

La sensibilisation passive in vitro du basophile humain : un modèle expérimental pour l'étude de la fixation cellulaire des IgE in vivo

A. WEYER *, M.T. GUINNEPAIN **, B. DAVID *

RÉSUMÉ

Après une revue générale des connaissances actuelles sur les IgE, le basophile humain et ses récepteurs spécifiques pour les IgE, les auteurs décrivent les modalités expérimentales de la sensibilisation passive in vitro du basophile humain par des IgE sériques ou de myélome. Les caractéristiques des réactions de libération d'histamine par les cellules ainsi sensibilisées sont ensuite analysées. Dans la conclusion, l'importance de ce modèle expérimental pour la recherche des facteurs naturels ou synthétiques influençant les interactions IgE-basophiles est discutée dans le cadre d'hypothèses thérapeutiques.

SUMMARY

Sensitization of the human basophil: an experimental model for the study of the in vivo IgE sensitization. — At first a general review is given of the recent knowledge on IgE, the human basophil and its IgE receptors. Then the authors describe the methodology of the in vitro passive sensitization of human basophils with serum or myeloma IgE. The features of the histamine release patterns of such sensitized cells are described. The importance of this in vitro model is stressed for the study of natural or synthetic factors influencing the IgE fixation on the basophil membrane and therapeutical approaches are evoked.

BASOPHILE, HISTAMINE ET IgE

Au cours des vingt dernières années, les travaux effectués dans le domaine de l'hypersensibilité immédiate ou de l'anaphylaxie ont souligné le rôle majeur de médiateurs libérés après stimulation des leucocytes sensibilisés. Ces médiateurs sont à l'origine de la réaction inflammatoire qui provoque les symptômes allergiques. En effet, après exposition à un allergène, on constate une augmentation considérable de la concentration de ces médiateurs au niveau du sérum ou d'autres liquides extracellulaires, parallèlement aux manifestations cliniques d'allergie. L'histamine est un des médiateurs impliqués dans la physiopathologie de l'allergie : administrée à faibles doses, localement ou par voie générale, elle induit des réactions inflammatoires semblables à celles que l'on observe lors des phénomènes d'hypersensibilité

immédiate. Le rôle de l'histamine dans la modulation de différentes activités lymphocytaires a été revu récemment par Beer et Rocklin [2].

En 1941, Katz et Cohen [26] observent que l'incubation in vitro de leucocytes, provenant du sang de malades polliniques, avec un extrait de pollen, provoque une libération d'histamine dans le milieu, alors que les leucocytes de donneurs non allergiques au pollen ne conduisent pas à ce résultat. Plus précisément, Graham et coll. [14] montrent que ce sont les polynucléaires basophiles du sang périphérique et les mastocytes tissulaires qui constituent chez l'homme les sources principales d'histamine. Pruzansky et Patterson [40] ont rapporté que la réexposition du basophile d'un allergique à l'allergène sensibilisant est suivie d'une dégranulation non cytotytique, mais privant cette cellule de sa coloration caractéristique avec les colorants basophiles.

* Unité d'Immuno-Allergie, Institut Pasteur, Paris.

** Unité d'Allergologie, Hôpital Pasteur, Paris.

Tirés à part : Dr A. Weyer, Unité d'Immuno-Allergie, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur-Roux, 75724 PARIS CEDEX 15.

Reçu le 17 juin 1987. Accepté le 26 novembre 1987.

WEYER A., GUINNEPAIN M.T., DAVID B. — La sensibilisation passive in vitro du basophile humain : un modèle expérimental pour l'étude de la fixation cellulaire des IgE in vivo. *Rev. fr. Allergol.*, 1988, 28 (1), 7-16.

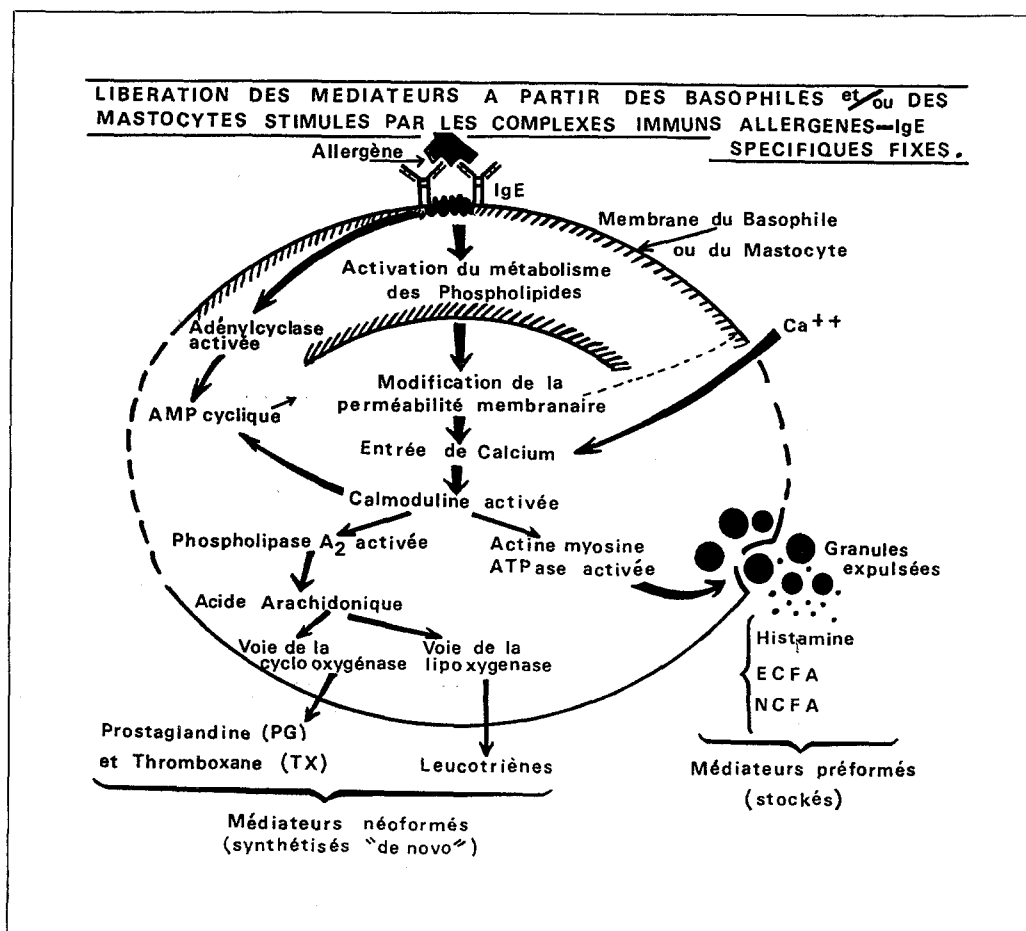


Fig. 1. — Evénements membranaires et enzymatiques participant à la dégranulation du basophile/mastocyte [10].

