ans est leur participation à la défense antiparasitaire [4–9]. Des rôles nouveaux ont été démontrés plus récemment qui incluent la protection contre les venins et toxines [8,10], la défense antibactérienne [11,12], antivirale [13] et antifongique [14], la modulation du système immunitaire aussi bien inné qu'acquis [15–18] et la capacité à participer à la réparation des tissus lésés [19,20]. Ces différentes fonctions des mastocytes sont permises par le large éventail de récepteurs qu'ils expriment (récepteurs aux immunoglobulines, aux facteurs du complément, aux agents infectieux, aux composés cationiques. . .) [21], par la richesse et la puissance des médiateurs qu'ils sont capables de libérer après stimulation (substances vasoactives et facteurs angiogéniques, protéases, métabolites de l'acide arachidonique, chimiokines et cytokines, facteurs de croissance, constituants de la matrice extracellulaire. . .) [22] et par leur localisation à l'interface entre environnement et milieu intérieur (muqueuses, peau) [20,23,24] ainsi que le long des vaisseaux sanguins [25]. Les rôles très divers, pléiotropiques, que jouent ainsi les mastocytes doivent donc être pris en compte dans les stratégies thérapeutiques ciblant ces cellules dans les traitements antiallergie. Il peut ainsi paraître judicieux dans ces cas de ne pas « anergiser » complètement les mastocytes mais de moduler sélectivement certaines de leurs réponses, notamment la libération de leur contenu granulaire (qui inclut l'histamine dont l'importance dans les réactions allergiques est bien connue), pour permettre ainsi aux mastocytes de maintenir leurs autres fonctions physiologiques.

Les voies de signalisation activées après agrégation du RFcεI par le couple IgE–allergène sont complexes et multiples. Elles impliquent de très nombreuses protéines (kinases, phosphatases, canaux ioniques, phospholipases, molécules adaptatrices, protéines SNAREs, facteurs de transcription), des seconds messagers (AMP cyclique, calcium. . .), des phospholipides telle la sphingosine-1-phosphate et divers compartiments cellulaires (membrane, cytosquelette, noyau) permettant d'organiser dans l'espace et le temps la propagation et la spécialisation du signal [26]. Dépendant des conséquences observables de leur absence, on peut identifier deux grandes classes de molécules constitutives de ces voies : celles dont l'absence résulte en une interruption des voies de signalisation, et celles dont le rôle majeur est de moduler (soit en les amplifiant, soit en les contenant) ces voies de signalisation. Des exemples de la première classe sont donnés par la tyrosine kinase SYK [27,28]. La deuxième classe peut elle-même être divisée en deux sous-classes : les effecteurs moléculaires modulant l'ensemble des réponses (des exemples sont donnés par LAT [29] et SHIP-1 [30]) et ceux modulant sélectivement une voie. Un exemple de cette dernière est donné par la PLC-β3 qui module sélective-

ment la production de cytokines sans altérer la dégranulation mastocytaire [31]. Nous avons identifié un nouveau modulateur sélectif de la dégranulation des mastocytes : la Phospholipid Scramblase 1 (PLSCR1).

## 2. Scrambling des phospholipides membranaires et mastocytes

La PLSCR1 est une protéine ubiquitaire et membranaire de type 2 de 36 kDa qui a été identifiée initialement comme capable de promouvoir la redistribution bidirectionnelle des phospholipides entre les deux feuillettes d'une bicouche lipidique (« scrambling ») dans des protéoliposomes reconstitués [32,33]. Au repos, les deux feuillettes de la membrane plasmique sont composés de phospholipides différents : le feuillet interne est enrichi en aminophospholipides tels que la phosphatidylsérine (PS) et la phosphatidyléthanolamine (PE) et en phosphatidylinositol (PI), alors que le feuillet externe est enrichi en phosphatidylcholine (PC) et en sphingomyéline (SM). Cette différence de composition est maintenue par l'action combinée de translocases (flippases et floppases) qui assurent le transport unidirectionnel des phospholipides membranaires entre les deux feuillettes membranaires [34]. En cas d'apoptose ou d'activation cellulaire, un scrambling est rapidement activé par l'augmentation de calcium intracellulaire qui aboutit à une annulation de cette différence de composition et donc à l'externalisation des PS et PE à la surface de la cellule [35]. Ces phospholipides activent alors la cascade de coagulation (dans le cas de plaquettes sanguines activées, par exemple) ou deviennent des signaux de reconnaissance pour les phagocytes leur permettant d'éliminer les corps apoptotiques [35]. De manière intéressante, les mastocytes activés expriment transitoirement les PS à leur surface sans pour autant entrer en apoptose [36,37]. Le rôle de cette externalisation des PS par les mastocytes activés n'est pas encore clairement identifié. En effet, utilisant divers modèles de mastocytes (mastocytes dérivés en culture de moelle osseuse de souris [BMMC], mastocytes obtenus de la cavité péritonéale de rat [RPMC] ou lignée de rat RBL-2H3), une étude ultérieure a démontré que les mastocytes activés par une lectine (la concanavaleine A), par *E. coli*, ou par agrégation de Thy-1.1 (une protéine avec un ancrage glycosylphosphatidylinositol) présentent une externalisation significative des PS mais en absence de dégranulation (et d'apoptose) de ces cellules [38] alors que l'activation des mastocytes par le pervanadate induit une dégranulation sans externalisation des PS [39]. Tout ceci suggère que, dans les mastocytes, le scrambling pourrait jouer un autre rôle que de réguler la dégranulation.

