

GRANULOCYTE ÉOSINOPHILE : PHYSIOLOGIE ET IMPLICATION DANS LES RÉACTIONS INFLAMMATOIRES PARASITAIRES. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE.

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2007
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Hélène RAFFI, épouse HENRY
Née le 04 novembre 1975 à Schiltigheim (67)

Directeur de thèse : Mme. le Professeur Lydie BRET-BENNIS

JURY

PRESIDENT :
M. VALENTIN

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEURS :
Mme. BRET-BENNIS
Mme. BOURGES-ABELLA

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	A. MILON
Directeurs honoraires	M.	G. VAN HAVERBEKE
	M.	J. FERNEY
	M.	P. DESNOYERS
Professeurs honoraires	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	D. GRIESS
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUELF
	M.	M. ECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*
- M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **DUCOS de LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- Mlle. **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores domestiques*

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

M. JOUGLAR Jean-Yves, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

M. ASIMUS Erik, *Pathologie chirurgicale*
M. BAILLY Jean-Denis, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mme BENNIS-BRET, Lydie, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. BERGONIER Dominique, *Pathologie de la Reproduction*
M. BERTAGNOLI Stéphane, *Pathologie infectieuse*
Mme BOUCLAIVILLE –CAMUS, Christelle, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme BOUCRAUT-BARALON Corine, *Pathologie infectieuse*
Mlle BOULLIER Séverine, *Immunologie générale et médicale*
Mme BOURGES-ABELLA Nathalie, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. BOUSQUET-MELOU Alain, *Physiologie et Thérapeutique*
M. BRUGERE Hubert, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle CADIERGUES Marie-Christine, *Dermatologie*
Mme DIQUELOU Armelle, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. DOSSIN Olivier, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. FOUCRAS Gilles, *Pathologie du bétail*
Mme GAYRARD-TROY Véronique, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. GUERIN Jean-Luc, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
M. JACQUIET Philippe, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. JAEG Jean-Philippe, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle LACROUX Caroline, *Anatomie Pathologie, Histologie*
Mme LETRON –RAYMOND, Isabelle, *Anatomie pathologique*
M. LYAZRHI Faouzi, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. MATHON Didier, *Pathologie chirurgicale*
Mme MEYNAUD-COLLARD Patricia, *Pathologie chirurgicale*
M. MEYER Gilles, *Pathologie des ruminants*
M. MONNEREAU Laurent, *Anatomie, Embryologie*
Mme PRIYMENKO Nathalie, *Alimentation*
M. SANS Pierre, *Productions animales*
Mme TROGELER –MEYNADIER, Annabelle, *Alimentation*
M. VERWAERDE Patrick, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

M. CASSARD Hervé, *Pathologie du bétail*
M. NOUVEL Laurent-Xavier, *Pathologie de la reproduction*
M. PADHILA MATHIAS Goncalo, *Maladies contagieuses*
M. REYNOLDS Brice, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. VOLMER Romain, *Infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

Mlle BIBBAL Delphine, *H.I.D.A.O.A Sciences de l'Alimentation*
M. CONCHOU Fabrice, *Imagerie médicale*
M. CORBIERE Fabien, *Pathologie des ruminants*
M. MOGICATO Giovanni, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle PALIERNE Sophie, *Chirurgie des animaux de compagnie*
M. RABOISSON Didier, *Productions animales*

A Monsieur le Professeur Alexis VALENTIN
Professeur des universités
Praticien hospitalier
Zoologie - Parasitologie

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Avec mes hommages respectueux.

A Madame le Docteur Lydie BRET-BENNIS
Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
Physique et chimie biologiques et médicales

Qui a eu la gentillesse de me proposer ce travail et m'a soutenu tout au long de sa réalisation. Qu'elle soit remerciée pour sa patience, son sourire et sa passion et qu'elle trouve exprimées ici ma sincère reconnaissance et ma profonde considération.

A Madame le Docteur Nathalie BOURGES-ABELLA
Professeur de l'École Nationale Vétérinaire de Toulouse
Histologie, Anatomie pathologique

*Qui a bien voulu faire partie de notre jury.
Avec mes remerciements.*

A Christophe

*A nos soirées estudiantines, à nos vadrouilles de jeune couple, à nos différences qui nous rapprochent, à notre avenir...
A mon exceptionnel mari que j'aime chaque jour un peu plus.*

A Nicias

*Mon Petit Prince.
Mon rayon de soleil qui me montre à chaque instant combien l'amour est infini.*

A mes parents

Pour leur soutien et leurs encouragements au fil des ans. Pour eux qui m'ont tant apporté que je ne leur dirai jamais assez comme je les en remercie. Je vous aime.

A Guillaume

Mon grand frère toujours attentionné malgré l'éloignement. Je lui souhaite beaucoup de bonheur avec sa famille sur les rives bordelaises.

A Marielle

Ma petite sœur qui grandit bien vite. A nos chamailleries de jeunesse qui ont fait de nous des amies. A sa nouvelle vie avec Glyn que je lui souhaite pleine de bonheur et de réussite.

A mes grands-mères

Qui auraient été heureuses de voir l'achèvement de ce travail. A ma Mémé qui est toujours auprès de moi.

A toute ma famille et ma belle-famille

Avec toute mon affection.

A mes amis d'hier et d'aujourd'hui

*Une tendresse particulière pour Delphine.
Tous mes vœux de bonheur à tous.*

SOMMAIRE

Hélène RAFFI, épouse HENRY.....	1
JURY.....	1
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE.....	3
PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE.....	3
PROFESSEURS 1ÈRE CLASSE.....	3
PROFESSEURS 2E CLASSE.....	3
INGENIEUR DE RECHERCHES.....	3
PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE.....	3
MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE.....	4
MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE.....	4
MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS.....	4
<i>ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS.....</i>	<i>4</i>
LISTE DES ILLUSTRATIONS.....	9
LISTE DES ABREVIATIONS.....	13
INTRODUCTION.....	17
PREMIERE PARTIE :	
PLACE DES ÉOSINOPHILES DANS LA RÉACTION INFLAMMATOIRE :	
ASPECT CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE.....	21
L'ÉOSINOPHILE ET SA PLACE DANS LA RÉACTION INFLAMMATOIRE.....	23
<i>L'éosinophile.....</i>	<i>23</i>
Structure.....	23
Cellule.....	23
Les récepteurs membranaires.....	26
Récepteurs impliqués dans l'adhésion et la transmigration.....	27
Récepteurs des immunoglobulines.....	30
Récepteurs pour le complément.....	31
Récepteurs pour les hématopoïétines IL-3, IL-5, GM-CSF.....	32
Récepteurs pour les chémokines.....	38
Autres récepteurs couplés à des protéines G.....	44
Autres récepteurs non couplés à des protéines G.....	49
Origine.....	54
Mécanismes de différenciation et de régulation.....	54
Mécanismes de mobilisation vers le sang et les tissus.....	58
<i>La réaction inflammatoire.....</i>	<i>61</i>
Rappel général.....	61

<u>Aspect morphologique de la réaction inflammatoire.....</u>	<u>61</u>
<u>La dynamique de la réaction inflammatoire.....</u>	<u>62</u>
<u>Coopération cellulaire.....</u>	<u>67</u>
<u>RECRUTEMENT, ACTION ET DEVENIR DES ÉOSINOPHILES.....</u>	<u>73</u>
<u>Déplacement des éosinophiles.....</u>	<u>73</u>
<u>Recrutement des éosinophiles.....</u>	<u>73</u>
<u>Attachement primaire et « rolling ».....</u>	<u>74</u>
<u>Les sélectines.....</u>	<u>74</u>
<u>Les intégrines.....</u>	<u>75</u>
<u>Adhésion ferme.....</u>	<u>76</u>
<u>Régulation du recrutement.....</u>	<u>78</u>
<u>Variations de l'expression des molécules endothéliales : P-sélectine, VCAM-1 et ICAM-1.....</u>	<u>80</u>
<u>Régulation des sélectines et intégrines des éosinophiles.....</u>	<u>81</u>
<u>Migration.....</u>	<u>86</u>
<u>Mécanismes de transmigration endothéliale.....</u>	<u>86</u>
<u>Mécanismes de transmigration transépithéliale.....</u>	<u>93</u>
<u>Rôles des facteurs chémoattractants.....</u>	<u>93</u>
<u>Boucles d'amplification de la production des facteurs chémoattractants.....</u>	<u>96</u>
<u>Action et devenir des éosinophiles.....</u>	<u>99</u>
<u>Produits de synthèse des éosinophiles.....</u>	<u>99</u>
<u>Médiateurs lipidiques.....</u>	<u>99</u>
<u>Radicaux oxygénés.....</u>	<u>102</u>
<u>Les protéines / polypeptides.....</u>	<u>103</u>
<u>Les protéines cytotoxiques.....</u>	<u>103</u>
<u>Les enzymes.....</u>	<u>104</u>
<u>Les cytokines.....</u>	<u>104</u>
<u>Les chémokines (Tableau 6).....</u>	<u>108</u>
<u>Les facteurs de croissance.....</u>	<u>109</u>
<u>Modes de libération de substances actives.....</u>	<u>111</u>
<u>Exocytose.....</u>	<u>111</u>
<u>« Dégranulation par bouts ».....</u>	<u>114</u>
<u>Cytolyse.....</u>	<u>119</u>
<u>Rôles et devenir des éosinophiles.....</u>	<u>121</u>
<u>L'éosinophile : cellule immunorégulatrice.....</u>	<u>121</u>
<u>Cellule présentatrice d'antigène.....</u>	<u>121</u>
<u>Communication cellulaire.....</u>	<u>124</u>
<u>L'apoptose.....</u>	<u>126</u>
<u>Mécanismes conduisant à l'apoptose des éosinophiles.....</u>	<u>126</u>
<u>Les signaux de survie.....</u>	<u>130</u>

DEUXIEME PARTIE :

PLACE DES ÉOSINOPHILES DANS LES RÉPONSES ANTIPARASITAIRES DE L'ORGANISME.....137

<u>LES RÉACTIONS INFLAMMATOIRES D'ORIGINE PARASITAIRE.....</u>	<u>139</u>
<u>Les parasites.....</u>	<u>139</u>
<u>Diversité des espèces de parasites.....</u>	<u>139</u>
<u>Particularités des cycles et conséquences.....</u>	<u>140</u>
<u>La voie d'entrée.....</u>	<u>140</u>
<u>La migration.....</u>	<u>141</u>

<u>Enkystement des larves et migration erratique.....</u>	<u>144</u>
<u>La réaction organisée de l'hôte.....</u>	<u>145</u>
<u>Lymphocytes B et anticorps.....</u>	<u>145</u>
<u>Synthèse des Ig.....</u>	<u>145</u>
<u>Diversité antigénique.....</u>	<u>146</u>
<u>Ig et helminthiases.....</u>	<u>147</u>
<u>Réponse cellulaire lors de parasitose.....</u>	<u>150</u>
<u>LE RECRUTEMENT DES ÉOSINOPHILES LORS DES PARASITOSES.....</u>	<u>153</u>
<u>Cinétique de l'éosinophilie pendant la migration parasitaire.....</u>	<u>153</u>
<u>Induction des éosinophilies sanguine et tissulaire.....</u>	<u>153</u>
<u>Délai d'apparition des afflux leucocytaires.....</u>	<u>154</u>
<u>Corrélation avec la protection.....</u>	<u>156</u>
<u>Le recrutement des éosinophiles via l'IL-5.....</u>	<u>158</u>
<u>Chez les Nématodes.....</u>	<u>158</u>
<u>L'IL-5 et l'immunité innée.....</u>	<u>158</u>
<u>L'IL-5 et l'immunité acquise.....</u>	<u>161</u>
<u>Modèle murin : influence de la génétique de l'hôte.....</u>	<u>164</u>
<u>Chez les Trématodes et les Cestodes.....</u>	<u>167</u>
<u>Autres médiateurs impliqués.....</u>	<u>169</u>
<u>Autres interleukines chez les Nématodes.....</u>	<u>169</u>
<u>Chémoattractants chez les Nématodes.....</u>	<u>174</u>
<u>Le granulome éosinophilique et la schistosomiase.....</u>	<u>179</u>
<u>CONSÉQUENCES DE LA PRÉSENCE DES ÉOSINOPHILES.....</u>	<u>184</u>
<u>Pour l'hôte.....</u>	<u>184</u>
<u>Rôle des éosinophiles dans l'encapsulation et l'expulsion.....</u>	<u>184</u>
<u>Rôle des éosinophiles dans la destruction des parasites.....</u>	<u>188</u>
<u>Produits de dégranulations des éosinophiles.....</u>	<u>188</u>
<u>Conditions nécessaires à la dégranulation.....</u>	<u>197</u>
<u>Ig et ADCC.....</u>	<u>199</u>
<u>Autres ligands.....</u>	<u>201</u>
<u>Devenir des éosinophiles.....</u>	<u>204</u>
<u>Pour le parasite.....</u>	<u>205</u>
<u>La variabilité antigénique.....</u>	<u>205</u>
<u>Les produits d'Excrétion-Sécrétion des parasites.....</u>	<u>206</u>
<u>CONCLUSION.....</u>	<u>214</u>
<u>BIBLIOGRAPHIE.....</u>	<u>218</u>
<u>ANNEXE.....</u>	<u>266</u>

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 :	Evènements transductionnels induits dans l'éosinophile par la reconnaissance de l'IL-5. (d'après 108).	28
Figure 2 :	Hypothèses d'activation et de devenir de IL-5 R d'après (1) : 271,	30

246, 247 et (2) : 246, 247.

Figure 3 :	Modèles de régulation de la fonction de récepteur de type CCR3 par différents mécanismes.	34
Figure 4 :	Récepteurs et voies de transduction pour PgD2 dans l'éosinophile.	38
Figure 5 :	Types de récepteurs présents à la surface des éosinophiles et rôles associés.	42
Figure 6 :	L'éosinopoïèse.	44
Figure 7 :	Cascade du complément, voie alterne et voie classique.	52
Figure 8 :	De l'acide arachidonique aux lipides bioactifs.	54
Figure 9 :	Mécanismes de coopération cellulaire impliquant les éosinophiles.	58
Figure 10 :	Le recrutement des éosinophiles sur le site inflammatoire.	66
Figure 11 :	Régulation de l'expression des molécules d'adhésion endothéliales lors du recrutement des éosinophiles par les cytokines.	68
Figure 12 :	Transmigration des éosinophiles au travers de l'endothélium.	76
Figure 13 :	Voies de synthèse des médiateurs lipidiques et régulation.	88
Figure 14 :	Les différents types de fusion au cours de l'exocytose de l'éosinophile (d'après 173).	100
Figure 15 :	Cytolyse des éosinophiles : libération en deux temps du contenu granulaire.	106
Figure 16 :	Rôle de CPA (cellules présentatrice d'antigène) des éosinophiles. Présentation de l'antigène aux lymphocytes T (LT).	110
Figure 17 :	Principaux mécanismes inducteurs de l'apoptose des éosinophiles.	116
Figure 18 :	Mécanismes de transduction de l'IL-5 dans les éosinophiles conduisant à une survie cellulaire.	120
Figure 19 :	Place des éosinophiles dans les réponses inflammatoire et immune.	122

Figure 20 :	Immunité humorale et cellulaire dans le cas des infestations parasitaires.	136
Figure 21 :	Place de l'IL-4 dans des infestations parasitaires par des Nématodes (<i>L. sigmodontis</i> , <i>B. malayi</i> , <i>N. brasiliensis</i> , <i>O. volvulus</i>) induites expérimentalement chez la souris.	158
Figure 22 :	Intervention de facteurs chémoattractants autres que les IL-4 et IL-5 dans le recrutement des éosinophiles lors d'infestation parasitaire par des Nématodes.	164
Figure 23 :	Coopération entre éosinophiles, macrophages et neutrophiles lors d'infestation primaire et secondaire par <i>Litomosoides sigmodontis</i> chez la souris.	172
Figure 24 :	Mécanismes de dégranulation sélective des éosinophiles et d'ADCC (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity).	184
Figure 25 :	Modalités d'adhésion des éosinophiles aux parasites et dégranulation consécutive.	188
Tableau 1 :	Quelques espèces animales chez lesquelles les éosinophiles ont été identifiés (d'après 149).	20
Tableau 2 :	Molécules impliquées dans l'adhésion des éosinophiles.	24
Tableau 3 :	Effets des facteurs de multiplication, de différenciation et de mobilisation sur les précurseurs identifiés chez les éosinophiles.	48
Tableau 4 :	Facteurs de régulation (cytokines et chémokines) de l'expression des protéines d'adhésion de l'éosinophile et conséquences sur le recrutement.	72

Tableau 5 :	Facteurs chémoattractants impliqués dans la migration tissulaire des éosinophiles.	80
Tableau 6 :	Production de cytokines, chémokines et facteurs de croissance par les éosinophiles sanguins ou tissulaires.	94
Tableau 7 :	Tableau récapitulatif des voies d'entrée, migration et localisation finale des parasites (d'après 278).	130
Tableau 8 :	Tableau récapitulatif des effets de l'IL-5 sur l'hôte et le parasite chez des souris IL-5 KO (souris knock-out pour le gène de l'IL-5), IL-5Tr (souris transgéniques pour le gène de l'IL-5), traitées par un Ac anti IL-5 (anticorps anti IL-5) en comparaison avec des souris sauvages au cours des différents modèles d'infestation primaire et secondaire.	150
Tableau 9 :	Modèle murin : effet du statut génique des souris lors d'infestation par <i>Litomosoides sigmodontis</i> .	152
Tableau 10 :	Formation d'un granulome de type 2 induit par une infestation parasitaire : effets des différents types de cytokines sur la taille du granulome et sur l'expression des chémokines induisant le recrutement cellulaire (d'après 72).	168
Tableau 11 :	Conséquences <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> des produits cytotoxiques de dégranulation des éosinophiles lors d'infestations par des trématodes (<i>S. mansoni</i>) ou des Nématodes (<i>Trichinella</i> , <i>Strongyloides</i> , <i>Ascaris</i> , <i>Nippostrongylus</i> , filaires, ankylostomes).	182
Tableau 12 :	Effets d'échappement du parasite aux défenses de l'hôte en fonction des produits d'Excrétion-Sécrétion.	194

LISTE DES ABREVIATIONS

- Ac** : anticorps
- Acm** : anticorps monoclonal
- ADCC** : antibody dependent cellular (ou cell-mediated) cytotoxicity
- Ag** : antigène
- AP-1** : activator protein-1
- Apafs** : apoptotic protease activation factor
- ARNm** : acide ribonucléique messenger
- BLTR** : récepteur pour le leucotriène B4
- BP** : binding protein
- C3a/C4a/C5a** : complément 3a/4a/5a anaphylatoxin
- C3aR/C4aR/C5aR** : récepteur pour C3a/C4a/C5a
- CLC** : cristal de Charcot-Leyden
- CD** : cluster of differentiation
- CFU** : colony forming unit
- CGRP** : calcitonin gene-related peptide
- COX** : cyclooxygénases
- CMH** : complexe majeur d'histocompatibilité
- CPA** : cellule présentatrice d'antigène
- ECF** : eosinophil chemotactic factor
- ECF-A** : eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis
- ECF-L** : eosinophil chemotactic factor-lectine
- ECP** : eosinophil cationic protein
- EDN** : eosinophil-derived neurotoxin
- EGF** : growth factor
- ENOS** : endothelial nitric oxide synthases
- Eo-CFU** : eosinophils colony forming unit
- Eo/B-CFU** : eosinophils/basophils colony forming unit
- EoSVs** : eosinophil sombrero vesicles
- EPO** : eosinophil peroxidase
- EPX** : eosinophil protein X
- ERK 1/2** : extracellular signal-regulated kinase 1/2

ETE : 6E,8Z,11Z,14Z-eicosatetraenoic acid
FADD : *fas*-associated death domain
FAK : focal adhesion kinase
FLAP : 5-lipoxygénase-activating protein
fMLP : N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine
GATA : guanine-adénine-thymine-adénine
G-CSF : granulocyte colony stimulating factor
GlyCAM : glycosylation-dependent cell adhesion molecule
GM-CFU : neutrophile/macrophage colony forming unit
GM-CSF : granulocyte macrophage colony stimulating factor
GRO : growth-related oncogene
GST : glutathione *S*-transferase
HBEC : human bronchial epithelial cell
HB-EGF : heparin-binding, epidermal growth factor-like growth factor
HD : hôte définitif
HETE : hydroxyeicosatetraenoic acid
HI : hôte intermédiaire
HLA : human leukocyte antigen
HPMEC : human Pulmonary microvascular endothelial cells
HPETE : hydroxyeicosapentanoic acid
HS : hypersensibilité
HUVEC : human umbilical vein endothelial cells
ICAM : intercellular adhesion molecule
IFN : interferon
Ig : immunoglobuline
IL : interleukine
IL-xR : récepteur de l'interleukine x
INOS : induced nitric oxide synthases
IP-10 : IFN γ -inducible protein-10
JAK : Janus kinases
JNK : c-jun NH₂-terminal kinase
KO : knock-out pour le gène concerné
LB : lymphocytes B
LBA : lavage broncho-alvéolaire

LCF : lymphocyte chemoattractant factor
LCR : liquide céphalo-rachidien
LFA : leukocyte function-associated antigen
LMO : *larva migrans* oculaire
LMV : *larva migrans* viscérale
LPS : lipopolysaccharide
LT : lymphocyte T
LT B4, C4, D4, E4 : leucotriène B4, C4, D4, E4
LTh : lymphocytes T helper
LXA4, B4, C4, D4, E4 : lipoxine A4, B4, C4, D4, E4
Mac : macrophage cell-surface protein
MAdCAM-1 : mucosal adressin cell adhesion molecule-1
MAPK : mitogen-activated protein kinase
MBP : major basic protein
MCP : monocyte chemotactic protein
MDC : monocyte/macrophage-derived chemokine
MEK : mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase
MGG : May-Grünwald-Giemsa
MIF : macrophage migration inhibitory factor
Mig : monokine induced by IFN γ
MIP : macrophage inflammatory protein
MMP : métalloprotéinases de la matrice
NADP : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NFAT : nuclear factor of activated T cell
NGF : nerve growth factor
NIF : neutrophil inhibitory factor
NK : natural killer
NO : nitric oxide
NOS : nitric oxide synthases
NT-3 : neurotrophin-3
PAF : platelet-activating factor
PAFR : platelet-activating factor receptor
PAR-2 : protease activated receptor-2
PDGF : platelet-derived growth factor

PECAM : platelet/endothelial cell adhesion molecule
PI3K : phosphatidylinositol 3-kinase
PKA : protéines kinases A
PKC : protéines kinases C
Pg : prostaglandine
PLA2 : phospholipase A2
PPD : purified protein derivative of mycobacteria
PSGL-1 : P-sélectine glycoprotein ligand-1
PTX : pertussis toxin
RANTES : regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted
REG : réticulum endoplasmique granuleux
ROCK : Rho-associated protein kinase
ROS : reactive oxygen species = radicaux oxygénés actifs
SCF : stem cell factor
SEA : schistosomal soluble egg antigen
SH2 : Src homology domain 2
SH3 : Src homology domain 3
SHPTP-2 : Src homology 2 phosphatase 2 tyrosine phosphatase
sIL-13R α 2-Fc : soluble IL-13 receptor α 2-Fc fusion protein
SNC : système nerveux central
SP : substance P
STAT-x : signal transducer and activator of transcription-x
TARC : thymus activation-related chemokine
TcR : T cell receptor
TGF : transforming growth factor
TNF : tumor necrosis factor
TNFR : tumor necrosis factor receptor
Tr : transgénique pour le gène concerné
TPE : tropical pulmonary eosinophilia (éosinophilie pulmonaire tropicale)
TRADD : tumor necrosis factor receptor 1-associated death domain protein
TX : thromboxane
VCAM : vascular cell adhesion molecule
VEGF : vascular endothelial growth factor
VIP : vasoactive intestinal peptide

VLA : very late antigen

INTRODUCTION

Les éosinophiles ne représentent la plupart du temps qu'une faible proportion de la population leucocytaire sanguine et leur afflux a longtemps été synonyme de réaction allergique ou parasitaire. Lors de ces dernières, une augmentation de la population des éosinophiles reflète souvent une infestation installée, mais il est possible qu'ils interviennent aussi dans l'initiation ou le contrôle des maladies parasitaires. Par ailleurs, l'intérêt porté à la compréhension du mécanisme des allergies, en particulier de l'asthme, a fait de ces granulocytes un nouveau sujet d'étude pour les scientifiques. Ils participent en fait à de nombreuses réactions inflammatoires au sein desquelles leurs rôles sont variés.

Dans la première partie, nous présenterons la place de l'éosinophile dans les processus inflammatoires. Le recrutement puis la transmigration de ces granulocytes dotés de nombreux récepteurs membranaires aboutit à leur présence sur les sites inflammatoires. Ils peuvent alors libérer leurs produits de synthèse et participer aux défenses de l'organisme avec les autres leucocytes. Ils subissent ensuite l'apoptose, mort cellulaire programmée qui assure leur disparition sans dégâts collatéraux.

La seconde partie illustrera le rôle des éosinophiles dans certaines helminthiases, causes majeures de morbidité et de mortalité dans le monde. La grande diversité des cycles parasitaires est à mettre en parallèle avec la variabilité du recrutement des éosinophiles. Ils coopèrent avec les autres leucocytes impliqués dans les réactions antiparasitaires et participent à la séquestration des parasites. Ils peuvent aussi dégranuler, prenant part à la destruction des formes parasitaires en libérant leurs produits toxiques. Nous verrons que leurs rôles ne sont pas toujours bien élucidés.

PREMIERE PARTIE :

Place des éosinophiles dans la réaction inflammatoire :
aspect cellulaire et moléculaire

L'éosinophile

Structure

Cellule

Ehrlich est le premier à avoir eu l'idée de faire agir des substances colorantes sur le frottis de sang de diverses espèces animales. Il a utilisé en particulier le colorant triacide (orange G, fuchsine et éosine) qui, chargé négativement, colore les substances basiques et cationiques. La cellule présentant des granulations retenant l'éosine a été qualifiée de polynucléaire éosinophile [157]. Coloré au MGG (May-Grünwald-Giemsa), les granulations sont orange-rouge et les éosinophiles ont été identifiés chez les mammifères et les non-mammifères (Tableau 1).

C'est un granulocyte de 6 à 18 μm selon les espèces [137]. Chez l'homme, l'éosinophile mesure environ 8 μm [149] et présente un noyau généralement bilobé mais parfois avec trois ou quatre lobes [149]. En microscopie électronique, on a pu identifier une structure classique de cellule : membrane plasmique, REG (réticulum endoplasmique granuleux), noyau, centriole, appareil de Golgi et mitochondries en petit nombre [333], ainsi que des structures plus spécifiques à l'éosinophile : glycogène, granules variés, organelles vesiculotubulaires chez le chat [137]. Un cytosquelette important est aussi présent, avec de nombreux microfilaments et microtubules qui facilitent le déplacement de la cellule ; l'éosinophile est une cellule motile de façon active.

Une caractéristique essentielle de ce granulocyte est la présence de nombreux granules sphériques ou ovoïdes qui occupent environ 1/5 du cytoplasme [149]. Ces granulations présentent des variations interspécifiques : chez le cheval, elles sont rondes à ovales et volumineuses (2 à 5 μm) ; chez les chats, elles sont en bâtonnet ; et chez le chien, elles sont parfois difficilement visibles car elles sont vacuolées. Ces granulations éosinophiles mesurent de 0,5 à 1 μm en moyenne. Chez l'homme, il y a environ 20 granules qui sont sphériques ou ovoïdes [456].

Tableau 1 : Quelques espèces animales chez lesquelles les éosinophiles ont été identifiés (d'après 149).

Mammifères	Amphibiens, oiseaux, poissons, reptiles
Buffle	Bar
Chameau	Carpe
Félins : chat, lion, tigre	Poulet
Hamster	Canard
Vache	Grenouille
Chien	Loche
Cobaye	Tanche
Cheval	Pigeon
Gerbille de Mongolie	Alligator américain
Souris	Lézard
Opossum	Tortue
Primates	
Lapin	
Rat	
Daim	
Yack	

Quatre populations distinctes de granules ont été identifiées [149, 456] :

*Les granules secondaires ou granules spécifiques : ont un important noyau cristalloïde, parfois périphérique comme chez le chat [137], qui contient la MBP (Major Basic Protein) (chez le chien, le rat, la souris, le cochon, le cobaye et le singe). Des granules spécifiques avec plusieurs noyaux ont été observés mais sont rares. De plus, des protéines cationiques hautement chargées (ECP (Eosinophil Cationic Protein), EPO (Eosinophil Peroxidase), EDN (Eosinophil-Derived Neurotoxin) appelée aussi EPX (Eosinophil Protein X)) sont localisées dans la matrice non cristalloïde, qui est moins « électron dense » que le noyau, en compagnie de nombreuses cytokines. Il y a des différences de morphologie de ces granules entre différentes espèces : présence d'un noyau à structure pseudomyélinique plutôt que cristalloïde chez le chat [137] alors que chez les ruminants, le cheval, le vison ou le gorille les granules perdent leur noyau central et sont homogènes.

*Les petits granules : ont été identifiés uniquement dans les éosinophiles tissulaires chez l'homme ; ils sont peu étudiés en comparaison avec les autres familles de granules.

*Les granules primaires : représentent 5% du total des granules. Ils sont sphériques, de taille variable et sans noyau discernable. Ce sont les seuls dans lesquels le cristal de Charcot-Leyden, protéine hydrophobe de structure bipyramidale [115, 149], a été identifié. Les granules primaires sont reconnaissables des granules spécifiques par leur absence de noyau et leur taille souvent plus importante.

*Les corps lipidiques : Ils n'ont pas de membrane délimitante mais possèdent une matrice membraneuse en « rayon de miel ». Il y en a en général 5 quand l'éosinophile est au repos mais leur nombre peut augmenter quand la cellule est activée. Ce sont des organelles encore assez énigmatiques dans leur formation et dans leurs fonctions [24]. Ils sont sphériques, mesurent de 0,5 à 2 µm et sont « électron dense ». Ils constituent la principale réserve d'acide arachidonique et d'enzymes nécessaires à la production de leucotriènes et de prostaglandines.

Par ailleurs, au-delà des variations interspécifiques, de nombreuses études ont mis en évidence une hétérogénéité morphologique intraspécifique qui semblerait être liée à la fonction de l'éosinophile.

Les éosinophiles présentent aussi une hétérogénéité physique. On trouve essentiellement trois populations différentes d'éosinophiles, classées selon leur réponse à un stimulus et leur

densité : on les qualifie de normo- ou hypo- denses. On considère actuellement que 90% d'éosinophiles purifiés chez des donneurs normaux sont du phénotype dit normodense.

Chez les patients atteints de maladies allergiques, parasitaires ou tumorales, on trouve des éosinophiles hypodenses en plus grande quantité que chez les patients sains. Ce sont des éosinophiles distribués aux fractions de plus faible densité que la normale dans des gradients de Percoll ou de Metrizamide [265, 343]. Ces éosinophiles hypodenses, typiquement vacuolés, contiennent plus de corps lipidiques et expriment moins de MBP que les éosinophiles normodenses [343]. En outre, ils sont « luents », c'est-à-dire qu'ils sont virtuellement vides [137] indiquant ainsi leur niveau de dégranulation. La morphologie des granules elle-même est modifiée : les granules sont plus petits (mais leur nombre absolu est le même que dans les éosinophiles normodenses), occupent moins de volume (19,7% à 33,1%) et sont plus denses électroniquement [149, 343]. Bien que cette population d'éosinophiles ne soit pas toujours mise en évidence dans les éosinophilies associées à ces pathologies, on peut penser que leur nombre est positivement corrélé au degré d'éosinophilie [149] mais ce n'est pas toujours le cas. Le mécanisme inducteur de l'hypodensité n'est donc pas le même que celui qui favorise l'éosinopoïèse.

Une troisième population est identifiable : ce sont des éosinophiles dits « primés », c'est-à-dire qui répondent à un stimulus qui a peu ou pas d'effet seul mais qui augmente la réponse à un second agent, comme nous le verrons par exemple, lors de l'étude de la migration des éosinophiles.

Les récepteurs membranaires

La très grande variabilité des récepteurs présents à la surface des éosinophiles laisse supposer que ces granulocytes ont de nombreuses fonctions. Cependant, l'éosinophile est une cellule encore pleine de mystère et il n'est le centre de recherches actives que depuis peu. Aussi, certaines interactions ne sont pas encore bien comprises car les récepteurs ne sont pas fermement identifiés.

Nous décrivons ici, rapidement et non exhaustivement, les différents types de récepteurs en fonction de la nature de leurs ligands. Les récepteurs membranaires couplés à des protéines G font partie de la famille des récepteurs possédant sept domaines transmembranaires.

Récepteurs impliqués dans l'adhésion et la transmigration

Les éosinophiles sont des cellules présentes dans le sang et dans les tissus. Ils possèdent donc des récepteurs permettant l'adhésion puis la transmigration afin de pouvoir circuler d'un secteur à l'autre.

Les sélectines présentes sur les éosinophiles sont les L-sélectines (CD62L : cluster of différenciation 62L). Les sélectines agissent avec des ligands de type glycoconjugué présents sur les cellules endothéliales tels que CD34, MadCAM-1 (mucosal addressin cell adhesion molecule-1) et GlyCAM-1 (glycosylation-dependent cell adhesion molecule-1). D'autre part, les éosinophiles possèdent aussi des glycoconjugués tels que le PSGL-1 (P-sélectine glycoprotein ligand-1) qui interagissent spécifiquement avec les P et E sélectines endothéliales. Ces deux couples d'interactions membranaires entre éosinophiles et cellules endothéliales sont les premières à se mettre en place dans les phénomènes d'adhésion et de margination des leucocytes sur l'endothélium [149, 420] (cf *infra*).

Les intégrines sont des protéines transmembranaires hétérodimériques (α - β) classées en trois catégories selon le type principal de la chaîne β . Elles se lient à des récepteurs protéiniques de la superfamille des immunoglobulines présents sur les cellules endothéliales (VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), ICAM-2, ICAM-3, PECAM-1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule-1) et interagissent aussi avec des protéines de la matrice extracellulaire comme la fibronectine et la laminine. Les éosinophiles expriment essentiellement des β 1 intégrines (VLA-2 (very late antigen-2) (α 2 β 1, CD29/CD49b), VLA-4 (α 4 β 1, CD29/CD49d), VLA-5 (α 5 β 1, CD29/CD49e), VLA-6 (α 6 β 1, CD29/CD49f)) et des β 2 intégrines (Mac-1 (macrophage cell-surface protein-1) (α M β 2, CD11b/CD18, CR3), LFA-1 (leukocyte function-associated antigen-1) (CD11a/CD18, α L β 2), CR4 (α X β 2, CD11c/CD18) en contact avec les protéines du cytosquelette. D'autres intégrines sont plus rarement identifiées (α 4 β 7, α d β 2). D'autre part, les éosinophiles présentent également des récepteurs de la superfamille des Ig (immunoglobulines) (PECAM-1 (CD31), ICAM-3) qui se combinent aux β 1 et β 3 intégrines des cellules endothéliales [149]. Ces deux autres types d'interaction membranaire (intégrines/récepteurs de la superfamille des Ig) se mettent en place postérieurement aux couples d'interactions précédents et assurent un ancrage stable des leucocytes sur

l'endothélium et permettent des stimulations cellulaires réciproques entraînant la rétraction des cellules endothéliales et l'agrandissement des pores endothéliaux ainsi que la déformation

Tableau 2 : Molécules impliquées dans l'adhésion des éosinophiles.

Protéines d'adhésion membranaire de l'éosinophile	Interactions moléculaires	Fonctions
L-sélectine (CD62L) Glycoconjugués (PSGL-1)	Glycoconjugués des cellules endothéliales (CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1) P-et E- sélectine des cellules endothéliales	Attachement primaire et rolling
<p>β1 intégrines :</p> <p>VLA-2 (α2β1, CD29/CD49b) VLA-4 (α4β1, CD29/CD49d) VLA-5 (α5β1, CD29/CD49e) VLA-6 (α6β1, CD29/CD49f)</p> <p>β2 intégrines :</p> <p>Mac-1 (αMβ2, CD11b/CD18, CR3) LFA-1 (αLβ2, CD11a/CD18) CR4 (αXβ2, CD11c/CD18, p150,95) αdβ2</p> <p>α4β7 (CD49d/CD103)</p> <p>Protéines de la superfamille des immunoglobulines :</p> <p>PECAM-1 ICAM-3 ICAM-1</p>	<p>✓ Protéines de la superfamille des immunoglobulines des cellules endothéliales (VCAM-1, MadCAM-1, ICAM-2, PECAM-1)</p> <p>✓ Protéines de la matrice extracellulaire (fibronectine, laminines)</p> <p>✓ Protéines de la superfamille des immunoglobulines des cellules endothéliales (ICAM-1(CD54), ICAM-2, ICAM-3, VCAM-1)</p> <p>✓ Protéines du cytosquelette (caténine)</p> <p>Fibronectine, VCAM-1 ; MadCAM-1</p> <p>✓ β1 et β3 intégrines des cellules endothéliales (VLA-1, VLA-2, VLA-3)</p> <p>✓ Protéines de la matrice extracellulaire (collagènes laminines, fibronectine)</p>	<p>Attachement primaire et rolling Adhésion ferme</p> <p>Adhésion ferme</p> <p>Attachement primaire et rolling Adhésion ferme</p> <p>Adhésion ferme</p>

du cytosquelette des leucocytes initiant le phénomène de diapédèse. Ce sont les chaînes β des intégrines qui sont responsables de la transduction de ces signaux membranaires (Tableau 2).

Récepteurs des immunoglobulines

✓ Des IgA :

Mise en évidence en 1988, l'expression membranaire du récepteur Fc pour les IgA, Fc α R, serait due à la présence de domaines particuliers codés par des exons [149]. Son expression est augmentée chez les sujets allergiques [290]. Ce récepteur est distinct de celui présent à la surface des granulocytes neutrophiles [290].

✓ Des IgD et IgM :

Peu de travaux portent sur la relation entre les éosinophiles et les IgD et IgM. Il semble qu'il y ait un récepteur Fc δ (récepteur de l'IgD) chez l'homme, mais pas de Fc μ (récepteur de l'IgM) sur les éosinophiles circulant, alors que, *in vitro*, ils peuvent se lier aux IgM [149].

✓ Des IgE :

Le récepteur Fc ϵ RII (CD23), de basse affinité pour les IgE, a d'abord été mis en évidence dans une des nombreuses études de Capron [149] et, après beaucoup de controverses, sa présence sur les éosinophiles humains a récemment été confirmée. Les deux isoformes connues sont exprimées par les éosinophiles [366, 405].

Chez l'homme, on a aussi trouvé Fc ϵ RI qui lie les IgE avec beaucoup d'affinité [406]. Enfin, la Mac-2, molécule de type lectine homologue de l' ϵ BP (Binding Protein) du rat, se lie avec peu d'affinité aux IgE et possède un rôle dans la cytotoxicité contre les parasites [440].

Ces trois récepteurs pour les IgE ne sont pas toujours conjointement exprimés à la surface des éosinophiles. Leur expression semble dépendre du type de pathologie étudiée et de l'espèce. Ainsi, ils sont présents sur les éosinophiles hypodenses [60, 149, 366] d'individus allergiques mais pas sur ceux des individus normaux [149, 366]. En fait, les études mettant en évidence des récepteurs pour les IgE sur les éosinophiles utilisent principalement des cellules de donneurs atteints d'une éosinophilie marquée. Il semblerait judicieux d'utiliser plus souvent des cellules de sujets sains ou atteints de pathologies associées à des éosinophilies faibles à modérées (infestations parasitaires...) chez lesquels on suppose actuellement que les éosinophiles n'expriment pas ou peu de récepteurs pour les IgE [208].

Par ailleurs, l'étude de De Andres *et al.* [90] sur les éosinophiles de souris montre une grande différence avec l'homme : ils ne présentent pas à leur surface les récepteurs pour les IgE et sont donc de mauvais modèles d'étude pour l'homme.

✓ Des IgG :

FcγRI (CD64) est un récepteur à haute affinité pour les IgG qui n'est exprimé que sur les monocytes, mais il peut être induit *in vitro* sur les éosinophiles humains en présence d'IFNγ (interféron γ) [149].

FcγRII (CDw32) est exprimé de façon constitutive chez l'homme [149] mais a peu d'affinité pour les IgG. Il n'existe pas chez le chien [240] au contraire de la souris, chez laquelle il joue un rôle dans la voie de l'apoptose liée à *fas* [89].

FcγRIII (CD16), comme le précédent, a peu d'affinité pour les IgG et est exprimé sur les éosinophiles murins [90] mais pas chez le chien [240]. Chez l'homme, il n'est pas exprimé constitutivement sur les éosinophiles. Cependant, il est présent sous forme intracellulaire et peut être mobilisé de façon très transitoire vers la surface cellulaire par des médiateurs tels que le C5a (Complément 5a anaphylatoxin), la fMLP (N-formyl-méthionyl-leucyl-phenylalanine) et le PAF (platelet-activating factor) [481]. Le rôle de ce récepteur sur les éosinophiles n'est pas bien déterminé mais il se pourrait qu'il serve à neutraliser les IgG [149].

Récepteurs pour le complément

Le complément est un groupe d'une trentaine de protéines, enzymatiques ou non, formant une cascade dont le résultat est de favoriser la lyse cellulaire. Les fragments du complément se lient à des récepteurs de types différents.

✓ Récepteurs couplés à des protéines G

Les éosinophiles présentent des récepteurs de surface pour les anaphylatoxines C3a (Complément 3a anaphylatoxin), C4a (Complément 4a anaphylatoxin) et C5a.

La première mise en évidence de la liaison de C3a aux éosinophiles a eu lieu en 1979 [149] et elle est assurée par C3aR (récepteur pour C3a) [269] qui a été cloné chez l'homme. Il est similaire à 37% à celui de C5a [12] et est couplé à des protéines G. Cependant, il présente comme originalité une large boucle extracellulaire entre deux de ses domaines extracellulaires [12].

Le C4aR (récepteur de C4a), en revanche, n'est pas bien identifié. Certaines études tendent à montrer que C3a partage son récepteur avec C4a [149], alors que d'autres les considèrent comme distincts [13]. Le rôle de C4a dans la fonction des éosinophiles n'est pas non plus clairement identifié.

Quant au fragment C5a, il peut se lier à son récepteur C5aR (récepteur pour C5a) exprimé sur les éosinophiles avec une faible ou une forte affinité. Il semblerait qu'il soit différent de celui des neutrophiles [147]. Cependant, plus récemment, Elsner *et al.* ont montré que la population de récepteur pour C5a est homogène à la surface des éosinophiles, quelles que soient leur provenance et leur densité. Ces auteurs concluent qu'il n'y a qu'un type de récepteur pour C5a chez l'homme [125]. Enfin, notons que sur les neutrophiles il existe certainement trois sites d'interaction entre C5a et C5aR, mais cette possibilité n'a pas encore été étudiée sur les éosinophiles [185].

