



Disponible en ligne sur
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

Revue française d'allergologie xxx (2014) xxx–xxx

REVUE FRANÇAISE
D'**Allergologie**

Mise au point

Les médiateurs du mastocyte

Mast cell mediators

U. Blank ^{a,*,b,c}, J. Vitte ^{d,e,*}

^a Inserm UMRS 1149, 75018 Paris, France

^b CNRS ERL8252, 75018 Paris, France

^c Laboratoire d'excellence Inflamex, université Paris-Diderot, Sorbonne Paris Cité, 75018 Paris, France

^d Laboratoire d'immunologie, hôpital de la Conception, Assistance publique–Hôpitaux de Marseille, 13005 Marseille, France

^e Inserm UMR 1067/CNRS UMR 7333, faculté de médecine de Marseille, Aix-Marseille université, 13009 Marseille, France

Reçu le 27 mai 2014 ; accepté le 14 octobre 2014

Résumé

Les mastocytes sont des cellules résidentes des tissus, notamment d'interface, dotées d'un très riche contenu granulaire. Considérées en 1878 par leur découvreur, Paul Ehrlich, comme des cellules nourricières, il a fallu attendre les années 1950 pour comprendre leur implication dans le déclenchement des symptômes d'hypersensibilité immédiate et les années 2000 pour commencer à entrevoir leur rôle plus général dans la réponse immunitaire. Nous présentons ici une brève synthèse des connaissances actuelles sur les médiateurs que les mastocytes peuvent libérer dans le milieu extracellulaire et sur les mécanismes de fusion membranaire qui régissent ces processus.

© 2014 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Mastocyte ; Médiateurs inflammatoires ; Exocytose ; Granules sécrétoires ; Cytokines

Abstract

Mast cells are resident cells, mostly found in interface tissues. They are endowed with a rich granular contents that led their discoverer, Paul Ehrlich, to hypothesize on their nutritional role. Although the first description of mast cells dated back to 1878, their effector role in immediate type hypersensitivity was not uncovered until 1950, while their more general role in immune functions were largely unknown until 2000. In the present review, we will summarize the current understanding of exocytosed mast cell mediators, together with the mechanisms of membrane fusion that govern the degranulation/exocytosis process.

© 2014 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Mast cell; Inflammatory mediators; Exocytosis; Secretory granules; Cytokines

1. Introduction

Les mastocytes sont des cellules tissulaires qui appartiennent à la branche innée du système immunitaire. Leur origine hématopoïétique est certaine, mais leur ontogénie reste inconnue, avec deux hypothèses majeures : un précurseur commun

avec la lignée myéloïde [1] ou, compte tenu des similitudes morphologiques et fonctionnelles et de l'existence d'ancêtres communs chez les urochordés, avec les basophiles [2]. Chez les mammifères actuels, les mastocytes sont particulièrement prépondérants dans les tissus en interface avec l'environnement : peau, bronches, tube digestif, muqueuses génitales, en lien avec leur rôle de sentinelle. Souvent on les trouve à proximité des vaisseaux sanguins ou encore des terminaisons nerveuses. Ces dernières années ont vu les mastocytes gagner leurs lettres de noblesse immunologique et passer du statut de cellule effectrice de l'allergie à celui de régulateur de nombreux processus

* Auteurs correspondants.

Adresses e-mail : ulrich.blank@inserm.fr (U. Blank), Joana.Vitte@ap-hm.fr (J. Vitte).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.reval.2014.10.002>

1877-0320/© 2014 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

immunitaires allant de l'initiation de la réponse immune contre les agents pathogènes jusqu'à la résolution de l'inflammation [3,4]. Des rôles non immunitaires du mastocyte ont également été décrits, comme par exemple leur intervention dans les phénomènes nociceptifs par interaction avec les terminaisons nerveuses [5] ou leur contribution aux pathologies coronaires et cardiovasculaires [6]. Cependant, ces avancées n'ont pas (encore) modifié la hiérarchie des fonctions mastocytaires ayant des applications directes en médecine humaine : le mastocyte reste pour l'instant surtout connu en tant que cellule effectrice et régulatrice de l'hypersensibilité immédiate suite au déclenchement de sa dégranulation après son activation via le récepteur de haute affinité pour les IgE (RFcεI). À l'inverse, la participation du mastocyte aux phases tardives du processus inflammatoire allergique [7] via la libération de médiateurs lipidiques, tels que certaines leucotriènes et prostaglandines ou encore via la synthèse et la sécrétion de différentes cytokines et chimiokines reste incomplètement connue. À ce titre, nous nous intéresserons dans cette mise au point aux médiateurs mastocytaires.

Les mastocytes et les basophiles sont les seules cellules exprimant la forme complète tétramérique ($\alpha\beta\gamma_2$) du RFcεI, alors que dans d'autres types cellulaires le récepteur est exprimé en l'absence de chaîne β ($\alpha\gamma_2$) [8,9]. La chaîne β amplifie la capacité de signalisation [10]. À la suite d'une stimulation induite par l'agrégation des IgE liées au RFcεI lors de l'introduction d'allergènes multivalents, les médiateurs préformés sont les premiers à être libérés dans les minutes qui suivent la stimulation suite à la dégranulation. La seconde vague, survenant 15 à 30 min après la stimulation, est celle des médiateurs lipidiques synthétisés à partir des phospholipides membranaires. La troisième vague est différée de plusieurs heures, puisqu'elle nécessite la synthèse de novo et induction de cytokines, chimiokines et facteurs de croissance [9,11]. La Fig. 1 présente de manière synthétique les trois vagues de sécrétion de médiateurs mastocytaires.