Il faut néanmoins noter que l'externalisation des PS induite par agrégation du RFcεI et celle induite par agrégation de Thy-1.1 ne semblent pas suivre pas la même voie de signalisation [38]. En effet, alors que la première est amplifiée par la déplétion de cholestérol membranaire ou par le blocage du cytosquelette, ces deux traitements bloquent la deuxième. De plus, la cinétique est transitoire pour la première et soutenue pour la deuxième. Ces données suggèrent des fonctions différentes pour l'externalisation des PS selon le mode d'activation des mastocytes.

Une de ces fonctions pourrait être d'assurer une endocytose compensatoire après dégranulation tel qu'il a été suggéré récemment dans les cellules chromaffines [40]. En effet, la dégranulation aboutit à une augmentation considérable de la surface cellulaire suite à la fusion des membranes des granules avec la membrane plasmique, menaçant par là l'homéostasie cellulaire. Ceci est rééquilibré rapidement après dégranulation par une recapture de ces membranes par voie d'endocytose compensatoire [41,42]. Des études restent à entreprendre pour déterminer si le *scrambling* est impliqué dans ce mécanisme dans les mastocytes activés.

### 3. Phosphorylation sur tyrosine de la PLSCR1 dans les mastocytes activés

L'implication de la PLSCR1 dans l'activation des mastocytes était suggérée par l'externalisation des PS constitutive de cette activation et par la phosphorylation de la PLSCR1 que nous avons décrite après agrégation du RFcεI [43]. Dans les mastocytes, alors que nous recherchions de nouveaux effecteurs des signaux d'activation cellulaire phosphorylés sur tyrosine après agrégation du RFcεI dans la lignée de mastocytes de rat RBL-2H3, nous avons identifié la PLSCR1 et observé que sa forme phosphorylée (mais pas sa forme non phosphorylée) correspond à des espèces moléculaires hétérogènes entre 37 et 42 kDa [43], des données confirmées par d'autres [39]. Comme la PLSCR1 n'est pas glycosylée, cela suggère qu'elle est phosphorylée sur de nombreux résidus après activation cellulaire. Une hétérogénéité comparable est observée dans les BMMC de souris après activation via le RFcεI [44], démontrant que cette phosphorylation ne résultait pas du caractère tumoral de la lignée RBL-2H3 initialement utilisée. Il apparaît par ailleurs que seule une infime proportion du pool de PLSCR1 est phosphorylée dans les mastocytes [43], suggérant un contrôle fin et ciblé et que le restant de ce pool est impliqué dans d'autres signalisations que celle du RFcεI. La voie de signalisation responsable de cette phosphorylation a été en grande partie identifiée. Ainsi, nous avons montré que la PLSCR1 est phosphorylée sur tyrosine après agrégation du récepteur aux IgA (CD89, associé à la chaîne FcRγ qu'il partage avec le RFcεI) transfecté dans la lignée RBL-2H3, mais pas après agrégation de ce récepteur lorsqu'il porte une mutation permettant son expression en absence de la chaîne FcRγ, suggérant que cette chaîne est essentielle pour les signaux menant à la phosphorylation de la PLSCR1 [44]. Ces données montrent également que tous les récepteurs associés à la chaîne FcRγ sont potentiellement capables de mobiliser la PLSCR1. En aval de la chaîne FcRγ, les tyrosine kinases de la famille SRC que sont Lyn et Fyn sont activées. En suivant les étapes des voies de signalisation du RFcεI, aucune phosphorylation de la PLSCR1 sur tyrosine n'est observée en absence de Lyn (dans des BMMC Lyn<sup>-/-</sup>) ou en présence de Lyn déficiente en activité kinase, démontrant que l'activité kinase de Lyn est nécessaire pour cette phosphorylation [44]. À l'inverse, la phosphorylation de la PLSCR1 induite par agrégation du RFcεI est augmentée en absence de Fyn (dans des BMMC Fyn<sup>-/-</sup>). Cette augmentation n'est pas due à l'entrée en jeu d'une autre tyrosine kinase que Lyn puisqu'aucune phos-