✓ Récepteurs non couplés à des protéines G

CR1 (CD35) exprimé sur les éosinophiles peut se lier à C3b, C4b et iC3b et à C1q, mais il est peu exprimé sur les éosinophiles non stimulés [149].

CR3 (Mac-1, CD11b/CD18) a d'abord été considéré comme le récepteur de l'un des fragments du complément : iC3b, [149]. Il s'est finalement révélé être identique à Mac-1 puisqu'il est inhibé par les mêmes anticorps [32] et qu'il appartient à la famille des intégrines. CR3 est composé de deux sous-unités : α M (CD11b) et β 2 (CD18) qui est formée de trois domaines distincts. Mac-1 peut se lier à ICAM-1 et au fibrinogène.

CR4 partage avec CR3 sa sous-unité β et possède une sous-unité α différente nommée α X (ou p150,95 ou CD11c), mais on ne connaît pas encore son rôle chez les éosinophiles [149].

Récepteurs pour les hématopoïétines IL-3, IL-5, GM-CSF

Certaines cytokines comme l'IL-3 (interleukine 3), l'IL-5 et le GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor) activent les éosinophiles via des récepteurs hétérodimériques (avec une chaîne α distincte qui est le domaine de liaison et une chaîne β commune (β c) qui est le domaine de signalisation).

L'expression d'IL-5R (récepteur de l'IL-5) est un événement précoce dans le programme hématopoïétique éosinophile [56] et le rôle majeur de l'interaction d'IL-5/IL-5R dans l'éosinopoïèse sera détaillé ultérieurement.

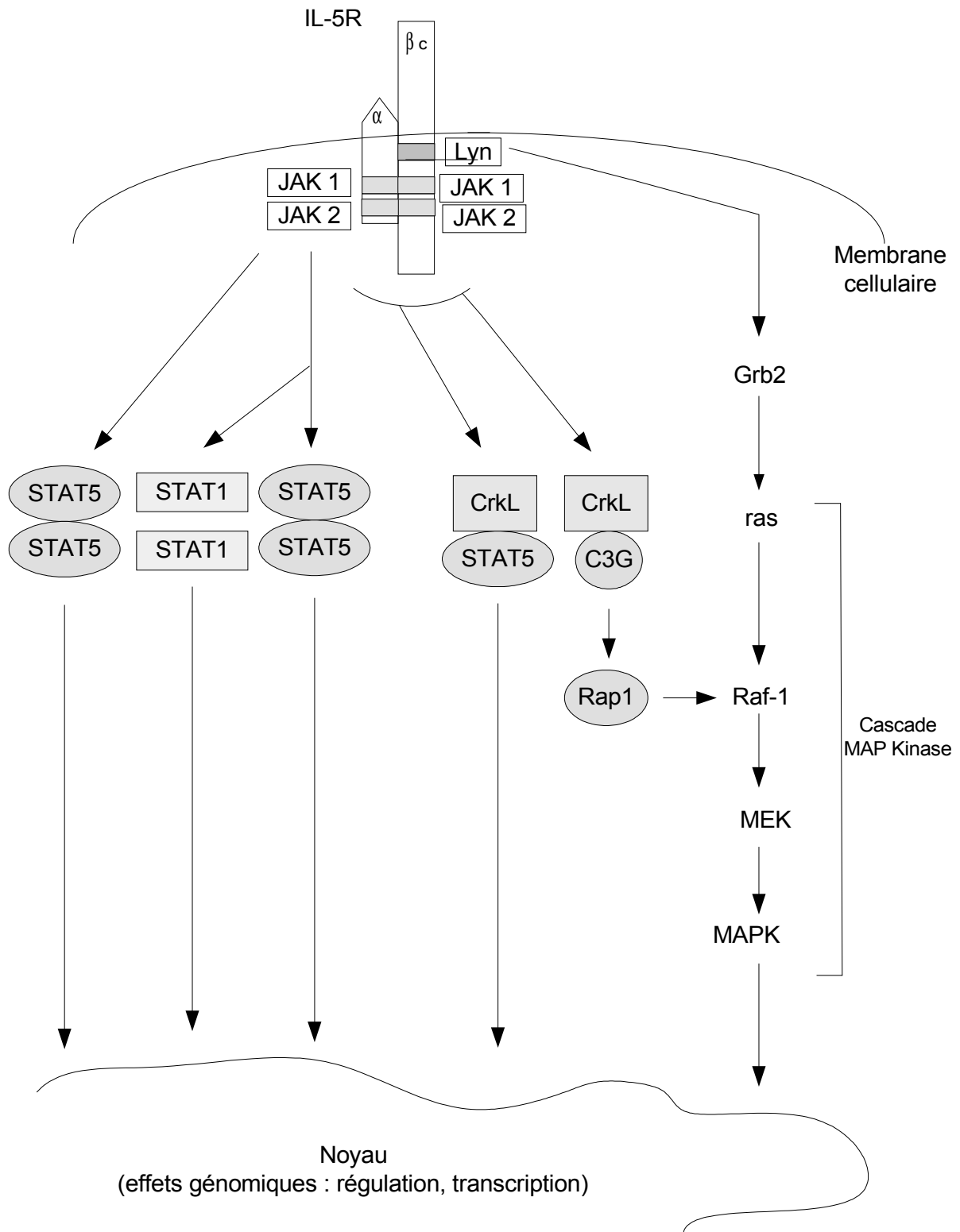


Figure 1 : Evènements transductionnels induits dans l'éosinophile par la reconnaissance de l'IL-5. (d'après 108).

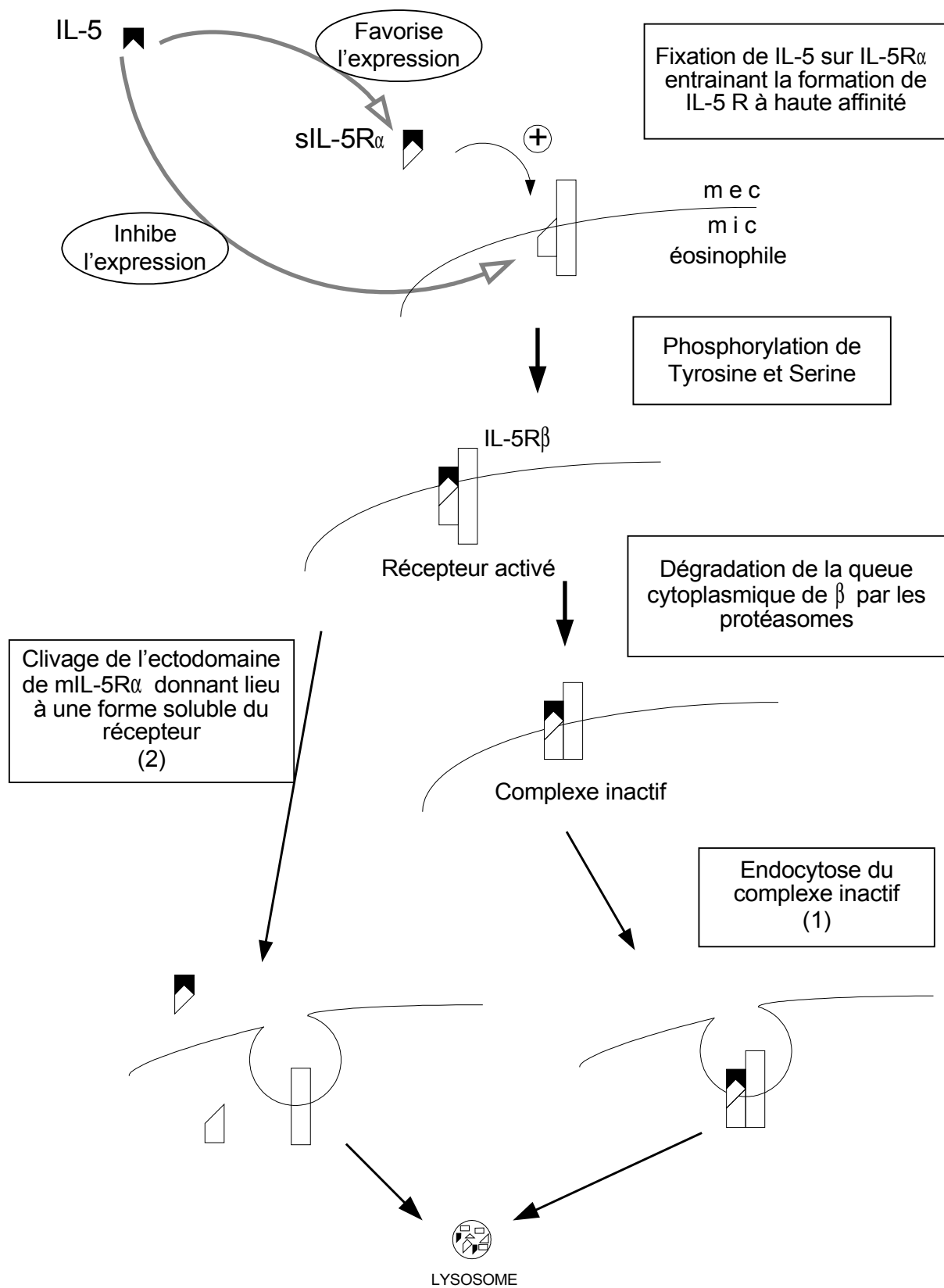
Les effets d'IL-5 sur l'éosinophile humain sont induits après liaison à son récepteur IL-5R présent à la surface des cellules (Figure 1). Il se compose de deux chaînes de glycoprotéine : une chaîne α de 60-80 kDa qui confère la spécificité de ligand au récepteur, et une plus grande chaîne β (βc) de 120-140 kDa, qui est identique à la chaîne β des récepteurs pour l'IL-3 [296] et pour le GM-CSF [426]. L'IL-5R humain est d'affinité élevée et est peu exprimé à la surface des éosinophiles [188, 248].

L'affinité de chacune des hématopoïétines est faible pour sa sous unité α spécifique, mais la formation d'un complexe ligand-récepteur impliquant la sous unité βc augmente considérablement l'affinité de chacune pour leur ligand [296] ; la compétition des hématopoïétines par l'intermédiaire de la sous unité βc pourrait limiter l'expansion de l'activation des éosinophiles [296].

Les voies de signalement ont été beaucoup étudiées depuis que Van der Bruggen *et al.* [446] ont montré pour la première fois que la signalisation moléculaire de l'IL-5 chez les éosinophiles humains implique à la fois les membres de la famille des JAK (Janus kinases) (JAK1 et JAK2) et ceux de la famille des STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) (STAT-5).

Une étude synthétique assez récente des voies de transduction du signal de l'IL-5 a été publiée. Les auteurs rappellent que la signalisation par la queue cytoplasmique de la chaîne α utilise principalement la voie JAK2-STAT5, tandis que la signalisation par la chaîne βc conduit à la cascade de la MAPK (mitogen-activated protein kinase) Ras-Raf1-MEK (mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase)-ERK (extracellular signal-regulated kinase)-MAPK après interactions avec des tyrosines phosphatases intracellulaires (SHPTP-2 (Src homology 2 phosphatase 2 tyrosine phosphatase-2)) et des protéines « dockers » adaptatrices (Shc, Grb2 par exemple) (Figure 1). En outre, l'IL-5 induit la formation de complexe de signalisation fonctionnel de CrkL avec STAT-5, complexe qui peut réguler la transcription génique. CrkL, homologue cellulaire du proto-oncogène v-Crk, contient un domaine SH2 (Src homology domain 2) et deux domaines SH3 (Src homology domain 3) et fait partie de la famille des Crk, dont on sait qu'ils fonctionnent comme des adaptateurs cellulaires en liant des récepteurs phosphorylés sur la tyrosine (ou leurs substrats) à des éléments de signalisation plus en aval. CrkL interagit avec des protéines cellulaires qui ont un rôle central dans la régulation de la prolifération ou de la différenciation cellulaire. Il peut aussi être un adaptateur nucléaire pour STAT-5 et aurait un rôle dans la génération de signal mitotique. L'auteur montre que son activation par IL-5R peut avoir

comme conséquence l'activation de C3G, facteur d'échange de la guanine contre la petite protéine G Rap1, qui active Raf1 et initie la cascade de la MAPKs [108]. La cascade



m e c : milieu extracellulaire
m i c : milieu intracellulaire

Figure 2 : Hypothèses d'activation et de devenir de IL-5 R d'après (1) : 246, 247, 271 et (2) : 246, 247.

d'activation des MAPKs met en jeu la phosphorylation des MAP et de différents facteurs de transcription et mène à des modifications du cytosquelette, à la différenciation et à la multiplication cellulaire. Les STAT ont un rôle de régulation (induction en général) de l'expression des cytokines et de leurs récepteurs ou d'autres protéines membranaires d'adhésion.

L'IL-5R est un hétérodimère composé de deux sous unités : IL-5R α et IL-5R β . De récentes études portant sur la régulation de son expression à la surface des éosinophiles montrent qu'il y a une diminution de l'expression de l'isoforme membranaire de IL-5R α ((m)IL-5R α) et une augmentation de l'isoforme hydrosoluble excrétée de cette sous-unité ((s)IL-5R α) [246]. La forme hydrosoluble pourrait provenir du clivage protéolytique de la forme membranaire [247], et les deux chaînes (IL-5R α et IL-5R β) constituant l'hétérodimère IL-5R subissent des mécanismes de régulation (expression et dégradation) distincts [246, 247, 271].

Martinez *et al.* ont proposé un modèle de dégradation protéasomale de la sous unité IL-5R β [271]. A l'aide des inhibiteurs de MMP (métalloprotéinases de la matrice) et de protéasomes, Liu *et al.* ont montré qu'effectivement, l'unité IL-5R β est clivée par les protéasomes, après une endocytose dépendante de MMP [247]. Quant à l'unité IL-5R α , Liu *et al.* proposent soit qu'elle est endocytosée en compagnie de IL-5R β (et donc dépendant de MMP), soit qu'elle est libérée par un clivage dépendant de MMP puis subit une dégradation protéasomale (Figure 2). En conclusion, ils ne s'accordent qu'en partie sur le modèle de désensibilisation hétérotypique : ils observent en outre que, après une stimulation par l'IL-5, les éosinophiles sont activés par le GM-CSF mais pas par l'IL-3. Martinez *et al.* avaient montré que, après stimulation par l'IL-5, les cellules ne répondent plus ni à l'IL-3, ni au GM-CSF. En conclusion, ce type de désensibilisation a certainement lieu mais de façon transitoire, et la différence après restimulation entre les trois hématopoïétines est liée au fait que β c est réexprimée alors que α ne l'est pas [247].

Récepteurs pour les chémokines

Les chémokines constituent un groupe de cytokines chimotactiques structurellement reliées, la plupart du temps basiques. Elles ont des rôles importants dans les processus

inflammatoires et immunologiques, notamment en raison de leur capacité à recruter les sous-ensembles sélectifs de leucocytes.

La classification des chémokines a d'abord été faite selon leur activité biologique à stimuler différentes familles de leucocytes. Ainsi, les CXC chémokines (deux cystéines distantes dans le site de reconnaissance) étaient considérées comme des médiateurs de l'inflammation aiguë par l'activation de neutrophiles et les CC chémokines (deux cystéines adjacentes dans le site de reconnaissance) comme des médiateurs de l'inflammation chronique en attirant des leucocytes tels que des éosinophiles, des monocytes, des lymphocytes, des basophiles, et des cellules dendritiques. Cependant, des recherches plus récentes ont révélé de nombreuses exceptions ; par exemple, CXCR3 est exprimé sur les cellules T activées, et des neutrophiles peuvent être activés par des CC chémokines après stimulation avec de l'IFN γ . Les éosinophiles, quant à eux, expriment des récepteurs pour les familles des CC et des CXC chémokines.

La nomenclature est maintenant bien établie et les chémokines sont divisées en quatre groupes (CXC, CX3C, CC, et C) selon le nombre de cystéines et leur espacement dans la séquence d'acides aminés qui les constituent. Les effets spécifiques des chémokines sur leurs cellules cibles sont transmis via des récepteurs couplés à des protéines G, qui font partie de la famille de récepteurs possédant sept domaines transmembranaires [298].

✓ Récepteurs pour les CC Chémokines

CCR1 a été le premier récepteur à chémokine identifié. Il a été aussi nommé CKR1, CC CKR1, CMKBR1, MIP-1 α (Macrophage Inflammatory Protein-1 α)/RANTES (regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted). On sait que CCR1 est le récepteur dominant utilisé par MIP-1 α [298, 371] et la nature précise de leur interaction a été récemment identifiée. La portion N-terminale de MIP-1 α est importante mais non suffisante pour la liaison à son récepteur [289], certaines parties déterminent la sélectivité de la chémokine alors que d'autres sont responsables de l'activation directe ou intrinsèque du récepteur [336]. MIP-1 α interagit d'une façon spécifique avec la deuxième boucle extracellulaire du récepteur CCR1 [485]. Le CCR1 présente 62% d'homologie avec CCR3 [87] mais en comparaison il est assez peu exprimé sur les éosinophiles [344]. Par ailleurs, CCR1 dans le cas des éosinophiles se lie avec une haute affinité à RANTES, MCP (monocyte chemotactic protein)-2 et MCP-3 et avec une faible affinité à MIP-1 β et MCP-1 [298].

La découverte de CCR3, appelé aussi CKR3, CC CKR3, CMKBR3, eotaxin receptor, est plus récente et découle de celle de CCR1. L'existence de CCR3 a d'abord été rapportée par

Combadiere en 1995 [80, 344] et on a d'abord pensé qu'il n'était exprimé que sur les éosinophiles. La preuve de son existence sur d'autres types de cellules est plus récente [298]. Il a d'abord été rapporté que CCR3 peut se lier à l'éotaxine et à d'autres messagers (RANTES, MCP-2, MCP-3, MCP-4) avec moins d'affinité [87, 143, 174, 209, 344, 345, 443], ce qui a été fermement confirmé sur les éosinophiles chez l'homme grâce à l'obtention d'anticorps anti CCR3 [174].

L'éotaxine-2 (MIPF-2, CCL24) est un ligand spécifique qui se lie à CCR3 [138, 330, 463]. Le dernier ligand fonctionnel découvert pour CCR3 est l'éotaxine-3 (CCL26), obtenue par clonage moléculaire du gène joutant celui de l'éotaxine-2. Elle est 10 fois moins puissante que l'éotaxine [210, 396].

On a longtemps pensé que l'éotaxine ne pouvait se lier qu'à CCR3, malgré son analogie avec la famille de MCP [209]. En fait, une récente étude sur des monocytes a montré que l'éotaxine en grande concentration active aussi CCR2 et que des concentrations moins importantes empêchent la fixation de MCP-1 sur le récepteur CCR2. Ainsi, contrairement à ce que l'on pensait, l'éotaxine n'est pas spécifique à CCR3 mais est aussi un ligand partiel de CCR2 [270]. Des travaux sur des souris déficientes en CCR3 (CCR3 KO (knock-out)) ont montré que le recrutement des éosinophiles est largement dépendant de CCR3 mais qu'il existe aussi clairement une voie CCR3 indépendante [187].

La liaison de l'éotaxine avec son récepteur induit une série de modifications biochimiques, y compris l'activation des protéines Gi, l'augmentation transitoire de la concentration en calcium intracellulaire, des réarrangements du cytosquelette, l'activation de la voie des MAPKs et l'internalisation rapide et prolongée du récepteur en un compartiment endocytique partagé avec le récepteur à la transferrine [483, 19 in 360].

Les chémokines et les cytokines peuvent aussi coopérer pour réguler l'expression et le recyclage des récepteurs mais les mécanismes pour chaque récepteur ne sont pas bien élucidés. Dans le cas de CCR1 et CCR3, plusieurs études ont montré qu'une même chémokine induit différentes voies de régulation selon le récepteur. Ainsi, RANTES n'induit pas le recyclage de CCR1 alors qu'elle agit sur CCR3. Le cas de CCR3 a l'air d'être complexe : il pourrait d'une part être dégradé dans les lysosomes mais aussi être recyclé (à 70%) [124, 483]. CCR3 subit une endocytose ligand-induite (par RANTES et éotaxine) prolongée qui ne dépend pas des PKC (protéines kinases C), mais il existerait aussi une autre voie non liée aux chémokines et qui est dépendante des PKC (Figure 3). CCR3 est dégradé puis est en partie recyclé, sa réexpression à la surface étant dépendante de la synthèse *de novo*

de protéines. La régulation de l'expression de CCR3 est donc aussi liée à la limitation du recyclage des récepteurs à la surface de la cellule [483]. Cette répression de CCR3 peut aussi être induite par l'IL-3 de façon temps et dose dépendant (mais l'IL-5, le GM-CSF, l'IL-4,

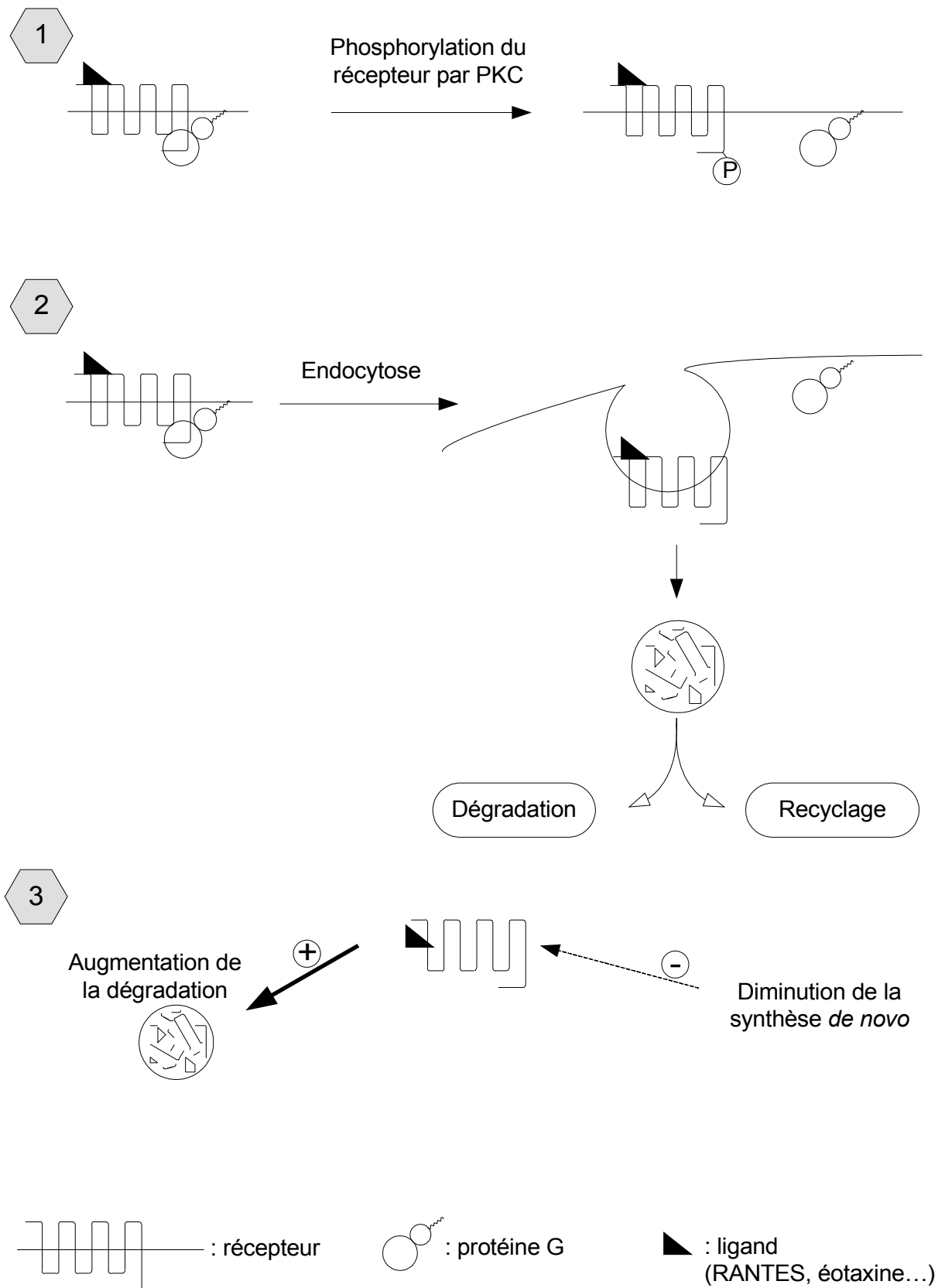


Figure 3 : Modèles de régulation de la fonction de récepteur de type CCR3 par différents mécanismes.

l'IL-10, l'IL-13, l'IFN γ et le TNF α (tumor necrosis factor α) n'ont pas d'effet) et elle impliquerait une diminution de l'expression génique de CCR3 [111] (Figure 3).

Finalement *in vivo* les faibles niveaux des récepteurs des CC chémokines seraient liés à des mécanismes de désensibilisation membranaire intenses et ces récepteurs joueraient en fait des rôles importants dans l'activation des éosinophiles [124].

Les études sur CCR3 et CCR1 utilisent souvent comme modèle *in vivo* la souris. Or les souris expriment plus de CCR1 que l'homme et CCR3 chez la souris, non seulement n'existe que sur les éosinophiles, mais aussi se lie à MIP-1 α à la différence du récepteur humain. Ce problème s'ajoute à celui déjà évoqué dans l'étude des IgE quant à la pertinence du modèle murin. Il semblerait que le cobaye soit un meilleur modèle, d'autant que des anticorps anti CCR3 chez le cobaye sont disponibles [370].

✓ Récepteurs pour les CXC chémokines.

CXCR1 (IL-8RA, IL-8R-I, IL-8R α) et CXCR2 (IL-8RB, IL-8R-II, IL-8R β) sont les deux seuls récepteurs chez les mammifères qui soient connus pour se lier à la famille des chémokines ELR+ (présence du motif tripeptidique acide glutamique-leucine-arginine sur l'extrémité N-terminale de la première cystéine) dont fait partie l'IL-8. Ce sont plutôt des récepteurs exprimés et étudiés sur les neutrophiles et les monocytes/macrophages [298] mais ils existent aussi sur les éosinophiles activés par l'IL-5 [174]. Leur rôle n'est pas bien défini, bien qu'il soit établi *in vitro* que l'IL-8 est un chémoattractant puissant pour les éosinophiles issus de donneurs hyperéosinophiliques [383]. Cependant, une étude avec des éosinophiles humains stimulés avec l'IL-4, l'IL-5, le TNF α , l'IFN γ ou le GM-CSF montre qu'une très petite quantité de cellules contaminantes comme les neutrophiles peut être responsable d'un effet induit par l'IL-8. Ces auteurs montrent que les ARNm (acide ribonucléique messager) et les protéines CXCR1 et CXCR2 ne sont pas exprimés par les éosinophiles, même après stimulation par les différentes cytokines. Il est donc possible que les effets induits par l'IL-8 dans d'autres études soient en fait artefactuels, c'est-à-dire liés au manque de pureté de la préparation des éosinophiles [342]. Il est aussi possible que l'expression soit induite uniquement dans les éosinophiles non sanguins puisque les éosinophiles de liquide de LBA (lavage broncho-alvéolaire) expriment CXCR1 et CXR2 [299].

Par ailleurs, il a été récemment découvert [300] que les éosinophiles sanguins expriment aussi CXCR4 mais en moins grande quantité que ceux issus du liquide de LBA [299]. Les

cytokines Th2 (IL-4 et IL-5) empêchent son expression. L'activation de CXCR4 serait responsable de la localisation intratissulaire des éosinophiles. Ainsi, il est possible qu'une réponse de type Th2 puisse favoriser la libération des éosinophiles en régulant négativement l'expression de CXCR4 [300].

Enfin CXCR3 est également exprimée par les éosinophiles et la fixation de ligands tels que IP-10 (IFN γ -inducible protein-10) et Mig (monokine induced by IFN γ) induisent *in vitro* le chimiotactisme et la libération de l'ECP. L'IL-2, à l'inverse de l'IL-10, favorise l'expression de CXCR3 et donc les actions correspondantes. Mais le rôle de CXCR3 *in vivo* chez l'homme reste encore à étudier [191].

Autres récepteurs couplés à des protéines G

✓ Récepteurs des dérivés de l'acide arachidonique :

Pour les leucotriènes

Le récepteur pour le LTB₄ (leucotriène B₄) nommé BLTR a été mis en évidence sur les éosinophiles chez l'homme [184] en 1998 et fait partie de la famille des récepteurs couplés à des protéines G avec sept domaines transmembranaires. Cette étude a montré une similarité de 78% avec le récepteur murin nommé mBLTR et une forte expression sur les éosinophiles activés.

Il faut noter que plusieurs études sur les éosinophiles de cobaye [149, 264] ont mis en évidence deux populations de récepteurs : l'une avec grande affinité et l'autre avec peu d'affinité pour LTB₄ [264]. Les récepteurs à haute affinité activent la cascade de la MAPK (raf1/ERK1/2) et la PLA₂ (Phospholipase A₂) de façon calcium dépendante alors que les récepteurs à faible affinité permettraient l'activation de la NADPH (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) oxydase et l'activation de PLA₂ calcium indépendante [149].

Les cysteinyl leucotriènes, LTC₄ (leucotriène C₄), LTD₄ (leucotriène D₄) et LTE₄ (leucotriène E₄), peuvent se lier à deux types de récepteurs, mais seul le type 1 est étudié puisqu'on possède des antagonistes correspondants. Peu de données sur ce sujet sont disponibles et leur action pourrait aussi être indirecte [149].

Pour les eicosatétraoïdes

Les récepteurs pour ces molécules ne sont pas identifiés sur les éosinophiles mais leur action puissante est assez bien documentée. *In vitro*, ce sont néanmoins tous des récepteurs couplés à des protéines G. De nombreuses études sont menées sur ces lipides et tentent d'identifier leur récepteur ; ainsi, Hosoi *et al.* ont identifié un récepteur nommé TG1019 pour 5-oxo-ETE (5-oxo-6E,8Z,11Z,14Z-eicosatetraenoic acid), et proposent qu'il soit responsable du chimiotactisme induit par le 5-oxo-ETE sur les éosinophiles [183].

Pour les prostanoides : thromboxanes et prostaglandines

Les prostaglandines (Pg), issues de l'action des COX (cyclooxygénases) 1 et 2 sur l'acide arachidonique, ont des effets biologiques sur beaucoup de types cellulaires par l'intermédiaire de huit récepteurs connus. Les PgE2 admettent quatre sous-types de récepteurs (récepteurs EP1-4), alors que pour les PgD2, les PgF2 α , les PGI2, et le thromboxane (TX) A2, des récepteurs spécifiques ont été identifiés : les récepteurs DP, FP, IP, et TP respectivement.

Aucune donnée sur IP, FP et TP n'est disponible et l'existence de EP sur les éosinophiles est incertaine [149]. Les PgE1 et les PgE2 ont des actions sur les éosinophiles mais elles sont peut-être indirectes et l'étude *in vivo* de chaque sous-type est difficile compte tenu de leur présence parfois concomitante. L'étude avec des agonistes sélectifs des sous-types de EP sur les éosinophiles humains ou de cobaye montre la présence de récepteurs de sous-type 2 (EP2) ou 4 (EP4) en très faible quantité et capables d'inhiber l'adényl cyclase [149, 306].

Le seul prostanoides pour lequel un récepteur a été clairement identifié sur les éosinophiles est la PgD2. L'étude de Monneret [288] utilisant un agoniste du récepteur DP a permis de montrer clairement la présence de ce récepteur couplé par une protéine G α s à l'adényl cyclase à la surface des éosinophiles, qui entraîne une activation des éosinophiles. Un deuxième récepteur se liant à la PgD2 et associé à des protéines G α i (inhibant l'adénylate cyclase), nommé DP2, a également été identifié [179]. L'association de ces deux récepteurs pourrait déterminer le degré auquel la prostaglandine D2 peut activer des éosinophiles et jouer un rôle dans le recrutement des éosinophiles au cours de l'asthme par exemple (Figure 4). Une étude concomitante a aussi mis en évidence un nouveau récepteur pour la PgD2 nommé CRTH2 qui présente les mêmes affinités de liaison que DP2. Ces deux récepteurs sont certainement identiques. Dans cette étude, les auteurs ont prouvé

l'appartenance de CRTH2 à la famille des récepteurs possédant sept domaines transmembranaires [179].

Enfin, Stubbs [414] a récemment montré que le récepteur DP2 sur les éosinophiles serait couplé, au moins en partie, à la protéine G PTX (pertussis toxin)-résistante G $\alpha_q/11$ qui est également impliquée dans la réponse chimiotactique des éosinophiles à d'autres fixations comme l'éotaxine sur CCR3 [414].

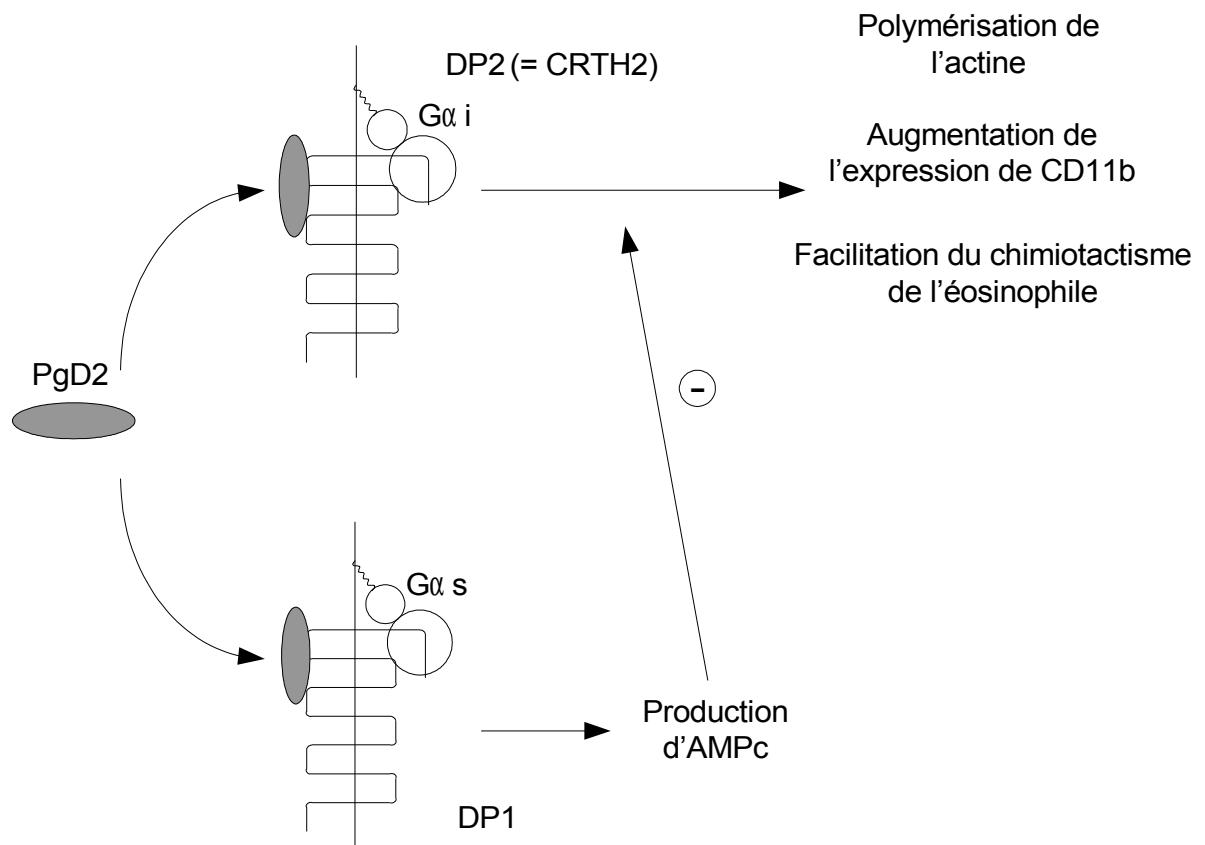


Figure 4 : Récepteurs et voies de transduction pour PgD2 dans l'éosinophile.

✓ Récepteur du Platelet-Activating Factor

Le récepteur du PAF existe sur les éosinophiles de cobaye et possède sept domaines transmembranaires. Il est identique à 83% au récepteur du PAF identifié sur les éosinophiles humains [305].

L'étude de Kroegel en 1989 sur les éosinophiles de cobaye avec un antagoniste du PAF avait déjà suggéré l'existence soit de deux sous types de récepteurs transmettant des fonctions différentes soit qu'un même récepteur puisse activer différentes voies avec différentes affinités puisque selon la concentration de PAF, les actions sur les éosinophiles sont différentes : à faible concentration, le PAF induit une libération d'EPO et une mobilisation du Ca^{2+} intracellulaire alors que à de plus fortes concentrations, il induit la formation d'anion superoxide ($O_2^{\bullet-}$) [222].

Les récepteurs du PAF présentent donc une hétérogénéité intraspécifique (selon les cellules étudiées) et interspécifique (lapin, cobaye, homme) [149].

Cependant, malgré de nombreuses études, la nature des récepteurs du PAF et leur mode d'action sur les éosinophiles humains reste peu connue. Plusieurs études récentes confirment l'existence de deux voies : l'une portant sur les rôles respectifs de PKA (protéines kinases A) et PKC [424] confirme cette dualité de récepteurs chez l'homme ; une autre étude [200], en comparant les effets sur les éosinophiles et neutrophiles, montre que deux phases de réponse sont présentes sur les éosinophiles humains mettant en jeu deux mécanismes distincts. La seconde phase dépendait de l'adhésion cellulaire et des intégrines β_2 , alors que la première phase était indépendante des deux. Les mécanismes en amont seraient donc différents puisque la seconde phase était médiée par des protéines G PTX résistantes et mettait en jeu l'activation de la PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase), alors que la première était médiée par des protéines G PTX sensibles. Enfin, la seconde phase était beaucoup plus résistante à l'inhibition par un antagoniste du PAF.

Cette dualité de fonctionnement pourrait peut-être en partie expliquer la grande variabilité des réponses biologiques des éosinophiles au PAF [245].

✓ Autres récepteurs

D'autres récepteurs à sept domaines transmembranaires sont également présents sur la membrane des éosinophiles :

- récepteurs de neuropeptides (VIP (vasoactive intestinal peptide), SP (substance P), CGRP (calcitonin gene-related peptide), sécrétoneurine)
- récepteurs de l'adénosine

- récepteurs de la f MLP
- récepteurs de la LXA4 (lipoxine A4)
- récepteurs de l'histamine
- β adrénorécepteurs.

Chez ces derniers, quatre sous types (1 à 4) sont identifiés et sont très étudiés car leurs agonistes font partie des broncho-dilatateurs les plus efficaces connus. Nous développerons leur rôle ultérieurement.

Un récepteur particulier a récemment été découvert sur les éosinophiles, le PAR-2 (Protease Activated Receptor-2), qui est capable de fixer des sérine-protéases telles que la trypsine. La trypsine est un agoniste de ce récepteur [281] et son activation *in vivo* chez les souris permet l'infiltration tissulaire par les éosinophiles [382].

Autres récepteurs non couplés à des protéines G

✓ Cas des interférons

La superfamille des récepteurs pour les interférons inclut les récepteurs de l'IFN α (type I interféron) et de l'IFN γ (type II interféron). Ils sont composés d'un domaine glycoprotéique unique transmembranaire et de un (IFN γ) ou deux (IFN α) domaines extracellulaires [149].

Les récepteurs de l'IFN α ont été mis en évidence sur des éosinophiles de patients atteints de maladies éosinophiliques [8]. Les récepteurs de l'IFN γ des éosinophiles ont montré une grande affinité pour leur ligand [149].

✓ Cas des Tumor Necrosis Factor

Les deux types (I et II) de récepteurs pour le TNF α ont été identifiés sur les éosinophiles [149].

L'expression de CD69 (récepteur de type I) a d'abord été mise en évidence en 1992 par Nishikawa *et al.* [312] dans les éosinophiles de liquide de LBA de patients pneumoniques mais pas sur ceux du sang périphérique de ces mêmes patients. En fait, l'ARNm de CD69 existe aussi dans les éosinophiles sanguins, même non stimulés [255], mais l'expression de la protéine de surface est assez variable : CD69 n'a été identifié que sur les éosinophiles de patients asthmatiques ou parasités [272, 276] mais pas sur les éosinophiles hypodenses de donneurs allergiques [272].

Le « death receptor », CD95 (*fas*/APO-1) (récepteur de type II), est exprimé sur les éosinophiles à un niveau faible mais constant (cf *infra*).

✓ Cas des interleukines

Le récepteur de l'IL-2, IL-2R, possède trois chaînes polypeptidiques : α (p55, CD25), β (p75,CD122) et γ c. Il existe sur les éosinophiles de patients sains et éosinophiliques. On a montré à l'aide d'anticorps anti p55 et anti p75 que l'interaction de l'IL-2 avec IL-2R est d'une grande affinité [354].

Le récepteur pour l'IL-4 est, lui, dimérique (α = CD124 et γ c comme IL-2), et peut aussi se lier à l'IL-13.

Les récepteurs pour d'autres interleukines n'ont pas été formellement identifiés [149].

✓ Cas du Transforming Growth Factor (TGF) β et du Stem Cell Factor (SCF)

Il existe plusieurs types de récepteurs pour TGF β : deux récepteurs (I et II) de grande affinité et un (III) de faible affinité. Leur expression à la surface des éosinophiles est peu étudiée à notre connaissance, mais il semble que plusieurs sous-types existent sur ces leucocytes [149].

Le SCF sous forme soluble ou liée est le ligand de *c-kit*, récepteur possédant une activité protéine kinase intrinsèque présent sur les éosinophiles [477].

✓ Présentation d'antigène et molécules costimulatoires

Les éosinophiles expriment, lorsqu'ils sont activés, deux formes d'antigènes du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) : l'un de classe I, HLA (human leukocyte antigen)-E [439] et l'autre de classe II, HLA-DR [169, 254, 461]. L'expression de HLA-DR nécessite la synthèse *de novo* de protéines [169]. Par ailleurs, chez la souris, *in vitro*, l'expression des molécules costimulatoires CD80 et CD86 est aussi favorisée par la présence du GM-CSF [425].

Chez l'homme, CD40 est exprimé sur les éosinophiles des patients allergiques mais pas sur ceux des patients normaux [318], de même que CD86 et CD28 [465]. L'absence d'expression de CD80 chez l'homme est encore un argument en défaveur de l'utilisation de la souris comme modèle pour l'homme.

✓ Autres marqueurs membranaires

CD4 : Les éosinophiles humains expriment la protéine CD4, qu'ils soient issus de patients normaux ou éosinophiliques et peuvent par exemple se lier ainsi à la protéine gp120 de HIV1 [253].

Le CD9 existe chez l'homme et chez le chien mais son rôle est inconnu [240].