L'organisation temporelle en trois vagues correspond à une compartimentation spatiale et régulatrice finement régulée, qui réunit les conditions nécessaires pour que le mastocyte mène ses actions biologiques et physiologiques de manière efficace et sans léser les tissus environnants. Il s'agit donc d'une cellule effectrice et régulatrice capable d'exercer un large éventail de fonctions en adéquation avec son environnement [12,13].

2. Médiateurs mastocytaires préformés

Les mastocytes partagent avec d'autres cellules hématopoïétiques (granulocytes neutrophiles, éosinophiles, basophiles) la propriété de contenir dans leur cytoplasme de nombreux granules sécrétoires qui, après une activation appropriée, libèrent un large spectre de médiateurs inflammatoires apparentés, mais pas identiques. Ces effecteurs sont isolés du reste du cytoplasme par des membranes qui délimitent les granules, dont l'aspect, la forme, le pH, l'abondance, la composition et les fonctions sont adaptés à la finalité de la cellule qui les contient. Tant que la cellule qui renferme ces granules n'a pas reçu le signal capable d'activer les mécanismes de signalisation intracellulaire qui conduisent spécifiquement à la mobilisation des granules,

ces organelles restent au repos et leur contenu n'est pas libéré. La nature du signal mettant en jeu les granules varie selon le type cellulaire considéré. Dans le cas du mastocyte, il s'agit classiquement de l'activation déclenchée par l'agrégation des RFcεI membranaires via l'interaction entre les IgE qu'ils portent et les allergènes correspondants, mais en réalité cet effet peut être obtenu aussi avec d'autres stimuli comme les anaphylatoxines, des neuropeptides, des produits microbiens, cytokiniques, ou encore des venins [14].

Lors de l'activation, la manière dont les granules sont utilisés varie également d'un type cellulaire à l'autre. Par exemple, l'activation du neutrophile conduit principalement à la fusion des granules contenant des médiateurs préformés avec les vacuoles contenant des microorganismes phagocytés : à la suite de cette fusion, le contenu toxique, le pH acide et l'activation des enzymes de la réponse oxydative aboutissent à la destruction des agents pathogènes. Dans le cas du neutrophile, le contenu granulaire ne doit pas être relargué à l'extérieur de la cellule, car dans le cas contraire il provoquerait des lésions tissulaires potentiellement sévères. Cependant, des dysfonctionnements existent et les effets délétères du contenu granulaire des neutrophiles peuvent contribuer aux dégâts tissulaires et vasculaires qui accompagnent les processus inflammatoires chroniques [15].

À l'inverse, les granules sécrétoires du mastocyte sont programmés pour libérer leur contenu à l'extérieur de la cellule, de manière rapide et massive. En effet, presque 100 % du contenu granulaire peut être libéré dans un seul événement de stimulation permettant un effet biologique maximal. La diffusion des médiateurs mastocytaires préformés à travers les tissus environnants est responsable des symptômes d'hypersensibilité de type immédiat, locaux ou systémiques.

Les granules sécrétoires des mastocytes sont de grande taille : 0,5 à 1 micromètres, alors que le diamètre d'un mastocyte est de 8 à 20 micromètres [16]. Leur contenu est complexe et inclut des molécules simples (amines biogènes comme l'histamine), des enzymes, notamment des protéases propres au mastocyte (tryptase, chymase, carboxypeptidase A), des protéoglycanes (héparine), des cytokines et chimiokines (TNFα, IL-8, MCP-1), des protéoglycanes (héparine, dérivés de serglycine), etc. (Tableau 1). Pour une liste complète de médiateurs libérés par le mastocyte voir aussi [17].

La libération de leur contenu est contrôlée en principe à l'étape de fusion membranaire entre les granules et la membrane plasmique [18,19]. Classiquement, la dégranulation induite via l'agrégation des complexes allergène-IgE-RFcεI comporte la translocation des granules sécrétoires à travers le cytoplasme et le long des microtubules vers la membrane plasmique, suivie par la fusion membranaire entre le granule et la membrane plasmique. La fusion membranaire entre un granule et la membrane plasmique peut revêtir deux aspects :

- fusion directe entre la membrane du granule et la membrane plasmique, avec formation d'un « pore » et libération du contenu granulaire dans l'espace extracellulaire (fusion primaire) ;
- fusion entre la membrane du granule et la membrane de granules situés en aval, dont le plus proche de la membrane