phorylation de la PLSCR1 n'est observée en double absence de Lyn et de Fyn [44]. Par ailleurs, la PLSCR1 est colocalisée avec Lyn dans les radeaux lipidiques (rafts) de la membrane plasmique et est co-immunoprécipitée avec cette kinase mais pas avec d'autres protéines de rafts telles que LAT, signant ainsi une spécificité d'interaction [45]. De manière intéressante, cette interaction entre la PLSCR1 et Lyn n'est pas affectée par l'absence de Fyn [44]. L'ensemble de ces résultats démontre que la PLSCR1 est un carrefour des deux grandes voies de signalisation du RFcεI initiées chacune par une de ces tyrosine kinases de la famille SRC. En absence de la tyrosine kinase Syk, qui se trouve en aval des tyrosine kinases de la famille SRC dans les voies de signalisation du RFcεI, aucune phosphorylation de la PLSCR1 n'est induite par l'agrégation du RFcεI [44]. Tout comme Lyn, Syk est co-immunoprécipité avec la PLSCR1 [45], suggérant que c'est Syk et non pas Lyn qui est responsable de la phosphorylation de la PLSCR1. Plus en aval dans les voies de signalisation, la mobilisation calcique module fortement la phosphorylation de la PLSCR1 puisque l'activation des mastocytes en absence de calcium (et en absence de mobilisation calcique) induit une phosphorylation significative de la PLSCR1 mais qui est considérablement réduite par comparaison à celle observée dans des mastocytes activés en présence de calcium [44]. Enfin, l'influx calcique induit par un ionophore calcique induit une phosphorylation sur tyrosine de la PLSCR1 [39,46].

La phosphorylation de la PLSCR1 est donc contrôlée de manière complexe au moins à trois niveaux dans les mastocytes activés. Lyn et Syk induisent cette phosphorylation de manière à la fois directe et précoce (favorisée par leur association physique avec la PLSCR1) et indirecte et plus tardive de par leur contrôle de la mobilisation calcique. On ne sait pas encore clairement, à l'heure actuelle, si l'influx calcique induit une phosphorylation sur des résidus tyrosine additionnels des PLSCR1 déjà mobilisées ou sur des molécules additionnelles de PLSCR1. Un troisième point de contrôle est Fyn qui régule négativement cette phosphorylation d'une manière qui reste encore obscure. Il est à noter néanmoins que Lyn et Fyn sont des kinases dont l'activité influe l'activation des mastocytes de manière opposée [47,48]. La PLSCR1 pourrait être un des carrefours où les voies de signalisation initiées par ces deux kinases se croisent.

### 4. Fonctions de la PLSCR1

L'implication de la PLSCR1 dans la redistribution des phospholipides membranaires observée lors de l'activation des mastocytes a d'abord été étudiée par l'équipe de Petr Draber à Prague en recherchant une corrélation entre cette redistribution et la phosphorylation sur tyrosine de la PLSCR1 [39]. Dans cette étude, la distribution de la PLSCR1 au sein de la membrane plasmique ne semble pas modulée par l'agrégation du RFcεI. L'externalisation des PS suivant l'agrégation de Thy-1 n'est pas accompagnée par la phosphorylation de la PLSCR1 alors qu'inversement, la phosphorylation de la PLSCR1 induite par le pervanadate n'est pas accompagnée d'externalisation des PS (mais est accompagnée de dégranulation). Un inhibiteur de la

polymérisation de l'actine, la latrunculine B, augmente significativement l'externalisation des PS des mastocytes induite par agrégation du RFcεI mais sans que la phosphorylation de la PLSCR1 ne soit augmentée dans les mêmes proportions. L'ensemble de ces données montre une absence de corrélation entre la phosphorylation de la PLSCR1 et l'externalisation des PS dans les mastocytes activés suggérant que la PLSCR1 module une autre réponse mastocytaire [39].

Le rôle de la PLSCR1 en tant qu'enzyme responsable du *scrambling* (tel que démontré in vitro dans des protéoliposomes reconstitués [32]) a été questionné après l'établissement de souris KO pour la PLSCR1 qui ne présentent aucun défaut observable de leur capacité à redistribuer leurs phospholipides dans les plaquettes sanguines [49]. Ulérieurement, d'autres protéines capables de réaliser cette fonction ont été décrites. Le canal ionique TMEM16F est responsable du *scrambling* induit par élévation du calcium intracellulaire et est retrouvé muté dans une maladie rare, le syndrome de Scott, où les plaquettes se montrent incapables d'externaliser les PS et donc incapables d'initier la cascade de la coagulation sanguine [50]. Ulérieurement, d'autres membres de la famille TMEM16 (TMEM16-C, -D, -G, -J [51]) ont été démontrés comme capables, eux aussi, de redistribuer les phospholipides membranaires. La protéine Xkr8, elle, est activée par son clivage par les caspases 3 et 7 et induit alors un *scrambling* lors de l'apoptose [52]. L'implication de la PLSCR1 dans le *scrambling* en conditions physiologiques semble donc, au mieux, limitée à des situations particulières qu'il reste à définir.