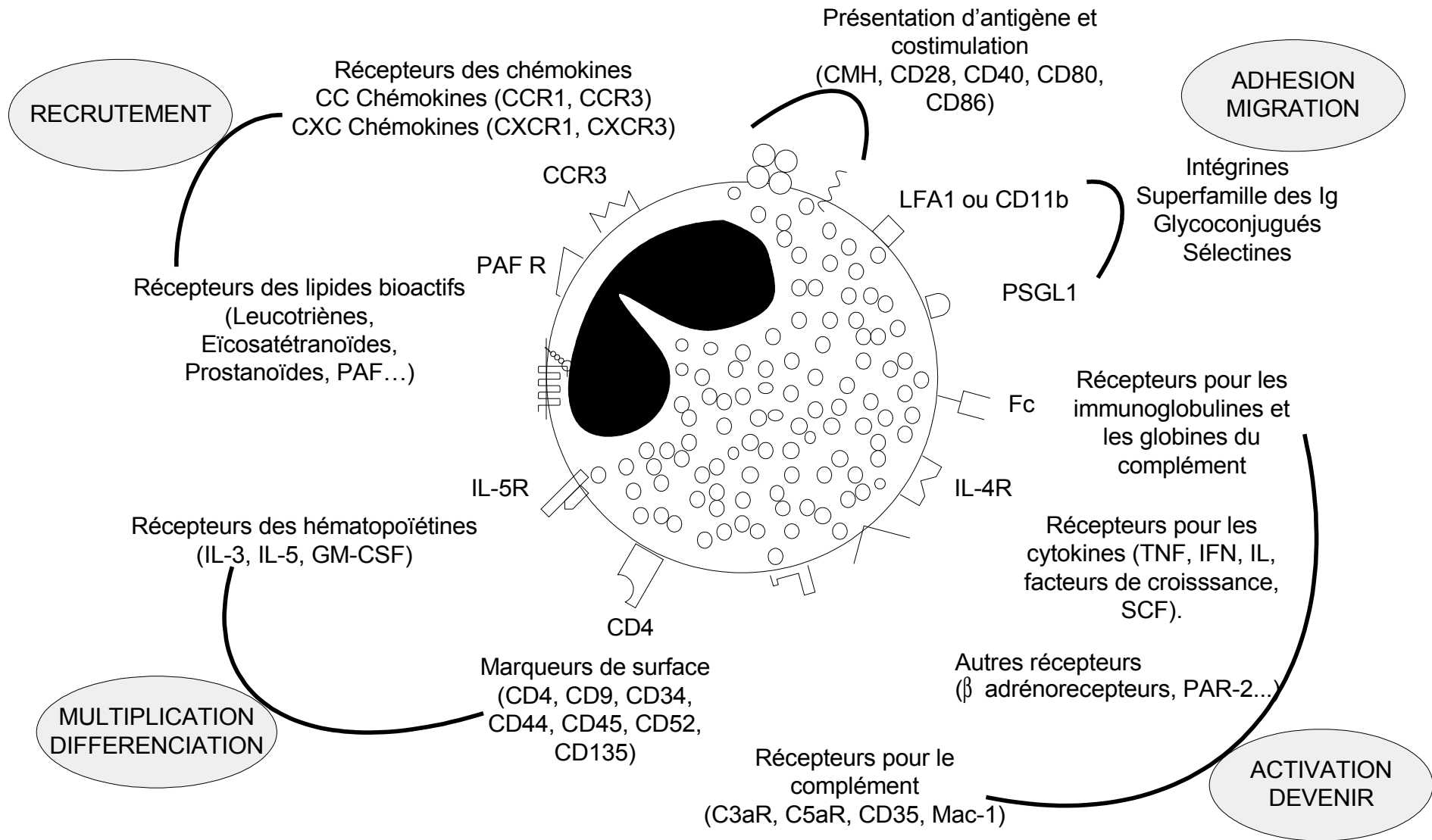


Figure 5 : Types de récepteurs présents à la surface des éosinophiles et rôles associés.

Le CD44 est exprimé *in vitro* sur les éosinophiles et le niveau de son expression augmente après stimulation, mais il ne se lie pas à son ligand habituel. De même, *in vivo*, l'expression de CD44 augmente, encore plus qu'*in vitro*, sur les éosinophiles hypodenses de donneurs allergiques mais ne se lie toujours pas à son ligand. Aussi, puisque aucun ligand n'est identifié, CD44 est actuellement considéré comme un marqueur de surface de l'activation des éosinophiles [272].

D'autres marqueurs membranaires de différenciation ont également été identifiés sur les éosinophiles (CD52, CD45, CD135) mais leurs rôles biologiques sont encore inconnus.

Les éosinophiles sont donc des leucocytes possédant une grande diversité de récepteurs membranaires qui reflète les différentes fonctions de ces cellules (Figure 5). Les récepteurs pour les hématopoïétines permettent principalement d'assurer la différenciation et la multiplication cellulaire, l'IL-5 tenant un rôle primordial dans ces fonctions. Les récepteurs pour les chémokines interviennent dans le recrutement des éosinophiles, parfois avec une certaine spécificité comme CCR3 pour les éotaxines et les phénomènes membranaires conduisant à l'adhésion et la migration mettent en jeu des sélectines (L-sélectine) et des intégrines (principalement VLA-4, CD11b et LFA-1). Comme l'illustre la présence de récepteurs pour les Ig et le complément, les éosinophiles sont aussi des cellules prenant part aux systèmes de défense de l'organisme. Leur place dans les processus inflammatoires par l'intermédiaire des récepteurs pour les lipides bioactifs est non négligeable et leur activation par des molécules telles que les cytokines et les chémokines peut entraîner la libération de produits toxiques, principalement par dégranulation. Enfin, ils possèdent de nombreuses molécules membranaires (CMH, molécules co-stimulatoires) reflétant leur participation dans les mécanismes de communication intercellulaire.

Origine

Mécanismes de différenciation et de régulation

L'éosinopoïèse, c'est-à-dire la formation d'éosinophiles (Figure 6) s'effectue principalement dans la moelle osseuse ; les sites auxiliaires sont la rate [201], le thymus et les nœuds lymphatiques [149]. Une partie de la différenciation peut aussi avoir lieu dans les tissus. Les éosinophiles constituent un des termes possible de l'évolution de la lignée myéloïde, elle-même issue des cellules souches hématopoïétiques qui sont indifférenciées.

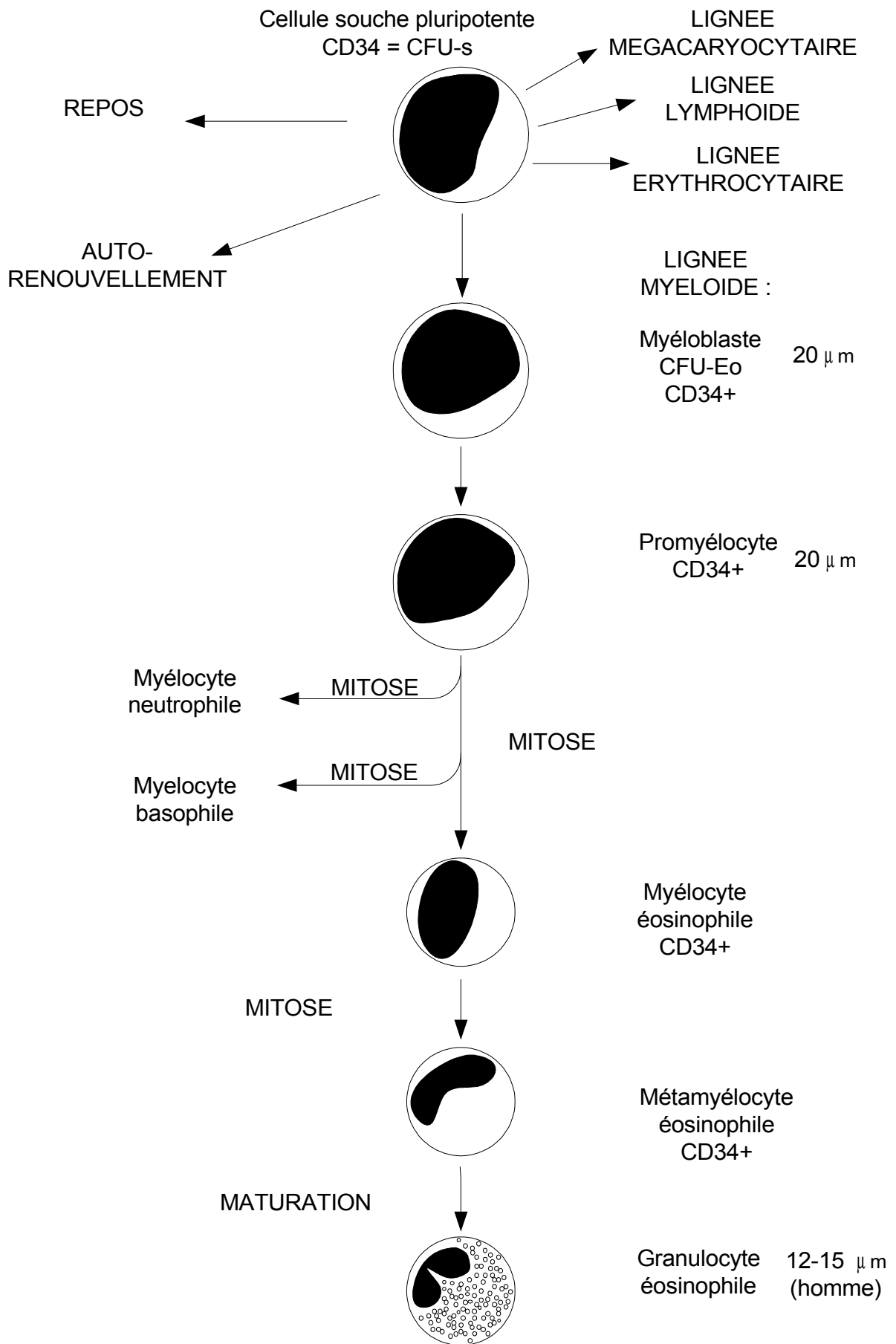


Figure 6 : L'éosinopoïèse.

Cette lignée comprend le myéloblaste (grande cellule de 20 µm de diamètre, nucléolée et à chromatine très fine) et le promyélocyte (qui ressemble au précédent mais est dépourvu de nucléole) qui sont communs aux neutrophiles, basophiles et éosinophiles. Puis le promyélocyte subit une mitose et devient un myélocyte, stade à partir duquel on peut observer après coloration au MGG trois types de granulations différentes par leur forme et leur couleur : les granulations des neutrophiles sont assez peu visibles, celles des basophiles sont violet foncé plutôt arrondies et celles des éosinophiles brunâtres voire orangées, arrondies ou en navettes selon les espèces. Une dernière mitose conduit le myélocyte éosinophile au stade métamyélocyte éosinophile. Le métamyélocyte éosinophile ne subit pas de mitose et se transforme en granulocyte éosinophile par maturation uniquement. Chez l'homme, cette différenciation dure environ cinq jours [157].

Les cellules qui sont les progéniteurs pluripotents hématopoïétiques, dites «CFU (colony forming units)-spleen », portent la molécule de surface CD34 [388]. Les éosinophiles et les basophiles proviennent d'une même colonie : Eo/B-CFU (Eosinophils/Basophils colony forming unit), alors que les macrophages et neutrophiles proviennent d'une autre colonie : GM-CFU (neutrophile/macrophage colony forming unit) [95]. La molécule CD34 est une glycoprotéine de 115 kDa avec trois domaines intracellulaires [456]. Elle peut être phosphorylée sur son résidu sérine par la PKC, possède une structure mucine-like et est un ligand pour la L-sélectine [456]. Toutes les cellules lymphoïdes et myéloïdes jeunes, y compris les éosinophiles, font partie de la population de cellules CD34+ [456]. Ainsi, presque toutes les colonies d'éosinophiles sont CD34+, et CD34 est progressivement perdu quand la cellule se différencie [456].

Les cellules souches hématopoïétiques sont capable de s'auto-renouveler, de se différencier ou de s'accumuler aux sites inflammatoires [356, 389]. Le pré-requis à ces différentes fonctions et le rôle des cytokines dans la régulation des lignées obtenues est un sujet de débat. Certaines études [149, 456] ont montré que la décision des cellules souches de s'auto-renouveler ou de se différencier (et ainsi de sélectionner une lignée pendant la différenciation) est stochastique et intrinsèque au progéniteur. Par contre, la multiplication et la maturation des progéniteurs des lignées semblent être contrôlées par différentes cytokines (dont le GM-CSF, l'IL-3, l'IL-4, l'IL-5, l'IL-12) qui peuvent dans certains cas interagir [317].

Les cellules CD34+/IL-5Rα+ au premier stade de différenciation n'ont été retrouvées que dans la moelle osseuse, argument qui confirmerait que la différenciation des cellules CD34+ en lignée éosinophile est un mécanisme de différenciation précoce réduit au compartiment de la moelle osseuse.

L'exposition à un allergène induit une augmentation de la population de progéniteurs myéloïdes primitifs, caractérisés par l'expression membranaire de la protéine CD 135 (« class III receptor tyrosine kinase»), à l'intérieur de la population de cellules CD34+, sans augmentation du nombre de cellules CD34+ [386]. Cependant Inman *et al.* [189] ont aussi montré qu'une exposition à un allergène induit une augmentation des Eo-CFU (eosinophils colony forming unit) dans la moelle (Tableau 3). L'étude de Sehmi en 1997 [356, 385], proposait que les cellules CD34+/IL-5R α + constituent le progéniteur le plus précoce de la lignée éosinophile/basophile. Depuis, plusieurs auteurs ont confirmé cette bivalence et la régulation de l'expression de IL-5R α des progéniteurs a pour conséquence fonctionnelle, *in vitro* et *in vivo*, la modulation de la différenciation en éosinophiles/basophiles [94, 356]. Les rôles respectifs de l'IL-3, l'IL-5 et du GM-CSF dans la différenciation des précurseurs dans la moelle osseuse ont été très discutés. En effet, *in vitro* [471], l'IL-5 n'engendre pas de Eo-CFU à partir de cellules souches [77] à l'inverse de l'IL-3 et du GM-CSF. Par ailleurs, *in vivo*, il semblerait que l'IL-5 a tout de même une action précoce puisque chez des souris transgéniques pour l'IL-5, chez lesquelles il y a surproduction de l'IL-5 et peu de l'IL-3 et du GM-CSF, il y a une augmentation du nombre d'éosinophiles dans le sang et dans les tissus [456]. Certaines études appuient l'idée que les éosinophiles mûrissent progressivement en lignée myéloïde à partir de précurseurs CD34+ dérivés de la moelle sous l'influence précoce d'IL-3 et de GM-CSF, seuls ou en combinaison, et que l'action de l'IL5 n'est que de favoriser le processus de maturation final [76, 77, 389, 471]. Plus récemment, il a été montré *in vivo* que l'augmentation de l'éosinophilie dans les poumons ou dans la moelle, chez des souris déficientes pour un allergène, a nécessité la présence de l'IL-5. Cependant, le stade de la différenciation des éosinophiles sur lequel l'IL-5 exerce ses effets n'est pas identifié. Il est donc possible que des médiateurs autres que l'IL-5 soient requis pour l'expansion de la population de progéniteurs Eo-CFU qui répondent à l'IL-5. Cette hypothèse est supportée par le fait que l'IL-5 n'a pas d'effet direct sur le nombre de Eo-CFU, suggérant que l'IL-5 seule n'est pas suffisante pour l'expansion de la population Eo-CFU [189]. L'IL-5 est donc un facteur de différenciation terminale de la lignée lymphomyéloïde (CD34+) en Eo-CFU. Elle agit par l'intermédiaire d'un récepteur présent à la surface des précurseurs [385], IL-5R, qui est constitué d'une chaîne spécifique α (IL-5R α) et d'une chaîne de signalisation β , qui est commune aux récepteurs de l'IL-3 et du GM-CSF. *In vitro*, l'inhibition spécifique de IL-5R chez la souris empêche leur différenciation [6, 471].

Un défi allergène induit l'expression de l'IL-5R α sur les cellules CD34+ [385]. Tavernier *et al.* ont montré que cette augmentation de l'IL-5R α est en fait médiée par l'IL-5 qui induit spécifiquement la conversion de son propre récepteur d'une forme inactive en une

forme fonctionnelle [427]. De plus, l'exposition de cellules CD34+ en cultures à l'IL-3 ou à l'IL-3 associée au GM-CSF provoque une différenciation en éosinophiles précédée par une augmentation de la quantité d'ARNm de l'IL-5 et qui est inhibée par des anticorps anti IL-5. Ces anticorps agiraient en inhibant le premier stade de différenciation. Ces résultats suggèrent une production autocrine d'IL-5 par les cellules CD34+ [402, 427]. Ainsi, l'IL-5 est capable de favoriser l'expression de son propre récepteur IL-5R α fonctionnel et les cellules CD34+ sont capables d'une production autocrine de l'IL-5. Le développement des éosinophiles conduit par l'IL-3 et le GM-CSF est donc en fait dépendent de l'IL-5 (Tableau 3). Cette étude explique les différences observées *in vitro* et *in vivo*, et permet de conclure à une interdépendance de ces trois hématopoïétines, finalement sous le contrôle de l'IL-5 [427].

Mécanismes de mobilisation vers le sang et les tissus

Les progéniteurs CD34+ de la moelle peuvent se multiplier sur place, se différencier ou bien être mobilisés vers le sang. Plusieurs études ont mis en évidence des cellules CD34+ dans le sang chez le cobaye [327] ou chez l'homme [384, 386, 412]. Une étude en microscopie électronique sur les cobayes a montré que les éosinophiles du compartiment hématopoïétique de la moelle stimulés par l'IL-5 traversent l'endothélium sinusoidale de façon transcellulaire, se retrouvent dans le lumen attachés à la surface luminale de l'endothélium sinusoidale puis se détachent. Chez le cobaye, l'IL-5 ne stimule pas la migration de Eo-CFU (Tableau 3) [326]. Des colonies Eo/B-CFU ont été mises en évidence dans la circulation sanguine chez l'homme et l'exposition de patients sensibles à un allergène pourrait augmenter leur nombre (Tableau 3) [148, 384].

L'identification de protéines spécifiques des granules des éosinophiles a permis de montrer que la différenciation des progéniteurs CD34+ dans le sang périphérique en lignée éosinophile survient assez tôt, vers le troisième jour [388].

Chez le cobaye, l'éotaxine induit la mobilisation des progéniteurs Eo-CFU *in vivo* (Tableau 3) [327]. Il est possible que le rôle de l'IL-5 soit différent selon les espèces puisque les études menées chez l'homme montrent que, contrairement au cobaye, l'IL-5 favorise la mobilisation des progéniteurs CD34+/CD45+. Chez des patients modérément asthmatiques, on observe que l'IL-5 administrée par voie intraveineuse (et moins par inhalation) induit un accroissement important et significatif du nombre de cellules CD34+ circulantes ayant une morphologie lymphoblastoïde (Tableau 3) [412]. De même, on constate une augmentation de l'expression de l'IL-5 sur des cellules sanguines CD34+ de patients asthmatiques qui sont alors capables d'autoréguler la formation de colonies éosinophiliques à partir des progéniteurs

Tableau 3 : Effets des facteurs de multiplication, de différenciation et de mobilisation sur les précurseurs identifiés chez les éosinophiles (Eo).

Facteurs	Type de cellule cible	Effets
Allergène	Eo CFU (moelle)	Multiplication
Allergène (souris)	CD 34 + (LBA)	Multiplication
IL-5, IL-3 et GM-CSF	CD 34 +	Multiplication et différenciation
IL-5 (cobaye)	Eo (moelle)	Mobilisation vers le sang
	Eo CFU	Pas d'action
Allergène (homme)	Eo/B CFU (sang)	Multiplication
Eotaxine (cobaye)	Eo CFU	Mobilisation
Eotaxine (souris)	CD 34 +	Migration
IL-5 (homme)	CD 34 + (sang)	Multiplication
IL-3, IL-4, IL-5 et GM-CSF	CD 34 +	Favorise l'expression de CCR3
IL-5, GM-CSF, RANTES et éotaxine Eotaxine ou RANTES + IL-5	CD 34 +	Différenciation Augmentent l'efficacité de la différenciation (vs IL-5)

[224]. Néanmoins une autre voie, indépendante de l'IL-5 et dépendante de la reconnaissance de l'éotaxine par la molécule CCR3, pourrait exister. Les progéniteurs CD34⁺ contiennent l'ARNm de CCR3 et expriment les protéines correspondantes [479] ; par ailleurs, le GM-CSF, l'IL-3, l'IL-4, et l'IL-5 favorisent l'expression de CCR3 par les cellules CD34⁺ (Tableau 3). Chez l'homme, l'expression de CCR3 à la surface des cellules CD34⁺ (partiellement due à une internalisation du récepteur) est moins importante que celle de l'IL-5R α [479]. En revanche, cette voie serait prépondérante chez le cobaye.

Le GM-CSF, l'IL-5 et le RANTES *in vitro* induisent aussi la différenciation de cellules CD34⁺ mais l'éotaxine (et RANTES) en association avec l'IL-5 est plus efficace. Donc soit l'éotaxine et RANTES induisent l'expression de l'IL-5 ou de IL-5R α ; soit l'IL-5 favorise la sensibilité de la réponse à l'éotaxine. Il y a donc coopération entre une chémokine puissante et spécifique, l'éotaxine, et une cytokine spécifique et effectrice, l'IL-5 (Tableau 3) [227].

La présence des progéniteurs CD34⁺/IL-5R α ⁺ dans les différents sites où a lieu l'éosinopoïèse est encore discutée. En effet, ces progéniteurs sont absents du liquide de LBA [386, 435] et du sang des asthmatiques [356]. Mais l'ARNm de l'IL-5 a été mis en évidence dans des cellules CD34⁺ issues de biopsies de muqueuses bronchiques de patients asthmatiques [356] et de polypes nasaux [206]. Dans la peau de souris, après l'injection intradermique d'éotaxine, il y a aussi migration de cellules CD34⁺ (Tableau 3). Il est possible que l'éotaxine présente dans les polypes nasaux et les poumons de patients asthmatiques soit responsable du recrutement des cellules CD34⁺ [227]. Ainsi, soit les cellules CD34⁺/IL-5R α ⁺ sont recrutées dans la moelle, soit les cellules CD34⁺ acquièrent l'IL-5R α dans les voies aériennes. Cela n'exclue pas l'hypothèse avancée par Sergejeva [386] dans son étude sur des souris défiées avec un allergène, selon laquelle la toute première différenciation des cellules CD34⁺ n'a lieu que dans la moelle. Mais il est possible qu'il y ait des différences selon les espèces et les pathologies étudiées [386].

Il est actuellement supposé que la libération autocrine de l'IL-5 et la surexpression de IL-5R α sont responsables de la capacité à se multiplier et à se différencier des cellules CD34⁺ dans le liquide de LBA et dans la muqueuse nasale [56, 386].

Puisque CD34 est un ligand pour la L-sélectine, elle peut activement contribuer, comme molécule d'adhésion, à une accumulation des leucocytes aux sites inflammatoires. On a, en effet, observé une atténuation marquée de l'éosinophilie des voies aériennes chez des souris CD34-déficientes subissant un défi allergène des voies aériennes, en dépit d'une

hématopoïèse normale et d'un rétablissement des progéniteurs, suggérant un rôle fonctionnel pour CD34 dans l'accumulation des éosinophiles dans les tissus *in vivo* [419]. Une étude plus récente a mis en évidence que des cellules CD34+ peuvent se multiplier dans le liquide de LBA après stimulation allergène sur des souris sensibilisées (Tableau 3) [386].

Enfin, notre connaissance des bases moléculaires de la différenciation éosinophile reste relativement fragmentaire. De très nombreuses recherches sont menées sur les cellules souches et devraient permettre, dans un avenir proche, d'une part d'identifier les liens entre structure et fonction de ces cellules et, d'autre part de comprendre leur régulation en particulier au niveau génique.

La réaction inflammatoire

Rappel général

La réaction inflammatoire est une réponse non spécifique des tissus à une agression quelle qu'en soit la nature. Les processus biochimiques, vasculaires et cellulaires sont très complexes et nous nous limiterons à une vue d'ensemble des étapes morphologiques successives, puis de la dynamique des mécanismes de la réponse inflammatoire, dans laquelle interviennent les éosinophiles.

Aspect morphologique de la réaction inflammatoire

D'un point de vue morphologique, trois phases peuvent être distinguées [93] : une phase initiale dite silencieuse et qui ne dure que quelques minutes, une phase vasculaire et une phase cellulaire qui durent toutes deux environ 24h.

Dans la première phase, une lésion initiale, visible macroscopiquement ou non, est à l'origine de la libération de médiateurs vasoactifs qui sont responsables des manifestations morphologiques de la deuxième phase.

Ils entraînent ainsi dans la phase vasculaire une vasodilatation qui, associée à une augmentation de la perméabilité vasculaire, conduit à une stase et éventuellement à la formation d'œdèmes ou parfois de phénomènes thrombotiques. Cette deuxième phase est aussi caractérisée par la diapédèse des cellules blanches. Ce sont principalement des neutrophiles mais l'éosinophile peut aussi être une cellule très active. Par exemple, les réponses cutanées de patients atopiques exposés à un allergène montrent des pics

concomitants de ces deux types de cellule à 6h, illustrant ainsi le rôle important des éosinophiles dans les réactions à prédominance de phase vasculaire [473].

La troisième phase est la phase cellulaire. Elle est caractérisée par l'activation de cellules locales (macrophages, fibroblastes, lymphocytes) ou par l'arrivée de nouvelles cellules par voie sanguine (monocytes, lymphocytes). C'est dans cette phase que le remplacement de tissus détruits a lieu par un tissu de granulation. Le complexe granulome éosinophilique félin est l'une des réactions inflammatoires à prédominance de phase cellulaire dans laquelle l'éosinophile a un rôle majeur.

Cette succession coordonnée d'étapes représente la phase aiguë de la réaction inflammatoire. Plusieurs évolutions peuvent lui succéder, allant de la résolution à la chronicité, selon différents facteurs comme par exemple le terrain (individus plus ou moins réactifs) ou l'agent causal.

La dynamique de la réaction inflammatoire

La dynamique de la réaction inflammatoire est articulée autour de quatre phases : initiation, amplification, stabilisation et résolution.

✓ Initiation

La phase d'initiation de la réaction inflammatoire diffère, autant d'un point de vue moléculaire que cellulaire, selon qu'elle est immune ou non immune.

D'un point de vue moléculaire, les réactions inflammatoires non immunes mettent en jeu principalement le facteur XII de la coagulation sanguine qui initie la coagulation et la fibrinolyse, et qui conduit au déclenchement de la cascade des kinines. Ces molécules sont des agents vasoactifs très puissants mais sont dénuées d'effets chimiotactiques. La deuxième voie d'initiation est l'activation de la voie alterne du complément alors que dans le cas des réactions inflammatoires immunes, c'est la voie classique qui est activée (Figure 7).

L'activation du complément par la voie alterne est maintenant assez bien connue. Le C3b est libéré en continu mais est inactivé par un inhibiteur. Quand l'inhibition est levée, il y a production d'un complexe C3bBb stabilisé par la properdine. Ce complexe est une C5 convertase qui, par clivage protéolytique du C5, conduit à la formation d'un complexe multimérique associant les globines C5a, C6, C7, C8 et C9 capable de former des pores à la surface des cellules cibles. La levée de l'inhibition de C3b peut avoir lieu grâce à différentes molécules (endotoxines, venins, certains parasites, cellules tumorale, kinines ...). L'activation

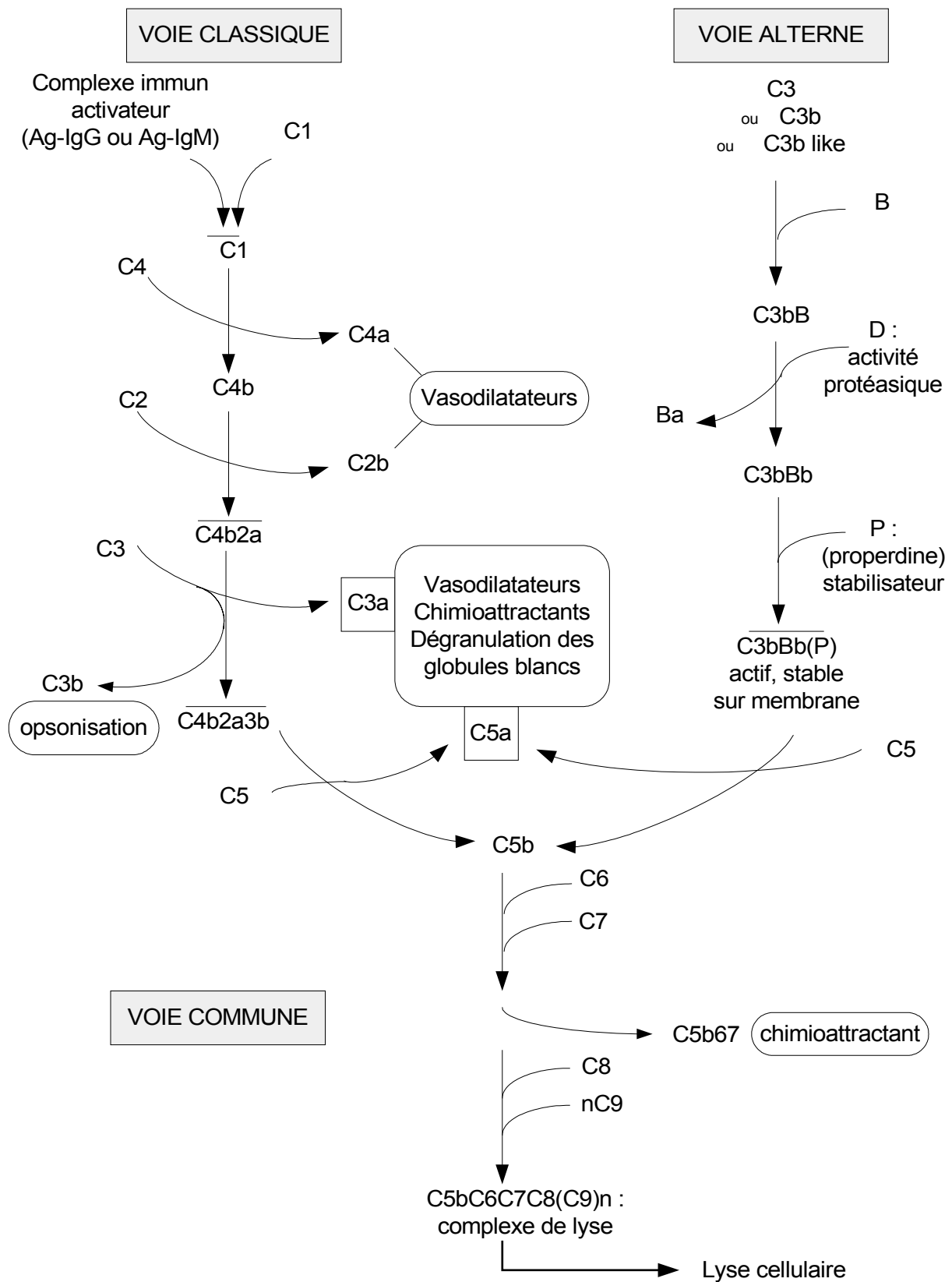


Figure 7 : Cascade du complément, voie alterne et voie classique.

du complément libère ainsi des facteurs à effets pro-inflammatoires : C4a et C2b qui ont des propriétés analogues aux kinines, les anaphylatoxines C3a et C5a qui provoquent la dégranulation des cellules et sont vasodilatateurs et chimiotactiques, C3b qui peut favoriser la phagocytose par opsonisation et C5b67 qui a des propriétés chimiotactiques.

D'un point de vue cellulaire, les réactions inflammatoires non immunes peuvent se dérouler sans l'intervention des lymphocytes. C'est l'activation des plaquettes et des mastocytes qui initie les réactions inflammatoires non immunes. Les mastocytes contiennent notamment de l'histamine susceptible, lorsqu'elle est libérée, d'induire la vasodilatation des capillaires sanguins et la libération de substance P (qui amplifie la dégranulation des mastocytes) par les fibres nerveuses sensibles. Sa dégradation a lieu par désamination oxydative, en particulier en présence des éosinophiles sur lesquels elle exerce un fort chimiotactisme.

Les réactions inflammatoires immunes sont caractérisées par l'action des lymphocytes B et T et des macrophages, et sont initiées par les quatre mécanismes d'hypersensibilité (HS) décrits par Gell et Coombs :

L'HS de type I dite immédiate : Un antigène (Ag) se fixe sur une IgE qui est elle-même fixée sur un basophile ou un mastocyte et induit leur dégranulation.

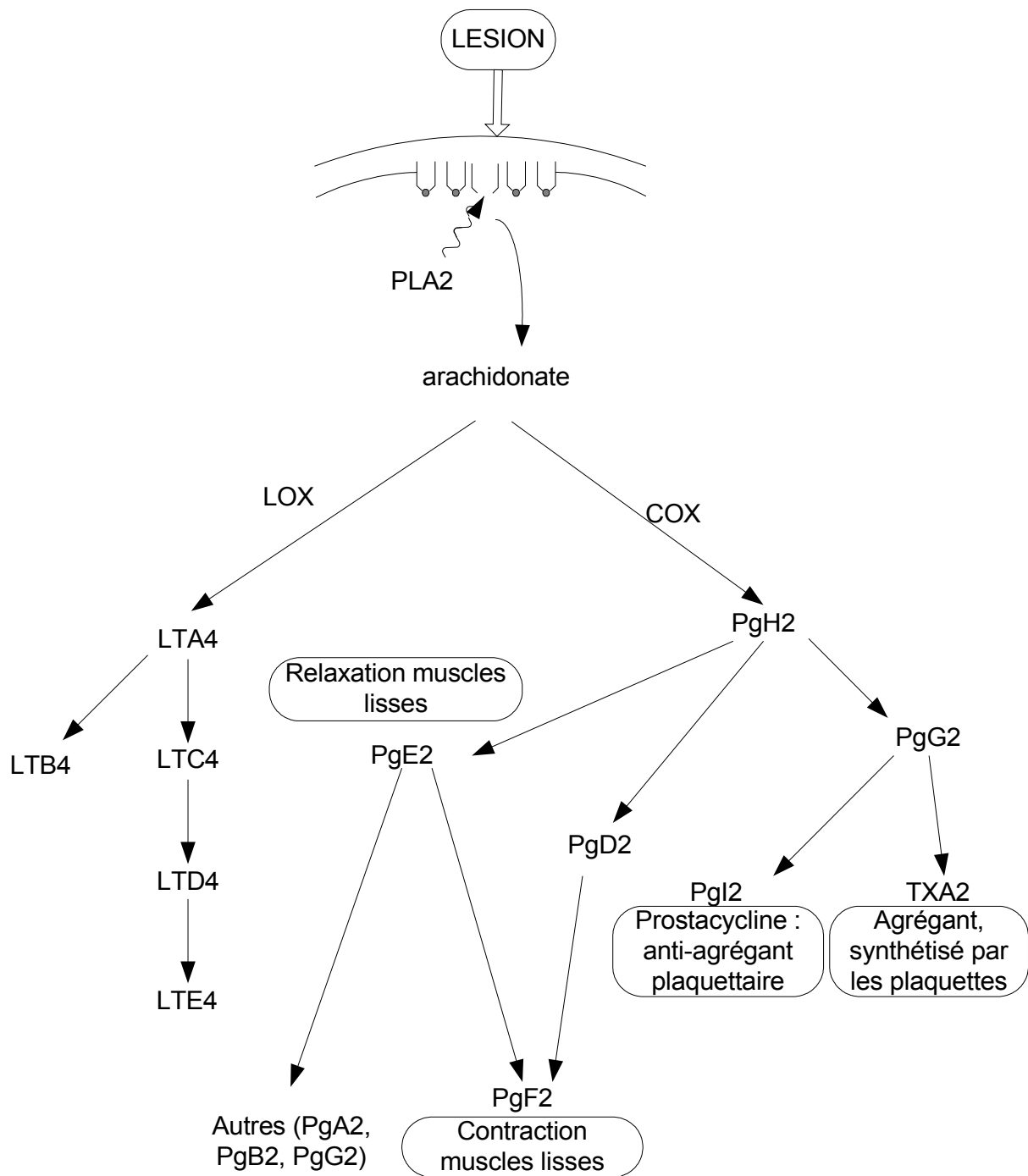
L'HS de type II dite cytotoxique : Fixation d'un Ac (anticorps), de nature IgG ou IgM, sur les Ag présentés par les cellules cibles. Il y a lyse cellulaire et libération de médiateurs de l'inflammation. L'activation du complément, comme pour le type III, est un événement important dans ce type d'hypersensibilité.

L'HS de type III : Elle est liée aux complexes immuns. La formation puis le dépôt de complexes immuns active le complément dans les parois vasculaires. Cliniquement, on constate l'apparition d'une vascularite.

L'HS de type IV dite retardée : Des lymphocytes T sensibilisés spécifiques d'un Ag sont activés et cela aboutit à la libération de messagers chimiques comme les cytokines et au recrutement de cellules comme les macrophages et autres lymphocytes.

✓ Amplification

Il s'agit de l'exacerbation quantitative et qualitative en 24h des premières réactions. Les médiateurs présents peuvent agir conjointement et d'autres peuvent être libérés par les cellules présentes ou qui arrivent par voie sanguine.



COX : cyclo-oxygénase
 LOX : lipo-oxygénase
 LT : leucotriènes
 Pg : prostaglandine
 PLA2 : phospholipase A2
 TX : thromboxane

Figure 8 : De l'acide arachidonique aux lipides bioactifs.

Les médiateurs présents peuvent par exemple agir en synergie (histamine et substance P) ou former une boucle d'amplification (facteur B et fraction C3b du complément) ou provoquer la dégranulation des mastocytes (C3a et C5a).

De nouveaux médiateurs, les lipides bioactifs, peuvent être produits par l'activation des cellules présentes après activation de la PLA2 membranaire sur l'acide arachidonique (Figure 8). La première étape de biosynthèse des médiateurs lipidiques est la libération d'acide arachidonique libre et de lyso-PAF issus de la dégradation des phospholipides membranaires par les PLA2 de type IIA (sécrétoire) et de type IV (cytosolique). La PLA2 sécrétoire est dépendante de Ca^{2+} et se trouve surtout dans les granules spécifiques dans le cas particulier des éosinophiles [39]. La PLA2 cytosolique, est plus grosse et plus abondante. Les deux isoformes peuvent être transloquées sur la membrane plasmique des éosinophiles [149]. L'acide arachidonique peut ensuite être métabolisé selon deux voies : l'une résultant de l'action des COX 1 et 2 et conduisant à la formation des prostaglandines et l'autre résultant de l'action des lipoxygénases conduisant à la formation des leucotriènes. En particulier la 5-lipoxygénase induit la libération de 5-oxo-EETE puis de LTB4 [348]. L'action de l'acétyl-transférase sur le lyso-PAF permet sa conversion en PAF.

Le recrutement et l'activation des cellules phagocytaires (neutrophiles, éosinophiles, monocytes et macrophages (localement)) sont donc des points cruciaux dans l'amplification puisqu'elles sont elles-mêmes sources de médiateurs.

Les neutrophiles et les éosinophiles arrivent par diapédèse (margination, adhésion et franchissement de l'endothélium grâce aux pseudopodes), puis leur migration vers le site de l'inflammation est orientée par chimiotactisme. Le recrutement des éosinophiles est tributaire des molécules libérées par le mastocyte et le basophile comme l'ECF-A (Eosinophil Chemotactic Factor of Anaphylaxis). Les éosinophiles sont actifs sur les complexes immuns, ce qui expliquerait en partie leur présence lors d'allergie, et, en outre, ils peuvent libérer des protéines toxiques pour les larves de certains parasites, cette action sera développée ultérieurement.

✓ Stabilisation

Cette phase résulte de l'ensemble des réponses aux médiateurs de la phase d'amplification ; c'est à ce moment que peut se développer une réponse immune spécifique.

Les effets des médiateurs sont neutralisés (par exemple les médiateurs des mastocytes sont inhibés par les éosinophiles), l'activation du complément est verrouillée à différents niveaux

(par exemple par l'inhibition de C3b de la voie alterne), la coagulation sanguine est maîtrisée et les macrophages en synthétisant de la lipomoduline (ou macrocortine) inhibent la PLA2.

Il peut aussi y avoir une régulation à l'échelle de l'organisme, par le cortisol par exemple qui induit entre autres une éosinopénie.

Dans la réponse immune spécifique, ce sont les lymphocytes B et T ainsi que les cellules présentatrices d'antigène qui sont les plus concernées. Il existe trois populations de lymphocytes T capables d'élaborer différentes cytokines : les auxiliaires ou « helper » (Th), les suppresseurs et les cytotoxiques. A l'inverse, les cytokines peuvent conditionner l'orientation des réponses des cellules T, en particulier par l'intermédiaire des éosinophiles qui peuvent aussi présenter l'antigène aux lymphocytes T, agents de l'immunité à médiation cellulaire. Ces étapes peuvent conduire au renforcement ou à l'acquisition de l'état immunitaire vis-à-vis d'un antigène donné.

✓ Résolution

La dernière phase, la phase de résolution, est dominée par une néoangiogénèse et par la synthèse de collagène et de glycosaminoglycannes par les fibroblastes, phénomènes commandés par l'action de cytokines.

Cette phase ne se met pas toujours en place et on peut constater alors une amplification anormale, menant à des pathologies inflammatoires prolongées. Ainsi, au-delà d'une réaction explosive comme le choc anaphylactique, on peut aussi constater l'acquisition d'un état d'hypersensibilité retardée à l'encontre d'agents pathologiques et l'installation d'une réaction chronique.

Coopération cellulaire

L'éosinophilie est souvent associée à une basophilie [216] et on a vu précédemment que ces cellules ont le même progéniteur. Leurs actions sont plus synergiques qu'interdépendantes.