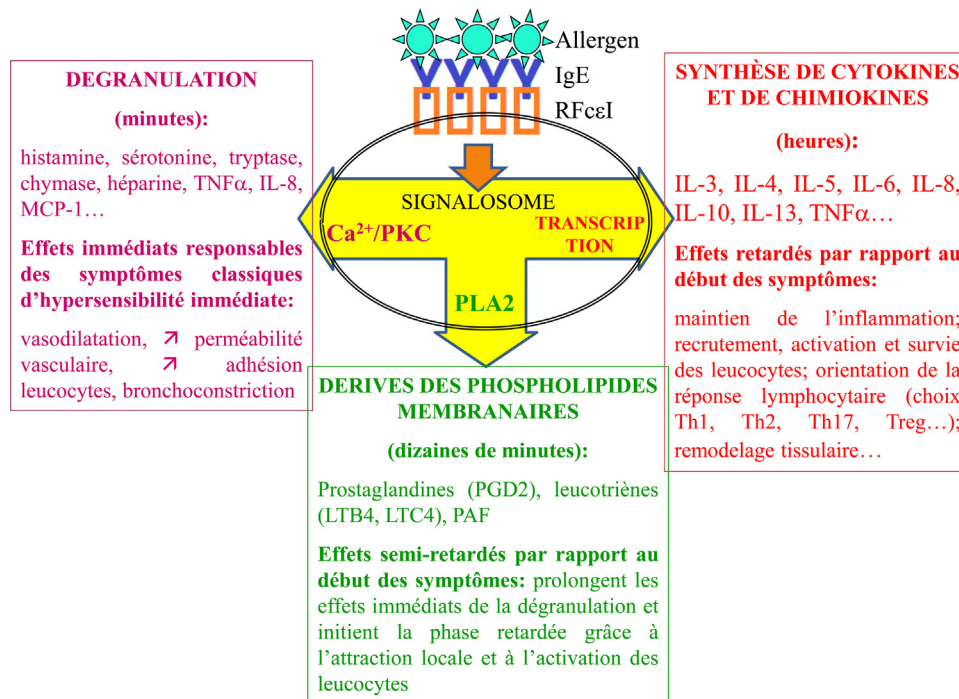


Fig. 1. Cinétique de relargage des médiateurs mastocytaires. La dégranulation (phase immédiate) est suivie par la production de métabolites de l'acide arachidonique et l'induction de la synthèse de cytokines et de chimiokines, conduisant aux phases retardées, avec afflux et activation in situ de leucocytes et risque de transition vers l'inflammation allergique chronique. PKC : protéine kinase C ; PLA2 : phospholipase A2.

plasmique a déjà fusionné avec celle-ci (exocytose composée ou cumulative). Il se forme alors de véritables canaux intracellulaires de grande taille, permettant à des granules même profondément enfouis dans le cytoplasme de voir leur contenu relargué dans l'espace extracellulaire, avec une remarquable économie d'événements de fusion granule–membrane plasmique. L'exocytose composée augmente considérablement la capacité du mastocyte à dégranuler : des granules profondément enfouis dans le cytoplasme pourraient ainsi libérer leur contenu sans translocation à la membrane plasmique [20–22].

Il existe cependant des situations dans lesquelles le contenu granulaire est bel et bien relargué dans l'espace extracellulaire, mais sans phénomène de fusion membranaire identifiable. Dans ce cas, la dégranulation est objectivée par la détection des médiateurs libérés et par la modification d'aspect des granules, qui deviennent optiquement vides en microscopie. Ce phénomène, dont la physiologie reste inconnue, a reçu l'appellation de *piecemeal degranulation*, traduite par « dégranulation à l'emporte-pièce » [18].

Les étapes de fusion membranaire granule–membrane plasmique et granule–granule dans le mastocyte sont accomplies par des protéines SNARE (*soluble N-ethylamide attachment protein receptor*), très conservées chez les organismes eucaryotes mais soumises à une régulation très fine suivant le type cellulaire et le processus physiologique considéré [18]. Nous présentons l'état actuel de ces connaissances pour le mastocyte dans la Section 5 de cet article.

3. Médiateurs mastocytaires synthétisés à partir des phospholipides membranaires

L'activation de la phospholipase A2 conduit à la synthèse par cette enzyme, à partir des phospholipides membranaires, de deux précurseurs des médiateurs lipidiques : l'acide arachidonique et le lysoPAF [23]. Les voies de biosynthèse des éicosanoïdes et du PAF sont schématisées dans la Fig. 2.

L'acide arachidonique est un acide gras à chaîne longue (20 atomes de carbone), oméga-6-polyinsaturé. Son importance en immunologie vient du fait qu'il est le précurseur des éicosanoïdes (prostaglandines, leucotriènes et lipoxines) qui jouent des rôles majeurs dans l'inflammation et se retrouvent ainsi impliqués dans de nombreuses réponses tissulaires. Dans le mastocyte, les éicosanoïdes produits au cours de l'activation dépendante des IgE sont les leucotriènes B4 et C4 (chimiotactisme, vasoconstriction, nociception), la prostaglandine D2 (vasoconstriction, nociception, orientation Th2) et le thromboxane A2 (vasoconstriction, coagulation).

Le lysoPAF est le précurseur direct du PAF, un vasodilatateur et bronchoconstricteur ainsi qu'un activateur des plaquettes, des neutrophiles et des mastocytes, avec au total des effets pro-inflammatoires puissants. Il a aussi été impliqué dans les phénomènes d'anaphylaxie dépendants des neutrophiles ou basophiles mettant en jeu l'activation cellulaire par des IgG [24].

Une fois synthétisés sur le versant intracellulaire de la membrane plasmique, les médiateurs lipidiques sont pris en charge par des transporteurs transmembranaires afin de gagner l'espace extracellulaire [23,25].

Tableau 1
Médiateurs mastocytaires préformés.