La PLSCR1 joue d'autres rôles, nombreux, qui ont été décrits ces dernières années. La PLSCR1 régule ainsi la prolifération, la différenciation cellulaire et l'apoptose [49,53–59], le développement tumoral [54–64], l'immunité antivirale [65–72] et antibactérienne [73,74], et les signaux d'activation cellulaire induits par des facteurs de croissance comme l'EGF [75,76], le SCF et le G-CSF [49,53] ainsi que par le RFcεI [43,45]. La PLSCR1 agit à la membrane plasmique lorsqu'elle est palmitoylée, mais aussi dans le noyau lorsqu'elle n'est pas palmitoylée [77]. Elle peut alors jouer un rôle de facteur de transcription pour certains gènes comme celui du récepteur de l'inositol 1,4,5-triphosphate [78]. Sa forme membranaire présente un court domaine extracellulaire et l'essentiel de la protéine est intracytoplasmique [79]. Néanmoins, la PLSCR1 elle-même peut être externalisée lors de l'apoptose facilitant ainsi l'externalisation d'une protéase des neutrophiles (la PR3) tel qu'observé dans la maladie de Wegener [80]. Enfin, la PLSCR1 peut être sécrétée dans la peau où elle interagit avec des protéines de la matrice extracellulaire [81]. Les fonctions de la PLSCR1 apparaissent donc multiples puisqu'elle peut agir à de nombreux niveaux : extracellulaire, membranaire, cytosolique (en modulant les effecteurs de signalisation) et nucléaire.

Si rien ne permet de confirmer actuellement que la PLSCR1 joue un rôle majeur dans l'externalisation des PS dans les mastocytes activés, il reste que la richesse des mécanismes de régulation de sa phosphorylation après agrégation du RFcεI suggère qu'elle joue un rôle important dans les signaux initiés par ce récepteur. C'est ce rôle que nous avons recherché.

## 5. La PLSCR1 amplifie la dégranulation des mastocytes activés

Pour analyser le rôle de la PLSCR1 dans les mastocytes activés, nous avons dans un premier temps suivi une approche par shRNA qui nous a permis de diminuer significativement (> 90 %) l'expression de la PLSCR1 dans la lignée RBL-2H3 [45]. Les mastocytes « knock-down » (KD) pour la PLSCR1 ont démontré une capacité fortement réduite à dégranuler suite à l'agrégation du RFcεI, quelles que soient les doses d'antigène et quel que soit le temps de stimulation. De manière intéressante, ni la production de la chimiokine MCP-1 ni celle des dérivés de l'acide arachidonique (leucotriène B4 et prostaglandine D2) n'ont été affectées dans les mastocytes PLSCR1-KD, démontrant une sélectivité d'action de la PLSCR1 sur les signaux menant à la dégranulation [45]. L'analyse des voies de signalisation affectées a révélé que la PLSCR1 module sélectivement la voie initiée par Lyn et Syk liant la phosphorylation de LAT, la phosphorylation de la PLC-γ1 et la mobilisation calcique mais pas la phosphorylation de ERK ni de Akt qui appartiennent à une autre voie de signalisation [45]. Cela montre que la PLSCR1 module la voie qui est responsable de sa phosphorylation. Néanmoins, l'activité de Lyn, en amont de cette voie, ne semble pas affectée, suggérant que la PLSCR1 module, en aval de Lyn mais en amont de LAT, la tyrosine kinase Syk. Ainsi apparaît la possibilité, qui doit encore être vérifiée, que la PLSCR1 module l'activité de la kinase responsable de sa phosphorylation dans les mastocytes activés, la tyrosine kinase Syk. Un tel partenariat a été démontré dans le signal initié par le récepteur à l'EGF où la PLSCR1 est phosphorylée par la tyrosine kinase Src et où en retour la PLSCR1 amplifie l'activation de cette kinase par le récepteur à l'EGF [75], jetant un éclairage intéressant sur un mode d'action potentiel de la PLSCR1 qui, dans les mastocytes, pourrait s'appliquer au partenariat PLSCR1-Syk.

Dans un deuxième temps, nous avons confirmé cette capacité à amplifier la dégranulation des mastocytes dans des BMDC de souris *Plscr1*<sup>-/-</sup> et dans des mastocytes dérivés de cavité péritonéale de ces souris [82] démontrant ainsi que nos premières observations n'étaient pas dues au caractère tumoral de la lignée RBL-2H3. De même, des tests in vivo d'anaphylaxie systémique passive ont confirmé cette capacité de la PLSCR1 dans un contexte physiopathologique où interviennent des mastocytes tissulaires. Ainsi, la chute de température corporelle induite par activation antigénique dans ce modèle d'activation mastocytaire est plus faible dans les souris *Plscr1*<sup>-/-</sup> que dans les souris de génotype sauvage. De même, la quantité d'histamine libérée dans le sérum des souris *Plscr1*<sup>-/-</sup> est plus faible [82]. Cet ensemble de données montre que la PLSCR1 joue un rôle de modulation (d'amplification) de la signalisation menant de l'agrégation du RFcεI à la dégranulation des mastocytes. D'autres réponses mastocytaires sont modulées par la PLSCR1. Ainsi, comme le laissaient présager des données publiées montrant que la réponse au SCF est altérée par l'absence de PLSCR1 [49], nous avons observé que la prolifération des mastocytes en réponse au SCF in vitro est considérablement réduite (M. Benhamou, résultats non publiés).