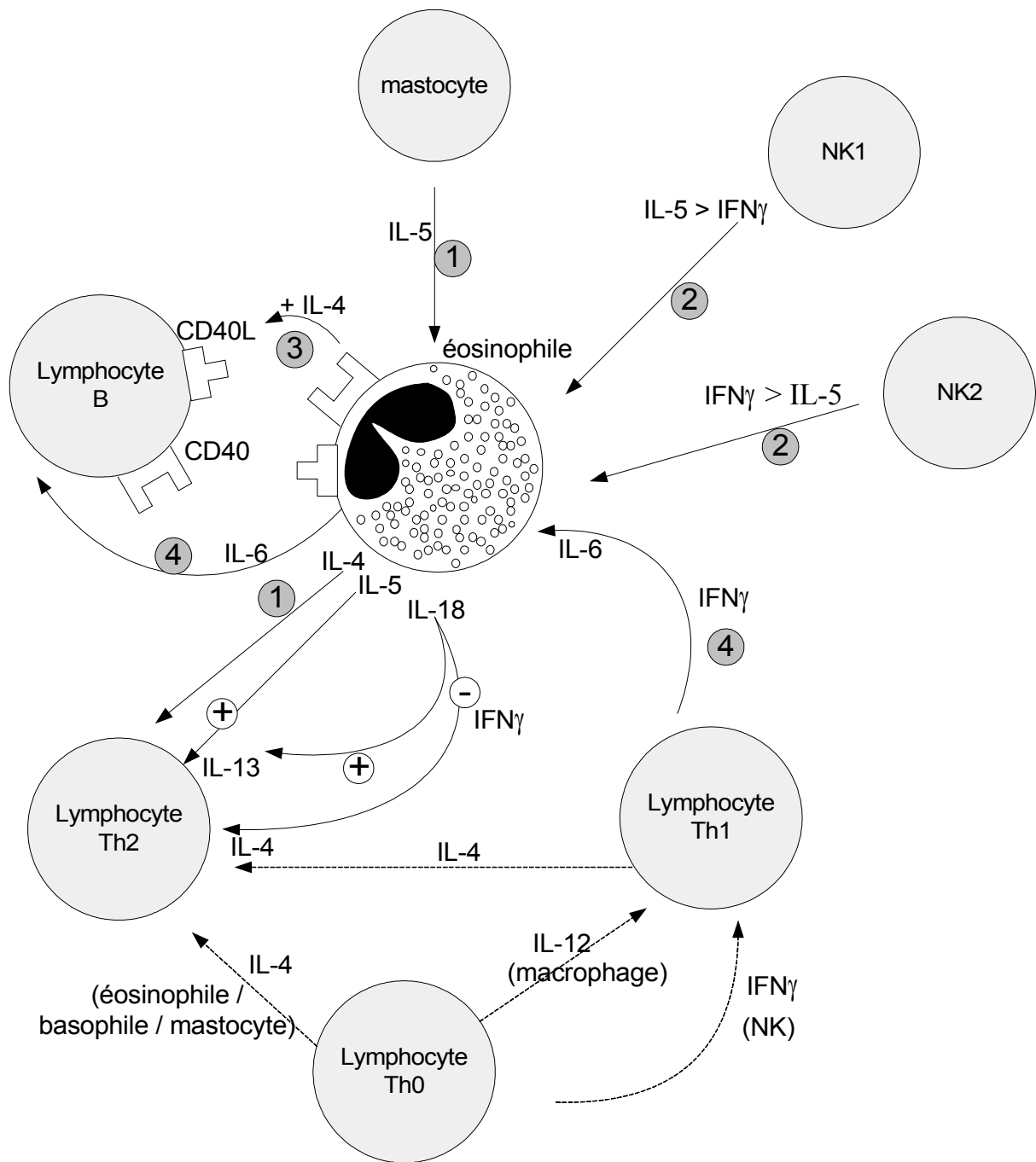
Les mastocytes, quant à eux, sont des cellules fabriquant et stockant de nombreux médiateurs. Leur rôle interactif avec les éosinophiles est controversé. Bien que des souris déficientes en mastocytes ne montrent pas de modification du recrutement des éosinophiles dans les maladies allergiques, les cytokines libérées par les mastocytes ont un rôle avéré dans les parasitoses. Ainsi, la stimulation par un Ag parasitaire induit la production de l'IL-5 par les mastocytes. L'IL-5 stimule ensuite les éosinophiles pour qu'ils secrètent l'IL-4 qui est

rapidement utilisée, certainement par les lymphocytes T (Figure 9). La sécrétion précoce de l'IL-4 est indépendante des cellules T. Ainsi, mastocytes et éosinophiles coopèrent pour induire une réponse immune de type 2 [369].

L'étude de Walker en 1998 [452] a montré que les cellules NK (natural killer) ont, elles aussi, des interactions avec les éosinophiles. En effet, après avoir rappelé qu'elles sont l'une des principales sources d'IFN γ , les auteurs ont montré qu'elles sont aussi source d'IL-5 (et peuvent ainsi induire une éosinophilie) *in vivo*, chez les souris. Les auteurs suggèrent l'existence de deux sous-types de cellules NK, un peu comme pour les lymphocytes Th, l'un produisant beaucoup d'IL-5 et l'autre peu. Ces clones seraient favorisés par la présence de différents schémas de cytokines et ainsi pourraient favoriser le développement d'une réaction immune de type 1 ou de type 2 selon l'ensemble des cytokines libérées par les clones. Ainsi, selon le milieu, il y aurait production d'IL-5 ou d'IFN γ [452] (Figure 9). Par ailleurs, il semble que les cellules NK aient un rôle précoce. Elles pourraient soit influencer la présentation de l'Ag aux cellules T naïves et/ou soit influencer la différenciation des cellules T, mais elles ne sont pas impliquées dans l'activation des cellules T Ag spécifiques. Leur rôle dans l'induction de l'éosinophilie est donc peut-être aussi indirect [220].

Les éosinophiles, comme les mastocytes, les basophiles et les cellules T, expriment CD40L lorsqu'ils sont activés, et ils peuvent induire, *in vitro* et en conjonction avec l'IL-4, la prolifération de cellules B [145]. En outre, les éosinophiles expriment aussi CD40 (Figure 9). L'expression de son ARNm chez les patients allergiques est augmentée par la présence de IgA et est diminuée par la présence de l'IL-10. Il est donc possible que les éosinophiles interagissent avec des cellules possédant le ligand de CD40, CD40L (gp39) ou aient une action autocrine ou paracrine [318].

Les lymphocytes T auxiliaires sont présents dans les nœuds lymphatiques sous une forme non polarisée appelée Th0. Ils peuvent se polariser en une sous-population de type 1 (Th1) sous l'influence directe de l'IL-12 (issue principalement des macrophages) ou indirecte via l'IFN γ (Figure 9) ; ou en une sous-population de type 2 (Th2) en présence uniquement de l'IL-4 (Figure 9), les autres cytokines favorisant en fait une différenciation Th2 en inhibant l'orientation vers la réponse de type Th1. L'IL-4 peut induire un changement de population Th1 en une population Th2 mais l'IL-12 ne peut pas induire l'opération inverse. Cette orientation est peut-être influencée par le site de pénétration de l'Ag, par le type de CPA (cellule présentatrice d'Ag) ou par le type de molécules costimulatoires intervenant au cours



- ① Induction par les mastocytes de la production d'IL-4
 - ② Induction par les NK de l'éosinophilie
 - ③ Induction de la prolifération des cellules B
 - ④ Renforcement de la production d'IgE
- > Différenciation

Figure 9 : Mécanismes de coopération cellulaire impliquant les éosinophiles.

de l'interaction entre CPA et cellule T, mais ce sont les cytokines IL-4 et IL-12 qui sont déterminantes [16].

Les lymphocytes Th1 produisent entre autres les cytokines $TNF\beta$, IL-2 et $IFN\gamma$. Ils sont responsables de l'immunité cellulaire spécifique d'Ag, activent les macrophages et participent à la production d'anticorps [16, 482].

Les lymphocytes Th2 produisent les cytokines IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 et IL-13. Ils sont responsables de l'immunité à médiation humorale. Ils peuvent inhiber la production de cytokines macrophagiques (sont donc anti-inflammatoires) et sont en partie responsables de la prolifération et de la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes sécréteurs d'anticorps. Ils ont aussi un rôle majeur dans l'inflammation liée aux IgE et dans les pathologies caractérisées par une activation des mastocytes et/ou des éosinophiles comme l'asthme, l'atopie, et les réponses immunes aux parasites [16, 482]. En revanche, les LT (lymphocytes T) $CD4^+$ ne produisent pas ces cytokines [16, 205].

Notons que 1% des cellules Th2 du sang périphérique expriment un CCR3 fonctionnel, *in vitro* et *in vivo*. Les cellules Th2 répondent ainsi à l'éotaxine et peuvent donc migrer en compagnie des basophiles, qui expriment eux aussi CCR3 [87, 344, 444], et des éosinophiles [372].

On a longtemps pensé que les éosinophiles participent principalement aux réactions immunes de type Th2. Leur présence est en effet souvent associée à une augmentation de la quantité locale d'IgE et ils induisent la production précoce de l'IL-4 [369] (Figure 9). Ils peuvent aussi, en présence de complexes IgA-anti IgA, libérer des cytokines comme l'IL-4, l'IL-5 ou l'IL-10 [465]. Enfin, ils peuvent tenir le rôle de CPA et favoriser la prolifération d'un clone de cellules T spécifiques d'un Ag (cf *infra*). Cependant, ils peuvent aussi dans certaines conditions libérer l'IL-2 et l' $IFN\gamma$, et donc auraient aussi un rôle dans les réponses Th1 (Figure 9), ce qui est appuyé par la présence d'éosinophiles malgré l'absence des IgE dans certaines pathologies [465] (cf *infra*).

Le mécanisme d'induction de la prolifération des cellules T est dépendant à la fois de l'engagement du récepteur de surface de la cellule T (TcR (T cell receptor)) avec le complexe d'histocompatibilité majeur portant un antigène (CMH/Ag) et d'un second signal mettant en jeu des molécules costimulatoires telles que CD28, CD80, et CD86. L'interaction du récepteur CD28 de la cellule T avec une molécule de la famille B7 (CD80, CD86) sur la CPA est un second signal costimulatoire dominant.

Après l'engagement du TcR avec la molécule de CMH sur la CPA, la production d'IL-2 et l'expression du récepteur correspondant sont initiées ; le deuxième signal fourni par

l'interaction CD28/B7 stabilise l'ARNm de l'IL-2 et augmente la sécrétion de la protéine, ayant pour résultat la prolifération de cellules T et l'expansion clonale [139, 244]. Deux membres de la famille B7 ont été identifiés : B7-1 (CD80) et B7-2 (CD86). Le blocage de CD86 provoque une absence de prolifération cellulaire et de production de cytokines mais ne modifie pas l'induction du IL-2R. La plupart des CPA exigent des stimuli pour l'induction de l'expression de CD80 et CD86 à leur surface et souvent CD86 est plus rapidement induit que CD80. Certains auteurs ont suggéré que les CPA exprimant CD80 fournissent le costimulus pour des cellules T de type 1 et que celles exprimant CD86 celui pour les cellules de type 2. D'ailleurs, les éosinophiles sanguins de patients hyperéosinophiliques n'expriment pas CD80 [465].

Les actions de l'IL-4 et de l'IL-5 n'expliquent pas toutes les réponses de l'asthme puisque des anticorps anti IL-5 n'inhibent pas complètement l'éosinophilie. L'IL-13, cytokine produite par les Th2, a aussi un rôle prépondérant dans l'asthme et on a cru qu'elle induisait la production d'éotaxine, ce qui aurait expliqué l'éosinophilie chez des souris en l'absence d'IL-5 [482]. Cependant, une récente étude avec des souris doublement déficientes en IL-5 et en éotaxine, a montré que l'éosinophilie est complètement inhibée et que la production de l'IL-13 est très diminuée. Puisque le transfert d'éosinophiles normaux chez ces souris a restauré la production d'IL-13, les auteurs concluent que l'IL-5 et l'éotaxine favorisent la production de l'IL-13 par les Th2 et que ces voies ne sont pas nécessairement indépendantes [275]. Notons que les éosinophiles exposés au GM-CSF ou à l'IL-5 sont eux aussi une source d'IL-13 fonctionnelle [381].

Certaines cytokines ont une action dont la fonction n'est pas bien déterminée, comme par exemple l'IL-18, libérée par les éosinophiles activés (Figure 9). D'un côté, elle favorise la production d'IFN γ et donc inhibe la réponse Th2 et, d'un autre côté, l'IL-18 favorise aussi la production de l'IL-13 et de l'éotaxine [275, 464].

Enfin, l'IL-6 joue aussi certainement un rôle dans les réactions inflammatoires immunes en renforçant la production d'IgE à partir des cellules B en augmentant les effets de l'IL-4. L'IL-6 est présente dans les granules des éosinophiles et sa libération est induite de façon temps dépendante par l'IFN γ . Il y aurait donc ici aussi une régulation de la réponse Th2 par une cytokine de type Th1 [225]. Quant à la régulation des IL-4 et IL-5, un modèle de régulation nucléaire a été proposé par Jinquan *et al.* Les éosinophiles au repos expriment NFAT 1 et 2 (Nuclear Factor of Activated T cell 1 et 2) et leurs ARNm sont induits par les cytokines IL-4 et IL-5. Tenant compte du fait que le NFAT1 réprime la production de l'IL-4 par les Th2, les auteurs proposent que le NFAT pourrait être déficient ou inactif dans des

conditions comme l'allergie. Ainsi, la surproduction d'IL-4 et d'IL-5 activerait les NFAT des éosinophiles, ce qui à l'issue du contrôle négatif ainsi exercé sur les productions d'IL-4 et d'IL-5 (« later feedback talking ») contribuerait ainsi à la résolution de l'allergie [192].

Déplacement des éosinophiles

Recrutement des éosinophiles

Le recrutement des éosinophiles circulants aux sites d'inflammation est un processus qui se déroule en plusieurs étapes, chacune étant régulée par différents facteurs chimiotactiques, et dont l'existence a été confirmée grâce à l'utilisation de la microscopie intravitale sous des conditions de flux sanguin *in vivo* [409 , 410] :

- liaison réversible des éosinophiles aux cellules endothéliales : cet attachement primaire, appelé « rolling », conduit à rapprocher les éosinophiles de la surface luminale des vaisseaux
- adhésion ferme de l'éosinophile à l'endothélium qui permet la transmigration par diapédèse de l'éosinophile à travers l'endothélium vers les tissus.

Le recrutement sélectif d'éosinophiles dans les tissus est contrôlé par de nombreux facteurs. Ainsi, les protéines d'adhésion sur les éosinophiles, la densité des ligands exprimés sur les cellules endothéliales, aussi bien que la variété d'expression des chémokines en fonction des tissus et des maladies sont à prendre en considération.

L'étude de l'extravasation des cellules inflammatoires de la circulation est difficile d'accès *in vivo*. Une nouvelle méthode pour l'étude de la microvascularisation en temps réel a été mise au point. Lim *et al.* [242] ont utilisé la microscopie intravitale pour voir les leucocytes dans les veinules postcapillaires superficielles de la trachée chez des rats anesthésiés. Dans les conditions non inflammatoires, de nombreux leucocytes patrouillent dans les vaisseaux et, après un bref contact avec l'endothélium, commencent le « rolling » qui peut être évalué en mesurant le temps pris par un leucocyte pour un mouvement de 100 μm le long de l'endothélium du vaisseau. Une vitesse de base de « rolling » de 35-50 $\mu\text{m/s}$ a été déterminée. La plupart des leucocytes se détachent de l'endothélium et rejoignent la circulation, alors que quelques-uns restent attachés à l'endothélium (adhésion ferme).

L'adhérence a été mesurée comme nombre de cellules stationnaires immobiles pour un temps supérieur à 30 s dans un vaisseau de 100 μm de diamètre. Puisque beaucoup de cellules commencent à s'attacher et adhérer à l'endothélium et plus tard à se désengager et retourner dans la circulation sanguine, il est important de mesurer l'adhérence ferme comme définie par le temps où la cellule reste stationnaire.

L'étude de ces étapes et de leur régulation a aidé à la compréhension du recrutement des éosinophiles en réponse à des allergènes ou à des parasites vers les sites de réaction inflammatoire chronique.

L'importance quantitative *in vivo* des interactions entre les molécules d'adhésion des éosinophiles et des cellules endothéliales est démontrée par le fait qu'une inhibition des molécules d'adhésion soit sur les éosinophiles soit sur les cellules endothéliales diminue significativement le recrutement des éosinophiles vers les tissus lors d'inflammation allergique [4 in 50].

Attachement primaire et « rolling »

La première étape dans le processus de recrutement des leucocytes aux sites de l'inflammation est la génération d'interactions éosinophile / cellule endothéliale passagères qui causent l'attachement primaire réversible et le « rolling » des leucocytes sur la surface de la cellule endothéliale. Différentes combinaisons de molécules d'adhérence sur les cellules endothéliales permettent d'attirer différents sous-types de leucocytes [250].

L'attachement primaire et le « rolling » des éosinophiles correspondent à la mise en place d'interactions réversibles de faible énergie (liaison de van der Waals, H, électrostatiques, ioniques...) entre les molécules d'adhésion exprimées par les cellules endothéliales et par les éosinophiles. En raison de la force de déplacement des leucocytes due au flux sanguin, ces liaisons sont rapidement établies puis rompues entraînant la margination des éosinophiles le long de l'endothélium, et l'apparition de frottements qui ralentissent progressivement la progression des leucocytes. En outre, la vitesse relativement lente des globules blancs dans le torrent circulatoire amplifie les probabilités de rencontre entre les éosinophiles et les molécules d'adhésion présentes sur le pôle apical des endothéliums [297]. Ces données cinétiques varient selon les protéines d'adhésion mises en jeu (sélectines principalement et intégrines) et le flux sanguin [10].

Les sélectines

La contribution majeure des sélectines à l'attachement primaire a été prouvée dans de nombreuses études [52, 211, 242, 410]. Les sélectines exprimées sur les éosinophiles (L-sélectine) et les cellules endothéliales (P-sélectine principalement et E-sélectine) sont les molécules principales qui médient l'attachement primaire et le « rolling » des leucocytes.

Bien que des cellules endothéliales activées par des cytokines expriment la E-sélectine, elles ne se lient pas aux éosinophiles par cette sélectine lors du « rolling » [211], certainement à cause de la faible expression des glycoconjugués correspondants à la surface des éosinophiles.

La P-sélectine, portée par les cellules endothéliales, exerce par contre un rôle central. Chez des souris déficientes en P-sélectine et après un défi allergène, on constate en microscopie intravitale que le « rolling » est sensiblement réduit en comparaison avec des souris de type sauvage. Le « rolling » a lieu principalement dans les veinules [410], et chez les souris déficientes en P-sélectine, les éosinophiles « roulent » plus vite le long de l'endothélium. L'absence de P-sélectine affaiblirait les interactions initiales de l'éosinophile avec la cellule endothéliale ce qui empêcherait le ralentissement de leur déplacement [52]. La P-sélectine des cellules endothéliales se lie par fixation à la séquence amino-terminale de PSGL-1 présent à la surface des éosinophiles. L'expression de la P-sélectine est très augmentée en présence des IL-4 et IL-13, et dans des cultures de cellules avec ces cytokines, l'adhésion des éosinophiles est entièrement inhibée avec un anticorps anti PSGL-1 ou anti P-sélectine [467]. En revanche, la L-sélectine des éosinophiles n'est pas strictement nécessaire pour l'attachement primaire à l'endothélium mais elle contribue à l'agrégation homotypique des éosinophiles [211].

Les intégrines

Contrairement au « rolling » des neutrophiles pour lequel la L-sélectine est le principal médiateur [10], le « rolling » des éosinophiles est aussi médié par l'intégrine VLA-4 chez le lapin [410], le cheval [22], la souris [211] et l'homme.

VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$, CD29/CD49d) et $\alpha 4\beta 7$ sont des intégrines bivalentes qui possèdent une chaîne $\alpha 4$ commune impliquée dans la reconnaissance des protéines endothéliales de la superfamille des Ig telle que VCAM-1 et des protéines matricielles telles que la fibronectine (deux sites distincts) [477]. Elles ne sont pas indispensables au « rolling », puisque des anticorps anti intégrines n'inhibent que partiellement cette première étape [22, 211, 410, 467]. En effet des anticorps anti $\alpha 4$ mais pas des anticorps anti $\beta 2$ inhibent le « rolling » des éosinophiles *in vivo* ou *in vitro* [212, 410].

Ces différentes intégrines autorisent d'une part l'adhérence réversible pendant le « rolling » et d'autre part l'adhérence ferme et non réversible qui précède la transmigration.

Selon les contraintes du milieu, les éosinophiles attachés peuvent soit se détacher soit être convertis en des cellules adhérant fermement à l'endothélium [153, 212].

Adhésion ferme

Les interactions intégrines / protéines membranaires de la superfamille des Ig portées par les éosinophiles et les cellules endothéliales assurent l'adhésion ferme précédant la migration. Certes, VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$) et le mucosal homing receptor ($\alpha 4\beta 7$) participent également au « rolling » mais la plupart des intégrines (VLA-6 ($\alpha 6\beta 1$), Mac-1 ($\alpha M\beta 2$, CD11b/CD18) et LFA-1 (CD11a/CD18, $\alpha L\beta 2$) pour les plus importantes) interviennent plus spécifiquement dans l'adhésion ferme, en se liant à des membres de la superfamille des Ig présents sur les cellules endothéliales comme ICAM-1 (CD54), VCAM-1 (CD106) [52, 106, 303], ICAM-2, MadCAM-1, PECAM-1 ou à des protéines de la matrice extracellulaire telles que la laminine et la fibronectine [55, 146, 453] (Tableau 2). En outre, les éosinophiles expriment également des ligands spécifiques des $\beta 1$ et $\beta 3$ intégrines des cellules endothéliales tels que PECAM-1 et ICAM-3. De plus, la reconnaissance des protéines de la matrice extracellulaire (fibronectine, collagènes, laminines) par les $\beta 1$ et $\beta 3$ intégrines permet d'ancrer les éosinophiles et les cellules endothéliales sur la matrice extracellulaire et indirectement de consolider les interactions membranaires entre les deux types de cellules.

Les interactions VCAM-1/VLA-4 et ICAM-1/LFA-1 ne seraient pas équivalentes. En effet, l'utilisation d'anticorps anti VCAM-1 ou anti VLA-4 prévient complètement l'infiltration trachéale des éosinophiles murins, alors que les anticorps anti ICAM-1 ou anti LFA-1 ne parviennent pas à inhiber la migration des éosinophiles. Par ailleurs, un défi allergène induit une augmentation de l'expression de VCAM-1. Ainsi, l'interaction VCAM-1/VLA-4 permettrait l'adhésion et la migration des éosinophiles alors qu'ICAM-1 n'aurait qu'un très faible rôle [303]. Cependant, Broide *et al.* montrent une réduction de 67% de l'adhérence ferme des éosinophiles lors de péritonite chez des souris ICAM-1-déficientes. La variabilité des interactions mises en jeu serait liée au modèle choisi [52].

Une même stimulation peut induire d'une part une activation passagère de la $\beta 1$ intégrine VLA-4 (impliquée dans le « rolling »), et d'autre part une activation prolongée de la $\beta 2$ intégrine Mac-1 (impliquée dans l'adhésion ferme) [459]. En effet, la chaîne α est impliquée dans la reconnaissance spécifique d'un ligand (VCAM-1 pour $\alpha 4$ (VLA-4 = $\alpha 4\beta 1$) ou ICAM-1 pour αM (Mac-1 = $\alpha M\beta 2$)). Par conséquent, la mise en place soit du rolling soit de l'adhésion ferme dépend de l'expression de la chaîne α de l'intégrine. La chaîne β assure ensuite la transduction du signal membranaire perçu et les effets biologiques induits. Il existe des interactions privilégiées de la chaîne $\beta 2$ avec des protéines du cytosquelette (les caténines par exemple) impliquées dans les phénomènes de motilité et de mobilité des cellules, ce qui

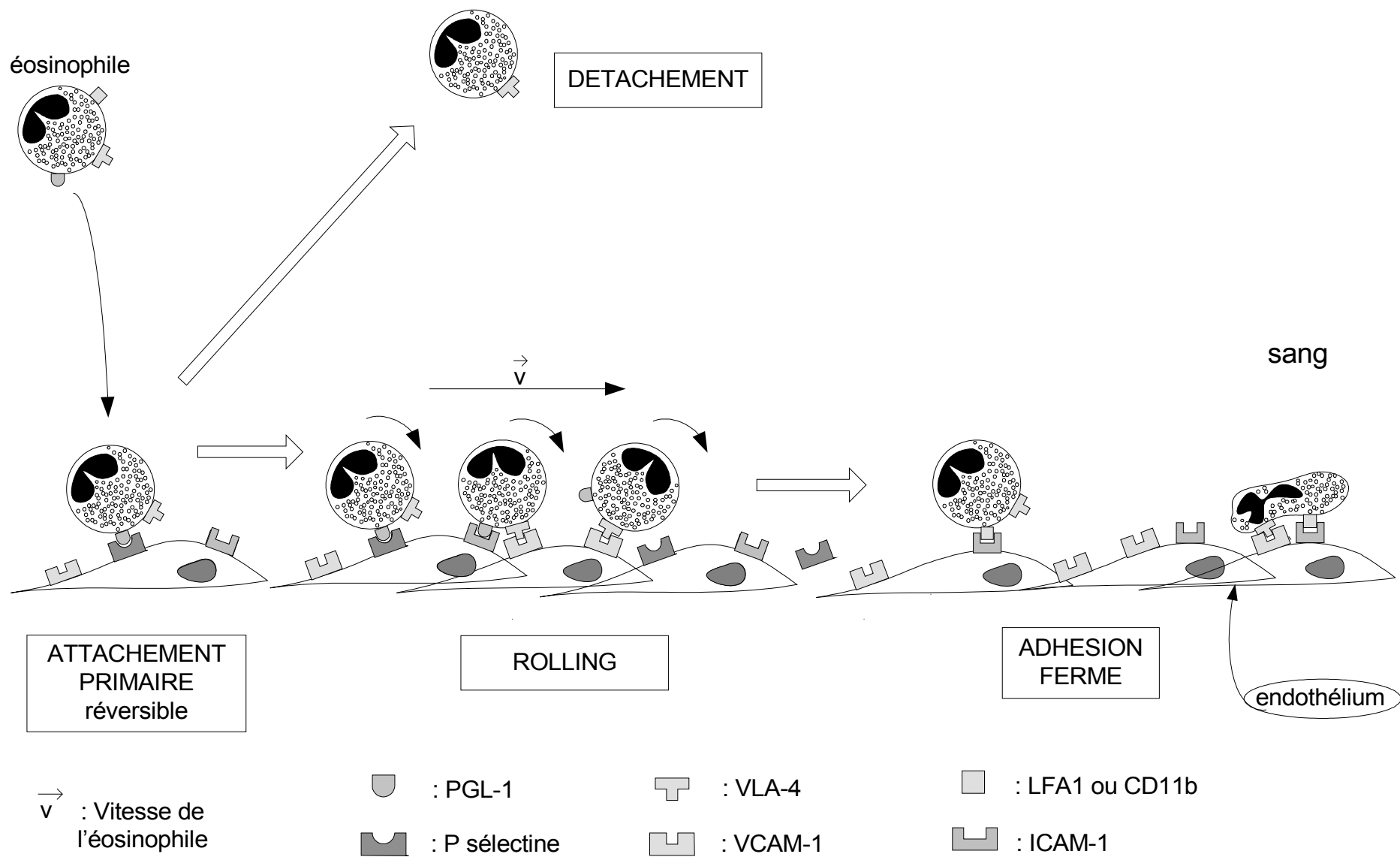


Figure 10 : Le recrutement des éosinophiles sur le site inflammatoire.

explique aussi la variabilité des effets induits selon la nature de la chaîne β de l'intégrine (chaîne de type $\beta 1$ ou de type $\beta 2$) [212, 477].

Le recrutement des éosinophiles sur les sites inflammatoires est facilité par l'activation privilégiée des $\beta 2$ intégrines stimulées par ICAM-1 [422]. Le passage d'une voie de transduction VCAM-1/ $\beta 1$ intégrines (VLA-4) vers une voie de transduction ICAM-1/ $\beta 2$ intégrines (Mac-1) résulte d'une expression différentielle des β intégrines (répression des $\beta 1$ et induction des $\beta 2$ en présence d'un stimulus). Les éosinophiles expriment dans un premier temps $\alpha 4\beta 1$ (VLA-4 pour VCAM-1), qui sert à la fois la fonction d'attachement initial requise pour ralentir des éosinophiles sous des conditions de flux, et l'étape d'adhésion ferme [409, 410]. Ils expriment ensuite une $\beta 2$ intégrine (Mac-1 pour ICAM-1) qui favorise seulement l'adhésion ferme. Puisque les $\beta 2$ intégrines ne participent pas à l'étape d'attachement initial et au ralentissement des éosinophiles, ces derniers ne peuvent pas s'accumuler sur ICAM-1 [422]. En revanche, l'attachement initial (interactions VCAM-1/ $\beta 1$ intégrines) potentialise les interactions ultérieures ICAM-1/ $\beta 2$ intégrines lors de l'adhésion. Ces étapes séquentielles sont aussi notées *in vivo*, puisque les leucocytes du flux sanguin s'attachent toujours faiblement et roulent avant de devenir fermement adhérents.

Finalement, le modèle actuellement retenu est celui-ci (Figure 10) :

Les éosinophiles circulants établissent un contact avec les cellules endothéliales, l'expression des sélectines, des $\beta 1$ intégrines et de leurs ligands spécifiques pouvant être augmentée grâce à un milieu favorable. Ces leucocytes roulant à la surface entrent en contact avec d'autres molécules (de la superfamille des Ig) qui favorisent une expression différentielle des $\beta 2$ intégrines, nécessaire à l'adhérence ferme.

La régulation de ces molécules de surface (récepteur et ligand) permet aux éosinophiles de migrer ou non vers les sites inflammatoires. Les études se sont vite focalisées sur la régulation exercée par les chaînes α et β des intégrines.

Régulation du recrutement

Comme nous venons de le voir, le recrutement est une suite d'évènements séquentiels qui permet aux éosinophiles de migrer vers les tissus. La régulation de cet évènement a lieu à différents niveaux : expression des molécules endothéliales et expression des molécules de surface des éosinophiles.

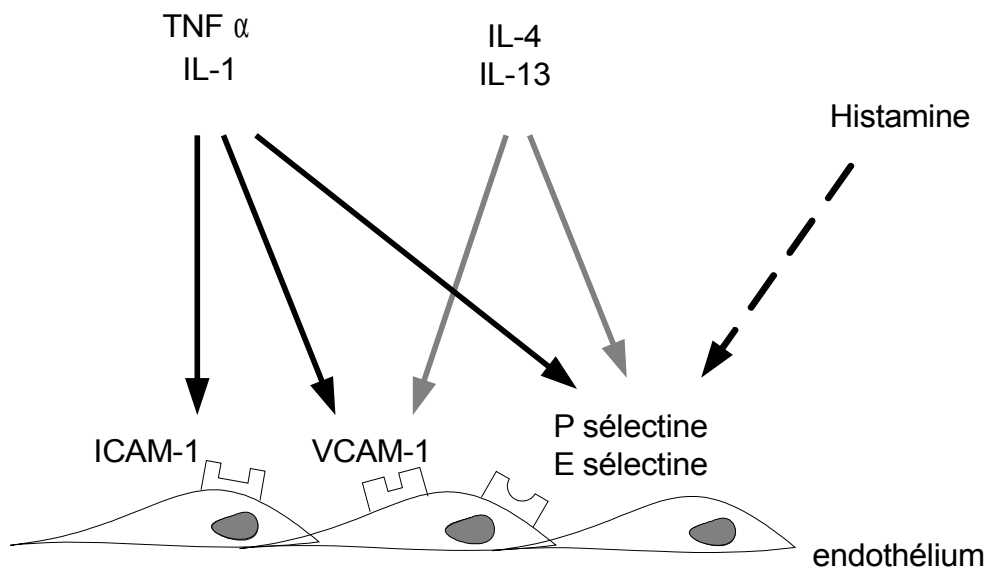


Figure 11 : Régulation de l'expression des molécules d'adhésion endothéliales lors du recrutement des éosinophiles par les cytokines.

Variations de l'expression des molécules endothéliales : P-sélectine, VCAM-1 et ICAM-1

Plusieurs cytokines, notamment pro-inflammatoires, et médiateurs vasoactifs (histamine) sont présents aux sites d'inflammation allergique et sont capables de moduler l'expression des molécules endothéliales d'adhésion (Figure 11).

Deux types de récepteur pour l'IL-1 (IL-1R) existent (type 1 et 2) et les deux formes de l'IL-1 (IL-1 α et IL-1 β) se lient au récepteur de type 1 avec une affinité élevée mais pas avec le type 2. *In vitro*, l'IL-1 β peut induire l'expression de VCAM-1, d'ICAM-1 et de la P-sélectine sur des HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) [171, 431]. Le rôle de l'IL-1 est confirmé *in vivo* par des études en microscopie intravitale sur des souris déficientes en récepteur de type 1 chez lesquelles on constate une diminution de l'adhérence ferme finale en comparaison avec des souris de type sauvage après un défi allergène. La réduction du nombre d'éosinophiles adhérents résulte d'un effet d'inhibition du « rolling » de 50% et de l'adhésion ferme de 80% [51].

Une étude avec des souris déficientes dans l'expression des récepteurs du TNF (p55 et p55/p75) a montré, en comparaison avec des souris de type sauvage et par microscopie intravitale après un défi allergène, une réduction d'une part du « rolling » et d'autre part de l'adhésion ferme des éosinophiles [53]. Comme l'IL-1 β , le TNF α peut induire l'expression de VCAM-1, d'ICAM-1 et de la P-sélectine *in vitro* [171, 431]. Chez la souris, l'histamine induit la mobilisation intracellulaire de la P-sélectine stockée dans les granules alors que le TNF α induit son expression en régulant le niveau de la transcription [152]. Chez l'homme, le TNF α induit aussi l'expression de VCAM-1, de la E-sélectine, et d'ICAM-1 mais reste sans effet sur l'expression de la P-sélectine (En effet, le promoteur de la P-sélectine humaine ne comporte pas de site de régulation NF κ B) [467]. Ainsi le TNF induit, via ses récepteurs, l'expression des molécules endothéliales et donc régule le « rolling » et l'adhésion. Néanmoins, puisque l'inhibition de ces deux étapes du recrutement chez des souris mises en présence d'un allergène et déficientes en récepteur pour le TNF n'est pas complète, le TNF est important mais ne constitue pas une voie unique de régulation [53]. Les molécules induisant la production de l'IL-1 β et du TNF α , comme le LPS (lipopolysaccharide), n'ont donc que des rôles indirects dans l'induction du recrutement des éosinophiles [88].

Les cytokines IL-4 et IL-13 induisent sélectivement l'expression de VCAM-1 sur les cellules endothéliales mais pas celle de ICAM-1 [41, 380]. Elles augmentent également

l'expression de la P-sélectine de façon dose et temps dépendante [467], l'activation du facteur de régulation de la transcription STAT-6 étant essentielle à cet effet de l'IL-4 (et probablement de l'IL-13) sur les HUVEC [204, 467].

Régulation des sélectines et intégrines des éosinophiles

Les chémokines ou autres facteurs chimioattractants (RANTES, MCP-3, C5a...) sont directement impliqués dans l'attachement primaire et le « rolling » ainsi que dans l'adhésion ferme. L'orientation vers l'une de ces étapes est conditionnée par la nature du facteur chimioattractant, son immobilisation sur la membrane de l'éosinophile par un récepteur spécifique et par sa densité à la surface cellulaire en association avec les intégrines. En effet, des chémokines hydrosolubles libres ne sont capables d'induire un attachement qu'en l'absence de flux sanguin (conditions statiques) [153]. La fixation des facteurs chimioattractants sur la membrane de l'éosinophile entraîne un changement de conformation des chaînes $\alpha 4$ de VLA-4 ($\beta 1$ intégrine) aptes à reconnaître le ligand endothélial, VCAM-1, et, après activation de la cascade des MAPKs (par phosphorylation des kinases p42 et p44 par l'éotaxine par exemple [42]) le recrutement focal de plusieurs molécules de $\beta 1$ intégrines, ces modifications structurales correspondant à un gain d'avidité (augmentation du nombre d'interactions possibles) de VLA-4 [153]. Cette action primaire des facteurs chimioattractants favorable à l'attachement primaire est amplifiée lorsqu'ils induisent en plus une augmentation transitoire de l'expression de la $\beta 1$ intégrine VLA-4 (cas de RANTES, MCP-3, C5a) [459]. Cette première étape est donc favorisée par une surexpression membranaire focalisée des $\beta 1$ intégrines (VLA-4) : dans ce cas, le nombre de protéines membranaires d'adhésion de type VCAM-1 nécessaires, présentes à la surface de l'endothélium, peut ainsi être abaissé [153].

Néanmoins, les interactions cellulaires mises en place par le couple VCAM-1/VLA-4 entre l'éosinophile et la cellule endothéliale ne sont pas suffisamment stables pour résister à la force d'entraînement du flux sanguin : elles se font et se défont en continu dans les zones successives de contact : c'est le « rolling » de l'éosinophile le long de l'endothélium [153]. Il a ainsi été montré que l'éotaxine provoquait l'adhésion des éosinophiles *in vitro* sous conditions de flux [211, 421] et *in vivo* chez le lapin une augmentation du « rolling » des éosinophiles [42].

L'adhésion ferme des éosinophiles sur les cellules endothéliales (HUVEC) non stimulées peut être obtenue lorsque les deux types de cellule sont incubés en présence d'un surnageant de culture de cellules endothéliales stimulées par le $TNF\alpha$ ou l' $IFN\gamma$. En

conditions de flux l'addition d'un anticorps anti CCR3 diminue l'accumulation des éosinophiles en synergie avec des anticorps anti $\alpha 4$. Cela suggère que plusieurs cytokines peuvent réguler l'adhésion en stimulant la production de chémokines (comme l'éotaxine dont le récepteur est CCR3) par les cellules endothéliales [212].

Il est actuellement supposé que les chémokines libérées localement (de façon autocrine et paracrine) aux sites d'inflammation se lient aux protéoglycannes endothéliaux sur la surface luminale pour favoriser la conversion d'un état de leucocyte « attaché et roulant » à un état de ferme adhésion à l'endothélium. La chémokine ainsi retenue sur l'endothélium ne serait donc pas emportée par le flux sanguin et les leucocytes « roulant » se lieraient ainsi aux chémokines présentées, comme par exemple, *in vitro*, RANTES se lie à CD44 [466].

Les études en chambre de flux montrent que l'arrêt des leucocytes a lieu très vite *in vitro*, souvent en quelques secondes, et dépend de la liaison de l'intégrine des leucocytes ($\beta 2$ et/ou $\beta 1$) à la molécule d'adhésion endothéliale (ICAM-1 et/ou VCAM-1). La concentration effectivement liée *in vivo* est certainement inférieure à celle étudiée *in vitro*, même en condition de flux. Aussi, bien que les protéoglycannes puissent fixer les chémokines, il n'est pas certain que *in vivo* ces cytokines ainsi exhibées stimulent le changement d'avidité des intégrines sous des conditions de flux sanguin [50].

Comme l'adhésion ferme des éosinophiles résulte d'un changement de la nature des interactions intégrines/protéines membranaires de la superfamille des immunoglobulines (mise en place d'interactions ICAM-1/ $\beta 2$ intégrines (Mac-1) au lieu de VCAM-1/ $\beta 1$ intégrines (VLA-4)), il est admis que c'est la persistance locale des chémokines qui entraîne une variation progressive de l'expression des intégrines de l'éosinophile et l'établissement d'un nombre important d'interactions éosinophile/cellule endothéliale localement. On a pu montrer que RANTES, MCP-3 et le C3a et le C5a, de même que l'occupation des récepteurs CCR3 par l'éotaxine [50], induisaient une surexpression prolongée des $\beta 2$ intégrines en parallèle d'une répression des $\beta 1$ intégrines (après une brève surexpression) [459].

Des quantités élevées de C3a et de C5a corrélées avec une infiltration des voies aériennes par les éosinophiles ont été observés 24h après un défi allergène chez des sujets atteints d'asthme allergique, mais pas chez les sujets contrôles [223]. *In vivo*, C3a favorise rapidement une adhérence stable des éosinophiles, mais pas des neutrophiles, sur les veinules

mésentériques chez le lapin, alors que C5a induit l'adhérence ferme et rapide des éosinophiles et des neutrophiles sur l'endothélium. Dans tous les cas, le pré-traitement des éosinophiles

Tableau 4 : Facteurs de régulation (cytokines et chémokines) de l'expression des protéines d'adhésion de l'éosinophile et conséquences sur le recrutement.

AF : Adhésion ferme ; APR : Attachement primaire + « Rolling » ; ↗ : augmentation ; ↘ : diminution.

Fonctions de régulation		Conséquences sur l'interaction des éosinophiles avec les cellules endothéliales	
Cytokines	Chémokines et facteurs chimioattractants	Protéines d'adhésion des éosinophiles	Conséquences
IFN γ IFN γ + TNF α	RANTES Eotaxine, Eotaxine-2	1- ↗ transitoire des β 1 intégrines (VLA-4) 2- ↘ L-sélectine 3- ↗ β 2 intégrines et ↘ β 1 intégrines	1 : APR 2 et 3 : AF
	MCP-3		
TNF α comme agent de « priming »	+ C5a	1- ↘ L-sélectine, 2- ↗ de α 5 β 1 3- ↗ β 2 intégrines (Mac-1)	AF
	C3a	↘ L-sélectine et ↘ β 1 intégrines ↗ β 2 intégrines	AF
IL-4 IL-13	Eotaxine-3	?	?
IL-5 GM-CSF		↘ L-sélectine ↗ β 2 intégrines Mac-1	AF

avec des anticorps anti $\alpha 4$ et anti $\beta 2$ intégrine bloque complètement l'adhésion ferme des éosinophiles. En outre, C3a (sur les éosinophiles) et C5a (sur les éosinophiles et les neutrophiles) ont provoqué une perte de la L-sélectine et une augmentation de l'expression de l'intégrine Mac-1 ($\alpha M\beta 2$) [106]. Ces études comparatives des éosinophiles et neutrophiles suggèrent que C3a est un médiateur chimiotactique spécifique des éosinophiles qui influence sélectivement l'adhérence des éosinophiles, mais pas la transmigration *in vivo*, et que C5a, en revanche, est un activateur complet, c'est-à-dire de l'adhésion intégrine-dépendante aussi bien que de la transmigration, des éosinophiles et des neutrophiles.

A ce stade, il peut toujours exister une possibilité de détachement des éosinophiles qui a été mise en évidence en étudiant l'éotaxine-2. Cette chémokine induit de façon concentration dépendante le détachement des éosinophiles liés à VCAM-1. Elle promeut certes l'expression des $\beta 2$ intégrines (et la possibilité d'adhésion ferme) mais en parallèle, elle provoque une répression rapide des chaînes $\alpha 4$ donc une diminution des interactions de l'attachement primaire et par voie de conséquence, la perte d'un certain nombre de contacts éosinophile/endothélium. Entraîné par le flux sanguin, l'éosinophile est susceptible de se détacher [421, 422].

En ce qui concerne l'éotaxine-3, ses rôles précis dans l'attachement primaire et dans l'adhésion ferme des éosinophiles ne sont pas encore clairement définis sans doute en raison de sa découverte récente [396].

Ces différents exemples de chémokines montrent que les facteurs chimioattractants ne sont pas équivalents dans l'orientation du devenir des éosinophiles et que l'adhésion ferme des éosinophiles met en jeu des interactions séquentielles et superposées impliquant les $\beta 1$ intégrines puis les $\beta 2$ intégrines.