Catégorie biochimique	Exemples	Rôle physiopathologique
Amines biogènes	Histamine	Principal moteur physiopathologique des symptômes immédiats d'hypersensibilité par ses effets de vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire, bronchoconstriction
	Sérotonine	Vasoconstriction, nociception
Enzymes	Tryptase	Sérine-protéases spécifiques du mastocyte, fortement basiques, aux multiples effets :
	Chymase	dégradation de la matrice extracellulaire, effets pro-inflammatoires, nociception
	Carboxypeptidase A	
	Granzyme B	Sérine protéase cytotoxique inducteur d'apoptose
	Cathepsines C, D, E	Protéases pléiomorphes : pro-inflammatoires, pro-apoptotiques, activatrices des sérine-protéases
	Métalloprotéinases	Dégradation de la matrice extracellulaire
	Kininogénases	Conversion des kininogènes en kinines
	Peroxydases	Détoxication de formes réactives de l'oxygène ; effet antibactérien
	Phospholipases	Production de dérivés des phospholipides
	Procaspases	Effet pro-apoptotique
	Arylsulfatases	Lyse des glucosaminoglycanes sulfatés
	NO synthase	Production d'oxyde nitreux
Médiateurs peptidiques	Bradykinines	Vasodilatation, augmentation de la perméabilité vasculaire, bronchoconstriction, nociception, activation mastocytaire
	Somatostatine	Effets sur le système nerveux central, l'appareil digestif, le système endocrinien
	Substance P	Vasodilatation, nociception, activation mastocytaire
Cytokines, chimiokines et facteurs de croissance	TNF α	Cytokine pro-inflammatoire majeure
	IL-8 (CXCL8)	Chimio-attraction et préactivation des neutrophiles, effet moindre sur les mastocytes
	MCP-1 (CCL2)	Chimio-attraction et préactivation des monocytes, lymphocytes T mémoire, cellules dendritiques
	MCP-3 (CCL7)	Chimio-attraction des monocytes
	MCP-4 (CCL13)	Chimio-attraction des monocytes, éosinophiles, basophiles, lymphocytes T
	RANTES (CCL5)	Chimio-attraction des éosinophiles, basophiles et lymphocytes T
	IL-17 (ou IL17A)	Cytokine impliquée dans de nombreuses pathologies inflammatoires et auto-immunes
	IL-25 (ou IL17E)	Cytokine appartenant à la famille IL-17 jouant un rôle dans l'activation de la réponse Th2
	IL-33	Cytokine appartenant à la superfamille d'IL-1 qui joue un rôle dans l'activation de Th2, basophiles et mastocytes à produire des cytokines de type Th2. Agit également comme amplificateur ou inhibiteur de production de cytokines par le mastocyte suivant le temps de stimulation.
	TSLP	Cytokine avec des effets multiples sur différentes cellules du système hématopoïétique incluant la promotion de la réponse Th2
Protéoglycanes	VEGF (<i>vascular endothelial growth factor</i>)	Angiogenèse, réparation tissulaire
	Héparine et héparane sulfate	Stabilisateur des tétramères de tryptase ; possible rôle antibactérien ; l'effet anticoagulant ne semble pas être le principal rôle physiologique de l'héparine, mais plutôt celui de l'héparane sulfate
	Acide hyaluronique	Non dégradé : composant de la matrice cellulaire support de migration cellulaire.
	Chondroïtine sulfate	Dégradé : interaction avec des récepteurs <i>toll-like</i> et effet pro-inflammatoire

Pris ensemble, les médiateurs lipidiques mastocytaires marquent une séquence intermédiaire, appelée parfois « phase semi-retardée », dans la réponse à la stimulation allergénique. Faisant suite à la dégranulation des médiateurs préformés, l'efflux de médiateurs lipidiques contribue à pérenniser les effets de cette dernière sur les vaisseaux et les muscles lisses et à renforcer l'effet d'attraction des leucocytes vers le foyer de dégranulation et de préactivation (*priming*). De cette manière, l'afflux local de leucocytes et la mise en place de la réaction inflammatoire offrent le terrain d'action à la troisième vague, résultant de l'induction de la transcription et de la traduction des cytokines.

4. Médiateurs mastocytaires de la phase retardée

Quelques heures après la stimulation mastocytaire, une troisième vague de médiateurs est produite par ces cellules. Son expression différée est due à ce qu'elle est constituée de cytokines, chimiokines et facteurs de croissance qui sont produits de novo [18]. Néanmoins, le mastocyte a aussi la capacité de stocker un certain nombre de cytokines sous une forme préformée dans les granules cytoplasmiques permettant une libération rapide de certains de ces produits. Nous y reviendrons ci-dessous.

La synthèse de novo implique une signalisation qui comprend l'action sur les gènes de ces médiateurs, suivie par la synthèse

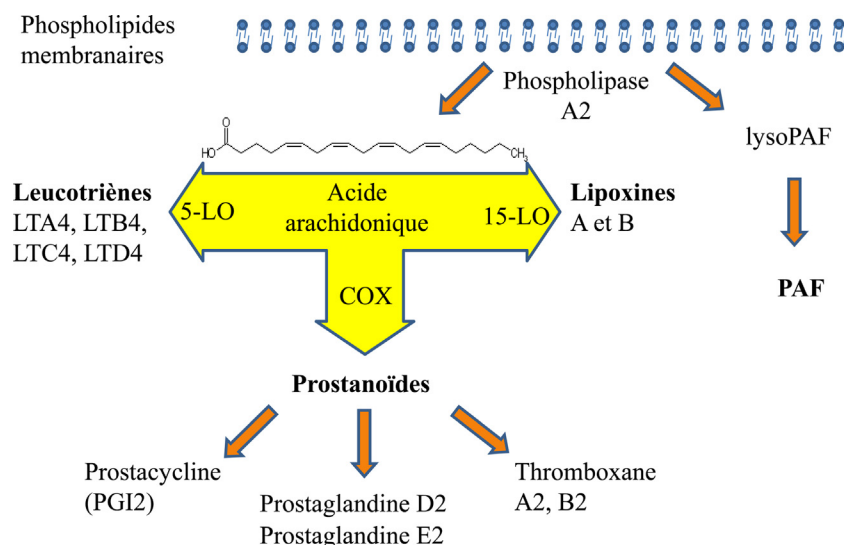


Fig. 2. Représentation simplifiée des voies de biosynthèse des éicosanoïdes et du PAF. L'acide arachidonique dérivé à partir des phospholipides membranaires sous l'action de la phospholipase A2 peut emprunter une des trois voies majeures, conduisant respectivement aux leucotriènes, aux prostanoïdes (prostaglandines et thromboxanes) et aux lipoxines. En même temps que l'acide arachidonique, la phospholipase A2 engendre du lysoPAF, précurseur du PAF. COX : cyclo-oxygénase (COX-1 : enzyme constitutive ; COX-2 : enzyme inducible par le TNF α et autres médiateurs pro-inflammatoires) ; LO : lipo-oxygénase ; PAF : platelet activating factor.

d'ARN messagers (transcription), l'épissage et le transfert de ces ARN messagers vers le cytoplasme, leur traduction en peptides par les ribosomes et dans le réticulum endoplasmique rugueux, suivi par la maturation protéique dans l'appareil de Golgi, avant empaquetage dans des vésicules de sécrétion et exocytose dans le milieu extracellulaire.