La PLSCR1 pourrait donc représenter une nouvelle cible thérapeutique dans les maladies allergiques et dans les mastocytoses, un objectif renforcé par notre observation récente de sa phosphorylation sur tyrosine dans une lignée de mastocytes humains activés (la lignée ROSA ; M. Benhamou, P. Karasu et M. Arock, résultats non publiés). Le ciblage de la dégranulation mastocytaire en visant la PLSCR1 pourrait représenter une arme supplémentaire dans l'arsenal thérapeutique permettant de prévenir et/ou guérir les maladies allergiques sans altérer les autres fonctions importantes que joue le mastocyte en physiologie. C'est là un nouveau champ de recherche auquel nous nous attelons.

## Déclaration de liens d'intérêts

L'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts.

## Références

- [1] Baccari GC, Pinelli C, Santillo A, Minucci S, Rastogi RK. Mast cells in nonmammalian vertebrates: an overview. *Int Rev Cell Mol Biol* 2011;290:1–53.
- [2] Crivellato E, Ribatti D. The mast cell: an evolutionary perspective. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2010;85(2):347–60.
- [3] Sfacteria A, Brines M, Blank U. The mast cell plays a central role in the immune system of teleost fish. *Mol Immunol* 2015;63(1):3–8.
- [4] Askenase PW. Immune inflammatory responses to parasites: the role of basophils, mast cells and vasoactive amines. *Am J Trop Med Hyg* 1977;26(6 Pt 2):96–103.
- [5] Bidri M, Vouldoukis I, Mossalayi MD, Debre P, Guillosson JJ, Mazier D, et al. Evidence for direct interaction between mast cells and *Leishmania* parasites. *Parasite Immunol* 1997;19(10):475–83.
- [6] Leid RW. Immunity to the metacestode of *Taenia taeniaeformis* in the laboratory rat. *Am J Trop Med Hyg* 1977;26(6 Pt 2):54–60.
- [7] Maurer M, Lopez Kostka S, Siebenhaar F, Moelle K, Metz M, Knop J, et al. Skin mast cells control T cell-dependent host defense in *Leishmania major* infections. *FASEB J* 2006;20(14):2460–7.
- [8] Mukai K, Tsai M, Starkl P, Marichal T, Galli SJ. IgE and mast cells in host defense against parasites and venoms. *Semin Immunopathol* 2016;38(5):581–603.
- [9] Stewart DF. Self-cure in nematode infestations of sheep. *Nature* 1955;176(4496):1273–4.
- [10] Galli SJ, Starkl P, Marichal T, Tsai M. Mast cells and IgE in defense against venoms: possible “good side” of allergy? *Allergol Int* 2016;65(1):3–15.
- [11] Malaviya R, Abraham SN. Mast cell modulation of immune responses to bacteria. *Immunol Rev* 2001;179:16–24.
- [12] Malaviya R, Ikeda T, Ross E, Abraham SN. Mast cell modulation of neutrophil influx and bacterial clearance at sites of infection through TNF- $\alpha$ . *Nature* 1996;381(6577):77–80.
- [13] Ebert S, Becker M, Lemmermann NA, Buttner JK, Michel A, Taube C, et al. Mast cells expedite control of pulmonary murine cytomegalovirus infection by enhancing the recruitment of protective CD8 T cells to the lungs. *PLoS Pathog* 2014;10(4):e1004100.
- [14] Nieto-Patlan A, Campillo-Navarro M, Rodriguez-Cortes O, Munoz-Cruz S, Wong-Baeza I, Estrada-Parra S, et al. Recognition of *Candida albicans* by dectin-1 induces mast cell activation. *Immunobiology* 2015;220(9):1093–100.
- [15] Abraham SN, St John AL. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2010;10(6):440–52.
- [16] Dahdah A, Gautier G, Attout T, Fiore F, Lebourdais E, Msallam R, et al. Mast cells aggravate sepsis by inhibiting peritoneal macrophage phagocytosis. *J Clin Invest* 2014;124(10):4577–89.
- [17] de Vries VC, Noëlle RJ. Mast cell mediators in tolerance. *Curr Opin Immunol* 2010;22(5):643–8.
- [18] Sayed BA, Brown MA. Mast cells as modulators of T-cell responses. *Immunol Rev* 2007;217:53–64.
- [19] Maurer M, Theoharides T, Granstein RD, Bischoff SC, Bienenstock J, Henz B, et al. What is the physiological function of mast cells? *Exp Dermatol* 2003;12(6):886–910.
- [20] Weller K, Foitzik K, Paus R, Syska W, Maurer M. Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice. *FASEB J* 2006;20(13):2366–8.