En effet, des anticorps anti $\beta 1$ bloquent non seulement l'attachement primaire mais aussi l'adhésion ferme des éosinophiles sur des cellules endothéliales HBEC (human bronchial epithelial cell) en présence de C5a ou d'éotaxine, tandis que les anti $\beta 2$ n'inhibent que l'adhésion ferme. Comme il a été précédemment envisagé, la principale $\beta 1$ intégrine impliquée est VLA-4 dont l'expression membranaire est amplifiée directement à l'échelle cytoplasmique par l'éotaxine et indirectement à l'échelle génomique par le C5a, MCP-3 et RANTES. Cependant, une autre $\beta 1$ intégrine, $\alpha 5\beta 1$, connue pour sa capacité de reconnaissance de la fibronectine et induite par C5a, semble fortement impliquée dans la transformation de l'éosinophile « roulant » en éosinophile « adhérent ». Après activation par reconnaissance de la fibronectine adsorbée sur les cellules endothéliales, cette dernière favoriserait le recrutement membranaire des $\beta 2$ intégrines par des mécanismes encore non

identifiés. Lorsque des éosinophiles sont préalablement incubés par le TNF α avant d'être exposés au C5a, on observe une très forte intensification de l'adhésion des éosinophiles sur les HBEC, cet effet étant aboli en présence d'anticorps anti β 1 ou anti β 2. Le TNF α est donc un agent de « priming », c'est-à-dire qu'il n'a pas ou peu d'effet seul mais potentialise l'action d'un second agent inflammatoire, ici : C5a. En revanche, le TNF α n'exerce aucun effet activateur ou inhibiteur sur les éosinophiles incubés en présence d'éotaxine. Ces résultats suggèrent que d'une part le TNF α favorise le recrutement des β 2 intégrines cytoplasmiques et que d'autre part, la β 1 intégrine (α 5 β 1) spécifiquement induite par le C5a conduit à une expression membranaire des β 2 intégrines : l'adhésion ferme se trouve amplifiée [55].

Plusieurs cytokines interviennent dans la régulation de l'attachement primaire et de l'adhésion ferme des éosinophiles en contrôlant directement l'expression des protéines membranaires d'adhésion des éosinophiles et indirectement celles des chémokines/facteurs chémoattractants (Tableau 4). Par exemple, l'IL-4 et l'IL-13 induisent l'expression de l'ARNm de l'éotaxine-3 mais pas le TNF α , ni l'IL-1 β , ni l'IFN γ seuls ou associés. En revanche, l'IFN γ ou l'association du TNF α avec l'IFN γ augmentent l'expression de l'éotaxine, de MCP-4 et de RANTES [396]. L'IFN γ serait par conséquent essentiellement impliqué dans la promotion de l'attachement primaire en induisant l'expression des chémokines et celle de la L-sélectine de façon temps et dose dépendante et n'a pas d'action sur l'expression de CD11b. A l'inverse, l'IL-5 et le GM-CSF favorisent plutôt l'adhésion ferme en amplifiant conjointement l'expression de Mac-1 (CD11b/CD18) et en réprimant celle des L-sélectines (CD62L) [287].

Migration

Mécanismes de transmigration endothéliale

Afin d'atteindre les tissus, les éosinophiles doivent migrer à travers l'endothélium alors que la migration des éosinophiles de la moelle osseuse à travers l'endothélium sinusoidal est transcellulaire, c'est-à-dire qu'elle n'a pas lieu par les jonctions des cellules endothéliales [326]. Le rôle des molécules d'adhésion, des chémokines et l'effet de cisaillement ont tous été étudiés pour déterminer leur rôle dans la facilitation de cette étape de transmigration endothéliale.

La migration des leucocytes vers les sites inflammatoires repose sur des interactions séquentielles nécessaires au bon déroulement de la transmigration : l'activation des cellules

endothéliales, le « priming » des éosinophiles et la présence de chémoattractants, et les forces de flux présentes (Figure 12).

Les études employant des modèles de transmigration avec des HUVEC et des HPMEC (Human Pulmonary Microvascular Endothelial Cells), *in vitro* et en conditions statiques, ont montré que les cellules endothéliales peuvent être stimulées (expression de VCAM-1, ICAM-1, E-sélectine ou production de GM-CSF et RANTES par exemple) par l'IL-1 β , le TNF α ou l'IL-4 [118, 119, 126, 293, 387], l'activation par IL-1 β étant beaucoup plus efficace que celle par le TNF α . Dans le cas des HPMEC, le TNF α se révèle plus efficace que l'association TNF α et IL-4 [387, 472]. Mais dans des conditions de flux, TNF α , contrairement à IL-4, ne permet pas d'activer les cellules endothéliales, indépendamment de l'état d'activité des éosinophiles [83].

Ce processus d'activation des cellules endothéliales, HUVEC ou HPMEC, est inhibé par des anticorps dirigés contre les β 2 intégrines de la surface des éosinophiles [118, 472], ce qui souligne l'importance des interactions membranaires entre éosinophiles et cellules endothéliales.

Le « priming » des éosinophiles (préactivation potentialisatrice d'une costimulation), réalisé *in vitro* en conditions statiques par les hématopoïétines IL-5 [78, 387], IL-3 et GM-CSF [119, 293] permet de renforcer la transmigration. Des résultats similaires sont obtenus avec des éosinophiles issus de patients allergiques ayant subi un défi allergène. Dans ces conditions statiques, la transmigration, même favorisée par un « priming », dure plusieurs heures, alors que *in vivo* elle semble très rapide. En revanche, la transmigration est inhibée en l'absence de « priming ». L'ensemble de ces données suggère que le « priming » n'est pas un facteur primordial de la transmigration des éosinophiles et que la présence de forces dues au flux sont nécessaires.

D'un point de vue moléculaire, le mécanisme du « priming » pourrait être similaire à celui observé lors de la liaison de l'IgA sur son récepteur (Fc α R). On observe que, *in vitro*, sur des éosinophiles issus de donneurs sains, la stimulation avec l'IL-4 ou l'IL-5 induit l'activation de la p38 MAPK via l'activation de la PI3K, ce qui favorise ensuite la liaison de l'IgA à Fc α R ; en revanche, le TNF α n'induit que l'activation de p38 MAPK et l'IgA ne se lie alors pas à son récepteur. Par contre, avec des éosinophiles issus de donneurs allergiques, le TNF α est un facteur de « priming » comme l'IL-4 et l'IL-5. Finalement, la PI3K et la p38 MAPK doivent être activées pour que le récepteur de l'IgA s'active et se lie à IgA et donc il est possible que, *in vivo*, les éosinophiles aient une activité basale PI3K suffisante pour avoir un effet synergique avec l'activation induite par la p38 MAPK [44].

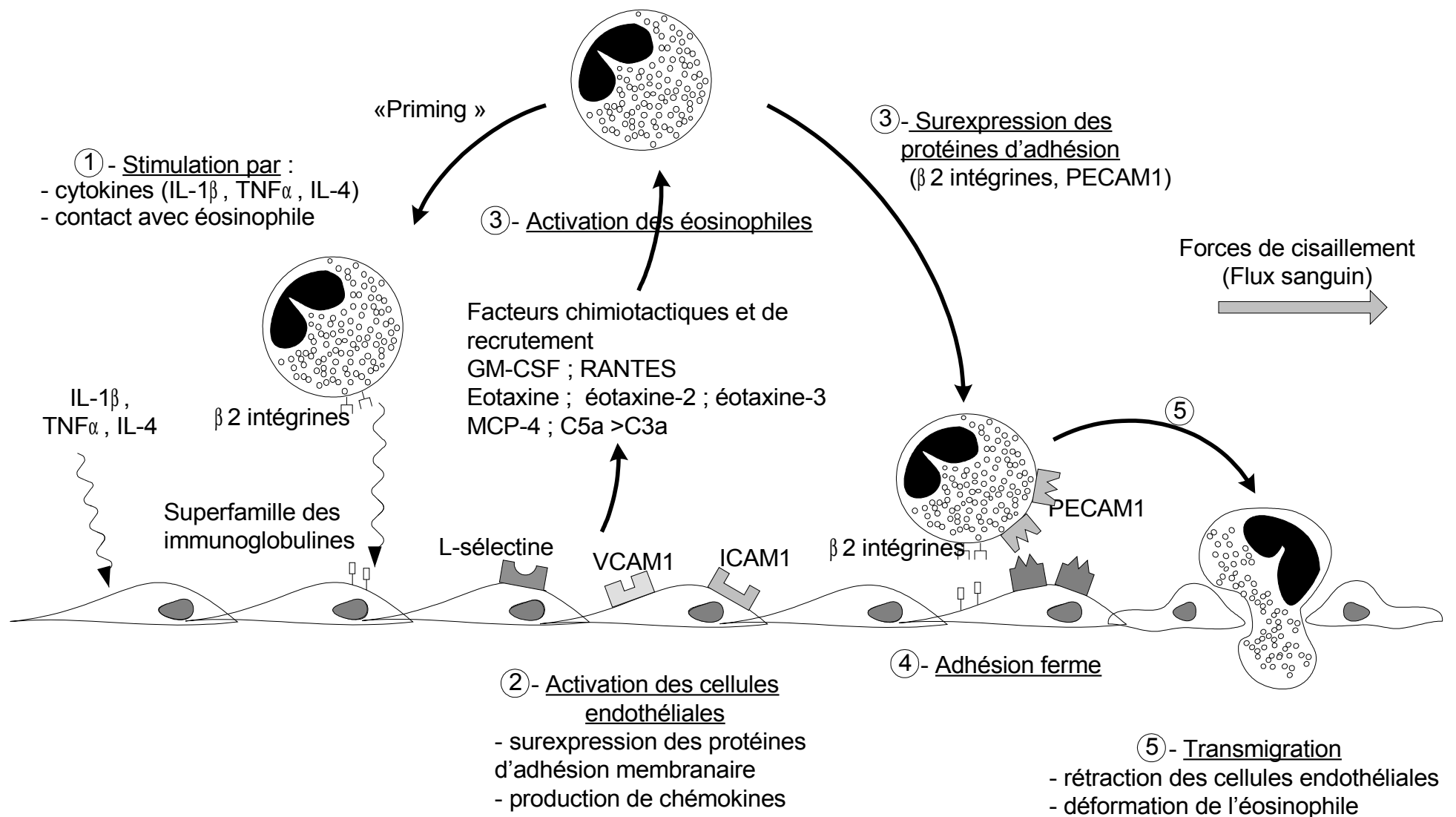


Figure 12 : Transmigration des éosinophiles au travers de l'endothélium.

De nombreux chémoattractants semblent favoriser la transmigration des éosinophiles. La molécule RANTES et le PAF induisent sélectivement la transmigration des éosinophiles, en particulier après stimulation des éosinophiles avec l'IL-5 et des cellules endothéliales avec l'IL-4 [120, 375]. Plus récemment, on a montré que l'addition exogène *in vitro* d'éotaxine, d'éotaxine-2, de MCP-4 et de RANTES induisent la migration des éosinophiles à travers des HUVEC non stimulées, de façon dose-dépendante. L'éotaxine et l'éotaxine-2, qui ne se lient qu'à CCR3 sont plus efficaces que RANTES et MCP-4 qui sont des agonistes non sélectifs, mais le mécanisme reste inconnu. L'utilisation d'anticorps anti CCR3 inhibe la transmigration induite par les chémokines exogènes (éotaxine, éotaxine-2) mais ne modifie pas ou peu celle liée à la stimulation par l'IL-1 β , le TNF α et l'IL-5. Il semble donc que l'action des chémokines dans la transmigration soit en partie CCR3 dépendante [387]. Cuvelier *et al.*, dans leur étude avec des HUVEC stimulées par l'IL-4 en conditions de flux ont eux aussi montré que la transmigration est majoritairement dépendante de CCR3 [83].

En réponse à une stimulation par l'IL-4, les HUVEC produisent de l'éotaxine-3. Cette chémokine peut soit être libérée sous forme libre soit rester associée à la cellule endothéliale par des interactions avec des protéoglycannes. Puisque la transmigration est majoritairement dépendante de CCR3 (65%), et qu'elle est inhibée de façon optimale par l'utilisation d'anticorps anti éotaxine-3 adsorbée sur les HUVEC stimulées par l'IL-4, l'éotaxine-3 présente sur les surfaces endothéliales stimulées par l'IL-4 est déterminante dans la transmigration des éosinophiles [83].

In vitro, les anaphylatoxines C3a et C5a induisent elles aussi la transmigration des éosinophiles. Le C5a induit l'expression de α M β 2 et la diminution de la transmigration est très fortement favorisée par la présence de conditions de flux. *In vivo*, le fragment du complément C5a (en induisant l'expression des β 2 intégrines) et la L-sélectine conservent leur rôle d'inducteur de la transmigration dans le mésentère de lapin. Par contre C3a, qui est sélectif pour les éosinophiles, n'induit plus la transmigration, peut-être en relation avec la régulation de sa durée de vie ou de sa concentration *in vivo* [106].

Les chémokines dérivées des cellules endothéliales servent probablement à initier la transmigration des éosinophiles en se liant à leur récepteurs sur les éosinophiles (par exemple les HUVEC stimulées par l'IL-4 produisent de l'éotaxine-3 qui se fixe à CCR3 sur les éosinophiles) et d'autres signaux indiqueraient le sens de migration, mais les mécanismes ne sont pas encore complètement élucidés [83]. L'éotaxine, l'éotaxine-2, le MCP-4, et RANTES induisent de façon concentration-dépendante la migration des éosinophiles à travers des HUVEC non stimulées via le CCR3 [387]. Le MDC (monocyte/macrophage-derived chemokine) emprunte par contre une voie de signallement indépendante de CCR3 et de CCR4,

ce dernier récepteur n'étant d'ailleurs pas identifié sur les éosinophiles [40]. Enfin, certaines molécules comme le LPS peuvent induire la migration des éosinophiles via le CCR3 mais indépendamment des chémokines majeures que sont l'éotaxine et RANTES [337]. La question de la nécessité d'un gradient de chémokines pour favoriser la transmigration se résumerait maintenant à savoir si les HUVEC expriment plus ou moins de chémokines à leur surface.

Les éosinophiles expriment, comme nous l'avons vu dans l'adhésion leucocytaire, des $\beta 2$ intégrines $\alpha L\beta 2$ (LFA-1, CD11a/CD18) et $\alpha M\beta 2$ (Mac-1, CD11b/CD18) qui se lient à ICAM-1 et des $\beta 1$ intégrines VLA-4 ($\alpha 4 \beta 1$) qui se lient à VCAM-1. *In vitro*, les anticorps anti CD11a, anti CD11b et anti $\alpha 4$ seuls ou en association inhibent la transmigration, l'effet optimal étant obtenu avec un anti CD11b. Lors de la stimulation *in vitro* de la migration des éosinophiles par certaines chémokines, l'augmentation de l'expression de CD11b semble être un point crucial d'une des voies de la transmigration [190]. Cependant, cette intégrine n'est pas strictement nécessaire puisque dans d'autres modèles de stimulation, l'inhibition de CD11b n'inhibe pas complètement la transmigration. *In vitro* et en l'absence de stimulation de l'endothélium ou des éosinophiles, les anticorps anti αL (LFA-1) et anti $\beta 2$ sont les seuls à inhiber la transmigration. Ainsi VLA-4/VCAM-1 et LFA-1 sont aussi impliqués [118, 190, 303].

Par ailleurs, les éosinophiles comme les neutrophiles expriment des PECAM-1 (CD31). Une incubation de neutrophiles et de monocytes avec des anticorps anti CD31 entraîne une inhibition de la transmigration [282]. Cependant, *in vivo*, sur un modèle de souris asthmatiques, la migration des éosinophiles n'est pas modifiée alors que celle des neutrophiles et des monocytes est diminuée de 80% [282]. De plus, *in vivo*, une étude avec des souris déficientes en PECAM a permis de confirmer l'existence de voies alternatives, PECAM-indépendantes, permettant le recrutement des leucocytes [112]. Les auteurs proposent que, *in vivo*, les éosinophiles utilisent une voie PECAM-indépendante (mais qui n'est pas encore caractérisée) et/ou que les médiateurs libérés aux sites d'inflammation inhibent la voie PECAM en requerrant les éosinophiles pour utiliser une voie non PECAM. Il est donc probable que, pour être optimale, la transmigration implique les intégrines $\beta 1$ et $\beta 2$, ainsi que d'autres voies comme PECAM, selon le milieu environnant.

L'extrapolation des résultats obtenus *in vitro* à la situation *in vivo* est délicate pour plusieurs raisons : la migration étant un processus séquentiel, l'inhibition d'une étape précoce a forcément pour conséquence l'inhibition de la cascade, or cet effet en chaîne est difficile à

quantifier en l'absence de mesure de la quantité d'éosinophiles migrant [106]. Ensuite, les modèles varient aussi quant au type cellulaire utilisé pour représenter l'endothélium. Ainsi, la plupart des études emploient des HUVEC, mais Yammamoto *et al.* [472] pensent que les HPMEC sont un meilleur modèle pour la reproduction de la migration des éosinophiles dans la microvascularisation des poumons : d'une part, les HUVEC sont des cellules macrovasculaires et non pulmonaires, et d'autre part les cellules constituant les endothéliums macro- et micro-vasculaires diffèrent par leurs propriétés biologiques.

Enfin, une autre grande différence entre les conditions *in vitro* et *in vivo* est le flux sanguin. Cuvelier *et al.* ont récemment mené une étude sur la migration des éosinophiles en présence d'une force de cisaillement. Ils montrent que cette force physique (le flux sanguin *in vivo*) favorise et accélère la transmigration puisque 50% des éosinophiles migrent dans un délai de 7 minutes, alors que moins de 15% d'éosinophiles migrent dans le même temps en conditions statiques. Après 20 minutes, moins de 25% d'éosinophiles ont migré en condition statiques, tandis que la transmigration sous conditions de flux allait jusqu'à 90% [83]. Enfin, certaines cytokines (TNF α) *in vitro* auraient une action positive en conditions statiques [118, 387] sur la transmigration, mais en conditions de flux, leurs effets ne sont plus décelables [83].

Les mécanismes liés aux forces de flux ont été récemment mis en évidence avec des HUVEC stimulées par l'IL-4 ou le TNF α . La liaison des éosinophiles à VCAM-1 augmente, de façon dépendante du flux, la phosphorylation de ERK2 mais pas celle de JNK (c-jun NH₂-terminal kinase) ni celle de p38 MAPK. En outre, l'adhésion induite met en jeu le cytosquelette d'actine avec l'activation des « focal adhesion proteins » (FAK (focal adhesion kinase) et paxilline). Enfin, les calpaïnes (protéases qui dégradent les « focal adhesion proteins ») et les ROCK (Rho-associated protein kinase), enzymes dont l'activation permet le réarrangement du cytosquelette, ont aussi un rôle dans la transmigration des éosinophiles en favorisant leurs capacités de déformation (c'est-à-dire de rétraction). Finalement, les cellules endothéliales participent activement au recrutement des leucocytes et un modèle de transmigration dépendant des forces de flux est proposé par les auteurs : en condition de flux, la liaison des éosinophiles aux molécules d'adhésion des cellules endothéliales induit un changement des forces locales subies par les cellules endothéliales. Ces forces sont transmises par le cytosquelette aux « protéines d'adhésion focale » sur la face basolatérale des cellules endothéliales (comme l'atteste la phosphorylation de la FAK et de la paxilline), cela augmentant l'activation de ERK2 et de ROCK. En l'absence de lien physique avec le cytosquelette, la signalisation via ERK2 ne peut pas avoir lieu. L'activation de la calpaïne en réponse à l'augmentation de concentration du Ca²⁺ intracellulaire et à l'activation de ERK

Tableau 5 : Facteurs chémoattractants impliqués dans la migration tissulaire des éosinophiles.

Médiateurs	Effets sur les éosinophiles
<u>Lipidiques :</u> SCF→LTB4 LTD4 5oxoETE PAF	Recrutement / Adhésion + « priming »
<u>Cytokines :</u> IL-3 IL-5 IL-4 GM-CSF IL-16 TNF α IL-13	Recrutement / Adhésion + « priming » Diminution de la transmigraton
<u>Chémokines :</u> RANTES MCP-3 MCP-4 MDC MIP-1 α IL-8 Eotaxine Eotaxine-2 Eotaxine-3	Recrutement / Adhésion

entraîne la dégradation de ses protéines cibles (« protéines d'adhésion focale »), influençant ainsi la transmigration [84].

Les mécanismes spécifiques qui régissent la transmigration éosinophile en conditions de flux peuvent être liés à des signaux induits par la force de cisaillement et perçus par les cellules endothéliales : augmentation du calcium intracellulaire, activation des tyrosine kinases des familles src et FAK, activation des MAPKs. L'activation de ces kinases se produit en quelques minutes et conduit à des changements dynamiques du cytosquelette d'actine. Ainsi le cisaillement des cellules endothéliales par le flux sanguin active rapidement de multiples cascades de signalisation dans les cellules endothéliales. Cependant, seul, il n'est pas capable de favoriser la transmigration des éosinophiles ; la première étape qui sert au « priming » des cellules endothéliales et un second stimulus (comme l'adhésion de leucocytes) sont nécessaires à une réponse complète [83].

Mécanismes de transmigration transépithéliale

Rôles des facteurs chémoattractants

La migration directionnelle des éosinophiles vers les tissus dépend de la régulation du recrutement et de la transmigration mais aussi de la présence et de la quantité de chémoattractants, de natures variables, dans les tissus (Tableau 5).

✓ Cas des médiateurs lipidiques

Chez le rat et le cobaye, le LTB₄ est un chémoattractant plus efficace que le PAF pour les éosinophiles et l'éosinophilie pulmonaire est significativement diminuée par des antagonistes du LTB₄ [355]. Par contre, chez l'homme, le PAF amplifie la locomotion des éosinophiles de façon dose et temps dépendante tandis que la réponse au LTB₄ et à l'histamine sont comparativement négligeables [455]. De plus, un autre eicosanoïde, le 5-oxo-ETE stimule fortement la migration des éosinophiles humains. *In vitro*, il est deux à trois fois plus actif que le PAF et *a fortiori* que les leucotriènes LTB₄ et LTD₄ qui n'induisent que 5% de cette activité. A faible concentration, il peut agir en synergie avec le PAF. Un dérivé, le 5-oxo-15-HETE (5-oxo-15-HydroxyEicosaTetraenoic acid) est aussi chémoattractant mais de façon moins puissante [347]. *In vivo*, ce composé en instillation trachéale induit très fortement entre 15 et 24h la migration des éosinophiles, en particulier autour des parois des voies aériennes [411].

In vivo, le ligand SCF (qui stimule l'adhésion via VLA-4/VCAM-1) reconnu par le récepteur *ckit* des éosinophiles [477] ou une stimulation antigénique chez les souris sensibilisées induit le recrutement des éosinophiles. Celui-ci est inhibé par des anticorps anti LTB4 et anti SCF. En fait, l'Ag induit l'expression temps dépendante du SCF qui à son tour induit une augmentation de l'expression du LTB4. L'inhibition par l'anti LTB4 est d'environ 80% mais n'est pas spécifique des éosinophiles. Néanmoins, les mécanismes de contrôle exercés par le SCF sur la production du LTB4 ne sont pas encore complètement identifiés [213].

La migration induite par le 5-oxo-ETE est inhibée à 75% par des anticorps anti VLA-4 (CD49d) ou anti LFA-1 (CD11a) mais n'est pas modifiée par les anti Mac-1 (CD11b) [411] et le SCF stimule l'adhésion via VLA-4/VCAM-1 [477]. Les médiateurs lipidiques semblent donc plutôt agir sur la régulation du recrutement et de l'adhésion qu'être des chémoattractants *sensu stricto*.

Cette plurifonctionnalité a été confirmée pour le PAF *in vitro* sur des éosinophiles humains par Liu *et al.* [245]. Ces auteurs démontrent aussi que la transmigration épithéliale des neutrophiles et des éosinophiles est orientée, s'effectuant du pôle basolatéral vers le pôle apical, à la différence de la migration transendothéliale.

Cette étude montre que le C5a, le PAF, l'IL-8, RANTES, et le LTB4 lorsqu'ils sont seuls n'induisent que peu de migration des éosinophiles « primés » par l'IL-5. Par contre, l'association du PAF avec le C5a, le LTB4 ou RANTES induit efficacement la transmigration des éosinophiles « primés ». Dans le cas de C5a/PAF, le « priming » n'est pas nécessaire : C5a est chémoattractant et PAF est l'agent de « priming ».

Finalement, le PAF peut avoir trois rôles différents : chémoattractant, agent de « priming » pour l'éosinophile et activateur pour les cellules épithéliales. Il est possible que sa plus grande efficacité dans les tissus intestinaux que dans les tissus pulmonaires soit liée à sa capacité à exprimer ces différents effets [245].

✓ Cas des cytokines

In vitro, les éosinophiles traités avec l'IL-3, l'IL-5 ou le GM-CSF ou les éosinophiles issus de donneurs allergiques transmigrent lorsque les HUVEC sont stimulées par l'IL-4 [293], y compris en conditions de flux [83]. L'IL-4 induit *in vitro* l'expression de VCAM-1 [380] et, *in vivo*, le recrutement des éosinophiles dans la peau de rat. L'accumulation entre 24 et 48h dans ce cas est dose-dépendante et est inhibée par des anticorps anti VCAM-1 mais pas par des anticorps anti ICAM-1 [376]. De même, lors d'infestations par des helminthes, l'IL-4 induit le recrutement des éosinophiles [286].

Curieusement, l'IL-13 diminue l'accumulation des éosinophiles induite par un défi antigénique ou par le TNF α *in vivo* chez le cobaye et exerce donc une action anti-inflammatoire [458]. L'administration intradermique d'une grande quantité de TNF α chez le cobaye induit une éosinophilie au site d'injection, dont la migration est inhibée par des anticorps anti β 2 et anti α 4. Cependant, lors de l'administration d'une petite quantité, seuls les anticorps anti β 2 inhibent la migration, ce qui suppose aussi un rôle de « priming » pour le TNF α [256].

L'IL-16, appelée LCF (lymphocyte chemoattractant factor), est une glycoprotéine qui se lie à CD4, molécule présente à la surface des éosinophiles. L'IL-16 induit *in vitro* la migration des éosinophiles humains très efficacement puisqu'elle agit à des concentrations 100 à 1000 fois inférieures à celles du C5a et du PAF et cette activité est dépendante de CD4 [353].

✓ Cas des chémokines

Les principales chémokines induisant la migration *in vitro* des éosinophiles sont RANTES, MCP-3 (CCL7), MCP-4, MIP-1 α et l'éotaxine [85, 195, 345, 359, 443] mais, selon les modèles utilisés, la concentration nécessaire pour une même efficacité peut varier [387, 443]. Il y a parfois des différences spécifiques, comme par exemple RANTES qui n'est pas un chemoattractant des éosinophiles de cobaye [57]. L'IL-8 est aussi chemoattractant mais est peu efficace quelle que soit sa concentration [67, 383]. Plus récemment, l'éotaxine-2 et le MDC se sont ajoutés à cette liste non exhaustive [40, 387].

Les anticorps anti éotaxine diminuent de moitié le recrutement des éosinophiles dans les poumons de souris défiés par l'ovalbumine [150] et la concentration de base des éosinophiles est diminuée chez les souris déficientes en éotaxine [362]. Cependant, dans le liquide de LBA de cobaye, le pic de concentration en éotaxine a lieu à 6h puis la concentration chute à 12h corrélée négativement aux phénomènes de transmigration (entre 12h et 24h). Des anticorps anti éotaxine diminuent la chimioattraction des éosinophiles dans le liquide de LBA mais ne suppriment pas l'accumulation des cellules dans le tissu pulmonaire [186]. Cela ajoute un argument en faveur de l'hypothèse selon laquelle la migration des éosinophiles est différente selon l'organe : chez des souris déficientes en éotaxine, le nombre d'éosinophiles dans le tractus gastro-intestinal est diminué sans modification de la quantité d'éosinophiles circulants ; et selon le milieu : chez des souris déficientes en IL-5 ou en sous-unité β c du récepteur la diminution du nombre d'éosinophiles est constatée dans le sang et dans les tissus [284].

La migration induite par l'éotaxine repose finalement *in vitro* et *in vivo* sur les interactions Mac-1/ICAM-1 et VLA-4/VCAM-1. L'éotaxine module l'expression des molécules d'adhésion, que ce soit avec des cellules endothéliales de souris [190] ou dans la peau de rat [377] et joue ainsi un rôle à la fois dans le recrutement et dans la transmigration. De plus, il est possible que l'éotaxine soit un régulateur de la présence des éosinophiles dans le tractus gastro-intestinal chez la souris et a donc un rôle dans la mise en place de l'immunité naturelle [285].

Puisque les cinétiques de l'expression de l'éotaxine-1 (pic à 6h) et des éotaxines 2 et 3 (pic à 24h) diffèrent, il semblerait intéressant de savoir précisément laquelle joue un rôle dans l'adhésion, la dé-adhésion et la transmigration, à quel moment et en association avec quels autres chémoattractants [50].

Boucles d'amplification de la production des facteurs chémoattractants

Le rôle des cytokines IL-4 et IL-16, considérées comme chémoattractantes, est d'induire la production de chémokines. *In vivo*, l'accumulation d'éosinophiles dans la peau de rat en réponse à l'IL-4 est en fait liée partiellement à la production d'éotaxine endogène tout comme dans le cas des infestations par les helminthes [286, 377]. De même, les HUVEC produisent l'éotaxine-3 en réponse à une stimulation par l'IL-4.

Dans les granulomes de type II induit par les oeufs de *Schistosoma mansoni*, l'IL-4 induit aussi la production d'éotaxine mais cette chémokine ne contribue pas au recrutement local des éosinophiles [367]. Par contre, dans ce même modèle, MCP-3 semble être important mais pas unique puisque l'inhibition du recrutement n'est pas complète (40 à 50% en cas d'absence de MCP-3). Cette chémokine est produite par les cellules endothéliales en réponse à l'IL-4 [390]. Dans cette étude, l'IL-4 n'induit pas la production d'éotaxine par les cellules endothéliales pulmonaires de souris même lorsqu'elles sont stimulées par le TNF α ou l'IFN γ . Les auteurs attribuent ces résultats divergents sur la production de l'éotaxine avec les études précédentes [361] à la qualité des cellules pulmonaires employées et émettent l'hypothèse que selon les organes ou les maladies, le recrutement des éosinophiles est différent [390].

Enfin, il y a aussi certainement des boucles d'amplification utilisant des voies de sécrétion autocrine et paracrine : l'IL-16 favorise de façon dépendante de CD4 la libération de RANTES et d'éotaxine par les éosinophiles [25] et les cellules épithéliales alvéolaires stimulées par l'IL-1 β et le TNF α produisent de l'IL-16 ainsi que l'IL-8, RANTES et l'éotaxine. L'éotaxine et l'IL-16 demeurent les plus efficaces alors que l'IL-8 n'a pas d'action

reconnue [67]. RANTES et l'éotaxine peuvent elles aussi agir de façon autocrine pour libérer le LTC₄ et l'IL-4 [25].

La présence de différentes populations de leucocytes selon les pathologies inflammatoires étudiées suggère qu'il existe des voies de recrutement différentes selon les cellules. La régulation est liée au profil des molécules d'adhésion à la surface des leucocytes : par exemple les éosinophiles et les neutrophiles expriment la P-sélectine, le PSGL-1, la L-sélectine et les β 2-intégrines. Seuls les éosinophiles possèdent α 4 β 1 et α 4 β 7 à leur surface et la voie α 4 β 1/VCAM est utilisée par les éosinophiles de façon privilégiée.

La nature du signal présent dans le milieu est donc importante. Par exemple, un signal comme l'IL-4 induit l'adhésion des éosinophiles et des basophiles mais pas celle des neutrophiles, puisque l'IL-4 induit l'expression de VCAM-1 pour laquelle les neutrophiles n'ont pas la molécule d'adhésion VLA-4 correspondante [380]. La qualité de la réponse au signal est aussi un facteur de variation du recrutement ; par exemple, le 5-oxo-ETE est plus actif que le LTB₄ comme chémoattractant pour les éosinophiles alors que c'est l'inverse pour les neutrophiles [411]. L'éotaxine est chimiotactique pour les éosinophiles mais pas pour les neutrophiles ni pour les cellules mononuclées [144]. L'éotaxine est une chémokine spécifique des éosinophiles, contrairement à l'IL-16 et RANTES qui sont aussi chémoattractants pour les lymphocytes [241] et à l'éotaxine-2, le MCP-3, le MCP-4 et le C3a qui, eux, induisent le recrutement des éosinophiles aussi bien que des basophiles [85, 106, 138].

Enfin, la production de chémoattractants nécessaires et l'expression des molécules d'adhésion ayant lieu même lors des réactions d'hypersensibilité retardées de type Th1, non associées à une éosinophilie tissulaire ou sanguine, il est possible que le contrôle de la quantité d'éosinophiles circulants soit aussi un facteur important de contrôle de l'éosinophilie tissulaire [429].

Enfinement la migration des éosinophiles vers les tissus est une cascade d'évènements où toutes les étapes peuvent s'auto-amplifier. L'importance de la réponse est susceptible de dépendre de la combinaison des stimuli. La régulation des molécules de surface est largement dépendante du milieu et les sites inflammatoires sont particulièrement riches en cytokines. Malgré le fait que la plupart des molécules ou cellules impliquées dans les trois niveaux (sélectines, intégrines et glycoconjugués des éosinophiles et leurs ligands respectifs ; facteurs activant des éosinophiles ou des cellules endothéliales ; leucocytes ou autres cellules présents qui libèrent ces facteurs de déclenchement) ne sont pas spécifiques des éosinophiles, elles peuvent fournir la

diversité combinatoire suffisante pour permettre le recrutement sélectif des éosinophiles. De plus, certaines chémokines peuvent agir successivement à plusieurs niveaux puisque l'ensemble de la migration est séquentielle mais il n'est toujours pas établi à notre connaissance si des gradients de chémokines sont nécessaires *in vivo*. En revanche, il semble que l'existence de forces liées au flux sanguin soit primordiale.

Produits de synthèse des éosinophiles

Les éosinophiles tiennent une place importante dans les réponses aux infestations parasitaires et aux allergies, mais ils sont aussi associés à de nombreux processus inflammatoires. Leurs produits de synthèse sont variés : protéines cytotoxiques, radicaux oxygénés, médiateurs lipidiques, cytokines, chémokines, facteurs de croissance, enzymes... Beaucoup de données sont disponibles sur les molécules synthétisées par les éosinophiles mais leurs fonctions et les mécanismes régulant leur synthèse ne sont pas toujours clairement identifiés. Nous nous limiterons ici à l'identification des principales molécules synthétisées par les éosinophiles.

Médiateurs lipidiques

Les plus importants des dérivés lipidiques synthétisés par les éosinophiles sont le PAF, le LTC₄, la PgE₂, le TX et la LXA₄. Ils peuvent avoir des actions antagonistes comme par exemple le PAF et la PgE₂ : le PAF favorise la formation d'autres lipides bioactifs (PgD₂, PgE₂, PgF₂, TX, LTC₄, LTB₄), la libération par dégranulation des médiateurs préformés dans les granules, la génération de ROS (Reactive Oxygen Species = radicaux oxygénés actifs) en activant la NADPH oxydase, l'agrégation homotypique, l'adhésion et l'expression des molécules d'adhésion alors que la PgE₂ atténue la migration des éosinophiles et la réponse inflammatoire associée, inhibe l'agrégation et l'expression de CD11b, actions induites par le PAF.

La première étape de biosynthèse des médiateurs lipidiques est la libération catalysée par une PLA₂ de l'acide arachidonique à partir des phospholipides membranaires (Figure 13). Deux isoenzymes sont présentes dans les éosinophiles, l'une, sécrétoire de faible poids moléculaire, présente dans les granules spécifiques [39] et l'autre, plus abondante, cytosolique et de haut poids moléculaire [149]. Ces deux types peuvent être transloqués à la membrane plasmique des éosinophiles [149]. L'inhibition de la PLA₂ cytosolique diminue la production du PAF par les éosinophiles [28], confirmant son action enzymatique majeure. Quant à la forme sécrétoire, représentée par plusieurs isoformes, plusieurs auteurs pensent qu'elle pourrait avoir un rôle autre qu'enzymatique. En effet, dans les éosinophiles, les PLA₂ sécrétoires induisent la synthèse de l'IL-6 et l'IL-8, mais pas celles du LTC₄, du PAF ou de l'IL-5, après activation des ERK 1/2 [438].

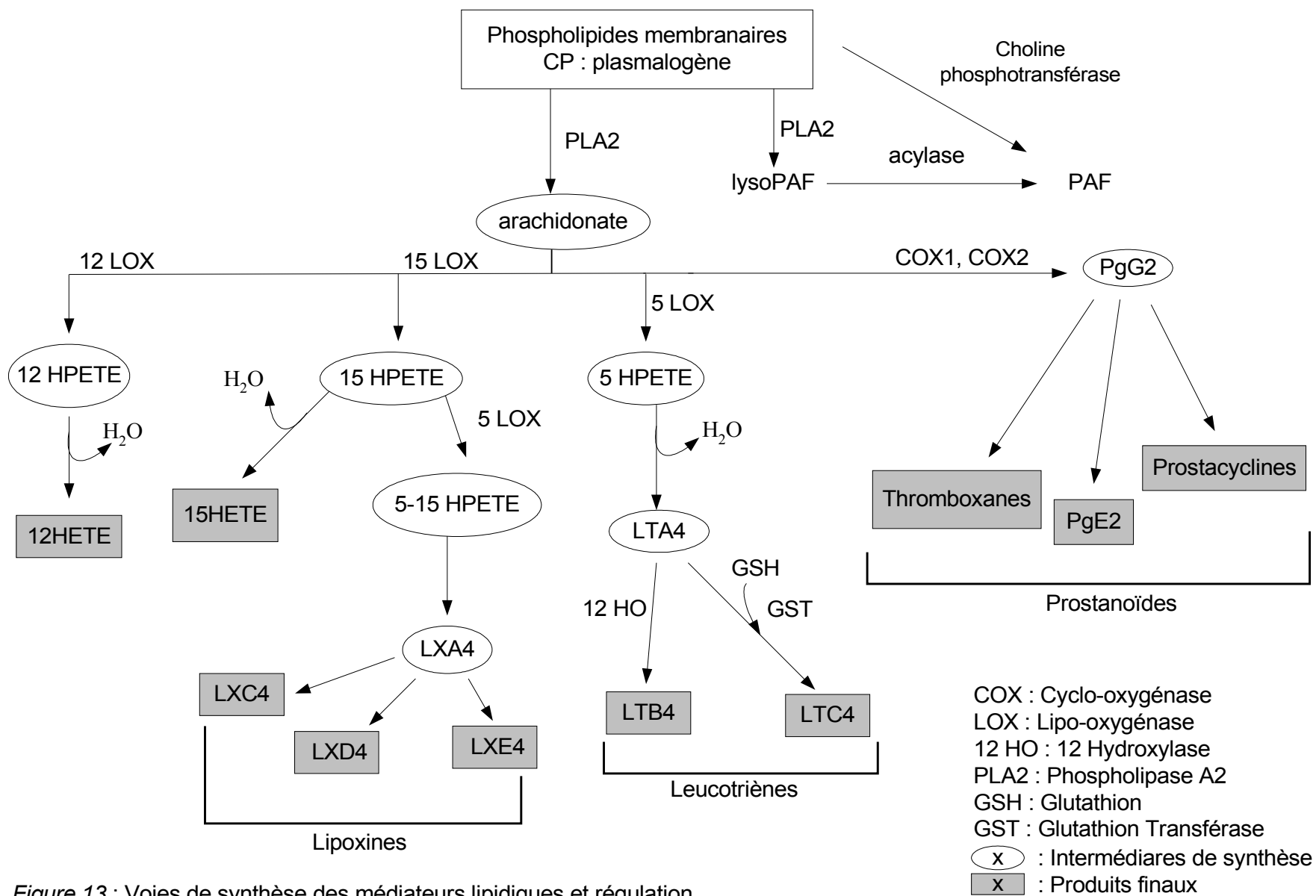


Figure 13 : Voies de synthèse des médiateurs lipidiques et régulation.

Le PAF est principalement produit par les éosinophiles et une surproduction pourrait contribuer à la régulation de l'activité des éosinophiles : d'une part l'activité acétyl transférase (qui catalyse l'acétylation du lyso-PAF en PAF) est plus importante chez les patients éosinophiliques que chez les sains ; et d'autre part, une quantité plus élevée de PAF est détectée dans les éosinophiles normodenses que dans les hypodenses. Il est cependant possible que dans ce dernier phénotype, l'enzyme qui déacétyle le PAF soit surexprimée et/ou qu'il y ait un biais dans la détection du PAF dans les éosinophiles hypodenses [149]. Il existe deux voies de formation du PAF : l'une est assurée par une choline phosphotransférase qui agit directement sur les phospholipides liés à un éther (plasmalogènes) et l'autre implique une PLA2 (ou une acyltransférase endogène) qui libère le lyso-PAF à partir de phospholipides membranaires, le lyso-PAF est ensuite acétylé en PAF par une acétylase (Figure 13). Puisque le récepteur du PAF est présent sur les éosinophiles, ce médiateur peut agir de façon autocrine et amplifier les fonctions effectrices des éosinophiles [28].

La formation de prostanoïdes (prostaglandines, thromboxanes et prostacyclines) résulte de l'action en premier lieu d'une COX sur l'acide arachidonique (Figure 13). Les éosinophiles *in vitro* et ceux issus de biopsies de tissus de patients normaux et éosinophiliques expriment constitutivement les deux isoenzymes COX1 et COX2. De cette voie, les seuls métabolites significativement produits par les éosinophiles sont les prostaglandines de la série E et les thromboxanes [149].

D'autres enzymes, comme les lipoxygénases (LOX) peuvent agir sur l'acide arachidonique au sein des éosinophiles. Owen *et al.* [323] étaient les premiers à montrer que les éosinophiles produisent du LTC4 *in vitro* en présence de fibroblastes, de GM-CSF et de ionophores calciques A23187. Les 5 lipoxygénases, transloquées à la membrane nucléaire, requièrent une protéine FLAP (5-lipoxygénase-activating protein) pour d'abord former l'intermédiaire hydroperoxyde 5-HPETE (5-hydroxyeicosapentanoic acid) puis un époxyde instable, le LTA4. Celui-ci est transformé en LTB4 par une 12 hydroxylase ou en LTC4 après conjugaison avec le glutathion catalysée par une GST (glutathion S-transférase) ou LTC4 synthase (Figure 13). Chez le cobaye et les bovins, la LTC4 synthase est peu exprimée et par contre, l'activité de l'hydroxylase est maximale, c'est donc le LTB4 qui est la forme prédominante chez ces espèces [149]. Par contre, le LTC4 est le produit majeur chez l'homme, le cheval et la souris [149].