Par ailleurs, des expériences effectuées chez l'animal puis chez l'homme montrent qu'il existe, dans le sang d'organismes sensibilisés à un allergène, des substances appelées alors anticorps réaginis, capables de conférer passivement après injection locale à un organisme non sensibilisé une réaction d'anaphylaxie. Ishizaka et coll. [16], puis Johansson et coll. en 1968 [25] découvrent une nouvelle classe d'immunoglobulines, les IgE, qui sont le support moléculaire de ces phénomènes provoqués d'anaphylaxie passive. Des études ultérieures généralisent le rôle des IgE, établissant une forte corrélation entre la présence de manifestations allergiques et celle d'IgE spécifiques des allergènes sensibilisants.

Le mécanisme même par lequel les IgE confèrent une activité réaginique ou anaphylactique au niveau des cellules basophiles a été peu à peu élucidé : Ishizaka et coll. [17] ont mis en évidence l'existence sur les basophiles de récepteurs membranaires spécifiques et de haute affinité pour la partie Fc_ϵ des IgE. Weichman et Muccitelli [46] ainsi que Pruzansky [39] ont constaté que les

récepteurs Fc_ϵ (RFC_ϵ) des atopiques et des donneurs normaux fixent les IgE avec la même affinité. Le nombre moyen des RFC_ϵ par basophile, ainsi que l'occupation de ces récepteurs par des IgE sont corrélés avec la concentration des IgE sériques [31, 43]. Tout individu, même non allergique, possède de tels RFC_ϵ à la surface de ses cellules basophiles. De nombreux travaux [13, 22, 28, 30] ont ensuite montré que l'interaction d'un allergène multivalent ou d'anti-IgE avec des IgE spécifiques de cet allergène, préalablement fixées sur le basophile ou le mastocyte, déclenche un rapprochement des récepteurs suivi d'une séquence d'événements enzymatiques membranaires conduisant à la dégranulation de la cellule avec libération dans le milieu de médiateurs préformés et stockés (par exemple : l'histamine) et de médiateurs néoformés, tels que prostaglandines et leucotriènes.

La figure 1 [10] donne le résumé de la vue actuelle sur un basophile/mastocyte dégranulant, avec les activations enzymatiques au niveau de la membrane cellulaire.

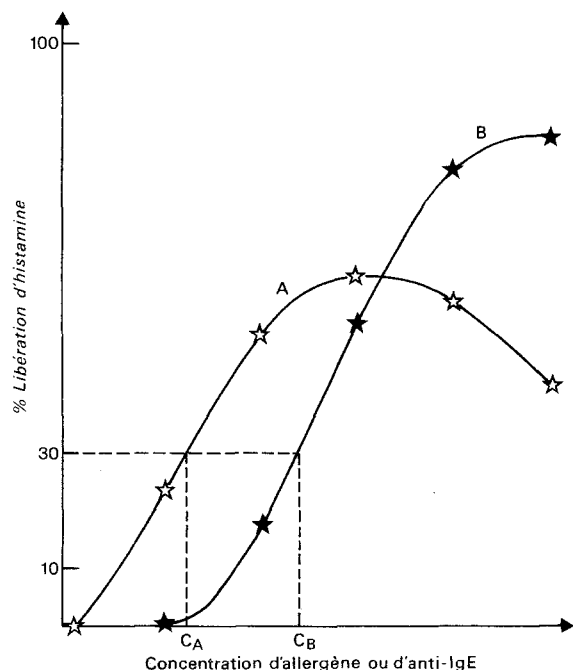


Fig. 2. — Aspect d'une courbe d'histamino-libération en fonction de doses croissantes d'allergène ou d'anti-IgE pour deux malades A et B. Détermination graphique des sensibilités cellulaires (C_A , C_B ou $1/C_A$ et $1/C_B$).

LIBÉRATION D'HISTAMINE PAR LE BASOPHILE IN VITRO

Sensibilité cellulaire

L'histamino-libération met donc en jeu le triplet : basophile, IgE, allergène. L'interaction de celui-ci ou d'anti-IgE au niveau de l'IgE membranaire de cette cellule-cible déclenche la dégranulation du basophile avec libération de médiateurs, dont l'histamine. L'expérience de base in vitro consiste à étudier la libération d'histamine (rapportée à la quantité maximale d'histamine contenue dans les basophiles) en fonction de la concentration d'allergène ou d'anti-IgE. Pour chaque individu existe une concentration minimale d'allergène ou d'anti-IgE, un seuil à partir duquel se produit la libération d'histamine. On choisit de définir la *sensibilité cellulaire* d'un malade vis-à-vis d'un allergène par la concentration ou l'inverse de la concentration (fig. 2) d'allergène induisant un taux défini de libération d'histamine. Souvent une valeur comprise entre 10 et 30 p. cent de libération du médiateur est choisie pour définir ce paramètre.

Depuis qu'il a été établi qu'il existe une relation entre la sensibilité cellulaire et l'intensité des symptômes chez l'homme (fig. 3 et 4) [29, 33], les

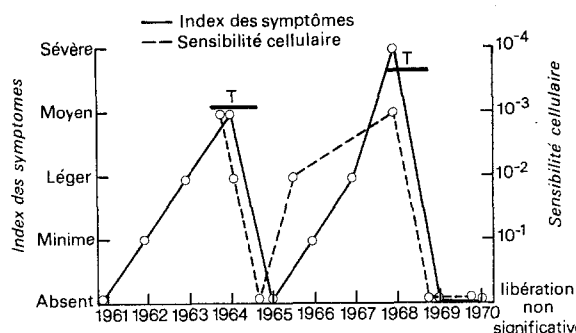


Fig. 3. — Corrélation entre l'index des symptômes et la sensibilité cellulaire exprimée comme la quantité minimale d'allergène (μg) induisant 30 p. cent de libération d'histamine chez un malade sensible à Ambrosia. T : traitement de désensibilisation. (D'après Melam et coll. [33]).