Par ce processus, le mastocyte produit des médiateurs qui vont accompagner la phase retardée de la réaction d'hypersensibilité à travers ses étapes successives [17] : des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF α , l'IL-1, l'IL-6, l'IL-17 ; des cytokines qui vont orienter la réponse immunitaire vers la branche Th2 (IL-4) et plus généralement vers des réponses allergiques et/ou le recrutement, l'activation et la survie des éosinophiles et des basophiles, comme l'IL-3, l'IL-5, l'IL-9 et l'IL-13, l'IL-25, l'IL-33 et la *thymic stromal lymphopoietin* (TSLP) ; on note également la production d'interféron gamma (IFN γ), qui est associé aux réponses de type Th1 et dont la présence ici contribuera à une réponse lymphocytaire délétère associée à des lésions tissulaires. La production d'IL-10, cytokine dite « régulatrice » car son rôle est de modérer et limiter les réponses immunitaires, et de TGF- β , facteur de réparation tissulaire, est également documentée [26]. Le mastocyte produit également de nombreuses chimiokines impliquées dans le recrutement d'autres cellules effectrices de la réponse inflammatoire comme le CCL2 (MCP-1), CCL5 (RANTES) ou le CXCL8 (IL-8) régulant respectivement le recrutement de monocytes, d'éosinophiles et de neutrophiles. Ainsi le mastocyte, traditionnellement confiné à la physiopathologie de l'allergie, se révèle capable d'orchestrer et de participer à de nombreuses autres réactions inflammatoires. Enfin, le mastocyte produit des facteurs de croissance comme le *stem cell factor* (SCF), ou kit) qui est son propre facteur de survie, le VEGF (angiogénèse), le *basic-fibroblast growth factor* (b-FGF) pour la reconstitution de la matrice extracellulaire [26]. Une régulation très fine de

la quantité et de la chronologie de cette production de cytokines est observée, sans doute impliquant des mécanismes de rétrocontrôle à partir de l'environnement du mastocyte. Cependant, les détails de cette régulation restent incompris, expliquant probablement les résultats parfois contradictoires obtenus avec des modèles expérimentaux différents (homme/animal, lignées murines différentes, conditions de stimulation différentes, types de mastocytes différents). Il est en effet important de noter à ce point de notre exposé que la réponse cytokinique du mastocyte dépasse très largement la phase retardée de la réaction d'hypersensibilité : elle joue un rôle majeur dans les fonctions immunitaires au sens large du mastocyte, comme la défense contre les agents infectieux, les mécanismes de réparation ou encore la réponse antitumorale [27,28].

Nous souhaitons également attirer l'attention du lecteur sur le fait que le mastocyte est une des rares cellules inflammatoires capable de libérer certaines cytokines en deux phases distinctes. En effet, il peut les sécréter à la fois :

- à partir des sources préformées dans les granules et donc agissant précocement dès l'étape de dégranulation ;
- synthétisées de novo par induction de la transcription et de la traduction. Le TNF est indiscutablement dans cette situation ; le cas de l'IL-4 est plus controversé, les publications relativement anciennes rapportant la mise en évidence de cette cytokine essentielle pour l'orientation Th2 de la réponse immunitaire en amont n'étant pas confirmées par des études plus récentes.

De plus, certains stimuli favorisent la production de cytokines/chimiokines en absence d'une réponse de dégranulation, comme c'est par exemple le cas pour le TLR2 et le TLR4 [29], l'IL-1 [30], l'IL-33 [31] ou encore le TSLP [32]. De manière intéressante, alors que la stimulation de ces récepteurs favorise

une réponse pro-inflammatoire à court terme, certains de ces stimuli peuvent conduire aussi à une réponse anti-inflammatoire après stimulation prolongée. Ainsi l'incubation d'un mastocyte avec l'IL-33 pendant plus de 72 h provoque un phénotype hyporépondeur du mastocyte [33] ou une tolérance à l'endotoxine [34] dans le cas du TLR4, suggérant de nouvelles approches thérapeutiques.

Dans le cas des médiateurs de la phase retardée, le mécanisme de la libération dans l'espace extracellulaire est encore peu connu. Il pourrait s'agir d'une exocytose classique, de type « exocytose constitutive » des médiateurs protéiques (cytokines, chimiokines et facteurs de croissance), soumis à un contrôle transcriptionnel et de fusion membranaire [18,35,36]. Au fur et à mesure de leur production, ces protéines sont transportées par des vésicules de sécrétion de petite taille (moins de 80 nanomètres) issues du complexe de Golgi et du compartiment endosomal vers la membrane plasmique, le long des microtubules. Fait intéressant, bien que le mécanisme général de fusion membranaire entre ces vésicules et la membrane plasmique réponde au modèle général impliquant les protéines SNARE, il diffère de celui impliqué dans la dégranulation par certains protagonistes moléculaires, ce qui permet probablement la régulation différentielle de ces deux types d'exocytose [18,36].