- [21] Yu Y, Blokhuis BR, Garssen J, Redegeld FA. Non-IgE mediated mast cell activation. *Eur J Pharmacol* 2016;778:33–43.
- [22] Wernersson S, Pejler G. Mast cell secretory granules: armed for battle. *Nat Rev Immunol* 2014;14(7):478–94.
- [23] Galli SJ, Borregaard N, Wynn TA. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils. *Nat Immunol* 2011;12(11):1035–44.
- [24] Guy-Grand D, Dy M, Luffau G, Vassalli P. Gut mucosal mast cells. Origin, traffic, and differentiation. *J Exp Med* 1984;160(1):12–28.
- [25] Cheng LE, Hartmann K, Roers A, Krummel MF, Locksley RM. Perivascular mast cells dynamically probe cutaneous blood vessels to capture immunoglobulin E. *Immunity* 2013;38(1):166–75.
- [26] Kraft S, Kinet JP. New developments in Fc $\epsilon$ RI regulation, function and inhibition. *Nat Rev Immunol* 2007;7(5):365–78.
- [27] Wex E, Bouyssou T, Duechs MJ, Erb KJ, Gantner F, Sanderson MP, et al. Induced Syk deletion leads to suppressed allergic responses but has no effect on neutrophil or monocyte migration in vivo. *Eur J Immunol* 2011;41(11):3208–18.
- [28] Zhang J, Berenstein EH, Evans RL, Siraganian RP. Transfection of Syk protein tyrosine kinase reconstitutes high affinity IgE receptor-mediated degranulation in a Syk-negative variant of rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells. *J Exp Med* 1996;184(1):71–9.
- [29] Saitoh S, Arudchandran R, Manetz TS, Zhang W, Sommers CL, Love PE, et al. LAT is essential for Fc(epsilon)RI-mediated mast cell activation. *Immunity* 2000;12(5):525–35.
- [30] Huber M, Helgason CD, Damen JE, Liu L, Humphries RK, Krystal G. The src homology 2-containing inositol phosphatase (SHIP) is the gatekeeper of mast cell degranulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(19):11330–5.
- [31] Xiao W, Kashiwakura J, Hong H, Yasudo H, Ando T, Maeda-Yamamoto M, et al. Phospholipase C- $\beta$ 3 regulates Fc $\epsilon$ RI-mediated mast cell activation by recruiting the protein phosphatase SHP-1. *Immunity* 2011;34(6):893–904.
- [32] Basse F, Stout JG, Sims PJ, Wiedmer T. Isolation of an erythrocyte membrane protein that mediates Ca $^{2+}$ -dependent transbilayer movement of phospholipid. *J Biol Chem* 1996;271(29):17205–10.
- [33] Zhou Q, Zhao J, Stout JG, Luhm RA, Wiedmer T, Sims PJ. Molecular cloning of human plasma membrane phospholipid scramblase. A protein mediating transbilayer movement of plasma membrane phospholipids. *J Biol Chem* 1997;272(29):18240–4.
- [34] Daleke DL. Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry. *J Lipid Res* 2003;44(2):233–42.
- [35] Kodigepalli KM, Bowers K, Sharp A, Nanjundan M. Roles and regulation of phospholipid scramblases. *FEBS Lett* 2015;589(1):3–14.
- [36] Demo SD, Masuda E, Rossi AB, Thronset BT, Gerard AL, Chan EH, et al. Quantitative measurement of mast cell degranulation using a novel flow cytometric annexin-V binding assay. *Cytometry* 1999;36(4):340–8.
- [37] Martin S, Pombo I, Poncet P, David B, Arock M, Blank U. Immunologic stimulation of mast cells leads to the reversible exposure of phosphatidylserine in the absence of apoptosis. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;123(3):249–58.
- [38] Smrz D, Draberova L, Draber P. Non-apoptotic phosphatidylserine externalization induced by engagement of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins. *J Biol Chem* 2007;282(14):10487–97.
- [39] Smrz D, Lebduška P, Draberova L, Korb J, Draber P. Engagement of phospholipid scramblase 1 in activated cells: implication for phosphatidylserine externalization and exocytosis. *J Biol Chem* 2008;283(16):10904–18.
- [40] Ory S, Ceridono M, Momboisse F, Houy S, Chasserot-Golaz S, Heintz D, et al. Phospholipid scramblase-1-induced lipid reorganization regulates compensatory endocytosis in neuroendocrine cells. *J Neurosci* 2013;33(8):3545–56.