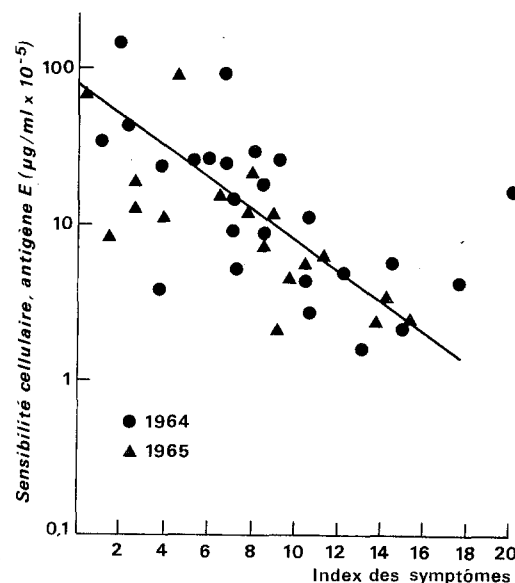


Fig. 4. — Corrélation entre sensibilité cellulaire vis-à-vis de l'antigène E d'Ambrosia et index des symptômes chez un groupe de polliniques ($N = 42$: coefficient de Spearman Rank = 0,74 ; $p < 0,01$). (D'après Lichtenstein et coll. [29]).

paramètres biochimiques et immunologiques régissant la sensibilité cellulaire des basophiles ont fait l'objet d'études approfondies.

IgE membranaires et sensibilité cellulaire du basophile sensibilisé

Un axe récent d'études consiste à analyser le lien pouvant exister entre la densité cellulaire des IgE membranaires et la sensibilité cellulaire des basophiles. A ce sujet, des résultats contradictoires sont publiés dans la littérature [7, 18, 28, 42, 51]. Les discordances observées sont probablement dues au fait que les échantillons cellulaires provenaient de donneurs présentant un passé immunologique et des caractéristiques bio-

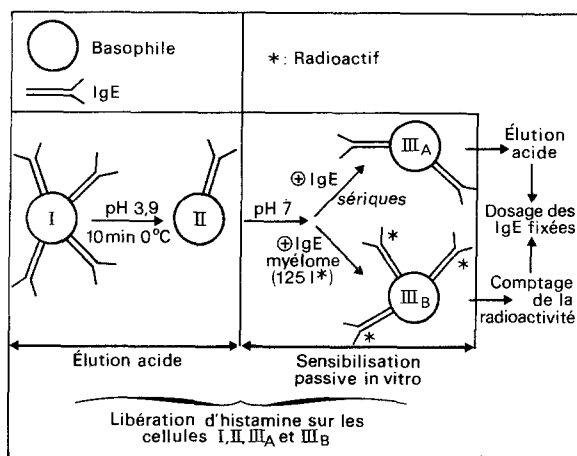


Fig. 5. — Méthode expérimentale pour l'éluion partielle des IgE, puis la sensibilisation passive du basophile humain [38, 49].

chimiques différents. Il s'ensuit que pour étudier ce lien entre IgE membranaires et sensibilité cellulaire, il nous a paru nécessaire de travailler sur les leucocytes d'un même donneur, en cherchant à fixer in vitro sur les basophiles des quantités variables d'IgE (sensibilisation passive in vitro).

Les travaux antérieurs sur la sensibilisation du basophile humain étaient rendus difficiles par le fait que les donneurs ont peu de récepteurs Fc_ε libres à la surface de ces cellules [27] et que les techniques d'éluion des IgE présentes sur la membrane diminuaient la viabilité cellulaire [21].

Méthodologie expérimentale de la sensibilisation passive in vitro du basophile humain

Depuis peu, cette méthodologie est réalisable sur tous les donneurs [38] et il est actuellement possible d'enlever une partie des IgE initialement présentes à la surface des basophiles puis de fixer de nouvelles IgE de spécificité connue, provenant de sérums ou de myélomes [48, 49]. Brièvement, la méthodologie expérimentale mise au point (fig. 5) consiste à traiter à pH 3,9 les leucocytes du sang périphérique afin d'enlever la majorité des IgE membranaires. Ces leucocytes sont ensuite mis à pH neutre en présence d'IgE sériques ou d'IgE de myélome marqué à ¹²⁵I. Le basophile ainsi sensibilisé in vitro peut être analysé quant à sa capacité d'histamino-libération en relation avec la quantité d'IgE présentes à sa surface. Sur un aliquot des cellules ainsi sensibilisées, nous avons déterminé la quantité d'IgE présentes sur les basophiles, soit après une seconde éluion acide des IgE (cas des IgE sériques), soit directement sur le culot cellulaire (cas des IgE ¹²⁵I).

SENSIBILISATION PASSIVE IN VITRO DU BASOPHILE

Fixation des IgE sériques

Nous avons analysé les caractéristiques de la réponse d'histamino-libération induite par l'anti-IgE ou par un allergène spécifique à partir de basophiles sensibilisés in vitro, soit par des sérums différents, soit par un même sérum utilisé à des concentrations différentes.

Les résultats de la figure 6 A montrent que par sensibilisation passive les basophiles peuvent acquérir une sensibilité à un antigène qui antérieurement ne faisait pas dégranuler ces cellules. Dans cette expérience, le sérum utilisé pour la sensibilisation est riche en IgE spécifiques de l'allergène majeur de *Dermatophagoides farinae* (Der f I ou Df 11) [9].

Les sensibilisations de basophiles réalisées en présence de différentes concentrations d'un même sérum entraînent d'abord une sensibilité croissante des cellules vis-à-vis de l'anti-IgE et ensuite une diminution de la réponse de libération d'histamine (fig. 6 B) montrant ainsi la présence dans le sérum de facteurs interférant avec la fixation des IgE ou influençant la capacité biochimique de la réponse cellulaire. Cette observation a mené à un développement expérimental essayant de mieux caractériser ce phénomène d'inhibition. D'autre part, la courbe témoin correspondant à un aliquot de cellules traitées à pH 3,9 montre qu'il reste après ce traitement une faible quantité d'IgE à la surface des basophiles qui ainsi réagissent encore en présence d'anti-IgE. Des expériences ultérieures ont montré que, dans les conditions expérimentales utilisées, l'éluion acide enlève 90 p. cent des IgE membranaires.