5. Mécanismes moléculaires de l'exocytose dans le mastocyte : dégranulation versus sécrétion de cytokines

Alors que les étapes précoces de signalisation ont déjà été décrites en détail depuis de nombreuses années [37], les voies tardives contrôlant la dégranulation ont été étudiées plus tardivement avec l'identification d'effecteurs de la fusion membranaire dans les mastocytes. Cette fusion implique les protéines SNARE initialement caractérisées dans les neurones et impliquées dans la transmission synaptique [18,19]. Les SNARE contiennent plusieurs familles de protéines, localisées sur des membranes opposées et destinées à être fusionnées. Elles contiennent toutes dans leur séquence un motif d'environ 60 acides aminés capable de former un complexe multimoléculaire très stable catalysant la fusion par le rapprochement des membranes. Des protéines régulatrices, incluant par exemple les senseurs de calcium synaptotagmine II [38] et la complexine [39] ou encore la protéine Munc18-2 [40,41] contrôlent la formation du complexe SNARE et la fusion membranaire [42]. Les protéines régulatrices peuvent agir à des points de contrôle spécifiques en amont de la fusion granulaire ; ainsi, dans les mastocytes, Munc 18-2 est nécessaire à la translocation des granules sécrétoires le long des microtubules vers la membrane plasmique, mais n'intervient pas dans la sécrétion de cytokines [41]. La synaptotagmine et la complexine interviennent dans les dernières étapes de la fusion pour stabiliser la liaison SNARE (complexine) et pour déclencher la fusion (synaptotagmine). D'autres protéines comme les petites protéines G de type Rab3D [43,44] ainsi qu'une kinase associée Rak3D [45] et les isoformes a et b de Rab27 [46,47] jouent également un rôle régulateur des mécanismes de fusion. Les protéines impliquées dans les phénomènes de fusion membranaire sont particulièrement bien conservées sur le plan phylogénétique.

On distingue parmi les protéines SNARE les v-SNARE (vésiculaires), parmi lesquelles on trouve les *vesicle-associated membrane proteins* (VAMP) ou synaptobrevines, et les *target*, membrane d'adressage (t-SNARE) [48]. Un complexe d'amarrage membranaire SNARE est ainsi typiquement constitué de trois protéines : une syntaxine et une *synaptosomal associated protein* (SNAP) sur la membrane plasmique se lie à une synaptobrevine ou VAMP sur la membrane vésiculaire [48]. La fusion membranaire est couplée au repliement des protéines SNARE (processus exergonique) ; le dépliement, qui permettra la participation à un nouveau cycle de fusion membranaire, est catalysé par une ATP-ase spécialisée, le *N-ethylmaleimide sensitive factor* (NSF).

Le caractère thermodynamiquement favorisé de la fusion membranaire impose un contrôle très efficace de son déclenchement. La spécificité des réactions de fusion est obtenue en variant les combinaisons de protéines SNARE selon le type cellulaire et la nature des membranes impliquées [21,48]. L'intégration physiologique de la fusion est assurée par des régulateurs moléculaires incomplètement connus. Parmi ceux-ci, les complexines et les synaptotagmines déjà citées préviennent la fusion spontanée tout en maintenant les complexes trans-SNARE dans un état pré-activé [38,39].

Dans le mastocyte, la fusion membranaire au moment de la dégranulation fait intervenir SNAP-23, la syntaxine 4 ou la syntaxine 3 [18,41]. Plusieurs protéines de la famille VAMP sont exprimées par le mastocyte, mais seul VAMP-8 colocalise de manière importante avec les granules sécrétoires [49]. Nous avons identifié VAMP-8 comme participant à l'exocytose des granules sécrétoires du mastocyte [35]. Ces données obtenues *in vivo* chez des souris *knock-out* pour VAMP-8 sont corroborées par des travaux *in vitro* utilisant l'inhibition fonctionnelle (*knock-down*) par des ARN inhibiteurs de VAMP-8 [50]. Même si la colocalisation avec les granules sécrétoires est moins importante que pour VAMP-8 [49] d'autres protéines VAMP pourraient également intervenir, comme par exemple VAMP-7 et VAMP-2, suggérant que la fusion est un mécanisme redondant [18].

De plus, VAMP-8 est spécifiquement associé à la dégranulation et ne joue pas de rôle dans la sécrétion des médiateurs de type cytokines et chimiokines de la phase tardive [35]. Ce résultat est très intéressant dans la mesure où il apporte des informations précises sur la ségrégation de la dégranulation des médiateurs préformés par rapport à la libération de cytokines et chimiokines néosynthétisées.

6. Conclusion

Les mastocytes possèdent un appareil granulaire complexe et finement régulé leur permettant d'adapter la chronologie, la composition et la quantité de leurs réponses d'exocytose aux stimulations reçues. Si de grands progrès ont été accomplis au cours des deux dernières décennies dans la description des médiateurs mastocytaires, de larges zones d'ombre persistent autour des mécanismes de transport et fusion granulaire et de leur régulation. La connaissance de ces mécanismes pourrait faire émerger de nouvelles approches thérapeutiques

des maladies allergiques. En effet, aux côtés des mécanismes IgE-dépendantes, d'autres voies d'activation inflammatoire fonctionnent dans le mastocyte, engageant de nombreux récepteurs à sa surface et des cascades de signalisation complexes en aval. La connaissance des mécanismes de signalisation tardive permettra de cibler des voies de signalisation communes à plusieurs récepteurs, voire de cibler plus spécifiquement la dégranulation mastocytaire sans affecter les propriétés immunorégulatrices du mastocyte. Notre équipe, impliquée dans le projet européen COST BM1007 et le réseau Européen Mast Cell and Basophil Research Network (EMBRN ; <http://www.embrn.eu>), ainsi que dans des collaborations avec les équipes historiques américaines et asiatiques, prend une part active dans la mise à jour des mécanismes de fusion granulaire et de leur régulation.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Remerciements

Nous souhaitons remercier la Société française d'allergologie pour son soutien à nos activités de recherche.