Les éosinophiles hypodenses secrètent davantage de LTC4 que les normodenses en présence de A23187. De plus, la libération de LTC4 induite par le A23187 est potentialisée par le PAF, la fibronectine et les hématopoïétines IL3/IL5/GM-CSF *in vitro* sur des éosinophiles de patients asthmatiques mais pas sur ceux de patients sains [149]. Dans les

éosinophiles humains deux voies de stimulation de la production du LTC₄ seraient possibles : par interaction du PAF avec son récepteur [28] et par l'occupation du CCR3 par des chémokines. Bandeira-Melo *et al.* ont récemment montré que l'IL-16 peut induire spécifiquement la formation de nouveaux corps lipidiques particulièrement riches en LTC₄ dans les éosinophiles de façon dose-dépendante et que l'IL-16 se comporte comme un agent de « priming » pour la libération de LTC₄ activée par un ionophore calcique. Cette action est indirecte et met en jeu la libération autocrine de chémokines qui se combinent à CCR3 [24, 25]. Cette boucle d'amplification pourrait expliquer l'augmentation de LTC₄ dans les éosinophiles hypodenses.

La 12 lipoxygénase permet la formation de 12-HPETE à partir de l'acide arachidonique, puis celle de 12-HETE (Figure 13). Ces produits, mis en évidence dans les éosinophiles de porc et de souris, sont encore peu étudiés.

Enfin, la 15 lipoxygénase est une enzyme qui a plutôt une action sur les biomembranes ou les lipoprotéines. Les éosinophiles sont les seuls granulocytes à exprimer cette enzyme à prédominance cytosolique. Son action produit le 15-HPETE qui peut être converti en 15-HETE, tous deux étant des médiateurs biologiquement actifs et produits en grande quantité. L'action séquentielle des 15 et 5 lipoxygénases produit le 15-HPETE et le 5-15-di-HPETE. Dans le cas des éosinophiles, la principale lipoxine formée est la LXA₄ [149], les lipoxines C₄, D₄ et E₄ (LXC₄, LXD₄, LXE₄) sont synthétisées en faible quantité et la LXB₄ (lipoxine B₄) n'est pas produite (Figure 13).

La synthèse et le stockage des médiateurs lipidiques a lieu dans les corps lipidiques dans lesquels sont présents les enzymes et les précurseurs nécessaires [43]. Leur taille et leur nombre augmentent dans les maladies éosinophiliques et la production accrue de certains de ces médiateurs serait responsable de cette augmentation. Le PAF (mais pas le lyso-PAF) ainsi que la fixation de RANTES ou de l'éotaxine sur CCR3 favorisent la formation de corps lipidiques de façon concentration-dépendante [24, 28].

Radicaux oxygénés

La NADPH oxydase catalyse la réduction de O₂ en anion superoxyde (O₂^{•-}) ultérieurement converti en H₂O₂, en radical libre hydroxyle (OH[•]) ou en oxyde nitrique (NO₂[•])

L'activation de la NADPH oxydase et la production des ROS interviennent dans la mise en place de mécanismes oxydatifs impliqués dans la bactéricidie ou la cytotoxicité [149]. Les ROS participent aussi à la réaction inflammatoire allergique, notamment en causant une broncho-constriction, une augmentation des sécrétions de mucus ou des dommages

épithéliaux caractéristiques des voies aériennes des asthmatiques [27]. En effet, chez les patients allergiques, le métabolisme oxydatif dans les éosinophiles est augmenté [374]. De nombreux stimuli induisent cette activation [149] : des médiateurs lipidiques (le LTB₄, le PAF, le 5 ETE/5-HETE), des chémokines (RANTES, MCP-4, IL-8, éotaxine, éotaxine-2, éotaxine-3) ainsi que le fMLP, le C5a, [19], l'IL-5, les IgG, [28] et des particules opsonisées [374]. Le mécanisme d'activation des éosinophiles semble indépendant du Ca²⁺ intracellulaire, des PKC et des MAPKs. Les tyrosines kinases (autres que les src) ou l'ouverture des canaux K⁺ volto dépendants [149] pourraient intervenir. La trypsine en se liant à PAR-2 [281], l'adhésion des éosinophiles à VCAM-1 par VLA-4 [301] et la présence de ICAM-1 libre [71] sont aussi des situations induisant la production d'anions superoxydes.

La genèse d'anions superoxydes et leurs conséquences cliniques sont mises en évidence dans de très nombreuses études, mais les mécanismes conduisant à leur accumulation ne sont pas toujours élucidés.

Les protéines / polypeptides

Les protéines cytotoxiques

Les éosinophiles ont la particularité de pouvoir libérer des protéines toxiques pour les tissus. Ces protéines cytotoxiques sont contenues dans les différents granules de stockage.

La MBP est un polypeptide possédant des séquences hydrophobes et hydrophiles et une grande tendance à former des agrégats. Chez le cobaye, elle représente jusqu'à 50% des protéines éosinophiliques. Identifiée chez de nombreuses espèces, elle se localise dans la partie cristalloïde des granules spécifiques et est issue de la maturation de pro-MBP en MBP à l'intérieur des granules pendant la différenciation des éosinophiles. Peu de données sont disponibles sur la régulation génique de sa synthèse : il semble cependant que la famille GATA (guanine-adénine-thymine-adénine) de facteurs de transcription soit impliquée dans l'activation de sa transcription. Non seulement la MBP exerce une action cytotoxique, mais elle joue aussi le rôle d'un messager chimique paracrine auprès des éosinophiles voisins, par exemple en induisant l'exocytose de l'EDN, l'expression de l'IL-8 et la production de LTC₄ [149].

L'EDN est stockée dans la matrice des granules spécifiques et malgré son nom, elle n'est pas spécifique des éosinophiles. C'est une protéine plutôt neurotoxique que helminthotoxique ou cytotoxique et son rôle précis n'est actuellement pas bien connu [149].

L'ECP se trouve elle aussi dans la matrice des granules spécifiques. C'est une protéine basique dont il existe deux formes mais leurs rôles respectifs ne sont pas identifiés.

La protéine en cristal de Charcot-Leyden (CLC) est depuis longtemps identifiée. C'est une protéine hydrophobe qui se situe dans les granules primaires des éosinophiles matures et elle est aussi présente dans les basophiles. Elle représente 10% du total des protéines des éosinophiles. Elle était considérée jusqu'à récemment comme une lysophospholipase, bien que n'ayant aucune similitude de séquence avec une quelconque lysophospholipase connue. Cependant, Ackermann *et al.*, la nommant galectine-10, ont montré que l'activité enzymatique incriminée est en fait due à l'interaction avec des lysophospholipases ou leurs inhibiteurs et pas à une activité intrinsèque de la CLC [5].

Les enzymes

En plus des catalyseurs cités précédemment tels que les COX, les PLA2, et les lipoxgénases, les éosinophiles produisent de nombreuses enzymes impliquées dans le métabolisme glucidique (arylsulphatase B, α -mannosidase, β -hexosaminidase) [149], dans la dégradation de protéines ou d'amines (histaminase, collagénase, phosphatases alcalines, métalloproteinase 9 de la matrice (gélatinase B), serine proteinase esp-1), des NO synthases (iNOS (induced nitric oxide synthases) et eNOS (endothelial nitric oxide synthases)) ainsi que des peroxydases (EPO).

L'EPO fait partie de la famille des haloperoxydases qui catalysent l'oxydation peroxydative des composés halogénés à partir de H₂O₂. Elle est localisée exclusivement dans la matrice des granules secondaires et représente environ 5% du total des protéines des granules mais elle n'est pas présente chez certains mammifères comme le chat. La quantité d'EPO est identique dans les éosinophiles de malades et de donneurs sains. L'EPO est constituée de deux chaînes, une lourde et une légère, issues du clivage d'un précurseur commun. Les rôles de l'EPO sont très nombreux, par exemple la bactéricidie et l'inactivation du LTB₄ [149].

Les cytokines

Les éosinophiles produisent de très nombreuses cytokines (Tableau 6), mais en faible quantité par rapport aux autres leucocytes. A ce titre, les éosinophiles semblent de plus en

plus être des cellules immunorégulatrices importantes par leur production de cytokines, du moins dans certaines conditions. Cependant, l'identification directe des cytokines *in vivo* est difficile, et l'utilisation de stimuli non physiologiques, tels que les ionophores calciques, est un biais majeur des études réalisées *in vitro*.

In vitro, une stimulation par le LPS induit rapidement l'augmentation de l'ARNm codant pour l'IL-1 α et la libération extracellulaire de la protéine [92]. Cependant, il n'y a pas à notre connaissance de confirmation *in vivo*.

La production d'ARNm de l'IL-2 et de la protéine elle-même augmente chez les asthmatiques sévères. Elle est principalement localisée dans le noyau des granules secondaires [235].

L'IL-3 est une cytokine dont l'ARNm n'est pas constitutivement exprimé par les éosinophiles normaux [302]. Cependant, *in vitro*, sa production peut être induite par l'IL-13, l'IFN γ , le TNF α ou les immunoglobulines immobilisées [149].

L'IL-4 est exprimée constitutivement par les éosinophiles sanguins et tissulaires dans les noyaux des granules secondaires et son expression est accrue chez les sujets allergiques [292]. *In vivo*, chez des sujets atteints de pathologies inflammatoires chroniques, les éosinophiles sont la source primaire de l'IL-4, tant dans les tissus que dans le sang [228, 313]. La biosynthèse et le stockage de l'IL-4 dans les éosinophiles sanguins sont favorisés par la présence de l'IL-5 et inhibés par les inhibiteurs de la transcription, même chez des patients sains [302].

L'IL-5 a été isolée dans les tissus de patients présentant des pathologies éosinophiliques (maladie cœliaque, asthme ou maladie cardiaque éosinophilique) mais aussi dans le sang des patients ayant une cystite éosinophilique ou un syndrome hyperéosinophilique [110, 228]. Cependant, ni l'ARNm ni la protéine n'ont été identifiés au sein des éosinophiles sanguins de patients sains [302]. L'IL-5 est stockée dans le noyau des granules secondaires et peut être libéré *in vitro* après incubation avec par exemple des complexes immuns d'IgA, IgE et IgG3 [110].

L'IL-6 est présente dans les éosinophiles circulants issus de patients sains et hyperéosinophiliques. Elle est localisée dans la matrice des granules cristalloïdes spécifiques secondaires dans les éosinophiles sanguins des patients asthmatiques atopiques. Son stockage

Tableau 6 : Production de cytokines, chémokines et facteurs de croissance par les éosinophiles sanguins ou tissulaires.

Médiateurs	Type de patients et/ou conditions d'expression des cytokines
<u>Cytokines :</u>	
IL-1 α	Induction par le LPS
IL-2	Sains et asthmatiques
IL-3	Induction par IL-13, IFN γ , TNF α , Ig
IL-4	Sains, allergiques. Induction par IL-5 et répression par les inhibiteurs de transcription
IL-5	Malades. Induction par les complexes immuns
IL-6	Sains, malades. Induction de la sécrétion par IFN γ
IL-10	Sains.
IL-12	Sains, induction par IL-4, IL-5, GM-CSF, TNF α et IL-1
IL-13	Malades. Induction par IL-5 ou GM-CSF
IL-16	Sains
IFN γ	Sains
TNF α	Sains, malades
GM-CSF	Sains, malades
<u>Chémokines :</u>	
IL-8	Sains, malades. Induction de la sécrétion par TNF α , IgA et IgG
MIP-1 α	Sains (petite quantité), malades
RANTES	Sains. Induction de la sécrétion par IFN γ
Eotaxine	Sains. Induction par IL-3 et TNF α . Induction ou répression par IL-5
GRO- α	Induction par IL-1 β et TNF α . Répression par IFN γ
<u>Facteurs de croissance :</u>	
TGF α	Sains (petite quantité), malades. Induction par IL-3 et IL-5. Répression par IL-4.
TGF β 1	Sains (petite quantité), malades. Induction par IL-3, IL-4, IL-5 et l'acide hyaluronique.
PDGF	Malades
HBEGF	?
VEGF	Sains. Induction par IL-5 et GM-CSF.
<u>Neurotrophines :</u>	
NGF	Sains, malades. Induction par les complexes immuns d'IgG ou d'IgA et par IL-5.
NT-3	Sains.

et sa libération sont régulés par l'IFN γ de façon temps dépendante et l'IFN γ agit certainement sur la libération d'un stock d'IL-6 préformée puisque cette libération est très rapide [225].

L'ARNm et la protéine de l'IL-10 sont présents dans les éosinophiles sanguins de patients normaux qui peuvent transcrire, synthétiser et stocker intracellulairement cette cytokine inhibitrice [228, 302].

In vitro, la production d'IL-12 sous forme biologiquement active peut être induite par la stimulation des éosinophiles par l'IL-5 [155], par l'IL-4, le GM-CSF et, dans une moindre mesure, par le TNF α et l'IL-1 [149] mais ni par RANTES ni par l'éotaxine [25]. *In vivo*, l'ARNm de l'IL-12 et la protéine ont été localisés dans les éosinophiles sanguins et dans les éosinophiles de liquide de LBA. Etant donné le rôle prépondérant de l'IL-12 dans la conversion des lymphocytes Th du type 1 vers le type 2, il est possible qu'*in vivo* les éosinophiles aient un rôle à jouer dans la régulation de cette conversion [314].

Schmid-Grendelmeier *et al.* [381] ont montré, *in vitro* et *in vivo* chez l'homme, que les éosinophiles de patients sains ne produisent l'IL-13 que lorsqu'ils sont stimulés par l'IL-5 ou le GM-CSF. Par ailleurs, les éosinophiles sanguins et tissulaires de patients malades produisent l'IL-13 en quantité variable selon les pathologies. Cependant, l'ARNm de l'IL-13 n'est pas détecté, ce qui pourrait être dû à une différence de demi-vie entre l'ARNm et la protéine. Ni l'IL-4, ni l'IFN γ , ni l'IL-13 n'induisent l'expression du gène de l'IL-13 [381].

Les éosinophiles humains expriment constitutivement, *in vitro*, l'ARNm de l'IL-16, détectable par PCR. Ils contiennent aussi la protéine IL-16 préformée. L'IL-16 est une cytokine chémoattractante pour les lymphocytes [241].

In vitro, l'ARNm de l'IFN γ est identifié et l'IFN γ est synthétisé par des éosinophiles différents de ceux synthétisant l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-10 [228]. Il est possible que la sous-population d'éosinophiles synthétisant l'IFN γ soit aussi celle responsable de la synthèse de l'IL-2, population inductible par la liaison de CD28 [465].

L'ARNm du TNF α est présent dans les éosinophiles sanguins et tissulaires des patients sains et des patients malades [149]. Cependant, la protéine TNF α elle-même n'a pas été détectée dans les éosinophiles sanguins de patients sains et, dans les éosinophiles de patients éosinophiliques, le stockage du TNF α a lieu dans la matrice des granules sécrétoires secondaires [30].

L'ARNm du GM-CSF est présent dans les éosinophiles sanguins de patients sains et éosinophiliques et la protéine GM-CSF est stockée, dans les éosinophiles non stimulés, dans les granules secondaires spécifiques [236]. L'ARNm étant plus présent dans les éosinophiles des tissus que dans ceux du sang d'un même patient, il semble donc que l'expression

augmente pendant la migration, permettant ainsi la production autocrine de GM-CSF dans les tissus [149].

Enfin, la protéine MIF (Macrophage migration Inhibitory Factor) a été identifiée dans les éosinophiles de liquide de LBA et mérite des investigations supplémentaires pour les éosinophiles sanguins et tissulaires [149].

En bilan, les IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-16, le TNF α , l'IFN γ ainsi que le GM-CSF sont constitutivement produits et éventuellement stockés dans les éosinophiles sains. En revanche, d'autres médiateurs, en particulier l'IL-5, l'IL-13 et les IL-1 et IL-3 dans une moindre mesure, ne sont libérées que lors d'une stimulation cellulaire exogène (LPS, complexes immuns) ou lors d'une hyperéosinophilie. Or, ces derniers peuvent stimuler les éosinophiles sains pour accroître de façon plus ou moins spécifique la production de certaines cytokines constitutives : l'IL-5 induit ainsi considérablement la production d'IL-4, d'IL-12 et d'IL-13 et l'IL-13 favorise directement celle de l'IL-3. L'hyperstimulation résultante des éosinophiles conduit à la production massive des cytokines constitutives ou néoformées qui vont, à leur tour, agir sur différentes populations leucocytaires :

- les IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12 et IL-16 sur les lymphocytes,
- les IL-1 et IL-6 sur les macrophages / monocytes
- l'IL-1, l'IL-4, l'IL-13, le GM-CSF, le TNF α et l'IFN γ sur les éosinophiles.

Cette cascade de production de cytokines par les éosinophiles conduit d'une part à la mise en place de boucles d'amplification des sécrétions autocrines des éosinophiles (le GM-CSF amplifie spécifiquement la synthèse d'IL-13 et d'IL-12, l'IFN γ celle de l'IL-2 et de l'IL-6) et d'autre part, à l'initiation de mécanismes de coopération cellulaire entre éosinophiles et monocytes ou lymphocytes.

Les chémokines (Tableau 6)

Selon les méthodes de préparation des éosinophiles, certains ont mis en évidence l'ARNm et la protéine de l'IL-8 dans les éosinophiles sanguins de patients sains et éosinophiliques, avec une augmentation de son expression chez ces derniers [475]. D'autres, par contre, n'ont pas détecté l'ARNm de l'IL-8 dans les éosinophiles sains et ont constaté une synthèse très faible en l'absence de stimulation. L'augmentation de l'expression de l'ARNm d'IL-8 *in vitro* est inductible par différents stimuli comme les IgA, IgG ou le TNF α , mais le stockage de cette interleukine dans les éosinophiles est encore débattu et il semble que l'IL-8 soit plutôt synthétisée en continu lors de stimulation et très peu stockée [302].

L'ARNm de MIP-1 α est présent dans les éosinophiles sanguins et tissulaires de patients éosinophiliques mais est peu exprimé dans les éosinophiles de patients sains [149].

RANTES est synthétisé par les éosinophiles de patients sains [241] et il est stocké dans la matrice des granules secondaires mais il est aussi présent dans de petites vésicules sécrétoires. L'expression de son ARNm est augmentée par l'IFN γ , qui induit aussi sa mobilisation rapide à partir des vésicules sécrétoires [226].

L'ARNm de l'éotaxine est difficilement détectable dans les éosinophiles non stimulés, *in vitro*. Cependant, son expression est fortement induite par le TNF [168], ainsi que par l'IL-3 [144] et plus modestement par l'IL-5 [168]. Bien que l'ARNm de l'éotaxine soit peu exprimé sans stimulation, une quantité considérable d'éotaxine, stockée dans les granules spécifiques, est présente constitutivement dans les éosinophiles non stimulés. L'IL-5 inhibe de façon dose-dépendante l'induction de l'ARNm de l'éotaxine induite par le TNF, mais cependant la production de la protéine reste peu affectée en raison de son stockage massif. Cette synthèse d'éotaxine est en trop petite quantité pour que les éosinophiles soient la source principale de cette chémokine [304]. Il est probable que cette éotaxine ait une action locale autocrine ou paracrine [304]. Ainsi, la régulation de la synthèse d'éotaxine semble dépendre d'une action complexe entre le TNF et l'IL-5 sur le gène de l'éotaxine [168].

Enfin, on trouve aussi le GRO (growth-related oncogene)- α préformé dans les granules spécifiques. GRO- α est une chémokine des neutrophiles qui admet pour récepteur le CXCR2. Une forte augmentation de l'expression du gène de GRO- α peut être induite par le TNF α et l'IL-1 β . Par contre, l'IFN γ diminue l'expression de GRO- α . Comme les éosinophiles produisent eux-mêmes le TNF α , il est possible que les effets paracrines soient majeurs dans la régulation de l'expression génique de GRO- α [341].

Les facteurs de croissance

Les éosinophiles synthétisent des facteurs de croissance appartenant à plusieurs familles (Tableau 6). Les facteurs de croissance de la famille des TGF sont impliqués dans la fibrose et la réparation tissulaire, le PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) dans le remodelage tissulaire, la famille des EGF (Epidermal Growth Factor) est mitogène pour les fibroblastes et les cellules des muscles lisses, le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) contribue à la perméabilité vasculaire et est un agent angiogène et le NGF (nerve growth factor) a une activité neurotrophique.

L'ARNm du TGF α est présent dans 80% des éosinophiles circulants de patients éosinophiliques et la protéine dans 55% de ces éosinophiles [469], dans la matrice des

granules spécifiques, ainsi que dans des petites vésicules sécrétoires [121]. Cependant, dans les éosinophiles de patients sains, selon les méthodes de préparation *in vitro*, soit la protéine est très peu exprimée soit elle serait faiblement stockée [123, 469]. *In vitro*, l'IL-3 et l'IL-5 favorisent l'expression de l'ARNm et la protéine TGF α par les éosinophiles sanguins normaux, alors que l'IL-4 supprime l'expression de TGF α tant au niveau génique que protéique [123]. Comme dans le cas de TGF α , le TGF β 1 et son ARNm sont présents dans les éosinophiles circulants de patients éosinophiliques et, plus rarement dans ceux de patients sains [123, 468]. Chez l'homme, les éosinophiles du tissu pulmonaire sain expriment *in vivo* l'ARNm et la protéine TGF β 1. Chez les asthmatiques, l'augmentation de l'ARNm est corrélée à la sévérité de la maladie, alors que celle de la protéine, bien que significative en comparaison avec les donneurs sains, ne l'est pas [283]. En revanche, dans le cas du TGF β 1, l'IL-3 et l'IL-5 mais aussi l'IL-4 stimulent la transcription et la synthèse de la protéine TGF β 1 [123]. Enfin, l'acide hyaluronique (glycosaminoglycane de la matrice extracellulaire) de faible poids moléculaire augmente l'expression de l'ARNm et la sécrétion de la protéine de TGF β [319].

Les éosinophiles sont certainement une source importante de PDGF lorsqu'ils ne sont pas issus de patients sains. En effet, l'ARNm de la chaîne B de PDGF a été identifié dans les éosinophiles des muqueuses de polypes nasaux et de poumons de patients bronchitiques chroniques. Les éosinophiles représentent la population majeure de leucocytes dans ces tissus et sont responsables de la synthèse de la protéine [320].

Dans les poumons sains de rat, les éosinophiles de la paroi alvéolaire qui expriment l'ARNm de l'HB-EGF (Heparin-Binding Epidermal Growth Factor-Like Growth Factor) sont peu nombreux. Chez les rats atteints d'hypertension pulmonaire, ils sont 100 fois plus nombreux et sont regroupés autour des micro-vaisseaux. Malheureusement, dans cette étude, l'expression de la protéine n'a pas été évaluée [346].

L'ARNm et la protéine du VEGF sont exprimés constitutivement par les éosinophiles. L'augmentation de l'expression génique et de la synthèse protéique par le GM-CSF et l'IL-5 est bloquée par des inhibiteurs de la transcription. Les inhibiteurs des PKC et PKA inhibent eux aussi les effets induits par le GM-CSF et l'IL-5 et, de plus, l'inhibition de PKC inhibe aussi l'expression constitutive de la protéine [182].

Les éosinophiles présentent constitutivement les ARNm des neurotrophines NGF et NT-3 (neurotrophin-3), synthétisent et stockent intracellulairement les protéines correspondantes. La quantité de NGF est élevée dans les éosinophiles de patients atteints de parasitoses ou d'allergies [149, 215, 403] et, *in vitro*, lorsqu'ils sont activés par des complexes immuns d'IgG ou d'IgA, ils secrètent une grande quantité de NGF. L'IL-5 induit aussi la

présence de NGF intracellulaire mais plus faiblement. La combinaison de l'IL-5 avec un complexe immun diminue la quantité de NGF intracellulaire en comparaison à un complexe immun seul, suggérant que soit cette combinaison induit la sécrétion extracellulaire de la protéine, soit elle inhibe la production de NGF. A l'inverse, la quantité de NT-3 détectée n'est modifiée ni par les complexes immuns, ni par l'IL-5, ni par leur combinaison. *In vivo*, le liquide de lavage nasal de patients atteints d'allergie contient une grande quantité de NGF et la corrélation entre les concentrations d'EDN et de NGF est significative, alors qu'avec NT-3 elle ne l'est pas. Il semble donc que, *in vivo*, les éosinophiles aient un rôle dans la sécrétion de NGF d'une part en la stockant et d'autre part en la synthétisant en continu, et même peut-être par une action autocrine puisque les éosinophiles possèdent des récepteurs pour le NGF [215].

Ainsi, les éosinophiles peuvent soit produire constitutivement et stocker certaines cytokines sous forme préformée dans des granules ou des petites vésicules sécrétoires, soit synthétiser des protéines après activation cellulaire et les libérer en continu. Il est possible que ces deux types de synthèse aient un rapport avec les différents rôles des éosinophiles d'une part dans l'homéostasie physiologique et d'autre part dans de multiples pathologies.

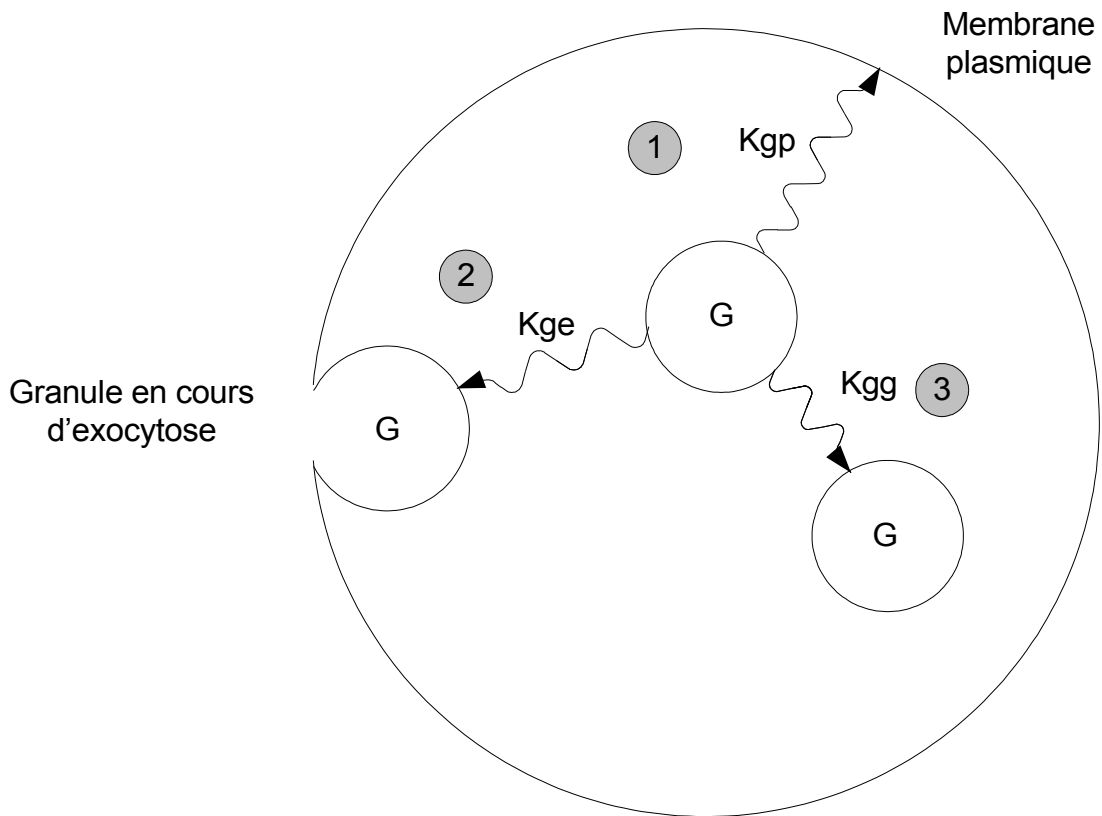
Modes de libération de substances actives

Les éosinophiles, lorsqu'ils sont activés, sont caractérisés par une augmentation du REG et de l'appareil de Golgi qui suggère une augmentation de l'activité métabolique et par une altération de la morphologie des granules associée à la libération des médiateurs actifs selon trois modalités : par exocytose classique qui conserve l'intégrité cellulaire, par « dégranulation par bouts », dans laquelle divers degrés de vacuolisation des granules sont visibles, et enfin, par cytolysse complète.

Exocytose

L'exocytose est un processus rapide et transitoire qui permet la sécrétion régulière des médiateurs produits contenus par les éosinophiles. Deux types d'exocytose (une simple et une composée) ont été mis en évidence, par des techniques de mesures de capacitance membranaire. Lors de l'exocytose simple, on peut voir un mouvement des granules vers la périphérie de la cellule et une fusion entre la membrane périgranulaire et la membrane plasmique.

Lors de l'exocytose composée, plus rare, les granules devenus progressivement gros et vésiculés fusionnent ensemble intracellulairement pour former une grande chambre de



$X \xrightarrow{K_{xy}} Y$ X fusionne avec Y, K_{xy} : constante associée

G : granule ; $[Ca^{2+}]$: concentration intracellulaire de Ca^{2+}

- ① : Fusion simple : Fusion granule-membrane plasmique (K_{gp}) dépendante de $[Ca^{2+}]$ et du GTP (ou analogues) ;
- ② : Fusion composée : fusion granule-granule en cours d'exocytose (K_{ge}) dépendante de $[Ca^{2+}]$ mais pas du GTP (ou analogues) ;
- ③ : Fusion intracellulaire : Fusion granule-granule (K_{gg}) dépendante du GTP (ou analogues) mais pas de $[Ca^{2+}]$

Figure 14 : Les différents types de fusion au cours de l'exocytose de l'éosinophile (d'après 173).

dégranulation qui peut occuper une grande partie du cytoplasme. Cette large vacuole cytoplasmique communique avec le milieu extracellulaire par des pores de surface. Il y a diminution du nombre de granules cytoplasmiques, principalement des gros granules, alors qu'il y a augmentation des granules de petite taille (moins de 0.1 μm), suggérant la possibilité que l'exocytose des granules matures est accompagnée par la formation de nouveaux granules cytoplasmiques [176], ou que ces petits granules persistant dans le cytoplasme sont en fait des résidus des granules cristalloïdes ayant secrété leur contenu [243]. La formation du sac de dégranulation résulterait d'une « fusion cumulative ». La fusion du premier granule avec la membrane induirait la fusion des granules suivants avec le premier, dirigeant la libération du contenu par les premiers pores formés. Cela permettrait de focaliser la libération du contenu cytotoxique des granules dans une région ciblée [379]. Chez l'homme, sur des biopsies intestinales, l'extrusion des granules est observée sur toutes les biopsies présentant à la fois des lésions et des bactéries. Bien que plus fréquente en présence de bactéries, l'extrusion ne peut pas expliquer tous les dégâts tissulaires observés [117]. En outre, ce processus de « fusion cumulative » serait accéléré lors de stimulation des éosinophiles.

Chez le cobaye, l'utilisation de l'acide tannique sur des éosinophiles perméabilisés et stimulés a permis de visualiser en microscopie électronique que les phénomènes exocytosiques sont très rapides. Un grand nombre de site de fusion de granules avec la membrane sont ainsi observés, à des stades précoces (pied de fusion très étroit) ou plus avancés (structure en oméga), et souvent le noyau cristalloïde est encore présent dans la vésicule en cours de fusion. Des sites de fusion composée dans quelques cellules sont aussi mis en évidence [311].

Plusieurs événements de fusion ont été observés dans les éosinophiles de cheval [162] : granule avec membrane, fusion intracellulaire granule-granule, fusion de larges composés de granule pré-fusionnés avec la membrane plasmique (exocytose composée) et aussi fusion séquentielle de granules avec des granules fusionnés précédemment avec la membrane plasmique. Ainsi comme cela avait été postulé par Sceppek en 1993 [379], il existe un mécanisme de fusion cumulative, différent de la fusion composée. La coexistence de ces mécanismes d'exocytose suggère une régulation différente qui résulterait en une libération très maîtrisée des médiateurs (Figure 14).

L'exocytose des granules peut avoir lieu constitutivement : c'est la « sécrétion non régulée » qui est caractérisée par une libération de médiateurs indépendamment d'une stimulation. L'autre processus, la « sécrétion régulée », résulte de la formation de chambres de dégranulation dont le contenu est libéré en réponse à un stimulus externe.

La régulation de trois processus différents, fusion granule-granule, fusion granule-membrane plasmique et fusion granule-granule fusionné, ont été récemment étudiés chez le cheval. La dégranulation observée en microscopie électronique est un processus actif pouvant obéir à une stimulation exogène puisqu'elle est stimulée par une augmentation du Ca^{2+} intracellulaire et par le GTP ou ses analogues structuraux (Figure 14). Les probabilités de fusion sont considérées comme proportionnelles à la surface des granules et les auteurs montrent que la fusion d'un granule avec l'une des trois cibles est régulée différemment. On montre ainsi que les fusions des granules avec la membrane plasmique (fusion simple) dépendent du GTP et du Ca^{2+} intracellulaire, les fusions intracellulaires de granules ne dépendent que du GTP, et que la fusion composée (entre un granule en exocytose et un granule intracellulaire) ne dépend que du Ca^{2+} intracellulaire [173].

« Dégranulation par bouts »

Un processus alternatif de libération du contenu des granules trouvé communément dans les éosinophiles humains est la « dégranulation par bouts », ainsi nommée car il s'agit de la formation de petites vésicules à partir des granules de l'éosinophile en l'absence de fusion des granules avec la membrane plasmique.

Dans des éosinophiles duodénaux de patient atteints de gastro-entérite éosinophilique, la MBP a été localisée par immunocytochimie dans la matrice de granule éosinophilique mais aussi sur des membranes extragranulaires, alors que l'ECP et l'EPO restaient distribuées dans la matrice des granules [437]. Il semble donc que ce mode de dégranulation permette la libération de médiateurs des éosinophiles de façon sélective. Tomassini *et al.* ont démontré que les éosinophiles des patients allergiques ou non secrètent sélectivement différentes protéines cogramulaires (EPO, ECP) responsables de dommages tissulaires en fonction de la nature du stimulus (IgE, IgG, IgA) [436].

Un mécanisme de transport vésiculaire a été mis en évidence pour le transport d'EPO. Selon ce modèle, le contenu des granules spécifiques est emballé dans de petites vésicules à partir du granule [114] puis transporté jusqu'à la membrane cellulaire afin d'être libéré dans le milieu extracellulaire, laissant les granules spécifiques graduellement vides [113]. La différence avec l'exocytose réside dans le fait que les petites vésicules qui contiennent les protéines bourgeonnent à partir des granules secondaires qui se vident donc graduellement. Certains granules secondaires sont complètement vides ou ne comportent qu'un noyau dense, alors que dans d'autres, la perte partielle de la matrice est évidente.

Un index de dégranulation a été proposé selon la proportion de granules altérés par rapport au nombre total de granules dans un éosinophile donné, un granule altéré étant un granule présentant des signes ultrastructuraux de libération de protéines [127].

L'étude de la libération du contenu des granules supporte la notion que la « dégranulation par bouts » est bien distincte de la cytolyse. Plusieurs études sont menées pour tenter d'établir une corrélation clinique avec la morphologie des granules. Le défi allergène de sujets sensibles induit la « dégranulation par bouts » des éosinophiles de sang périphérique. Cela est attesté en microscopie électronique par la morphologie des granules et par la présence de l'ECP dans le cytoplasme, à proximité des granules spécifiques partiellement vidés. L'étude des distributions de l'ECP et l'EPO a montré qu'elles diminuent dans les granules et qu'elles augmentent dans le reste de la cellule pour les éosinophiles hypodenses. La densité des éosinophiles reflète donc peut-être leur degré de dégranulation [199].

Une récente étude avec des éosinophiles issus de patients sains et stimulés avec de l'éotaxine, du RANTES ou du PAF a permis d'évaluer les mécanismes structuraux responsables de la mobilisation des protéines à partir des granules spécifiques. La localisation grâce à l'immunocytochimie montre que les vésicules entourant les granules contiennent de la MBP. Cette protéine cationique préformée qui était dans la matrice des granules a donc été mobilisée dans les vésicules entourant les granules.

Par ailleurs, la localisation grâce à l'immunocytochimie de marqueurs membranaires ainsi que la tomographie et la microscopie à transmission électronique, ont permis la reconstruction en trois dimensions des granules, montrant ainsi que les granules spécifiques contiennent un très vaste réseau membranaire vésiculotubulaire avec des interconnexions dans certains plans. En outre, des connexions structurales ont été mises en évidence entre les réseaux membranaires intragranulaires et la membrane limitant le granule qui pourraient représenter les sites de membrane impliqués dans la translocation des produits granulaires. Les structures intragranulaires apparaissant comme rondes de profil dans les sections de routine des éosinophiles seraient en fait des sections des tubules intragranulaires plutôt que de vésicules. Finalement, il se pourrait que les protéines soient ségréguées spécifiquement dans les granules avant d'être envoyées à la surface de la cellule via les compartiments vésiculaires. Enfin, lors d'une autre étude sur le stockage de l'IL-4 dans les granules spécifiques, les auteurs montrent qu'un système composé à la fois de petites vésicules rondes et de grandes vésicules tubulaires nommées « Eosinophil Sombrero Vesicles » (EoSv) peut être formé à partir des granules des éosinophiles. Les EoSv sont libérées par un processus de tubulation requérant une quantité substantielle de membrane et

qui implique le réseau intragranulaire. Les granules sont donc des organites élaborés et compartimentés avec des domaines vesiculotubulaires membranaires internes capables de séquestrer et de relocaliser les produits des granules après stimulation [279, 280].

Les granules spécifiques semblent dégranuler de deux manières différentes. Dans certains, le noyau de cristal s'est dissous et apparaît en dehors du granule tandis que la matrice est encore présente, bien qu'ayant une densité électronique inférieure. D'autres granules perdent leur matrice et présentent des pertes focales dans les noyaux, dont le caractère cristallin est encore préservé. On ne sait pas encore comment cette différence de dégranulation des granules peut se produire [199].

Ainsi, la formation de petites vésicules à partir des granules spécifiques permettrait, de façon dépendante des stimuli, la libération sélective d'une protéine sécrétoire individuelle à partir d'un organite de stockage commun. La libération progressive du contenu des granules est reflétée par leur densité. L'analyse de la densité pourrait donc être un moyen pour identifier les éosinophiles actifs cliniquement en libérant leur contenu par la « dégranulation par bouts ».

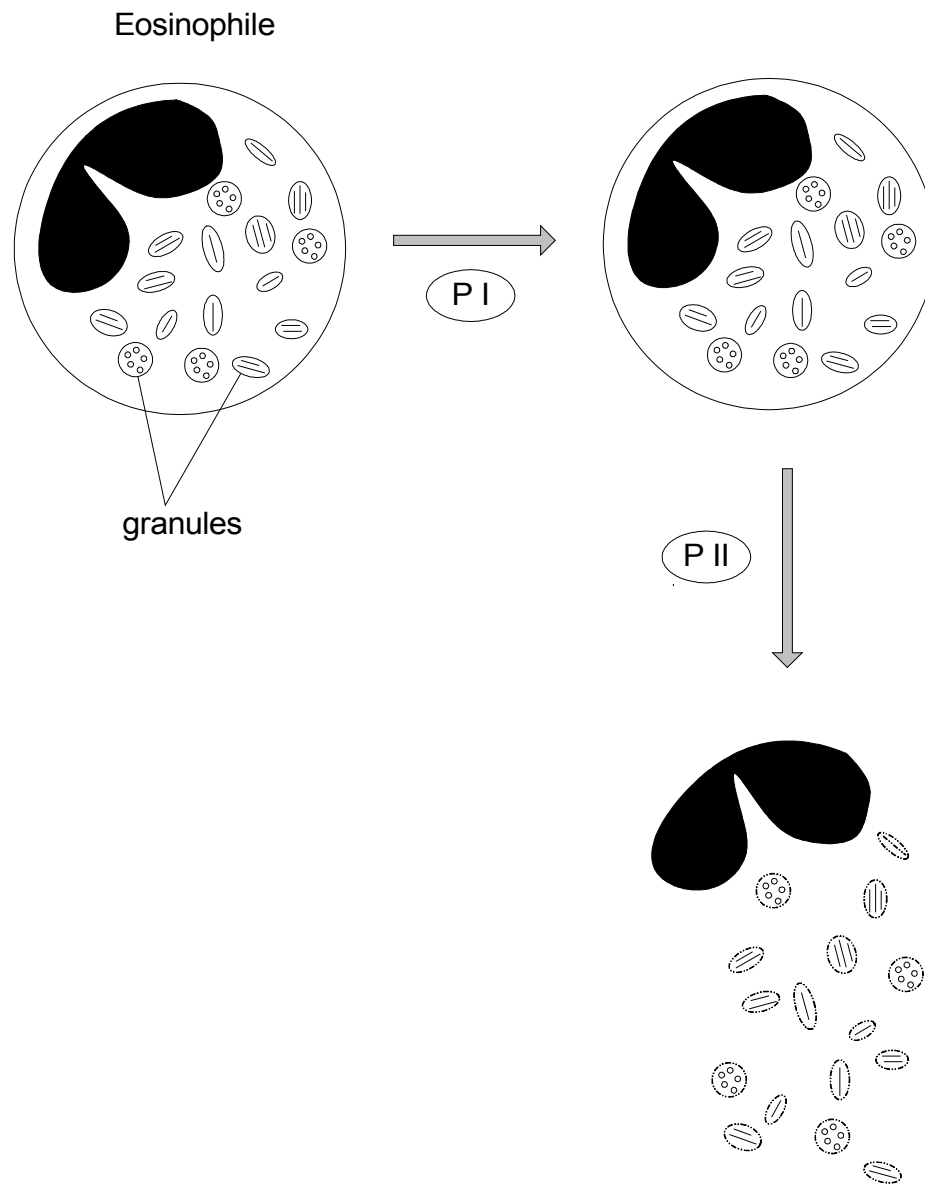
La dégranulation peut être induite, *in vitro*, par différentes molécules. Les éosinophiles stimulés avec des immunoglobulines dégranulent et libèrent de l'EDN. La présence des hématopoïétines en augmente la libération, l'IL-5 étant la plus puissante alors que l'IFN γ est inhibiteur. Cependant, l'IL-5 et le GM-CSF, contrairement à l'IL-3, ont la capacité d'induire la dégranulation en l'absence d'immunoglobuline [141]. Ainsi, les hématopoïétines sont considérées comme des agents de « priming ». Plusieurs études ultérieures sur des modèles un peu différents ont cependant montré que l'IL-5 [142] et le GM-CSF [400] ne peuvent pas induire la dégranulation lorsqu'ils sont seuls. Néanmoins, tous s'accordent sur la potentialisation efficace de la dégranulation par ces hématopoïétines. Dans un autre modèle de dégranulation, l'ECP est libérée après un court « priming » avec le GM-CSF suivi d'une stimulation soit avec le PAF soit avec l'anaphylatoxine C5a, mais pas avec l'éotaxine. La restimulation par la même molécule (PAF ou C5a) n'induit la dégranulation que s'il y a un lavage intermédiaire. La régulation n'a donc lieu qu'en partie par l'internalisation du récepteur et en fait le lavage des cellules enlève les agonistes de la surface des cellules. La capacité à dégranuler est donc maintenue avec le même agoniste tant que le récepteur n'est pas occupé par une précédente stimulation [400]. Contrairement à cette étude dans laquelle l'éotaxine lors de la première stimulation, même avec un « priming » par le GM-CSF, n'avait pas induit la libération d'ECP, une étude plus récente avec les trois éotaxines a montré que la libération de l'EPO de façon concentration-dépendante existe, *in vitro*, et que l'IL-5 peut

l'augmenter [19]. Enfin, avec des éosinophiles isolés du sang périphérique de donneurs modérément atopiques, la libération d'EDN a résulté uniquement de la stimulation du récepteur CCR3 par l'éotaxine, RANTES, MCP-3 et MCP-4. L'IL-5 favorise cette libération mais ne peut pas l'induire seule et est donc encore ici un agent de « priming » [142]. Quant à l'IFN γ , il constitue un stimulus physiologique qui induit *in vitro* la dégranulation des petites vésicules sécrétoires contenant RANTES [226]. De même, Bandeira-Melo *et al.* [23] ont montré que l'éotaxine et RANTES, mais pas l'IFN γ , induisent la libération rapide de l'IL-4 préformée et stockée dans de petites vésicules. En effet, l'inhibition de la synthèse protéique ou de la transcription ne modifie pas la libération de l'IL-4 alors que l'inhibition de la formation des vésicules sécrétoires empêche sa libération. L'IL-5 potentialise l'excrétion de l'IL-4 induite par l'éotaxine [26]. Il existe aussi pour l'IL-4 une boucle d'amplification : l'IL-16 induit la libération de l'éotaxine et de RANTES préformés, qui, de façon autocrine (via le CCR3) stimulent la libération de l'IL-4 [25].