In vivo, les sérums des malades allergiques diffèrent quant à leurs concentrations relatives en IgE totales et spécifiques, proportions qui peuvent d'ailleurs se modifier chez un même malade au cours de l'évolution ou du traitement de la maladie. Afin de créer une situation expérimentale plus proche de cette réalité physiologique, nous avons réalisé des expériences avec des pools de sérums présentant des rapports IgE spécifiques/IgE totales différents. Ainsi, des aliquots cellulaires d'un même donneur ont été sensibilisés en présence de ces pools de sérums présentant des rapports IgE spécifiques anti-Der f I/IgE totales différents. L'utilisation de tels pools met à l'abri de variations expérimentales qui seraient dues à des facteurs sériques individuels influençant la sensibilisation. Les concentrations en IgE totales et spécifiques de ces pools de sérums sont regroupées dans le tableau I. Les basophiles sensibilisés par ces pools de sérums ont été analysés en histamino-libération vis-à-vis de l'anti-IgE (fig. 7 A) et de l'antigène

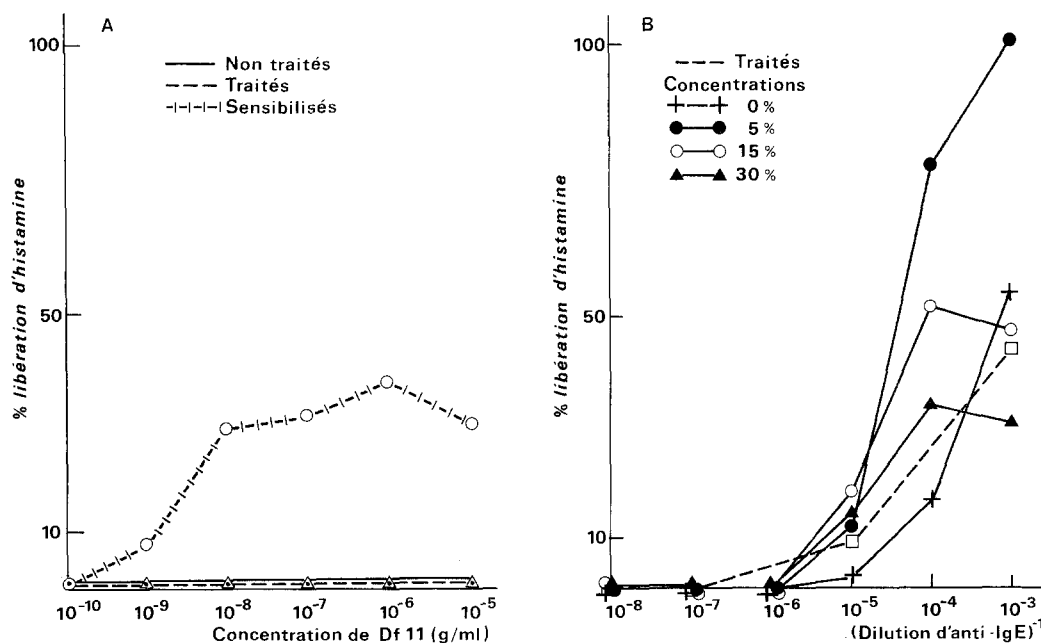


Fig. 6

A : courbes doses-réponses de basophiles non traités, traités à pH 3,9 pour l'éluat des IgE et sensibilisés in vitro par un sérum contenant des IgE spécifiques de Der f 1 (ou Df 11).

B : courbes doses-réponses de basophiles traités à pH 3,9 puis sensibilisés par un même sérum (3 700 ng IgE/ml) à différentes concentrations.

D. farinae (fig. 7 B). D'autre part, les quantités d'IgE membranaires totales et spécifiques ont été mesurées sur des aliquots cellulaires traités à pH 3,9 pour éluer les IgE (tableau II).

En ce qui concerne la réponse d'histamino-libération à l'anti-IgE des cellules (fig. 7 A), on remarque que la sensibilité cellulaire est la plus élevée pour les basophiles sensibilisés avec le sérum I, dont le taux en IgE est le plus important. Vis-à-vis de l'allergène Der f I (fig. 7 B), on observe des sensibilités cellulaires voisines lorsque l'expérience a été réalisée avec les sérums II et IV, ayant la même concentration en IgE anti-Der f I bien qu'il existe des concentrations différentes en IgE totales. Dans ces conditions, le taux le plus élevé en IgE totales pour le sérum II n'exerce pas d'effet de compétition pour les IgE spécifiques du même sérum. Le sérum I, de concentration élevée en IgE totales et spécifiques, confère aux basophiles une sensibilité cellulaire accrue en présence de Der f I. En comparant les cellules sensibilisées avec les sérums II et III, on peut noter que la sensibilité cellulaire à Der f I est d'autant plus grande que le rapport IgE spécifiques/IgE totales dans les sérums est plus élevé pour un même taux d'IgE totales.

Les résultats des IgE membranaires (moyenne de 3 expériences sur 3 donneurs différents) ont été

TABLEAU I. — Concentrations en IgE spécifiques et IgE totales des pools de sérums sensibilisants (expériences de la fig. 7)

Pool de sérums sensibilisant	Concentration en IgE totales (UI/ml)	Concentration en IgE spécifiques Df 11 (unités arbitraires)
Sérum I	1 550	70
Sérum II	280	17
Sérum III	290	7
Sérum IV	120	19

TABLEAU II. — Quantités d'IgE spécifiques et d'IgE totales dans les éluats acides des cellules sensibilisées (expériences de la fig. 7)

Eluats acides des cellules sensibilisées par des pools de sérums	Nombre de molécules d'IgE par basophile	IgE spécifiques Df 11 par basophile (unités arbitraires)
Sérum I	227 000	1 650
Sérum II	88 000	1 050
Sérum III	98 500	850
Sérum IV	68 300	1 350

résumés dans le tableau II. La confrontation des tableaux I-II et des figures 7 A-7 B montre qu'il existe une corrélation positive entre les taux en IgE totales et spécifiques des pools utilisés et la quantité d'IgE fixées sur les basophiles. D'autre