Références

- [1] Dahlin JS, Hallgren J. Mast cell progenitors: origin, development and migration to tissues. *Mol Immunol* 2015;63(1):9–17, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2014.01.018> [Epub ahead of print].
- [2] Voehringer D. Protective and pathological roles of mast cells and basophils. *Nat Rev Immunol* 2013;13:362–75.
- [3] Kumar V, Sharma A. Mast cells: emerging sentinel innate immune cells with diverse role in immunity. *Mol Immunol* 2010;48:14–25.
- [4] St John AL, Abraham SN. Innate immunity and its regulation by mast cells. *J Immunol* 2013;190:4458–63.
- [5] Chatterjea D, Martinov T. Mast cells: versatile gatekeepers of pain. *Mol Immunol* 2015;63(1):38–44, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2014.03.001> [Epub ahead of print].
- [6] Alevizos M, Karagkouni A, Panagiotidou S, Vasiadi M, Theoharides TC. Stress triggers coronary mast cells leading to cardiac events. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2014;112:309–16.
- [7] Galli S, CS L. Allergy. In: Paul W, editor. *Fundamental Immunology*. 4th ed. Philadelphia: Lipincott-Raven; 1999. p. 1137–84.
- [8] Miller L, Blank U, Metzger H, Kinet JP. Expression of high-affinity binding of human immunoglobulin E by transfected cells. *Science* 1989;244:334–7.
- [9] Blank U. The mechanisms of exocytosis in mast cells. *Adv Exp Med Biol* 2011;716:107–22.
- [10] Dombrowicz D, Lin S, Flamand V, Brini AT, Koller BH, Kinet JP. Allergy-associated FcRbeta is a molecular amplifier of IgE- and IgG-mediated in vivo responses. *Immunity* 1998;8:517–29.
- [11] Blank U, Rivera J. The ins and outs of IgE-dependent mast-cell exocytosis. *Trends Immunol* 2004;25:266–73.
- [12] Theoharides TC, Kempuraj D, Tagen M, Conti P, Kalogeromitos D. Differential release of mast cell mediators and the pathogenesis of inflammation. *Immunol Rev* 2007;217:65–78.
- [13] Hammel I, Meilijson I. The stealthy nano-machine behind mast cell granule size distribution. *Mol Immunol* 2015;63(1):45–54, <http://dx.doi.org/10.1016/j.molimm.2014.02.005> [Epub ahead of print].
- [14] Azouz NP, Zur N, Efergan A, Ohbayashi N, Fukuda M, Amihai D, et al. Rab5 is a novel regulator of mast cell secretory granules: impact on size, cargo, and exocytosis. *J Immunol* 2014;192:4043–53.
- [15] Vitte J, Michel BF, Bongrand P, Gastaut JL. Oxidative stress level in circulating neutrophils is linked to neurodegenerative diseases. *J Clin Immunol* 2004;24:683–92.
- [16] Schulman ES, Kagey-Sobotka A, MacGlashan Jr DW, Adkinson Jr NF, Peters SP, Schleimer RP, et al. Heterogeneity of human mast cells. *J Immunol* 1983;131:1936–41.
- [17] Galli SJ, Nakae S, Tsai M. Mast cells in the development of adaptive immune responses. *Nat Immunol* 2005;6:135–42.
- [18] Lorentz A, Baumann A, Vitte J, Blank U. The SNARE. Machinery in mast cell secretion. *Front Immunol* 2012;3:143.
- [19] Vitte J, Claver J, Blank U. Régulation de la dégranulation mastocytaire. *Rev Fr Allergol* 2012;52:340–4.
- [20] Nishida K, Yamasaki S, Ito Y, Kabu K, Hattori K, Tezuka T, et al. Fc{epsilon}RI-mediated mast cell degranulation requires calcium-independent microtubule-dependent translocation of granules to the plasma membrane. *J Cell Biol* 2005;170:115–26.
- [21] Pang ZP, Sudhof TC. Cell biology of Ca2+-triggered exocytosis. *Curr Opin Cell Biol* 2010;22:496–505.
- [22] Behrendorff N, Dolai S, Hong W, Gaisano HY, Thorn P. Vesicle-associated membrane protein 8 (VAMP8) is a SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) selectively required for sequential granule-to-granule fusion. *J Biol Chem* 2011;286:29627–34.
- [23] Boyce JA. Mast cells and eicosanoid mediators: a system of reciprocal paracrine and autocrine regulation. *Immunol Rev* 2007;217:168–85.
- [24] Jonsson F, Mancardi DA, Kita Y, Karasuyama H, Iannascoli B, Van Rooijen N, et al. Mouse and human neutrophils induce anaphylaxis. *J Clin Invest* 2011;121:1484–96.
- [25] Loe DW, Almquist KC, Deeley RG, Cole SP. Multidrug resistance protein (MRP)-mediated transport of leukotriene C4 and chemotherapeutic agents in membrane vesicles. Demonstration of glutathione-dependent vincristine transport. *J Biol Chem* 1996;271:9675–82.
- [26] Kalesnikoff J, Galli SJ. New developments in mast cell biology. *Nat Immunol* 2008;9:1215–23.
- [27] Beghdadi W, Madjene LC, Benhamou M, Charles N, Gautier G, Launay P, et al. Mast cells as cellular sensors in inflammation and immunity. *Front Immunol* 2011;2:37.
- [28] Ribatti D. Mast cells and macrophages exert beneficial and detrimental effects on tumor progression and angiogenesis. *Immunol Lett* 2013;152:83–8.
- [29] Marshall JS. Mast-cell responses to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2004;4:787–99.
- [30] Kandere-Grzybowska K, Letourneau R, Kempuraj D, Donelan J, Poplawski S, Boucher W, et al. IL-1 induces vesicular secretion of IL-6 without degranulation from human mast cells. *J Immunol* 2003;171:4830–6.
- [31] Andrade MV, Iwaki S, Ropert C, Gazzinelli RT, Cunha-Melo JR, Beaven MA. Amplification of cytokine production through synergistic activation of NFAT and AP-1 following stimulation of mast cells with antigen and IL-33. *Eur J Immunol* 2011;41:760–72.
- [32] Allakhverdi Z, Comeau MR, Jessup HK, Yoon BR, Brewer A, Chartier S, et al. Thymic stromal lymphopoietin is released by human epithelial cells in response to microbes, trauma, or inflammation and potently activates mast cells. *J Exp Med* 2007;204:253–8.
- [33] Jung MY, Smrz D, Desai A, Bandara G, Ito T, Iwaki S, et al. IL-33 induces a hyporesponsive phenotype in human and mouse mast cells. *J Immunol* 2013;190:531–8.
- [34] Medina-Tamayo J, Ibarra-Sánchez A, Padilla-Trejo A, Gonz-alez-Espinosa C. IgE-dependent sensitization increases responsiveness to LPS but does not modify development of endotoxin tolerance in mast cells. *Inflamm Res* 2011;60:19–27.
- [35] Tiwari N, Wang CC, Brochetta C, Ke G, Vita F, Qi Z, et al. VAMP-8 segregates mast cell-preformed mediator exocytosis from cytokine trafficking pathways. *Blood* 2008;111:3665–74.
- [36] Stow JL, Low PC, Offenhauser C, Sangermani D. Cytokine secretion in macrophages and other cells: pathways and mediators. *Immunobiology* 2009;214:601–12.
- [37] Benhamou M, Blank U. Stimulus-secretion coupling by high-affinity IgE receptor: new developments. *FEBS Lett* 2010;584:4941–8.