- [41] Cabeza JM, Acosta J, Ales E. Mechanisms of granule membrane recapture following exocytosis in intact mast cells. *J Biol Chem* 2013;288(28):20293–305.
- [42] Ceridono M, Ory S, Momboise F, Chasserot-Golaz S, Houy S, Calco V, et al. Selective recapture of secretory granule components after full collapse exocytosis in neuroendocrine chromaffin cells. *Traffic* 2011;12(1):72–88.
- [43] Pastorelli C, Veiga J, Charles N, Voignier E, Moussu H, Monteiro RC, et al. IgE receptor type I-dependent tyrosine phosphorylation of phospholipid scramblase. *J Biol Chem* 2001;276(23):20407–12.
- [44] Kassas A, Moura IC, Yamashita Y, Scheffel J, Guerin-Marchand C, Blank U, et al. Regulation of the tyrosine phosphorylation of phospholipid scramblase 1 in mast cells that are stimulated through the high-affinity IgE receptor. *PLoS One* 2014;9(10):e109800.
- [45] Amir-Moazami O, Alexia C, Charles N, Launay P, Monteiro RC, Benhamou M. Phospholipid scramblase 1 modulates a selected set of IgE receptor-mediated mast cell responses through LAT-dependent pathway. *J Biol Chem* 2008;283(37):25514–23.
- [46] Pastorelli C, Veiga J, Charles N, Voignier E, Moussu H, Monteiro R, et al. Phospholipid scramblase, a new effector of FcεpsilonRI signaling in mast cells. *Mol Immunol* 2002;38(16–18):1235–8.
- [47] Parravicini V, Gadina M, Kovarova M, Odom S, Gonzalez-Espinosa C, Furumoto Y, et al. Fyn kinase initiates complementary signals required for IgE-dependent mast cell degranulation. *Nat Immunol* 2002;3(8):741–8.
- [48] Yamashita Y, Charles N, Furumoto Y, Odom S, Yamashita T, Gilfillan AM, et al. Cutting edge: genetic variation influences FcεpsilonRI-induced mast cell activation and allergic responses. *J Immunol* 2007;179(2):740–3.
- [49] Zhou Q, Zhao J, Wiedmer T, Sims PJ. Normal hemostasis but defective hematopoietic response to growth factors in mice deficient in phospholipid scramblase 1. *Blood* 2002;99(11):4030–8.
- [50] Suzuki J, Umeda M, Sims PJ, Nagata S. Calcium-dependent phospholipid scrambling by TMEM16F. *Nature* 2010;468(7325):834–8.
- [51] Suzuki J, Fujii T, Imao T, Ishihara K, Kuba H, Nagata S. Calcium-dependent phospholipid scramblase activity of TMEM16 protein family members. *J Biol Chem* 2013;288(19):13305–16.
- [52] Suzuki J, Denning DP, Imanishi E, Horvitz HR, Nagata S. Xk-related protein 8 and CED-8 promote phosphatidylserine exposure in apoptotic cells. *Science* 2013;341(6144):403–6.
- [53] Chen CW, Sowden M, Zhao Q, Wiedmer T, Sims PJ. Nuclear phospholipid scramblase 1 prolongs the mitotic expansion of granulocyte precursors during G-CSF-induced granulopoiesis. *J Leukoc Biol* 2011;90(2):221–33.
- [54] Chen Y, Hui H, Yang H, Zhao K, Qin Y, Gu C, et al. Wogonoside induces cell cycle arrest and differentiation by affecting expression and subcellular localization of PLSCR1 in AML cells. *Blood* 2013;121(18):3682–91.
- [55] Huang Y, Zhao Q, Zhou CX, Gu ZM, Li D, Xu HZ, et al. Antileukemic roles of human phospholipid scramblase 1 gene, evidence from inducible PLSCR1-expressing leukemic cells. *Oncogene* 2006;25(50):6618–27.
- [56] Kasukabe T, Okabe-Kado J, Honma Y. TRA1, a novel mRNA highly expressed in leukemogenic mouse monocytic sublines but not in nonleukemogenic sublines. *Blood* 1997;89(8):2975–85.
- [57] Nakamaki T, Okabe-Kado J, Yamamoto-Yamaguchi Y, Hino K, Tomoyasu S, Honma Y, et al. Role of MmTRA1b/phospholipid scramblase 1 gene expression in the induction of differentiation of human myeloid leukemia cells into granulocytes. *Exp Hematol* 2002;30(5):421–9.
- [58] Zhang K, Guo QL, You QD, Yang Y, Zhang HW, Yang L, et al. Wogonin induces the granulocytic differentiation of human NB4 promyelocytic leukemia cells and up-regulates phospholipid scramblase 1 gene expression. *Cancer Sci* 2008;99(4):689–95.
- [59] Zhao KW, Li X, Zhao Q, Huang Y, Li D, Peng ZG, et al. Protein kinase Cdelta mediates retinoic acid and phorbol myristate acetate-induced phospholipid scramblase 1 gene expression: its role in leukemic cell differentiation. *Blood* 2004;104(12):3731–8.
- [60] Cui W, Li SY, Du JF, Zhu ZM, An P. Silencing phospholipid scramblase 1 expression by RNA interference in colorectal cancer and metastatic liver cancer. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012;11(4):393–400.
- [61] Kasukabe T, Kobayashi H, Kaneko Y, Okabe-Kado J, Honma Y. Identity of human normal counterpart (MmTRA1b) of mouse leukemogenesis-associated gene (MmTRA1a) product as plasma membrane phospholipid scramblase and chromosome mapping of the human MmTRA1b/phospholipid scramblase gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;249(2):449–55.