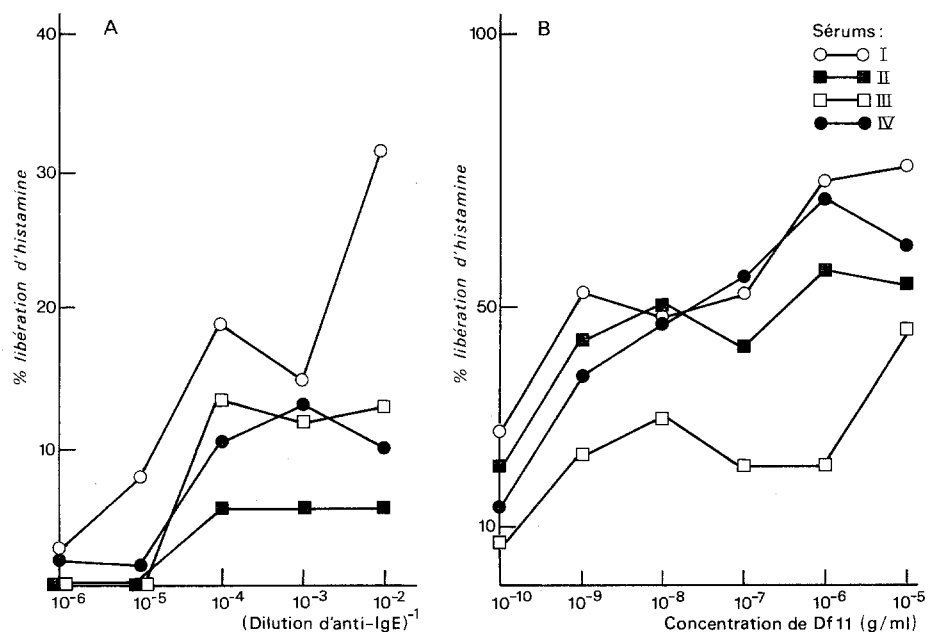


Fig. 7. — Courbes doses-réponses de basophiles traités à pH 3,9 puis sensibilisés par les pools de sérums I, II, III et IV (voir tableau I).

Histamino-libération en présence d'anti-IgE (A) et en présence de Der f I ou Df 11 (B).

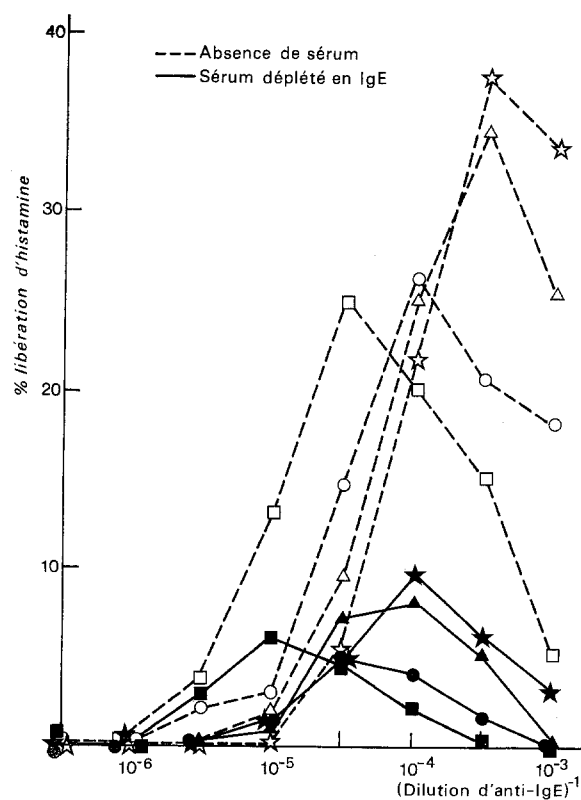


Fig. 8. — Courbes doses-réponses à l'anti-IgE des cellules traitées à pH 3,9 pour éluer les IgE, puis sensibilisées in vitro avec l'IgE

	Sensibilisation		IgE (molécules) par basophile
	[IgE] (ng/ml)	Sérum	
☆	0	—	ND
★	0	+	ND
△	60	—	3200
▲	60	+	2000
○	300	—	15600
●	300	+	9200
□	3000	—	58400
■	3000	+	53700

de myélome marquée à ¹²⁵I. Sensibilisation en absence de sérum et en présence de sérum déplété en IgE. ND : non mesuré.

part, la sensibilité cellulaire augmente en fonction de la quantité d'IgE fixée sur la membrane.

Un autre fait d'observation concerne l'allure des courbes d'histamino-libération. Au cours d'expériences précédentes [47], nous avons noté, ainsi que d'autres auteurs [11], les aspects particuliers des courbes bimodales avec deux maxima pour certains malades allergiques. Cette même observation est notée lorsqu'on utilise des cellules sensibilisées in vitro mises en présence de doses croissantes d'allergène ou d'anti-IgE. Il apparaît que les basophiles portant beaucoup d'IgE totales sur leur membrane présentent un caractère bimodal (courbes correspondant aux sérums I, II et III, fig. 7), contrairement à ceux qui ont une faible densité d'IgE membranaire ayant un caractère monomodal (sérum IV). La théorie du caractère bimodal de la courbe de libération d'histamine a été discutée dans les travaux de Delisi et Siraganian [11] et de Weyer et coll. [47].

Fixation des IgE de myélome. Modulation par des facteurs sériques

Certains auteurs [38] ont remarqué que l'intensité de la réaction d'histamino-libération sur basophile humain pouvait être diminuée lorsque le sérum sensibilisant était utilisé à des concentrations supérieures à 30 p. cent. Nous avons également remarqué au cours des expériences décrites précédemment une inhibition de l'histamino-libération en fonction des doses croissantes de sérums sensibilisants (fig. 6 B). Afin de réaliser des expériences concernant l'influence de facteurs sériques sur la sensibilisation passive, nous avons entrepris l'étude de la fixation d'IgE de myélome humain en présence et en absence d'un pool de sérums d'allergiques épuisés en IgE. La quantité d'IgE par basophile a été déterminée en utilisant l'IgE marquée à ^{125} I et la réponse d'histamino-libération est mesurée en présence d'anticorps monoclonal de souris anti-IgE humaine [4]. Les résultats ont confirmé le lien entre la concentration-seuil d'anti-IgE déclenchant la libération d'histamine et la densité en IgE membranaires. De plus, nous avons remarqué que, là également, des facteurs sériques modifient la fixation et la réactivité biologique des IgE (fig. 8). Ces effets sériques sur la sensibilisation in vitro peuvent être attribués à une diminution de la capacité des basophiles à libérer de l'histamine, soit par l'inactivation fonctionnelle de l'IgE par des enzymes sériques, soit par une diminution de la fixation des IgE sur les récepteurs Fc_ϵ . Les auto-anti-IgE sériques (voir plus bas) pourraient être des substances provoquant des modifications conformationnelles de l'IgE au niveau des sites reconnus par le récepteur membranaire.