- [38] Melicoff E, Sansores-Garcia L, Gomez A, Moreira DC, Datta P, Thakur P, et al. Synaptotagmin-2 controls regulated exocytosis but not other secretory responses of mast cells. *J Biol Chem* 2009;284:19445–51.
- [39] Tadokoro S, Nakanishi M, Hirashima N, Complexin II. regulates degranulation in RBL-2H3 cells by interacting with SNARE complex containing syntaxin-3. *Cell Immunol* 2010;261:51–6.
- [40] Martin-Verdeaux S, Pombo I, Iannascoli B, Roa M, Varin-Blank N, Rivera J, et al. Analysis of Munc18-2 compartmentation in mast cells reveals a role for microtubules in granule exocytosis. *J Cell Sci* 2003;116:325–34.
- [41] Brochetta C, Suzuki R, Vita F, Soranzo MR, Claver J, Madjene LC, et al. Munc18-2 and syntaxin 3 control distinct essential steps in mast cell degranulation. *J Immunol* 2014;192:41–51.
- [42] Blank U, Cyprien B, Martin-Verdeaux S, Paumet F, Pombo I, Rivera J, et al. SNAREs and associated regulators in the control of exocytosis in the RBL-2H3 mast cell line. *Mol Immunol* 2002;38:1341–5.
- [43] Roa M, Paumet F, Lemao J, David B, Blank U. Involvement of the ras-like GTPase rab3d in RBL-2H3 mast cell exocytosis following stimulation via high affinity IgE receptors (Fc epsilon RI). *J Immunol* 1997;159:2815–23.
- [44] Coppola T, Perret-Menoud V, Gattesco S, Magnin S, Pombo I, Blank U, et al. The death domain of Rab3 guanine nucleotide exchange protein in GDP/GTP exchange activity in living cells. *Biochem J* 2002;362(Pt 2):273–9.
- [45] Pombo I, Martin-Verdeaux S, Iannascoli B, Le Mao J, Deriano L, Rivera J, et al. IgE receptor type I-dependent regulation of a Rab3D-associated kinase: a possible link in the calcium-dependent assembly of SNARE complexes. *J Biol Chem* 2001;276:42893–900.
- [46] Mizuno K, Tolmachova T, Ushakov DS, Romao M, Abrink M, Ferenczi MA, et al. Rab27b regulates mast cell granule dynamics and secretion. *Traffic* 2007;8:883–92.
- [47] Azouz NP, Matsui T, Fukuda M, Sagi-Eisenberg R. Decoding the regulation of mast cell exocytosis by networks of Rab GTPases. *J Immunol* 2012;189:2169–80.
- [48] Sudhof TC, Rizo J. Synaptic vesicle exocytosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3(12).
- [49] Paumet F, Le Mao J, Martin S, Galli T, David B, Blank U, et al. Soluble NSF attachment protein receptors (SNAREs) in RBL-2H3 mast cells: functional role of syntaxin 4 in exocytosis and identification of a vesicle-associated membrane protein 8-containing secretory compartment. *J Immunol* 2000;164:5850–7.
- [50] Puri N, Roche PA. Mast cells possess distinct secretory granule subsets whose exocytosis is regulated by different SNARE isoforms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:2580–5.