- [62] Kuo YB, Chan CC, Chang CA, Fan CW, Hung RP, Hung YS, et al. Identification of phospholipid scramblase 1 as a biomarker and determination of its prognostic value for colorectal cancer. *Mol Med* 2011;17(1–2):41–7.
- [63] Silverman RH, Halloum A, Zhou A, Dong B, Al-Zoghaibi F, Kushner D, et al. Suppression of ovarian carcinoma cell growth in vivo by the interferon-inducible plasma membrane protein, phospholipid scramblase 1. *Cancer Res* 2002;62(2):397–402.
- [64] Yokoyama A, Yamashita T, Shiozawa E, Nagasawa A, Okabe-Kado J, Nakamaki T, et al. MmTRA1b/phospholipid scramblase 1 gene expression is a new prognostic factor for acute myelogenous leukemia. *Leuk Res* 2004;28(2):149–57.
- [65] Dong B, Zhou Q, Zhao J, Zhou A, Harty RN, Bose S, et al. Phospholipid scramblase 1 potentiates the antiviral activity of interferon. *J Virol* 2004;78(17):8983–93.
- [66] Gong Q, Cheng M, Chen H, Liu X, Si Y, Yang Y, et al. Phospholipid scramblase 1 mediates hepatitis C virus entry into host cells. *FEBS Lett* 2011;585(17):2647–52.
- [67] Kusano S, Eizuru Y. Human phospholipid scramblase 1 interacts with and regulates transactivation of HTLV-1 Tax. *Virology* 2012;432(2):343–52.
- [68] Kusano S, Eizuru Y. Interaction of the phospholipid scramblase 1 with HIV-1 Tat results in the repression of Tat-dependent transcription. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;433(4):438–44.
- [69] Metz P, Dazert E, Ruggieri A, Mazur J, Kaderali L, Kaul A, et al. Identification of type I and type II interferon-induced effectors controlling hepatitis C virus replication. *Hepatology* 2012;56(6):2082–93.
- [70] Py B, Basmaciogullari S, Bouchet J, Zarka M, Moura IC, Benhamou M, et al. The phospholipid scramblases 1 and 4 are cellular receptors for the secretory leukocyte protease inhibitor and interact with CD4 at the plasma membrane. *PLoS One* 2009;4(3):e5006.
- [71] Tufail Y, Cook D, Fourgeaud L, Powers CJ, Merten K, Clark CL, et al. Phosphatidylserine exposure controls viral innate immune responses by microglia. *Neuron* 2017;93(3):574–86.
- [72] Yang J, Zhu X, Liu J, Ding X, Han M, Hu W, et al. Inhibition of hepatitis B virus replication by phospholipid scramblase 1 in vitro and in vivo. *Antiviral Res* 2012;94(1):9–17.
- [73] Lizak M, Yarovinsky TO. Phospholipid scramblase 1 mediates type I interferon-induced protection against staphylococcal alpha-toxin. *Cell Host Microbe* 2012;11(1):70–80.
- [74] Talukder AH, Bao M, Kim TW, Facchinetti V, Hanabuchi S, Bover L, et al. Phospholipid scramblase 1 regulates toll-like receptor 9-mediated type I interferon production in plasmacytoid dendritic cells. *Cell Res* 2012;22(7):1129–39.
- [75] Nanjundan M, Sun J, Zhao J, Zhou Q, Sims PJ, Wiedmer T. Plasma membrane phospholipid scramblase 1 promotes EGF-dependent activation of c-Src through the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 2003;278(39):37413–8.
- [76] Sun J, Nanjundan M, Pike LJ, Wiedmer T, Sims PJ. Plasma membrane phospholipid scramblase 1 is enriched in lipid rafts and interacts with the epidermal growth factor receptor. *Biochemistry* 2002;41(20):6338–45.
- [77] Wiedmer T, Zhao J, Nanjundan M, Sims PJ. Palmitoylation of phospholipid scramblase 1 controls its distribution between nucleus and plasma membrane. *Biochemistry* 2003;42(5):1227–33.
- [78] Zhou Q, Ben-Efraim I, Bigas JL, Junqueira D, Wiedmer T, Sims PJ. Phospholipid scramblase 1 binds to the promoter region of the inositol 1,4,5-triphosphate receptor type 1 gene to enhance its expression. *J Biol Chem* 2005;280(41):35602–8.
- [79] Posada IM, Busto JV, Goni FM, Alonso A. Membrane binding and insertion of the predicted transmembrane domain of human scramblase 1. *Biochim Biophys Acta* 2014;1838(1 Pt B):388–97.
- [80] Kantari C, Pederzoli-Ribeil M, Amir-Moazami O, Gausson-Dorey V, Moura IC, Lecomte MC, et al. Proteinase 3, the Wegener autoantigen, is externalized during neutrophil apoptosis: evidence for a functional association with phospholipid scramblase 1 and interference with macrophage phagocytosis. *Blood* 2007;110(12):4086–95.

- [81] Merregaert J, Van Langen J, Hansen U, Ponsaerts P, El Ghalbzouri A, Steenackers E, et al. Phospholipid scramblase 1 is secreted by a lipid raft-dependent pathway and interacts with the extracellular matrix protein 1 in the dermal epidermal junction zone of human skin. *J Biol Chem* 2010;285(48):37823–37.
- [82] Kassas-Guediri A, Coudrat J, Pacreau E, Launay P, Monteiro RC, Blank U, et al. Phospholipid scramblase 1 amplifies anaphylactic reactions in vivo. *PLoS One* 2017;12(3):e0173815.