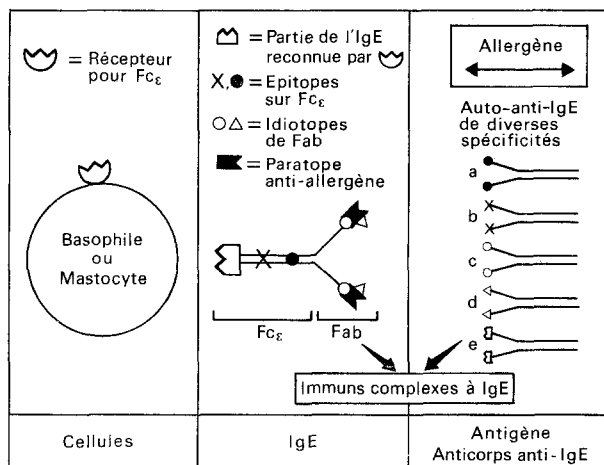


Fig. 9. — Modèle montrant l'interférence possible des auto-anti-IgE de diverses spécificités avec la fixation de l'IgE sur le basophile/mastocyte.

Épitope : motif responsable du pouvoir antigénique d'un antigène. Paratope : site actif de l'anticorps reconnaissant l'épitope. Idiotype : déterminant antigénique d'une immunoglobuline porté par la partie variable et lié à la spécificité de l'anticorps pour l'antigène.

PERSPECTIVES DANS L'EXPÉRIMENTATION SUR LA SENSIBILISATION PASSIVE

La figure 9 rappelle les différents éléments participant à la sensibilisation des basophiles humains par des IgE. Les études de régulation à tous les niveaux d'interaction entre ces éléments apporteront des précisions sur le mécanisme de la fixation cellulaire de ces immunoglobulines et de nouvelles voies d'approche thérapeutique seront accessibles. La poursuite de ces études expérimentales porte sur les basophiles-mastocytes, les IgE, les auto-anti-IgE et les complexes immuns à IgE.

Basophiles

Une purification plus poussée des basophiles par des moyens non dénaturants permettra d'étudier les phénomènes de sensibilisation et d'activité biologique de ces cellules en absence d'interférence des autres types cellulaires. L'expression des récepteurs pour les Fc_ϵ sur des basophiles mis en culture dans différentes conditions expérimentales sera susceptible d'apporter des renseignements sur la capacité de fixation des IgE au cours de la différenciation cellulaire [19].

Ces travaux seront à compléter par des analyses des différentes sous-populations des basophiles et des mastocytes. En effet, suivant la localisation tissulaire des mastocytes, ces cellules ont des caractéristiques biologiques et fonctionnelles différentes [36].

IgE

Une des stratégies retenues pour inhiber la fixation cellulaire des IgE spécifiques d'un allergène

était de favoriser la synthèse d'IgE d'autres spécificités (ou IgE totales), induisant ainsi une compétition entre ces deux catégories d'IgE pour les RF_c des mastocytes et des basophiles. Chez le rat, une telle inhibition a été observée in vitro [37] mais pas in vivo [23]. Chez l'homme une inhibition de la sensibilisation passive des mastocytes de poumon in vitro a été observée par addition d'IgE d'autres spécificités [6]. Nous avons retrouvé cet effet de compétition entre IgE spécifiques et non spécifiques au niveau du basophile humain [49].

L'analyse fine de la structure des IgE a beaucoup progressé ces dernières années. Connaissant la séquence des acides aminés des IgE humaines, on a synthétisé par génie génétique des fragments d'IgE correspondant aux différentes parties du F_c . On peut ainsi étudier l'interaction de ces fragments avec les récepteurs F_c dans des expériences de sensibilisation passive des basophiles. Certaines séquences inhibent fortement la fixation des IgE sur ces cellules et comportent donc les structures reconnues par les récepteurs F_c [20]. Les applications thérapeutiques de ces segments peptidiques sont discutées dans la conclusion de cet article.

Certaines expériences de sensibilisation in vitro du basophile humain ont donné naissance à l'hypothèse de l'hétérogénéité des IgE au niveau de leur activité fonctionnelle dans la dégranulation [1, 8]. Néanmoins, aucune preuve directe n'existe actuellement démontrant l'existence de sous-classes d'IgE.

Auto-anti-IgE

Plusieurs publications [5, 34, 41, 50] rapportent l'existence d'auto-anti-IgE chez certaines catégories de malades allergiques. Suivant leur spécificité, de tels auto-anticorps pourraient avoir des actions très différentes.

— Les auto-anti-IgE anti F_c (fig. 9) peuvent avoir des effets biologiques divers, soit en se fixant directement sur un site de l'IgE reconnu par le récepteur F_c et en empêchant l'immunoglobuline de s'attacher à la membrane cellulaire (fig. 9, cas e), soit en se liant à un site différent modifiant ainsi la structure spatiale de l'IgE et agissant donc indirectement sur sa fixation et/ou son activité biologique (cas a et b).

— Récemment, on a mis en évidence chez l'homme l'existence d'anticorps anti-IgE anti-idiotypes (fig. 9, cas c et d) qui pourraient protéger le malade en inhibant le pontage des IgE membranaires par un allergène [3, 15].

— Les anticorps anti-IgE monoclonaux dirigés contre les différents épitopes de l'IgE sont des outils précieux comme modèle expérimental pour l'étude de l'effet possible des auto-anticorps sur la sensibilisation passive, ainsi que pour analyser

la capacité de libération d'histamine des auto-anti-IgE [48].

Complexes immuns

Certains auteurs rapportent la présence de complexes immuns à IgE dans le sérum de différents groupes de malades. In vitro, la sensibilisation passive de basophiles humains avec des immuns complexes isolés à partir de sérums de malades allergiques a été réalisée par Mécheri [32].

Des complexes IgE — auto-anti-IgE ont été mis en évidence chez des asthmatiques atopiques ainsi que chez des malades atteints du syndrome à hyper-IgE et de dermatite atopique [12, 34, 44, 45]. La taille et donc la structure de ces immuns complexes ne sont pas les mêmes pour ces différentes catégories de malades et pourraient jouer un rôle important dans la réactivité biologique de ces complexes au niveau de la sensibilisation.

Dans sa revue générale sur les auto-anti-IgE, Johansson [24] indique leurs actions possibles sur les basophiles-mastocytes et sur l'immunité cellulaire en général.