Ainsi, il semble que seules les chémokines se liant à CCR3 peuvent induire la dégranulation par l'intermédiaire de l'activation des MAP kinases ERK2 et p38 [198] et que, par ailleurs, les hématopoïétines déjà mises en cause dans la différenciation et la prolifération des éosinophiles ont peut-être chacune une cible de potentialisation pour la dégranulation.

Le problème de nombreuses études *in vitro* est l'utilisation de stimuli non physiologiques, non sélectifs et induisant aussi bien la cytolysse que l'exocytose ou la « dégranulation par bouts » comme les ionophores calciques (A23187). Les éotaxines augmentent la libération induite par le A23187 [19], mais l'augmentation des flux de Ca²⁺ n'est pas uniquement liée, contrairement à la dégranulation, à l'occupation du CCR3 [142]. De très nombreuses études mettent ainsi en évidence la libération de différentes molécules après activation, mais souvent les auteurs utilisent indifféremment les termes d'exocytose et de dégranulation. Ainsi, le PAF est un puissant inducteur de la libération du contenu des éosinophiles [221] et il peut être potentialisé par la présence des IgG et de l'IL-5 [28]. Le fragment du complément C5a et la ionomycine induisent, eux, la libération d'éotaxine par les éosinophiles normaux [304] et la trypsine en se liant à PAR2, induit puissamment la libération d'EDN [281].

Par conséquent, seules les études montrant réellement un transport vésiculaire et utilisant un stimulus physiologique sont à prendre finalement en considération pour la compréhension du mécanisme de « dégranulation par bouts » et de sa régulation *in vivo*.



P I : Phase I : Rupture de la membrane plasmique entraînant la libération de granules

P II : Phase II : Rupture des membranes intracellulaires entraînant la libération des médiateurs

Figure 15 : Cytolyse des éosinophiles : libération en deux temps du contenu granulaire.

Cytolyse

La cytolysse des éosinophiles humains peut être reproduite *in vitro* en réponse à des IgA sécrétoires et à des IgG et par le ionophore calcique A23187. La dégradation cytolitique est caractérisée par une rupture des membranes du noyau et de la cellule et par une lyse de la chromatine (Figure 15). Ces caractéristiques de cytolysse concernant les éosinophiles se retrouvent dans de nombreuses maladies (pemphigus bulleux, polypose nasal, pneumonie éosinophilique, dermatite atopique et asthme) [116, 149]. Ce phénomène a été peu étudié et souvent soit la cytolysse n'est pas discutée soit elle est considérée comme étant accidentelle, due à des artéfacts ou au déversement des protéines cytotoxiques lors de la dégranulation.

Des études sur des trachées de cobayes ont montré la présence de petits groupes de granules éosinophiliques libres dans les tissus alentours [128, 130, 132]. En fait, on peut voir des éosinophiles ayant de nombreux granules qui sont lysés alors que d'autres qui possédaient peu de granules ne le sont pas [127, 132]. Ainsi, actuellement, on considère que la cytolysse permet la libération rapide et non spécifique des produits des granules, au contraire des autres modes qui sont plus lents et surtout sélectifs [437]. Un modèle en deux étapes est proposé pour la cytolysse : dans la première les granules sont libérés et dans la seconde phase leur contenu est libéré [340] (Figure 15).

Chez l'homme, Greiff *et al.* ont montré que pendant la saison de pollen, le nombre d'éosinophiles des polypes nasaux de patients allergiques est augmenté 10 fois et celui des petits groupes de granules libres 25 fois. Il s'agit donc d'un dispositif significatif dans cette maladie et qui représente un processus d'activation ultime des éosinophiles [154].

Alors que la mesure des protéines libérées ne permet pas toujours de différencier cytolysse et « dégranulation par bouts », l'utilisation de la microscopie à transmission électronique permet d'identifier les signes ultrastructuraux de dégranulation et de différencier ainsi cytolysse et dégranulation. Grâce à cette technique récente, l'étude structurale des éosinophiles issus de polypes nasaux humains a permis de mettre en évidence les fréquences respectives de la cytolysse, de la « dégranulation par bouts » et de l'apoptose (cf *infra*). Les éosinophiles observés sont : intacts et au repos (6.8%), intacts mais dégranulés (83%), cytolitiques (9.9%), ou apoptotiques (0.0%) et tous les éosinophiles dégranulés montrent des signes de « dégranulation par bouts » [127].

Chez des patients atteints de rhinite allergique saisonnière mis en présence d'allergènes pendant une semaine, d'abondants granules d'éosinophiles libres sont détectés

sur des biopsies des muqueuses nasales qui par ailleurs présentent une intense immunoréactivité extracellulaire pour l'ECP. La microscopie électronique confirme la présence de granules libres et révèle que tous les éosinophiles de la muqueuse libèrent leur contenu, soit par cytolyse (33%) soit par dégranulation par bouts (67%). Ils ne sont donc ni apoptotiques ni inactifs. Les éosinophiles cytolytiques, comparés aux éosinophiles viables dans le même tissu, présentent moins de signes de libération intracellulaire des granules et un plus grand nombre de granules intacts [129]. Les éosinophiles cytolytiques ont un index de dégranulation plus petit que les éosinophiles intacts présents dans les tissus [127]. Ces études montrent bien que la cytolyse est un mécanisme distinct de la dégranulation pour la libération du contenu des granules dans les muqueuses et qu'elle a certainement un rôle majeur dans les manifestations allergiques [129]. Ainsi, en plus de la sécrétion et de la dégranulation par bouts, la possibilité pour les éosinophiles de subir une lyse non apoptotique peut être considérée comme l'activation ultime de ces leucocytes *in vivo*.

Contrairement au recrutement des éosinophiles, pour lesquels les études *in vivo* manquent cruellement, l'étude du mode de libération du contenu des granules est assez facilement réalisable *in vivo*. Cependant, se pose ici le problème du modèle d'étude. L'exposition de souris à un allergène peut induire une éosinophilie tissulaire comme chez l'homme. Mais *in vitro* en présence d'agents induisant la dégranulation des éosinophiles humains, les éosinophiles de souris ne présentent ni de cytolyse, ni de dégranulation par bouts, ni d'exocytose et l'EPO extracellulaire n'est pas non plus identifiée. De même *in vivo*, les éosinophiles ne présentent aucun signe de dégranulation par bouts ou de cytolyse. Ce constat implique qu'il y a certainement une différence fondamentale dans la régulation de la libération du contenu des éosinophiles chez la souris et chez l'homme et limite l'utilisation de la souris comme modèle d'étude pour l'homme [131, 265].

La dégranulation des éosinophiles dans les tissus est une clé pathogénique dans les maladies chroniques éosinophiliques. L'étude de la corrélation entre le mode de libération du contenu des éosinophiles (cytolyse et dégranulation par bouts) et la maladie montre que selon les pathologies, le nombre d'éosinophiles actifs est le même mais que le mode de dégranulation est très variable [128]. Il semble donc que le milieu puisse influencer la régulation d'un mode de libération donné, comme nous l'avons vu précédemment, mais aussi que selon le milieu, un mode de libération soit plus favorisé qu'un autre. Les perspectives thérapeutiques en sont nombreuses.

Rôles et devenir des éosinophiles

L'éosinophile : cellule immunorégulatrice

Cellule présentatrice d'antigène

Pour être une CPA, plusieurs conditions doivent être remplies : contact avec les antigènes, présentation aux autres leucocytes et capacités de présentation de l'antigène.

Les éosinophiles sont présents dans les muqueuses respiratoire, génitale et gastro-intestinale [369] et, puisque dans les maladies allergiques respiratoires ils sont identifiables dans la lumière des voies respiratoires et dans les sécrétions, ils peuvent entrer en contact avec les antigènes. Ils peuvent migrer de la lumière vers le nœud lymphatique régional [393] et ils ont la capacité d'interagir avec des particules antigéniques et pas seulement avec des antigènes solubilisés comme les cellules B [35 in 393]. Ce point est particulièrement important dans le tractus respiratoire, puisque les antigènes y sont essentiellement sous forme de particules [36 in 393]. Les macrophages peuvent phagocyter ces particules antigéniques et les présenter à leur surface mais n'interviennent pas comme CPA initiales et les cellules dendritiques, qui sont des CPA, ne peuvent pas interagir avec des antigènes particuliers [37 in 393]. Les éosinophiles, présents très tôt sur les sites inflammatoires, présentent en revanche toutes les qualités requises des CPA.

In vitro, plusieurs études ont montré que les éosinophiles agissent en tant que CPA (Figure 16). Chez les souris, les éosinophiles cultivés avec du GM-CSF expriment le CMH de classe II HLA-DR [254, 425] et peuvent présenter un antigène donné à des cellules T spécifiques de cet antigène. La prolifération des cellules T dépend du nombre d'éosinophiles utilisés en tant que CPA. L'inhibition de la transformation de l'antigène tout comme la présence d'un anticorps anti CMH de classe II diminue la présentation des antigènes aux cellules T par les éosinophiles [91]. Enfin, chez les souris, les molécules CD80 et CD86 sont exprimées sur les éosinophiles même en l'absence du GM-CSF et les anticorps anti CD80 et anti CD86 inhibent la prolifération des cellules T qui a lieu en réponse à une stimulation antigénique [425].

Comme chez la souris les éosinophiles sanguins humains expriment peu de HLA-DR mais leur expression peut être augmentée par le GM-CSF, l'IL-3, l'IL-4 et l'IFN γ , le GM-CSF étant le plus puissant [63]. Les éosinophiles ne stimulent la prolifération de cellules T qu'à l'issue d'une exposition antigénique et cette prolifération est inhibée par un anticorps

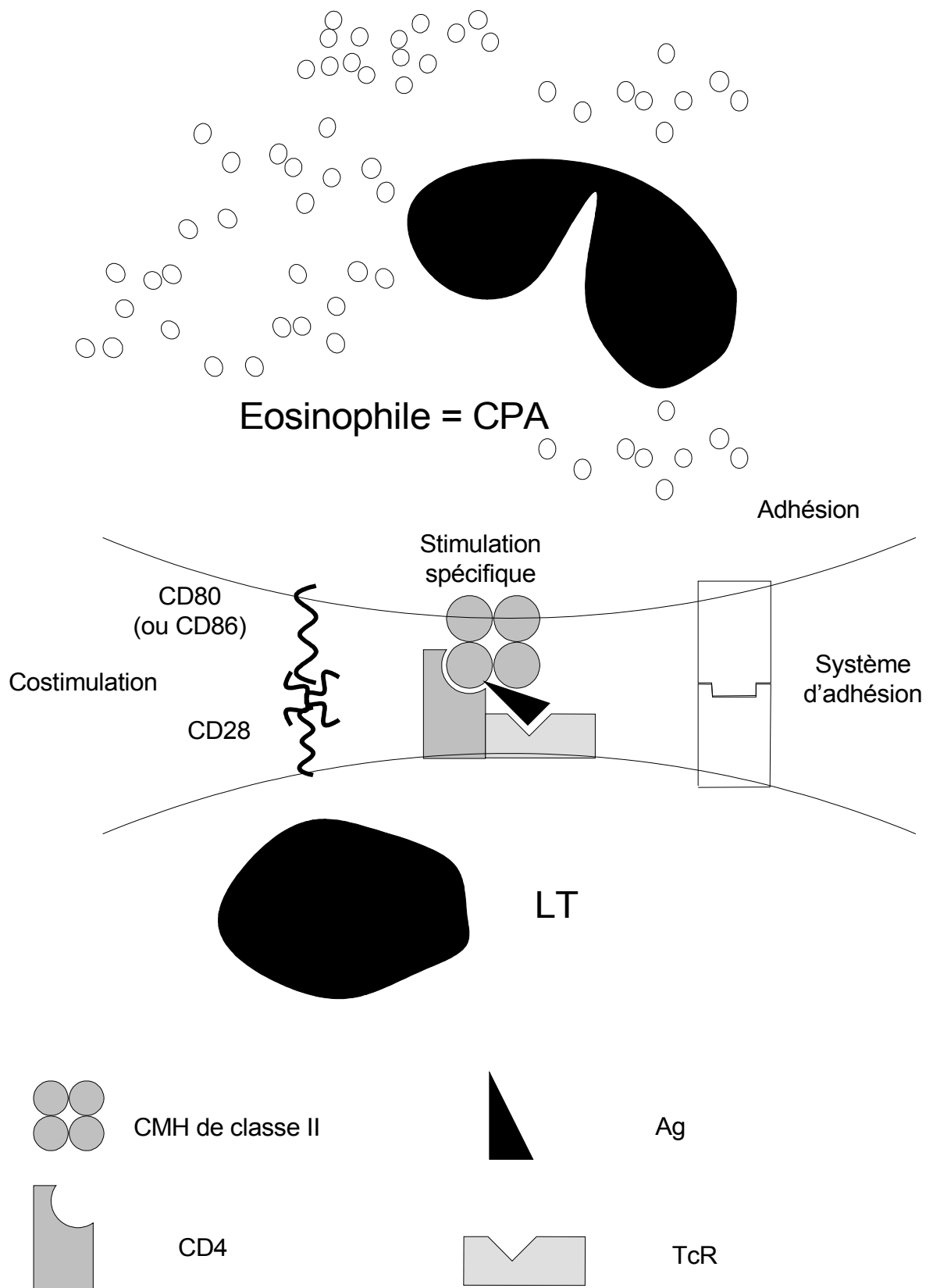


Figure 16 : Rôle de CPA (cellules présentatrice d'antigène) des éosinophiles. Présentation de l'antigène aux lymphocytes T (LT).

anti HLA-DR [461]. Cependant, il faut noter que les éosinophiles des patients éosinophiliques expriment CD86 mais pas CD80. Ces protéines membranaires ont pour principale fonction de se lier à la molécule costimulatoire CD28 constitutivement exprimée par les LT, servant ainsi de second signal. Le premier signal, qui confère sa spécificité à la réaction, est la reconnaissance par TcR de l'antigène porté par le CMH de classe II de la CPA. Bien qu'ayant le même ligand que CD80, CD86 semble être la plus impliquée dans les réponses immunes [63, 465].

Une étude récente utilisant des éosinophiles des voies aériennes de souris sensibilisées par un défi allergène et des éosinophiles issus de la cavité péritonéale de souris IL-5 transgénique a permis de montrer que les éosinophiles sont des CPA à part entière *in vivo*. Ces deux types d'éosinophiles sont marqués et instillés par voie intratrachéale à des souris normales et à des souris sensibilisées à l'Ag. Tous ont la capacité de migrer vers le nœud lymphatique paratrachéal associé et sont localisés dans la zone paracorticale riche en cellules T. Comme cette migration est indépendante du CCR3, il est possible que les éosinophiles changent de profil d'expression des molécules d'adhésion pendant la transmigration. Les éosinophiles des voies aériennes de souris sensibilisées par un défi allergène expriment le CMH de classe II ainsi que les protéines costimulatoires CD80 et CD86, alors que les éosinophiles issus de la cavité péritonéale de souris IL-5 transgéniques n'expriment que CD80 et CD86. Les éosinophiles exposés à un Ag inhalé chez la souris donneuse et instillés dans les voies aériennes de souris receveuses sensibilisées, non seulement migrent vers les nœuds lymphatiques mais aussi présentent, en association avec CD80 et CD86, l'Ag inhalé aux cellules T CD4⁺ et induisent leur prolifération, de façon Ag spécifique [393]. Une étude similaire a permis de confirmer que les éosinophiles murins induisaient la prolifération de cellules T CD4⁺ et une réponse de type Th2 mais aussi qu'ils favoriseraient la sécrétion de cytokines de type Th2, amplifiant ainsi la cascade de signalisation de cette voie. Cependant, les éosinophiles peuvent synthétiser eux-mêmes l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13 tout comme les cellules Th2 réactives à un Ag [260].

Cette migration n'est pas spécifique aux voies aériennes puisque pendant une infestation par *Trichinella spiralis* la quantité d'éosinophiles diminue très fortement dans le jéjunum. En outre, cette disparition n'est pas liée à leur apoptose ou à leur phagocytose par des macrophages. Par ailleurs, 11 jours après l'infestation, les nœuds lymphatiques mésentériques contiennent 100 fois plus d'éosinophiles que les témoins [140].

Communication cellulaire

Les éosinophiles participent activement aux réponses immunes en tant que CPA en interagissant avec les cellules T. La découverte de la présence de molécule costimulatoire CD28 à leur surface conduit à la compréhension d'une des fonctions des éosinophiles.

En effet, comme expliqué précédemment, la communication des cellules T avec les CPA implique d'abord l'engagement du TcR avec un antigène d'histocompatibilité (complexe CMH/Ag) puis un second signal est nécessaire pour une activation complète des cellules T. Le complexe CD28/B7 (CD28 à la surface de la cellule T et molécule de la famille B7 exprimé par les CPA) est une des voies de costimulation dominante connue pour remplir ce rôle de second signal.

Le cas des éosinophiles semble être différent comme le montre l'étude de Woerly *et al.* [465]. Les éosinophiles expriment également CD28 et, après la liaison de CD28 les éosinophiles sécrètent l'IL-2 et l'IFN γ , biologiquement actifs, tandis qu'aucune sécrétion d'IL-4, d'IL-5, ou d'IL-10 n'est détectée. Par ailleurs, l'activation des éosinophiles avec des complexes immuns d'IgA induit d'une part la libération d'IL-5, d'IL-4 et d'IL-10 et, d'autre part, inhibe la libération de l'IL-2 et l'IFN γ induite par la liaison de CD28. Ainsi, contrairement aux cellules T exigeant deux signaux pour une stimulation efficace, la liaison de CD28 seule est suffisante pour une activation optimale des éosinophiles. Ces résultats montrent aussi que des voies différentielles mènent à la libération de cytokines du type 1 (IFN- γ et IL-2) ou de type 2 (IL-10) par les éosinophiles.

Les éosinophiles peuvent faire office de CPA via le CD86 et permettre la prolifération de cellules T (notamment Th2) ou bien ils peuvent répondre à une stimulation par l'engagement de CD28 et permettre la libération de cytokines Th1. Les éosinophiles fonctionnent donc comme une cellule immunorégulatrice impliquée dans l'orientation spécifique de la réponse immune de type 1 ou de type 2.

Par ailleurs, les éosinophiles sanguins et tissulaires de patients allergiques expriment CD40, comme les cellules B, et l'ARNm de CD40 est augmenté par la présence des IgA et diminué par la présence de l'IL-10. Il pourrait donc y avoir des interactions avec des cellules qui possèdent le ligand du CD40 (gp39) telles que les cellules T CD4+, les mastocytes, les basophiles [318] et par les éosinophiles eux-mêmes, mais uniquement s'ils sont activés ou issus de patients hyperéosinophiliques [145]. *In vitro* et en conjonction avec l'IL-4, les éosinophiles stimulent la production en anticorps des cellules B de façon dépendante de CD40. Cependant, bien que la gp39 soit impliquée dans le déclenchement de la production

d'IgE par les lymphocytes B, le rôle des éosinophiles dans ce mécanisme n'est pas prouvé [145].

Enfin, la coopération des éosinophiles avec les mastocytes qui reposerait sur la libération de médiateurs par ces derniers, est un sujet de plus en plus étudié. Récemment, Samoszuk *et al.* ont mis en évidence un mécanisme pouvant expliquer le lien entre certains désordres inflammatoires éosinophiliques et des états d'hypercoagulabilité. Ils proposent que les éosinophiles puissent jouer un rôle important en neutralisant l'activité anticoagulante du complexe héparine/tryptase des mastocytes par la libération de protéines granulaires comme l'EPO [373]. La tryptase des mastocytes est une sérine protéase avec une activité « trypsine-like » mais dont la connaissance est parcellaire. Elle clive certaines protéines et peptides tels que le fibrinogène ce qui pourrait expliquer son activité anticoagulante intrinsèque *in vivo* [165, 430]. Dans le cadre de la réaction inflammatoire allergique (fibrose associée aux phénomènes allergiques des voies aériennes), la tryptase des mastocytes pourrait être le lien entre les fibroblastes et les éosinophiles, apparemment en se combinant à PAR-2, et cette enzyme aurait donc un rôle dans l'infiltration des éosinophiles dans les voies aériennes et dans la prolifération des fibroblastes [165]. Le clivage de PAR-2 par la tryptase dans des cellules vasculaires endothéliales humaines induit la production de l'inositol 1,4,5-triphosphate et on a récemment montré que les éosinophiles sanguins de patients sains et moyennement asthmatiques expriment PAR-2.

Outre la libération d'ECP et d'EPO, la tryptase peut aussi induire la production et la libération de cytokines par les éosinophiles. Par exemple, elle induit de façon concentration dépendante la libération des cytokines aux propriétés proinflammatoires, IL-6 et IL-8, via PAR-2. En effet, quand les éosinophiles sont incubés avec la tryptase et en présence d'anti PAR-2, une diminution significative en IL-6 et IL-8 est observée. La tryptase cause la phosphorylation de ERK 1 et 2, JNK 1/2 et p38. Elle induit aussi la translocation de c-Jun du cytosol au noyau et favorise la liaison de l'AP-1 (activator protein-1) à l'ADN. La tryptase préformée des mastocytes induit donc la production et la libération de cytokines dans les éosinophiles par la voie MAPK/AP-1 [430].

Ainsi, réputés pour être impliqués dans des infestations parasitaires et des manifestations allergiques, les éosinophiles sont en fait associés à la plupart des désordres inflammatoires ou infectieux. On a d'abord pensé que leur fonction principale se limitait à la dégranulation et à la libération de protéines fortement cytotoxiques. Mais en plus d'être des médiateurs cytotoxiques, les éosinophiles ont la capacité de

communiquer avec de nombreuses cellules et de produire un grand nombre de messagers chimiques : facteurs de croissance, chémokines et cytokines, dont des cytokines pro- et anti-inflammatoires, et ainsi de participer à l'orientation des réponses immunes (type 1 vs type 2) ou à leur régulation.

L'apoptose

Mécanismes conduisant à l'apoptose des éosinophiles

Lorsqu'ils ont rempli leur fonction, les éosinophiles peuvent disparaître de façon contrôlée et programmée par un mécanisme nommé apoptose. L'apoptose est un facteur important pour l'homéostasie cellulaire et pour la résolution des phénomènes inflammatoires. Ce processus est distinct de la cytolyse, dans laquelle le contenu cellulaire est libéré. L'apoptose permet à la cellule de disparaître sans occasionner de dommages tissulaires importants. On observe cytologiquement un « blebbing » (formation d'invaginations membranaires), une condensation et une fragmentation de la chromatine sous forme de polynucléosomes puis d'oligonucléosomes. La cellule dans sa globalité se rétracte et se morcelle en corps apoptotiques qui sont reconnus et phagocytés par les monocytes/macrophages [47, 399].

En ce qui concerne l'apoptose des éosinophiles, trois questions principales se posent : Quels sont les gènes responsables du programme de mort cellulaire et de son contrôle ? Comment leurs signaux sont transmis et intégrés par les éosinophiles ? Quelles sont les principales voies d'orientation du devenir cellulaire vers l'apoptose ou la survie de l'éosinophile, en particulier lors des réactions inflammatoires allergiques *in vivo* ?

Comme beaucoup d'autres cellules, les éosinophiles déclenchent non seulement leur apoptose en l'absence des facteurs de survie, mais aussi en présence de signaux exogènes spécifiquement apoptogènes reconnus par des récepteurs de surface appelés « death receptor » qui font partie de la superfamille des TNFR (TNF Receptor). L'un de ces récepteurs exprimé par les éosinophiles est le CD95 (*fas*/APO-1) dont le ligand est CD95L (*fasL*/APO-1L). Les cellules T activées expriment fortement CD95L et libèrent les hématopoïétines, produisant donc des signaux de survie et de mort pour les éosinophiles [399].

L'occupation de *fas* membranaire par son ligand (Figure 17) conduit à une activation

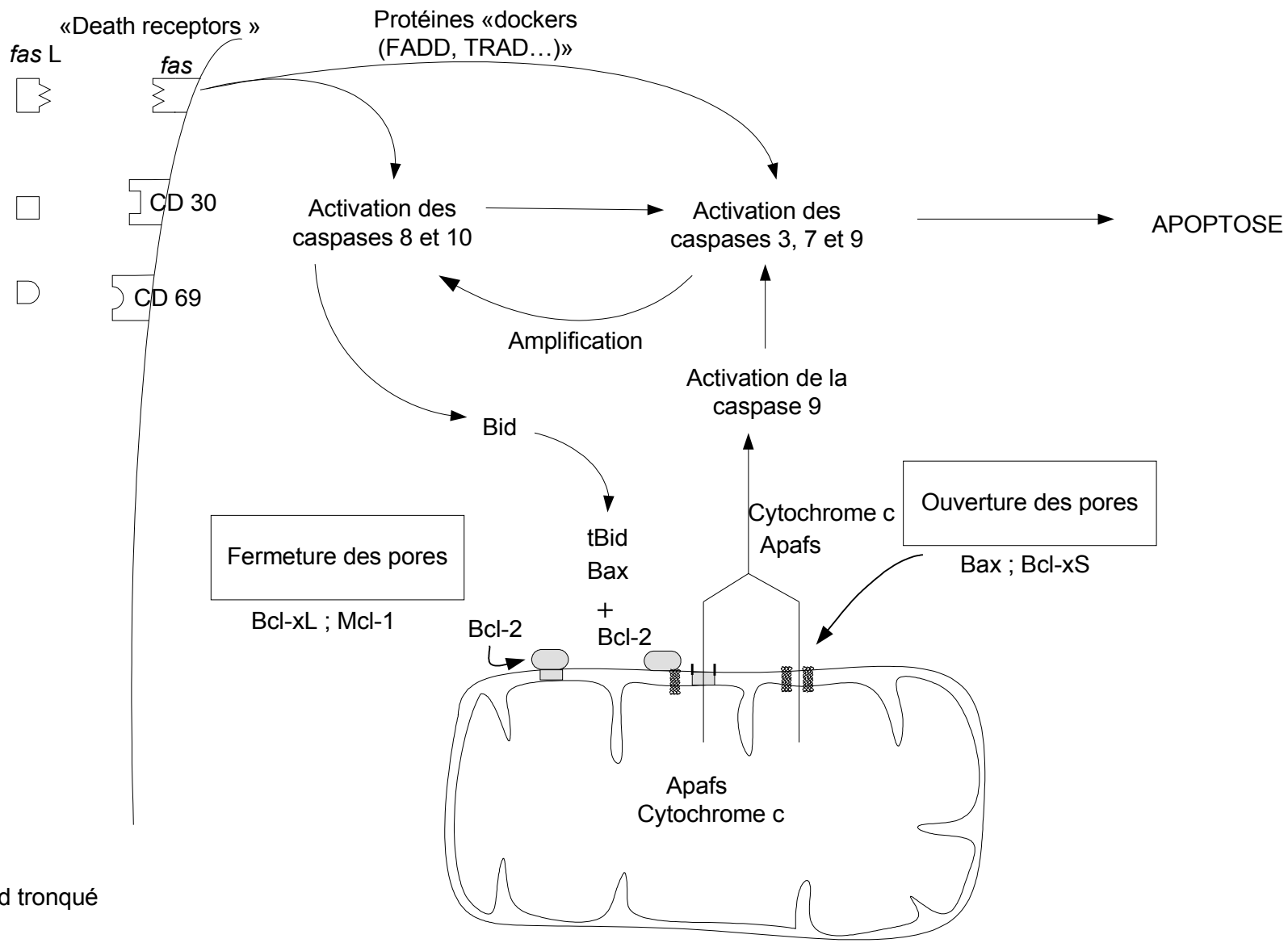
directe des caspases (caspases 8 et 10), ou indirecte grâce à l'intervention de protéines « dockers » (FADD (*fas*-associated death domain), TRADD (tumor necrosis factor receptor 1 associated death domain protein)) qui interagissent avec les caspases 3 et 9 [47]. Les caspases (pour Cysteinylyl Aspartate specific Proteinase) sont des protéases possédant des résidus cystéinyles dans le site catalytique indispensables à la reconnaissance des substrats protéiniques et qui catalysent l'hydrolyse des liaisons peptidiques impliquant un résidu Aspartate. Ces enzymes sont considérées comme étant les principaux effecteurs de l'apoptose car elles sont capables de dégrader un très grand nombre de protéines cellulaires constitutives et fonctionnelles et d'engendrer ainsi les modifications cytologiques caractéristiques de l'apoptose. En outre, *in vitro* en présence de l'IL-3, l'IL-5 et le GM-CSF ou *in vivo* sur des éosinophiles de souris parasitées par *Schistosoma mansoni*, l'occupation du récepteur pour l'IgG CD32 (FcγRII) par un Acm (Ac monoclonal) induit l'apoptose des éosinophiles de façon dépendante de l'interaction *fas-fasL* [89]. Les éosinophiles humains et murins expriment *in vitro* constitutivement *fas* et l'incubation de ces éosinophiles avec l'IL-3, l'IL-5 ou le GM-CSF favorise leur survie. L'addition d'Ac anti *fas* diminue la viabilité induite par ces hématopoïétines et l'ajout d'IL-5 ne surmonte pas le déclenchement de l'apoptose induite [273, 442]. Ainsi d'autres voies apoptogènes contrôlées par l'IL-5 et distinctes de *fas* existent (cf *infra*) [478].

Les éosinophiles humains expriment aussi le CD30, membre de la superfamille des TNFR, à un niveau faible et constant. La liaison de CD30 engendre une diminution de la survie induite préalablement par l'IL-5 de façon temps et dose dépendante en augmentant l'apoptose et, comme pour le CD95, l'addition de l'IL-5 n'inhibe pas le déclenchement de l'apoptose. Ce mécanisme implique entre autres p38 et les MAPKs 1 et 2 mais n'est pas encore complètement élucidé [274].

Enfin, le CD69, un autre « death receptor », n'est exprimé de façon temps et concentration dépendante sur les éosinophiles que lorsqu'ils sont activés par les cytokines IL-3, IL-5, IL-13 et GM-CSF [255, 454] et dans une culture d'éosinophile incubés avec le GM-CSF, la liaison spécifique de CD69 par un anticorps monoclonal induit l'apoptose des éosinophiles [454].

Les caspases régulent la phase d'exécution de l'apoptose. Des cascades de caspases distinctes sont initiées selon le stimulus [103] :

La liaison spécifique d'un « death receptor », comme CD95 (*fas/Apo-1*), conduit à la formation d'un complexe cytosolique constitué par les portions intracellulaires du récepteur, des protéines « dockers » spécifiques (FADD) et des caspases « initiatrices » 8 et 10. Les protéases adoptent une conformation différente favorable à leur auto-protéolyse et à leur



tBid : Bid tronqué

Figure 17 : Principaux mécanismes inducteurs de l'apoptose des éosinophiles.

activation. Elles assurent ensuite le clivage et l'activation d'autres caspases « effectrices » (7, 3 et 9) (cascade des caspases) (Figure 17).

Le prolongement de la survie et l'apoptose dépendent aussi de l'expression et de la régulation de gènes dit pro-apoptotiques (Bad, Bax, Bid, Bcl-xS) ou anti-apoptotiques (Bcl-xL, Mcl-1, Bcl-2). *In vitro*, on constate l'expression constitutive de Bax, de Bcl-xL et de Bcl-xS dans une moindre mesure, alors que Bcl-2 n'est pas du tout exprimé dans les éosinophiles non stimulés [103, 104]. Cependant, le rôle de IL-5 ou des autres hématopoïétines sur l'expression de ces gènes reste très controversée. Ainsi, en présence de l'IL-5 ou de GM-CSF, l'expression de Bax est inchangée, mais celle de Bcl-xL ou de Bcl-2 augmente [103, 104] ce qui contribue à la survie cellulaire. *In vivo*, l'expression de Bcl-2 dans les éosinophiles est amplifiée chez les patients asthmatiques mais pas chez les bronchitiques [449]. L'inactivation de Bcl-2 par sa dégradation par des protéases spécifiques ou par dimérisation avec Bax (ou Bad) oriente la cellule vers l'apoptose. En effet, Bax et Bcl-2 régulent de façon opposée le potentiel d'action transmembranaire et la perméabilité mitochondriale (Figure 17). Bcl-2 et les protéines analogues à Bcl-2 (anti-apoptogènes) ferment les pores mitochondriaux alors que celles de la sous famille de Bax (apoptogènes) s'opposent à l'action de Bcl-2 en formant des hétérodimères et forment également directement des pores mitochondriaux en se polymérisant. Un autre mécanisme d'inhibition de l'apoptose par Bcl-2 serait lié à la possibilité de son association avec Raf-1, par translocation de cette kinase du cytosol vers la membrane mitochondriale : Raf-1 catalyse la phosphorylation de la protéine pro-apoptotique Bad [332]. Contrairement à la protéine non phosphorylée, la forme phosphorylée de Bad ne se complexe pas avec Bcl-2 et se retrouve, de plus, séquestré dans le cytosol [480]. Il s'ensuit une libération de protéines, appelées Apafs (apoptotic protease activation factors) dont le cytochrome c, qui jouent les rôles d'activateurs allostériques de la caspase 9 par formation d'un complexe appelé « apoptosome » (cytochrome c, Apaf1, dATP et procaspase-9) [238]. L'activation de la caspase 9 conduit à l'activation de la caspase 3 et à la dégradation des protéines cellulaires [47].

L'apoptose spontanée des éosinophiles résulte d'une translocation mitochondriale de Bax [47].

Le ratio Bax/Bcl-2 régule par conséquent la phase d'exécution de l'apoptose : lorsque Bax est en grande quantité, la cellule s'engage dans l'apoptose et lorsque Bcl-2 est sur-exprimé, la cellule survit. Les mitochondries ont été identifiées dans les éosinophiles en petite quantité, et il semble que, contrairement à la majorité des cellules dans lesquelles elles ont un rôle fonctionnel dans la respiration, les mitochondries des éosinophiles ont plutôt un rôle

fonctionnel majeur dans l'apoptose [333]. On pense actuellement que les stimuli apoptotiques convergent vers les mitochondries, ayant pour résultat la libération du cytochrome c. En outre, dans les voies déclenchées par l'occupation de « death receptors », il existe une boucle d'amplification mettant en jeu les mitochondries : une cible de la caspase-8 est l'homologue pro-apoptotique de Bax, Bid, qui subit une translocation du cytosol vers la mitochondrie où il devient tBID (truncated BID, forme tronquée de BID) et, par un mécanisme impliquant une interaction avec Bax, potentialise la libération de cytochrome c et l'activation des caspases 9 puis 3. Dans l'apoptose initiée par la liaison d'un « death receptor », les perturbations de la membrane mitochondriale dépendent donc de l'activation de la caspase-8 [237].

Les signaux de survie

Plusieurs études ont montré une augmentation de la survie des éosinophiles *in vitro* en présence des hématopoïétines IL-3, IL-5 et GM-CSF [29, 58, 249, 363] à de très faibles concentrations (de l'ordre de la pmol). L'augmentation de la survie induite par l'IL-5, la seule cytokine spécifique de l'activation des éosinophiles, implique une synthèse protéinique *de novo* et prévient le déclenchement de l'apoptose [470]. Plusieurs messagers chimiques sont également indirectement responsables d'une inhibition de l'apoptose en induisant la sécrétion autocrine des hématopoïétines IL-3, IL-5 et GM-CSF. L'IFN γ , le CD40, le LPS, le TNF α et le CD9 provoquent une production accrue de GM-CSF et l'IL-13 de l'IL-3 [149]. En revanche, l'induction de l'apoptose par le TGF β est liée à l'absence de sécrétion de GM-CSF, d'IL-3 ou d'IL-5. L'action de ces hématopoïétines *in vitro* sur la prolongation de la survie des éosinophiles est donc bien connue, cependant, leur rôle *in vivo* dans le maintien de l'éosinophilie reste encore très discuté. Néanmoins, l'éosinophilie pourrait être liée à l'absence d'apoptose. Le nombre de cellules apoptotiques, de corps apoptotiques et de macrophages ayant phagocyté des corps apoptotiques en microscopie électronique est corrélé à l'infiltration éosinophilique dans les premiers jours qui suivent un défi allergène chez des souris sensibles. Mais, l'apoptose se prolonge pendant deux semaines, bien au-delà de la résolution de l'inflammation [217]. Chez l'homme, dans les polypes nasaux, un traitement anti IL-5 induit l'apoptose des éosinophiles qui est corrélée à une diminution de l'éosinophilie tissulaire. Les auteurs suggèrent donc que la présence d'IL-5 constatée dans ces tissus pourrait être à l'origine de l'apparition retardée de l'apoptose et ainsi de l'éosinophilie tissulaire [401].

L'IL-5 n'agirait pas directement sur le contrôle de l'expression des gènes anti/pro apoptotiques mais plutôt elle régulerait l'activation de la cascade des caspases. En effet, l'IL-5 bloque complètement l'apoptose spontanée ou chimiquement induite et ralentit

sensiblement l'apoptose induite par la liaison de *fas* en agissant en aval de la caspase 8 et en amont de la caspase 3. Cet effet de l'IL-5 correspond certainement à un point clé de la cascade comme par exemple la formation de l'apoptosome ou la formation préalable du complexe caspase 9/Apaf, à moins qu'elle ne régule la voie d'amplification par la caspase 8 mais ce ne sont actuellement que des hypothèses [478].

Une des implications de l'IL-5 dans la survie des éosinophiles résulterait de l'inhibition de la translocation mitochondriale de Bax, de telle sorte que la perméabilité membranaire des mitochondries demeure préservée, empêchant ainsi la libération du cytochrome c. La formation de l'apoptosome et l'activation initiale de la caspase 9 deviennent impossibles de même que l'activation secondaire de la caspase 3. Cette action de l'IL-5 sur la translocation de Bax et l'activation des caspases après la libération du cytochrome c est donc indépendante des caspases [102, 234]. La liaison de l'IL-5 à son récepteur augmente la quantité des tyrosines kinases Lyn et Syk qui interagissent avec la sous-unité βc du récepteur IL3/IL5/GM-CSF, induisant ainsi la phosphorylation de substrats cellulaires [476]. Dans les cellules n'exprimant pas les kinases Lyn, Janus kinase 2 (JAK2), et Raf-1, l'IL-5 est incapable d'inhiber l'apoptose. L'effet anti-apoptotique de l'IL-5 pourrait donc aussi être lié à la kinase Raf-1. En effet, Bcl-2 s'associe à Raf-1 provoquant sa translocation du cytosol à la membrane mitochondriale ; Raf-1 peut alors induire la phosphorylation de Bad, empêchant ainsi son effet pro-apoptotique lié à la dimérisation de « Bad non phosphorylé » avec Bcl-2 [332, 480]. L'IL-5 induit aussi l'activation de SHPTP-2, physiquement couplée à la sous-unité βc du récepteur de IL-5, qui forme alors un complexe avec la protéine adaptatrice Grb2. Finalement, SHPTP-2 semble agir en amont de la voie des Ras-Raf-MAPK qui est activée en réponse à l'IL-5 et semble nécessaire à la prolongation de la survie des éosinophiles [331] (Figure 18).