CONCLUSION

La réaction allergique située au niveau du système IgE - cellule-cible dépend en majeure partie de la production et/ou de la sécrétion de médiateurs impliqués dans l'hypersensibilité immédiate. Si l'histamine n'est pas le seul médiateur en cause et si on lui attribue un rôle mineur dans

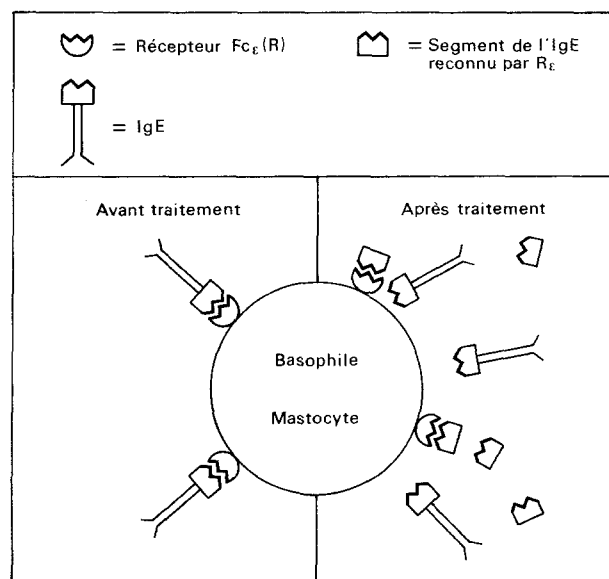


Fig. 10. — Modèle hypothétique du blocage du récepteur $F_c\epsilon$ des basophiles/mastocytes après traitement avec le segment polypeptidique correspondant à la partie de l'IgE reconnaissant ce récepteur [20].

la crise d'asthme [35], ce médiateur n'en représente pas moins un modèle expérimental extrêmement précieux pour étudier les variations de l'activité IgE-dépendante au niveau des basophiles et des mastocytes.

Il ressort que, d'un point de vue thérapeutique, tout facteur qui pourrait soit interférer avec la fixation des IgE sur les basophiles ou mastocytes, soit modifier les conditions de sécrétion de ces cellules aurait donc un effet sur l'intensité de l'histamino-libération et serait mesurable au laboratoire. In vitro, l'accent est mis aujourd'hui sur l'étude des molécules naturelles ou synthétiques qui modulent la fixation des IgE sur les membranes cellulaires. L'exemple d'action le plus prometteur paraît être celui d'une inhibition de la fixation des IgE sur les sites RFc_ε des basophiles-

mastocytes au moyen d'un analogue de l'IgE (fig. 10). Il a été possible d'obtenir par génie génétique [20] la synthèse in vitro du segment peptidique correspondant au site de l'IgE reconnu par le RFc_ε. L'injection de ce segment aboutirait à une inhibition de la fixation de l'IgE sur le basophile par compétition avec le même site des IgE naturelles.

Remerciements

Le travail expérimental effectué à partir d'échantillons de sang de sujets allergiques a été possible grâce à la participation des Docteurs Borgnon, Herpin-Richard, Ickovic, Meaume, Raffard, de la Consultation d'Allergologie de l'Hôpital Pasteur. Nous les en remercions ainsi que Mesdames Marchand, Rassemont et Chapon pour leur excellente collaboration.

REFERENCES

1. Assem E.S.K., Attallah N.A. — Increased release of histamine by anti-IgE from leukocytes of asthmatic patients and possible heterogeneity of IgE. *Clin. Allergy*, 1981, 11, 367-374.
2. Beer D.J., Rocklin R.E. — Histamine modulation of lymphocyte biology: membrane receptors, signal transduction, and functions. *Crit. Rev. Immunol.*, 1987, 7, 55-91.
3. Bose R., Marsh D.G., Delespesse G. — Anti-idiotypes to anti-Lolp I (Rye) antibodies in allergic and non-allergic individuals. Influence of immunotherapy. *Clin. exp. Immunol.*, 1986, 66, 231-240.
4. Bourgeois J.P., Père M., Mazié J.C., Delagneau J.F. — Monoclonal antibodies to human IgE: utilization for total IgE quantification and estimation of allergen specific IgE antibodies. *Dev. Biol. Standard.*, 1984, 57, 371-379.
5. Brostoff J., Johns P., Stanworth D.E. — Complexed IgE in atopy. *Lancet*, 1977, 2, 741-742.
6. Coleman J.W., Godfrey R.C. — Inhibition of human lung mast cell sensitization by IgE in allergic sera. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1981, 66, 464-466.
7. Conroy M.C., Adkinson N.F., Lichtenstein L.M. — Measurement of IgE on human basophils: relation to serum IgE and anti-IgE-induced histamine release. *J. Immunol.*, 1977, 118, 1317-1321.
8. Conroy M.C., Adkinson N.F., Lichtenstein L.M. — Passive sensitization of human basophils: evidence for heterogeneity in the IgE molecule. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1979, 60, 106-109.
9. Dandeu J.P., Le Mao J., Lux M., Rabillon J., David B. — Antigens and allergens in *Dermatophagoides farinae*. II. Purification of Ag 11, a major allergen in *D. farinae*. *Immunology*, 1982, 46, 679-687.
10. David B., Weyer A. — Le rôle du laboratoire dans l'allergie. *Biol. Prat.*, 1985, 61, 1-34.
11. Delisi C., Siraganian R.P. — Receptor cross-linking and histamine release. II. Interpretation and analysis of anomalous dose response patterns. *J. Immunol.*, 1979, 122, 2293-2299.
12. Djurup R., Kappelgaard E., Stahl Skov P., Permin H., Nielsen R. — Determination of IgE-containing immune complexes in human sera. *Allergy*, 1984, 39, 395-406.
13. Goldstein B., Dembo M., Sobotka A.K., Lichtenstein L.M. — Some invariant properties of IgE-mediated basophil activation and desensitization. *J. Immunol.*, 1979, 121, 1873-1882.
14. Graham H.J., Lowry O.H., Harris F.B. — Microchemical determination of histamine in biological fluids. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1951, 101, 15.
15. Hook W.A., Berenstein E., Basciano L.A., Fox P.C., Siraganian P.C. — Monoclonal antibodies to human IgE. *Fed. Proc.*, 1981, 40, 968.
16. Ishizaka K., Ishizaka T., Hornbrook M.M. — Physicochemical properties of reaginic antibody. IV. Presence of a unique immunoglobulin as a carrier of reaginic activity. *J. Immunol.*, 1966, 97, 75-85.
17. Ishizaka K., Ishizaka T., Lee E.H. — Biological function of the Fc fragments of E myeloma proteins. *Immunochemistry*, 1970, 7, 687-702.
18. Ishizaka T. — Mechanisms for sensitization of human basophil granulocytes. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1975, 49, 129-142.
19. Ishizaka T., Dvorak A.M., Conrad D.H., Niebyl J.R., Marquette J.P., Ishizaka K. — Morphologic and immunologic characterization of human basophils developed in cultures of cord blood mononuclear cells. *J. Immunol.*, 1985, 134, 532-540.
20. Ishizaka T., Helm B., Hakimi J., Niebyl J., Ishizaka K., Gould H. — Biological properties of a recombinant human immunoglobulin ε-chain fragment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83, 8323-8327.
21. Ishizaka T., Ishizaka K. — Mechanisms of passive sensitization. IV. Dissociation of IgE molecules from basophil receptors at acid pH. *J. Immunol.*, 1974, 112, 1078-1084.
22. Ishizaka T., Ishizaka K., Conrad D.H., Froese A. — A new concept or triggering mechanisms of IgE-mediated histamine release. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1978, 61, 320-330.
23. Jarret E., MacKenzie S., Bennich H. — Parasite induced « non specific » IgE does not protect against allergic reactions. *Nature*, 1980, 283, 302-304.
24. Johansson S.G.O. — Anti-IgE antibodies in human serum. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1986, 77, 555-557.
25. Johansson S.G.O., Bennich H., Wide L. — A new class of immunoglobulin in human serum. *Immunology*, 1968, 14, 265-272.
26. Katz G., Cohen J. — Experimental evidence for histamine release in allergy. *JAMA*, 1941, 117, 1782-1783.
27. Levy D.A., Osler A.G. — Studies on the mechanisms of hypersensitivity phenomena. XIV. Passive sensitization in vitro of human leukocytes to ragweed pollen antigen. *J. Immunol.*, 1966, 97, 203-212.
28. Lichtenstein L.M., Levy D.A., Ishizaka K. — In vitro reversed anaphylaxis: characteristics of anti-IgE mediated histamine release. *Immunology*, 1970, 19, 831-842.
29. Lichtenstein L.M., Norman P.S., Winkenwerder W.L. — Clinical and in vitro studies on the role of immunotherapy in ragweed hay fever. *Am. J. Med.*, 1968, 44, 514-524.
30. Mac Glashan D., Lichtenstein L.M. — Studies of antigen binding on human basophils. I. Antigen binding and functional consequences. *J. Immunol.*, 1983, 130, 2330-2336.
31. Malveaux F.J., Conroy M.C., Adkinson N.F., Lichtenstein L.M. — IgE receptors on human basophils. Relationship to serum IgE concentration. *J. clin. Invest.*, 1978, 62, 176-181.
32. Mécheri S. — Résultats non publiés.
33. Melam H.L., Pruzansky J.J., Patterson R. — Correlations between clinical symptoms, leucocyte sensitivity, antigen-binding capacity, and Prausnitz-Küstner activity in a longitudinal study of ragweed pollinosis. *J. Allergy*, 1970, 46, 292-299.
34. Nawata Y., Koike T., Hosokawa H., Tomioka H., Yoshida S. — Anti-IgE autoantibody in patients with atopic dermatitis. *J. Immunol.*, 1985, 135, 478-482.

35. Patterson R., Pruzansky J.J., Harris K.E. — An agent that releases basophil and mast cell histamine but blocks cyclooxygenase and lipoxygenase metabolism of arachidonic acid inhibits immunoglobulin E-mediated asthma in Rhesus monkeys. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1981, 67, 444-449.
36. Pearce F.L. — On the heterogeneity of mast cells. *Pharmacology*, 1986, 32, 61-71.
37. Prouvost-Danon A., Abadie A. — Competitive inhibition of passive sensitization of mouse mast cells by IgE. A bioassay for mouse and rat IgE. *Immunology*, 1976, 31, 689-696.
38. Pruzansky J.J., Grammer L.C., Patterson R., Roberts M. — Dissociation of IgE from receptors on human basophils. I. Enhanced passive sensitization for histamine release. *J. Immunol.* 1983, 131, 1949-1953.
39. Pruzansky J.J., Patterson R. — Binding constants of IgE receptors on human blood basophils for IgE. *Immunology*, 1986, 58, 257-262.
40. Pruzansky J.J., Patterson R. — Decrease in basophils after incubation with specific antigens of leukocytes from allergic donors. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1970, 38, 522-526.
41. Quinti I., Brozek C., Wood N., Geha R., Leung D.Y.M. — Circulating IgG autoantibodies to IgE in atopic syndromes. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1986, 77, 586-594.
42. Stahl Skov P., Permin H., Malling H.J. — Quantitative and qualitative estimations of IgE bound to basophil leukocytes from hay fever patients. *Scand. J. Immunol.*, 1977, 6, 1021-1028.
43. Stallman P.J., Aalberse R.C., Brühl P.C., van Elven E.H. — Experiments on the passive sensitization of human basophils, using quantitative immuno-fluorescence microscopy. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1977, 54, 364-373.
44. Stevens W.J., Bridts C.H. — IgG- containing and IgE- containing circulating immune complexes in patients with asthma and rhinitis. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1984, 73, 276-282.
45. Swainson J.A., Wilson P.W., Doré P., Pumphrey R.S.H. — Evidence for circulating complexes containing IgE in patients with atopic dermatitis. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1985, 76, 237-242.
46. Weichman B.M., Muccitelli R.M. — Ligand binding properties of the basophilic IgE receptor of normal and allergic individuals. *Clin. Allergy*, 1982, 12, 121-129.
47. Weyer A., Dandeu J.P., Marchand F., David B. — In vitro histamine release from human basophils triggered by a purified allergen from *Dermatophagoides farinae*: bimodal aspect of the dose response curve. *Ann. Immunol. (Paris)*, 1982, 133, D, 87-94.
48. Weyer A., Guesdon J.L., Ougen P., Marchand F., David B. — Basophil sensitivity and reactivity to monoclonal anti-human IgE after in vitro sensitization with human myeloma IgE. *Agents Actions*, 1987, 20, 210-212.
49. Weyer A., Ougen P., Dandeu J.P., Marchand F., David B. — Passive in vitro sensitization of human basophils with *Dermatophagoides farinae* specific IgE. *Agents Actions*, 1986, 18, 178-181.
50. Williams R.C., Griffiths R.W., Emmons J.D., Field R.C. — Naturally occurring human antiglobulins with specificity for γ E. *J. clin. Invest.*, 1972, 51, 955-963.
51. Zeiss C.R., Pruzansky J.J., Levitz D., Wang J. — The quantification of IgE antibody specific for ragweed antigen pollinosis. *Immunology*, 1978, 35, 237-246.

■ ■ ■