De même, la liaison de CD30 qui induit rapidement et intensément l'apoptose met en jeu l'activation de p38, des MAPKs 1/2 et d'une tyrosine kinase spécifique, mais pas celle de NF κ B [274]. La résistance des éosinophiles à l'apoptose peut aussi être induite via la production autocrine puis la libération de GM-CSF. De multiples stimuli mènent à cette production par des cascades diverses et, dans le cas de l'induction par le TNF α et la fibronectine, c'est la stabilisation de l'ARNm de GM-CSF qui est impliquée. L'activation de ERK mais pas celle de p38 est suffisante pour la stabilisation de l'ARNm de GM-CSF, alors que c'est l'activation de JNK (Janus Kinase) qui est nécessaire à la stabilisation de l'ARNm de l'IL-3 [133]. Ainsi, l'activation des kinases résulte en l'activation des voies de signalisation JAK/STAT et Ras-Raf-MAPK ce qui permet la transduction du signal anti-

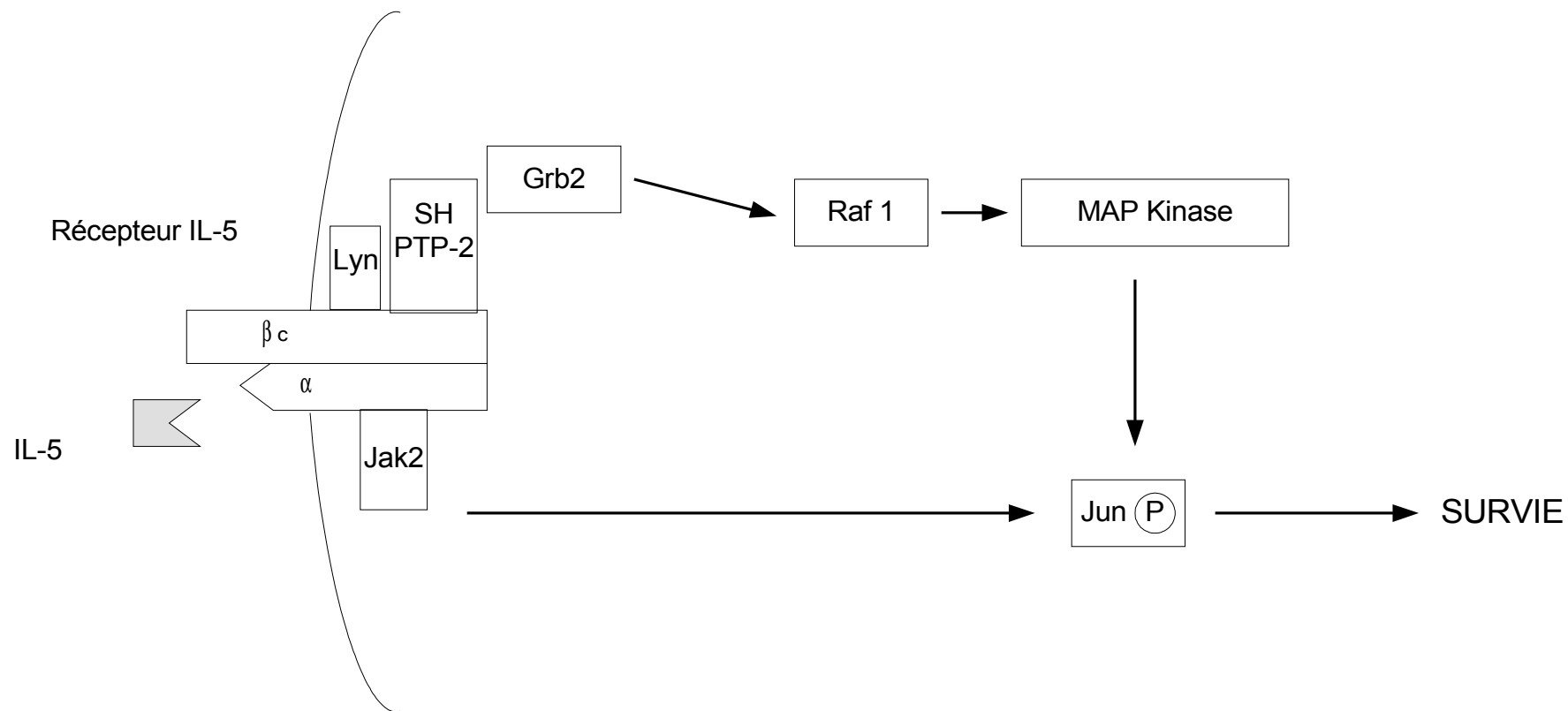


Figure 18 : Mécanismes de transduction de l'IL-5 dans les éosinophiles conduisant à une survie cellulaire.

apoptotique de IL-5 et la stabilisation des ARNm des hématopoïétines ainsi que la neutralisation du proapoptogène Bad.

Un dernier signal inhibiteur de l'apoptose des éosinophiles induite par *fas* est l'oxyde nitreux (NO). Cet effet protecteur de NO semble être important en pathophysiologie puisque des concentrations accrues de NO sont présentes dans les sites inflammatoires allergiques [399].

Il reste encore beaucoup à apprendre sur la régulation des mécanismes de l'apoptose *in vivo* afin d'expliquer par exemple pourquoi un éosinophile recevant simultanément des signaux inducteurs de survie et d'apoptose « choisit » une voie plutôt que l'autre.

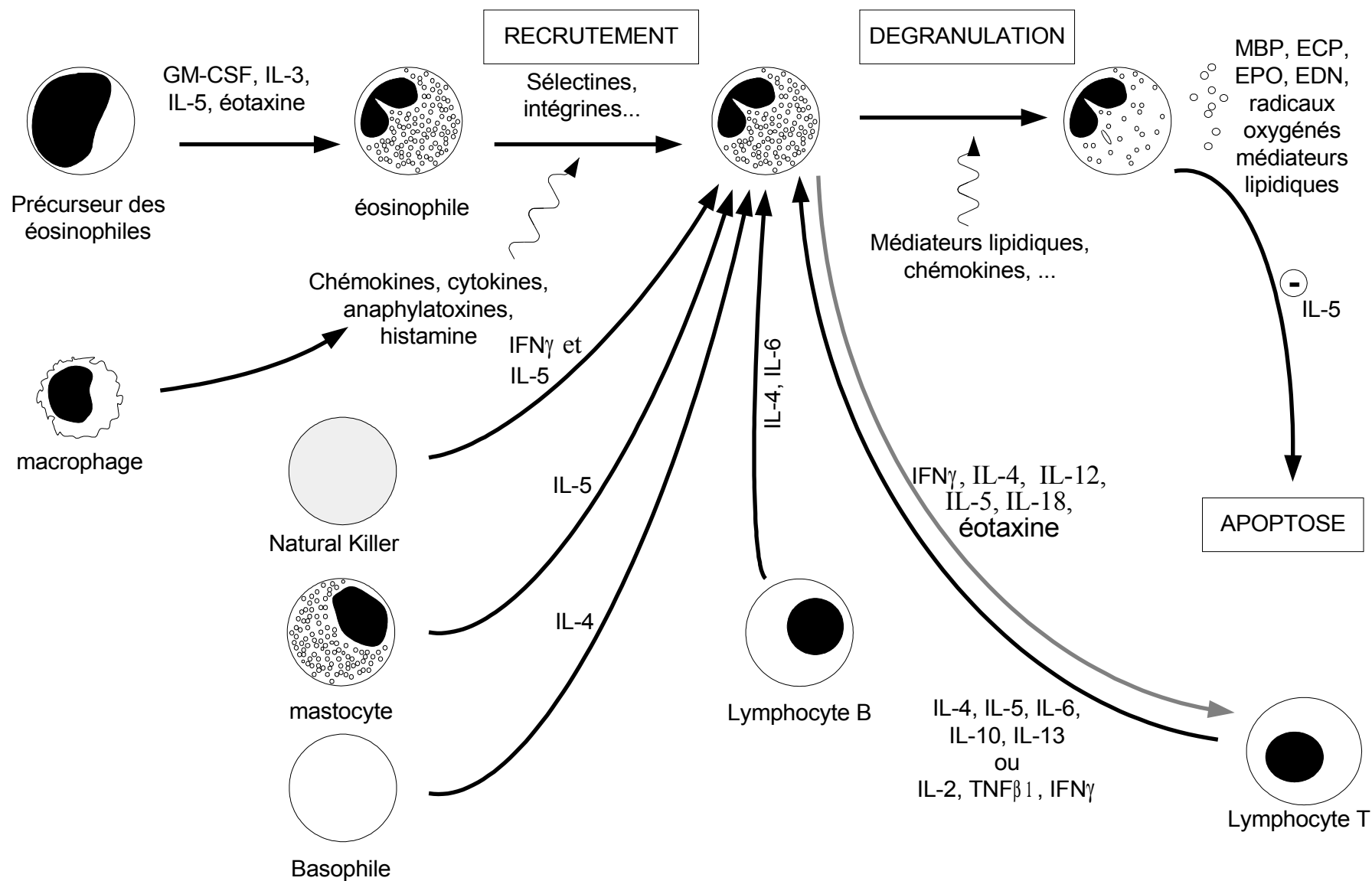


Figure 19 : Place des éosinophiles dans les réponses inflammatoire et immune.

La différenciation, la multiplication et la mobilisation des précurseurs des éosinophiles, principalement sous le contrôle des hématopoïétines (IL-3, IL-5 et GM-CSF) et de l'éotaxine, aboutit à la présence d'éosinophiles matures dans le sang et les tissus (Figure 19). Actuellement, on considère que les éosinophiles tiennent une place importante dans la réponse inflammatoire (Figure 19). Leur recrutement met en jeu surtout des sélectines (L-sélectine) et des intégrines ($\beta 1$ et $\beta 2$ intégrines pour les plus importantes), et est régulé par des molécules variées : chémokines (RANTES, MCP-3, MCP-4, éotaxines), cytokines (TNF α , IFN γ , IL-4, IL-13, IL-1), histamine, anaphylatoxines (C3a, C5a), PAF...). Nombre de ces médiateurs proviennent d'autres cellules de l'immunité : les NK produisent de l'IL-5 et de l'IFN γ , les mastocytes de l'IL-5, les basophiles de l'IL-4, les lymphocytes B les IL-4 et IL-6 et les lymphocytes T les IL-4, 5, 6, 10, 13 ou l'IL-2, l'IFN γ et le TNF $\beta 1$). L'activation consécutive des éosinophiles se caractérise par la production de messagers impliqués directement dans les mécanismes de coopération cellulaire : l'IFN γ , l'IL-4, l'IL-12, l'IL-5, l'IL-18 et l'éotaxine agissent sur les LT et régulent leur production en cytokines et les IL-4 et IL-6 (+ IL-3) stimulent la multiplication et l'activation des LB (lymphocytes B). Une première conséquence de la production coordonnée des cytokines par les différents types cellulaires est d'amplifier considérablement les mécanismes de communication cellulaire ainsi que de favoriser l'afflux des leucocytes sur le site inflammatoire. La deuxième conséquence est d'initier une réponse immune de type 1 ou de type 2 selon les cytokines prépondérantes, spécifique de la stimulation antigénique puisque les éosinophiles sont des cellules présentatrices de l'Ag à part entière. D'autre part, les éosinophiles sont des cellules effectrices de l'inflammation capables de libérer (par exocytose, « dégranulation par bouts » ou cytolyse) des protéines cytotoxiques (MBP, ECP, EPO et EDN) et des radicaux oxygénés impliqués dans la bactéricidie, ainsi que des médiateurs lipidiques de l'inflammation, sous l'influence de stimuli variés (médiateurs lipidiques, chémokines...). Enfin, la régulation de la survie des éosinophiles tient une place prépondérante. Leur participation aux processus inflammatoires variés nécessite, pour être optimale, une maîtrise de l'apoptose assurant ainsi une disparition sans dégâts pour l'organisme de cette cellule, une fois sa mission dans la réaction inflammatoire accomplie. Il semble que la régulation de la survie des éosinophiles est en fait une régulation de l'apoptose, principalement sous contrôle des hématopoïétines (particulièrement de l'IL-5).

DEUXIEME PARTIE :

Place des éosinophiles dans les réponses antiparasitaires de
l'organisme

L'étude des réactions inflammatoires engendrées par les infestations parasitaires est un vaste sujet, en particulier en raison de la diversité des cycles biologiques des parasites. Les éosinophiles participent aux défenses mises en place par l'hôte en coopérant avec les autres cellules de l'immunité (lymphocytes) et leur recrutement, souvent déclenché par la migration tissulaire des larves, est lié à la présence d'interleukines (IL-4, IL-5) et d'autres facteurs chémoattractants (éotaxine, MCP...). Ces granulocytes participent à l'isolement des parasites (réaction granulomateuse) et, surtout, ils ont un rôle dans leur élimination (dégranulation sélective de produits toxiques).

Les réactions inflammatoires d'origine parasitaire

Les infestations parasitaires induisent une réponse inflammatoire et immune impliquant les éosinophiles. Cette réaction, parfois de type granulomateuse, est spécifique du stade de développement du parasite (le plus souvent un ou quelques stades larvaires, plus rarement l'adulte) et la coopération cellulaire mise en place avec les lymphocytes B et Th oriente vers une réponse immune de type 2.

Les parasites

Diversité des espèces de parasites

Le seul plathelminthe ayant fait l'objet de plusieurs études en rapport avec les éosinophiles est *Schistosoma mansoni*, un trématode appelé aussi bilharzie et qui a pour HD (hôte définitif) l'homme. Il est à l'origine de la schistosomiase (ou bilharziose), maladie chronique se caractérisant par la présence de schistosomes adultes pendant de nombreuses années dans les veines (mésentériques ou vésicales) de l'hôte où ils pondent des œufs qui causent des lésions des organes où ils sont déposés. Les pathologies engendrées sont graves : problèmes urinaires chroniques, cancer de la vessie ou cirrhose du foie. Plus de 200 millions de personnes en sont atteintes dans le monde, principalement en Afrique, et près de trois fois autant sont exposées au risque [365].

En revanche, les nématodes parasites que nous citerons sont très nombreux (voir Annexe). Ils appartiennent à plusieurs familles, ce qui explique les différences entre les parasites étudiés. En particulier, leur localisation chez leur HD et leurs différentes stratégies de défenses expliquent qu'il est difficile de généraliser une conclusion pour un couple parasite/hôte à d'autres couples. Certains modèles d'étude, notamment les rongeurs, sont préférentiellement utilisés en raison en grande partie de leur disponibilité. La difficulté est de trouver un parasite assez semblable à celui de l'homme ou de l'espèce animale étudiée, ce qui n'est pas toujours possible, et de modéliser les biais induits par la différence d'espèce. Chaque espèce hôte est plus ou moins sensible et réceptive à une infestation donnée et parfois nous ne connaissons pas tous les paramètres qui varient. Le recoupement des données obtenues avec différentes souches de souris modifiées génétiquement a permis d'identifier des modèles, mais à maintes reprises, il a été souligné que les souris constituent un modèle peu pertinent pour l'homme des mécanismes d'activation et de régulation des éosinophiles.

Particularités des cycles et conséquences

Au-delà des caractéristiques propres des parasites et des hôtes, les conséquences cliniques des parasitoses sont souvent en rapport avec l'évolution du parasite. Les réponses de l'hôte sont en partie conditionnées par les modalités d'infestation, en particulier à cause du traumatisme induit par les migrations tissulaires du parasite, et par la localisation finale de l'adulte. Nous avons donc regroupé ici les points communs des voies d'entrée et du type de migration des parasites que nous citerons ultérieurement.

La voie d'entrée

La voie d'entrée du parasite est bien sûr directement en rapport avec son cycle propre. Cependant, indépendamment de la génétique des parasites, deux grands types de mode d'infestation émergent : par ingestion et par pénétration transcutanée (Tableau 7).

La contamination par voie orale a lieu lors d'ingestion d'une larve infestante qui peut être à des stades différents et sous différentes formes. Ainsi, pour les larves embryonnées, il s'agit d'une larve infestante L1 pour *Trichuris spp.* et d'une larve L2 dans les ascaridoses. Les larves peuvent aussi être ingérées avec leur HI (hôte intermédiaire) comme la larve L3 infestante lors d'angiostrongylose, avec un hôte paraténique comme la L2 embryonnée de *Toxocara* ou avec leur kyste comme la larve L1 musculaire infestante de *Trichinella spiralis*. Elles peuvent enfin être libres dans le milieu extérieur comme la larve infestante L3 des espèces de Trichostrongylidés et celle de *Strongylus* [15, 278].

L'autre mode de pénétration dans l'HD qui est assez répandu chez les parasites est la pénétration transcutanée des larves infestantes. Cela peut avoir lieu après un passage par un HI comme c'est le cas de la furcocercaire de *Schistosoma mansoni* ou sans HI comme pour les ankylostomes, les filaires et les espèces du genre *Strongyloides*. En marge de cette voie classique, certains nématodes parasites des familles des Ancylostomatidés et des Strongyloïdés, lorsqu'ils se trouvent chez un hôte immunisé, migrent différemment et peuvent parfois se localiser dans la mamelle. Cela mène à une infestation par voie colostrale qui pallie la voie transcutanée devenue impossible [15, 278].

La migration

Que la voie d'entrée soit transcutanée ou orale, la circulation générale sanguine et lymphatique de l'hôte permet un déplacement passif des parasites, en particulier des larves. Nombre d'entre elles gagnent ainsi, en passant éventuellement par le foie, le système cardio-pulmonaire. A partir de cette localisation, les larves migrantes peuvent rejoindre les organes qui les hébergeront à l'état adulte en utilisant la circulation, comme par exemple les larves d'*Angiostrongylus cantonensis* qui vont vers le SNC (système nerveux central) [278]. L'utilisation du système circulatoire génère très peu de réaction inflammatoire chez l'hôte et a donc un faible impact sur le parasite et la charge parasitaire (Tableau 7).

Cependant, de nombreux parasites adultes ont une localisation qui nécessite une phase migratoire tissulaire, qui est alors active. Par exemple, pour un établissement gastro-intestinal, l'une des modalités la plus fréquente dans les cycles parasitaires est le passage alvéolo-capillaire à partir de la circulation générale. Les larves peuvent alors, après avoir remonté la trachée, être dégluties et gagner le tractus digestif. Cette migration peut être réorientée en fonction de la réactivité de l'hôte comme dans le cas des ankylostomiasés : si leur hôte est immunisé, les larves restent dans le parenchyme pulmonaire puis regagnent la circulation générale, d'où une possible contamination par voie colostrale de jeunes hôtes non immunisés lorsqu'il s'agit d'une femelle allaitante qui est infestée [252].

Les étapes tissulaires de migration active sont traumatisantes et génèrent donc des réactions inflammatoires importantes chez l'hôte qui peuvent être délétères pour le parasite et influencer la charge parasitaire. Par exemple, la réaction inflammatoire éosinophilique sous-cutanée lors de la pénétration des larves de *Nippostrongylus brasiliensis* diminue leur nombre et la structure des survivantes est certainement modifiée puisque la fécondité des adultes est corrélée à l'éosinophilie [98]. De même, le tissu pulmonaire est très réactif et il est fréquent de trouver des granulomes éosinophiliques ou des infiltrations pulmonaires éosinophiliques chez les hôtes parasités. *Strongyloides stercoralis* est une espèce de Rhabditidés gastro-intestinaux à l'état adulte et présentant une migration pulmonaire. Lors d'infestation par ce parasite, l'infiltration pulmonaire est principalement éosinophilique et est corrélée à la présence du parasite [308].

Enfin, certains parasites ont des trajets migratoires courts et les tissus lésés sont donc moins variés. Cependant, il y a tout de même une réaction locale de l'hôte, comme par exemple l'éosinophilie intestinale majeure induite par *Nippostrongylus brasiliensis* [98].

Les cycles parasitaires associent le plus souvent des phases migratoires passives et actives, ces dernières étant

*principalement responsables de la mise en place des
défenses de*

Tableau 7 : Tableau récapitulatif des voies d'entrée, migration et localisation finale des parasites (d'après 278).

LMO : *larva migrans* oculaire ; LMV : *larva migrans* viscérale ; HI : hôte intermédiaire ; HD : hôte définitif.

Parasite et HD	Voie d'entrée et stade infestant	Migration larvaire	Localisation des parasites et particularités du cycle
<i>Trichuris vulpis</i> (chien) ; <i>T. trichiura</i> (homme)	Voie orale larve 1 embryonnée	Reste dans le tractus digestif	Adultes intestinaux
<i>Ascaris lumbricoides</i> (homme)	Voie orale larve 2 embryonnée	Foie, cœur, poumon, trachée	Adultes intestinaux
<i>Angiostrongylus costaricensis</i> (rongeurs) ; <i>A. cantonensis</i> (rat)	Voie orale larve 3 dans HI	Circulation générale, cœur, poumon Cerveau	Adultes : artères pulmonaires Larves : cerveau (homme)
<i>Toxocara canis</i> (chien)	Voie orale larve 2 embryonnée	Foie, cœur, poumon, trachée	Adultes : intestin grêle Larves : pulmonaires chez l'hôte immun, possibles transmission transplacentaire et colostrale. LMO, LMV (rétine, SNC...) : arrêt du développement
<i>Trichinella spiralis</i> (homme, carnivores)	Voie orale larve 1 musculaire dans un kyste	Essentiellement lymphatique Foie, cœur, poumon, circulation artérielle qui dissémine les larves	Adultes : intestin grêle Larves : Kystes musculaires
<i>Ostertagia ostertagi</i> (ruminants) ; <i>O. circumcincta</i> (ovin)	Voie orale, larve 3 libre	Reste dans le tractus digestif	Adultes intestinaux Possible hypobiose de L4 (<i>Ostertagia</i>)
<i>Strongylus vulgaris</i> (cheval)	Voie orale, larve 3 libre	Artères mésentériques	Adultes intestinaux Hypobiose (L5)
<i>Schistosoma mansoni</i> (homme)	Cutanée, furcocercaire (après HI)	Circulation puis paroi intestinale et milieu extérieur	Adultes : veines mésentériques Oeufs dans des granulomes (foie, autres organes pour les œufs perdus)
<i>Ancylostoma caninum</i> (chien) ; <i>Necator americanus</i> (homme)	Cutanée, L3 (pas d'HI)	Foie, cœur, poumon, trachée	Adultes intestinaux Transmission transplacentaire possible (chien) Migration cutanée longue et pathogène (homme)
<i>Onchocerca volvulus</i> , <i>Wuchereria bancrofti</i> et <i>Brugia malayi</i> (homme)	Cutanée, sans HI (vecteur)	<i>Wuchereria</i> et <i>Brugia</i> : vaisseaux lymphatiques Microfilaire sous-cutanée, peau, cornée	Adultes : nodule Adultes d' <i>O. volvulus</i> : derme
<i>Strongyloides stercoralis</i> (homme, chien, chat)	Cutanée, sans HI	Larves pulmonaires ou intestinales	Adultes intestinaux

l'hôte, mais il peut aussi y avoir un enkystement ou un égarement des œufs et des larves, autres causes d'éosinophilie.

Enkystement des larves et migration erratique

Au cours de la migration larvaire, certaines larves ont une phase d'enkystement, comme la larve musculaire de *Trichinella spiralis* et la larve infestante de *Onchocerca volvulus*, ou d'hypobiose, comme la larve L5 de *Strongylus spp.* qui reste dans l'exuvie de L4 dans la paroi intestinale (Tableau 7). Par ailleurs, cette phase est parfois une alternative au cycle classique lorsque l'hôte parasité met en place un système de défense efficace. Chez les Ascarididés [101] ou les Ankylostomatidés [252], les larves pulmonaires peuvent regagner la circulation générale et, éventuellement après une phase d'hypobiose dans l'utérus ou la mamelle, être transmise par voie colostrale ou transplacentaire. Ce type de migration permet d'éviter de rester dans les poumons, organe particulièrement réactif, ainsi que de parasiter des jeunes hôtes non immunisés.

Les cycles parasitaires sont aussi sources d'aléas même lorsque l'HD est adéquat. Par exemple, les œufs pondus par *Schistosoma mansoni* sont pourvus d'un éperon qui leur permet de traverser la paroi des vaisseaux à la recherche d'un chemin vers le milieu extérieur. De nombreux œufs se perdent durant cette phase et sont à l'origine d'un kyste inflammatoire et d'un phénomène d'hypersensibilité [278]. De même, les larves de *Toxocara*, migrant essentiellement par la circulation, peuvent avoir une localisation erratique telle que la rétine ou le SNC et générer des granulomes inflammatoires [101].

Enfin, les œufs embryonnés présents dans le milieu extérieur ou les larves infestantes chez les HI peuvent ne pas être consommés par l'HD spécifique et les larves qui pénètrent par voie transcutanée peuvent se tromper d'hôte. Si l'homme est le nouvel hôte, il s'agit alors d'une zoonose. Le cycle du parasite peut s'accomplir normalement comme c'est le cas pour les larves d'*Angiostrongylus cantonensis* responsables de méningite éosinophilique chez l'homme aussi bien que chez le rat, son HD [278]. Les larves peuvent aussi être confrontées à un système immunitaire relativement efficace, en particulier dans le tissu sous-cutané, n'entraînant, comme les *larva migrans* ankylostomiennes, que des pathologies mineures [252]. Enfin, chez certains Ascarididés les larves peuvent infester plusieurs espèces, dont l'homme, alors que les adultes ont des HD spécifiques. Après ingestion de larve L2, la migration par voie sanguine ou lymphatique permet aux larves de gagner des organes comme le foie ou l'œil au sein desquels les réactions immunitaires sont peu développées. Ces larves, appelées, *larva*

migrans viscérale (LMV) ou oculaire (LMO), s'enkystent et sont très pathogènes chez l'homme en raison de la réaction inflammatoire induite [101].

D'autre part, la migration normale du parasite peut induire chez son hôte normal la formation d'un granulome inflammatoire qui isole la larve, en particulier lors de réinfestation.

La réaction organisée de l'hôte

La complexité des cycles offre de nombreuses occasions de contact entre le parasite et l'hôte. Chacun met en place des stratégies, l'hôte est souvent confronté non seulement à plusieurs localisations (entrée, migration, localisation finale) mais aussi à une grande diversité antigénique. La réponse immune est variable selon la qualité de l'hôte, c'est-à-dire selon sa réceptivité, sa sensibilité et son statut immun, et selon le type de parasites. Dans tous les cas, elle vise à se débarrasser du parasite soit en l'expulsant, soit en le détruisant, soit en l'isolant.

Lymphocytes B et anticorps

Synthèse des Ig

L'existence d'un répertoire de LB chez un individu permet la reconnaissance d'un grand nombre d'antigènes (Ag). Cette grande diversité des sites anticorps (Ac) sur les LB est principalement liée à la diversité de structure puis d'assemblage des chaînes lourdes et légères des Ig.

Les LB matures portent des Ig de surface qui sont des IgM ou des IgD et, après la stimulation antigénique, ils se transforment en plasmocytes sécrétants. La commutation des chaînes lourdes, appelée « switch » des Ig, permet ensuite d'obtenir des Ig de classes différentes mais possédant le même déterminant antigénique.

Le complément est un co-effecteur important de la réponse immunitaire à médiation humorale, en particulier parce que les complexes immuns Ag-Ac sont des activateurs de la voie classique du complément. En outre, les larves de parasites, par exemple celles des ankylostomes, constituent souvent directement des surfaces activatrices de la voie alterne du complément [100].

Les Ag qui se fixent sur les Ig de surface sont dits T dépendants ou T indépendants selon l'implication ultérieure des LT. Les Ag T indépendants, dont font partie les analogues de LPS, sont assez rares et induisent seuls la différenciation et la multiplication des LB mais

ne permettent que le « switch » vers des IgG3. Par contre, la fixation d'un Ag T dépendant induit l'apparition de récepteurs à cytokines à la surface des LB qui peuvent alors recevoir des informations des LT auxiliaires. Cette communication avec les LT est nécessaire à la différenciation et à la multiplication des LB ainsi qu'à la diversité de « switch » des Ig. Les Th2 interviennent dans le « switch » de IgM vers IgA et IgG1 et sont exclusivement responsables du « switch » vers les IgE, alors que les Th1 sont responsables du « switch » vers les IgG2.

Diversité antigénique

Les Ac spécifiques sont produits en réponse à une stimulation par un Ag donné. Dans le cas des parasitoses, l'un des principaux problèmes auquel l'hôte est confronté est la variabilité antigénique du parasite.

La localisation du parasite varie au cours de son cycle : la voie d'entrée, les tissus traversés par la migration larvaire, la localisation de l'adulte et les lieux d'enkystement sont autant de sites que l'hôte doit défendre. Les localisations tissulaires sont propices au développement d'une réaction immune alors que le système circulatoire est un site favorable à l'établissement des vers. Par exemple dans le cas de l'ankylostomiase, l'entrée des larves dans la circulation est une phase de transit courte pour laquelle la réponse immunitaire est minime. Au contraire, la migration pulmonaire et la présence des larves dans l'escalator mucociliaire sont très immunogènes [252].

En outre, chaque stade du parasite (œuf, larves, adulte) possède des Ag propres qui peuvent être des produits d'Excrétion-Sécrétion ou des Ag somatiques. Par exemple, les larves infestantes d'ankylostomes libèrent lorsqu'elles sont détruites des molécules immuno-réactives, et les survivantes peuvent sortir de leur gaine laissant derrière elles une enveloppe antigénique qui fait diversion. Ainsi, le système immunitaire est inefficace puisqu'il ne cible pas la larve vivante [252]. Il y a parfois une communauté antigénique entre les différents stades parasitaires ce qui explique pourquoi lorsque la durée des différents stades est assez bien connue, il est parfois difficile d'identifier dans un site défini la forme responsable de la stimulation antigénique du fait de la persistance de la réponse immune après la stimulation antigénique.

Enfin, un même stade peut présenter à l'hôte des Ag différents. Par exemple, les larves migrantes de *Toxocara canis* (LMO ou LMV) échappent au système immunitaire de leur hôte pendant des années. Ces larves sont couvertes sur leur surface cuticulaire de mucines

sécrétoires qui sont renouvelées régulièrement. Ces mucines ont en commun notamment des domaines avec six cystéines conservées (SXC : 36-amino acid six-cysteine) ; il y a donc une économie d'information génétique pour le parasite et un évitement du système immunitaire de son hôte [101, 251].

Finalement, la variabilité dans l'espace (déplacement) et la variabilité de l'identité antigénique (d'un même stade ou non) engendre une réponse en Ac inefficace puisqu'elle ne correspond pas aux Ag parasitaires et conduit à l'épuisement de la synthèse des Ig.

Ig et helminthiases

Toutes les classes d'Ig peuvent participer à la réaction immunitaire lors d'helminthiase à des degrés variés mais l'IgE et les sous-classes d'IgG sont les Ig les plus souvent présentes. Néanmoins leur rôle protecteur est un sujet de débat et leur rapport avec les éosinophiles reste peu connu.

Les IgE sont très souvent présentes lors des réponses aux infestations par les helminthes, sous forme libre mais aussi parfois sous forme complexée IgE/anti-IgE (cas des pathologies induites par les LMO et LMV de *Toxocara canis* chez l'homme [101]). L'élimination des IgE avec des Ac anti IgE n'a pas d'effet ou est bénéfique pour le parasite dans le cas des infestations par *Nippostrongylus brasiliensis*, *Trichuris muris*, *Schistosoma mansoni* ou *Strongyloides ratti* [2, 37]. De plus, l'augmentation en IgE spécifiques semble associée à la protection contre les infestations avec les filaires [2], les ascaris [262, 441], les trichures [135] et les ankylostomes [252] et l'efficacité de cette protection est parfois en rapport avec l'âge de l'hôte [135, 257, 262]. Par ailleurs, la corrélation entre les concentrations en IgE et la protection de l'hôte lors de certaines parasitoses telle que la schistosomiase semble dépendre de la qualité spécifique de l'hôte et du fait que l'infestation soit primaire ou non [14, 30 et 31 in 135, 207, 315, 392]. La présence d'éosinophiles en même temps qu'une élévation de la concentration en IgE laisse supposer qu'il existe un rapport entre ces deux mécanismes de défense. Cependant, les connaissances actuelles ne permettent que de constater qu'il s'agit d'un état global de l'immunité de l'hôte qui est de type Th2 : les LTh2 et les IL qui lui sont associées d'une part orientent la fabrication d'IgE par les LB et d'autre part favorisent la présence et l'activation des éosinophiles, deux modes d'actions qui semblent plutôt indépendants.

L'autre type d'Ig dont la quantité présente semble corrélée aux helminthiases (*Onchocerca volvulus* [2], *Trichuris muris* [37], *Trichuris trichiura* [135], *Strongyloides*

stercoralis [239], ankylostomes [252], ascaris [101], filaires [316], schistosomes [278]) est celui des IgG, en particulier ses isotypes IgG1 et IgG4 mais, bien que leur quantité augmente lors de certaines parasitoses, elles ne sont que peu protectrices. Comme pour les IgE, la présence des IgG1 est associée à une réponse de type Th2 mais aucun rapport avec les éosinophiles n'a pour l'instant été mis en évidence.

Comme nous l'avons rappelé précédemment, les LTh2 (lymphocytes T helper 2) interviennent dans le « switch » de IgM vers les IgA et IgG1. Il est donc peu surprenant que les IgM et les IgA soient détectables lors d'helminthiases et que l'augmentation des concentrations en IgM soit la plus précoce.

Globalement, le cas des trichuroses illustre bien les connaissances sur la protection apportée par les Ac : lors d'infestation avec des trichures chez l'homme, les Ac spécifiques produits de façon prédominante sont des IgG1, IgG4, IgA et IgE, mais seules les concentrations en IgE sont corrélées à la charge parasitaire [135]. Cependant, chez les souris, le transfert d'IgG1 issue de souris immunisées à des souris déficientes en LB restaure la protection. Ainsi, il se pourrait que les Ig soient capables de limiter l'établissement du ver et elles auraient donc plutôt un rôle dans la limitation des réinfestations plutôt que lors des infestations primaires [37]. De façon similaire, seule la L1 mature de *Trichinella spiralis* installée dans les muscles induit un « switch » de IgM vers IgG1, sous le contrôle de l'IL-4. Cette IgG1 est spécifique d'un Ag des produits d'Excrétion-Sécrétion de la L1 mature et c'est cette conversion qui limite l'entrée de nouvelles larves infestantes [31].

Le rôle précis des LB et des Ac dans les helminthiases est donc très variable, ce qui rend difficile l'exploration du mécanisme. Nous avons vu que les LTh2 peuvent induire, via la production de cytokines, la différenciation des LB afin qu'ils produisent des Ac spécifiques. L'induction de l'activation et de la différenciation de ces LT est permise par l'action des CPA (Figure 20). Il semblait donc jusqu'à présent que le schéma général impliquant les Ac était du type : activation des LT par les CPA (l'éosinophile par exemple) et activation des LB par un Ag, puis orientation et augmentation de la réponse des LB par l'action des LT déjà différenciés. Dans ce type de modèle, les LB ne servent que comme « usine de fabrication » des Ac.

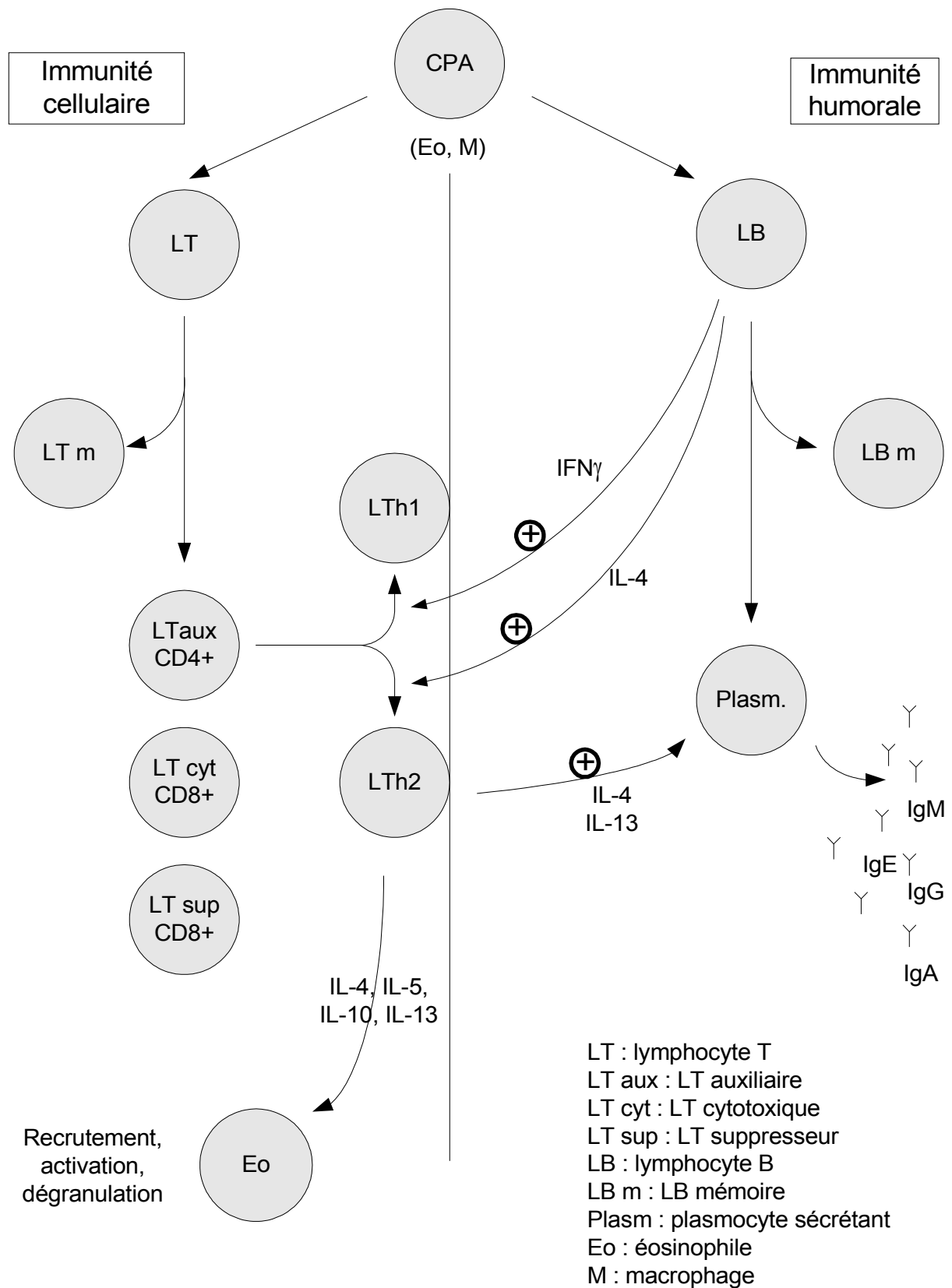


Figure 20 : Immunité humorale et cellulaire dans le cas des infestations parasitaires.

Récemment, ce modèle a été remis en question dans l'infestation de souris avec *Brugia malayi*. Chez des souris athymiques, le transfert de LB issus de souris précédemment infestées permet de restaurer la protection mais le transfert de sérum immun ne semble pas avoir la même efficacité. Par ailleurs, chez des souris déficientes en LB, le défaut de protection de l'hôte est associé à un défaut de recrutement des LT et des éosinophiles ainsi qu'à une absence d'augmentation des concentrations en IL-4, IL-5, IL-10 et IL-13. Il existe des sous populations de LB (LB1 et LB2) qui, selon les conditions environnementales lors de leur rencontre avec un Ag et les LT, produisent l'IL-4 ou l'IFN γ et peuvent donc induire la différenciation des LT CD4⁺ en LTh1 ou LTh2 (Figure 20) [172]. Un tel mécanisme ne peut être exclu dans les infestations avec *Brugia malayi* bien qu'aucune preuve n'ait été apportée. Ce rôle de costimulateur ou de producteur de cytokines pour les LB a aussi été proposé dans les infestations avec *Trichuris muris*, mais là encore, le mécanisme favorisant le développement de la réponse de type Th2 n'a pas été identifié [37].

Ainsi, les lymphocytes B et T ont peut-être une coopération à double sens (Figure 20) dans certaines situations mais le rôle précis des LB n'est, à notre connaissance, pas encore élucidé. Il semble donc difficile de généraliser ce type de mécanisme, d'autant plus que, selon les espèces de parasites, la sous populations de LB qui semble nécessaire à la protection est différente [2, 324].

Réponse cellulaire lors de parasitose

Il est devenu assez clair ces dernières années que la défense d'un hôte contre les helminthes, en particulier contre les nématodes, est étroitement liée à sa capacité à induire une réponse de type 2 contre le parasite. Les LTh2 sont producteurs de cytokines, notamment des IL-4, IL-5, IL-9, IL-10 et IL-13, qui ont des rôles de régulation positive ou négative des LB. Les sujets de recherche actuellement s'orientent plutôt vers la compréhension des composants du système immunitaire qui sont responsables de cette réponse orientée et vers l'identification des fonctions effectrices qui assurent l'expulsion ou la destruction du ver.

L'IL-4, produite dès le début de la réponse de l'hôte, joue un rôle important dans l'induction et l'entretien de la réponse Th2. Elle serait directement produite par des cellules accessoires suite à la reconnaissance d'un Ag d'helminthe. Cet Ag pourrait être un glycan, déterminant commun à plusieurs helminthes même phylogénétiquement très éloignés comme par exemple *Brugia malayi* et *Schistosoma mansoni* [428]. Bien que le mécanisme

moléculaire ne soit pas encore élucidé, il se pourrait que le glycane se lie à des récepteurs sur des cellules productrices de l'IL-4. Une autre explication pourrait être la production autocrine de l'IL-4 par les LTh2 eux-mêmes, phénomène éventuellement déclenché par la présentation d'un Ag par une CPA. Ce modèle n'exclue pas forcément le précédent puisqu'il semble que le système de reconnaissance des carbohydrates opère souvent en une triade composée d'un récepteur, d'un ligand et d'une protéine ou d'un lipide porteur. Enfin, comme nous l'avons expliqué précédemment, les LB pourraient être les initiateurs de la réponse Th2 par un mécanisme encore à déterminer [428].

Il est intéressant de constater que, malgré tout, aucun mécanisme effecteur protecteur universel n'a été à ce jour mis en évidence et, finalement, la réponse qui mène à l'expulsion ou la destruction des helminthes parasites est assez peu connue. En dépit des similitudes entre les espèces de nématodes, il semble que des mécanismes effecteurs différents soient mis en jeu. Par exemple, la présence des mastocytes ou des éosinophiles, tout comme celle des cellules B1 et B2, n'est pas toujours nécessaire pour la protection de l'hôte.

L'immunité locale à médiation cellulaire lors des strongyloses digestives est un exemple de coopération des cellules effectrices avec des Ac. Les mastocytes stimulés par les IL de type Th2 prolifèrent et induisent le passage vers la surface de la muqueuse des Ig ainsi que des neutrophiles et des éosinophiles. Ces dernières sont ensuite responsables d'une cytotoxicité dépendante des Ac (ADCC (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity)). L'ADCC est un mécanisme au cours duquel une Ig assure la liaison entre la cible et la cellule effectrice, en se fixant d'un côté à un Ag et de l'autre côté à son récepteur Fc spécifique exprimé à la surface de l'effecteur cellulaire (LT, NK, macrophage, éosinophile ou neutrophile). Ce mécanisme dépend donc à la fois de la présence des Ig et de leur récepteur Fc de surface sur les cellules effectrices. Nous discuterons ultérieurement des parasitoses pour lesquelles la destruction des helminthes par les éosinophiles a lieu via un mécanisme d'ADCC.

Etant donnée la très grande fréquence des infestations parasitaires, il n'est guère douteux que les individus atteints puissent être exposés de façon concomitante à d'autres pathogènes, helminthiques ou non. Il est assez clair que des individus parasités seront plus sensibles à certains pathogènes contre lesquels les réponses Th1 sont protectrices (par exemple le Protozoaire *Toxoplasma gondii*) mais qu'ils seront plus résistants aux pathogènes contre lesquels les réponses Th2 sont protectrices [82]. Cependant, les effets d'une infestation chronique sur les dérèglements immunitaires comme l'auto-immunité et l'allergie sont moins

évidents. Ce sujet est très débattu, en particulier pour le cas des allergies dans lesquelles les IgE sont largement impliquées, mais peu de questions ont trouvé des réponses. Avec des concentrations élevées en IgE et une stimulation antigénique constante, les helminthiases présentent toutes les caractéristiques pour développer une hypersensibilité, alors que c'est rarement le cas et même, il est possible que les malades soient alors moins sujets à développer des allergies [258]. Ce paradoxe est un sujet d'étude pour de nombreux chercheurs.

Dans les infestations chroniques, notamment lors de schistosomiasis et de filarioses, il y a une atténuation de la réponse de type Th2 au cours du temps. Cette modification est souvent au bénéfice de l'hôte puisqu'elle est associée à une diminution des symptômes cliniques. De plus, cet équilibre Th1/Th2 supprime aussi l'expression des symptômes de type allergique qui seraient logiquement attendus chez les individus parasités qui produisent de grandes quantités d'IgE.

Le recrutement des éosinophiles lors des parasitoses

La diversité des réactions de l'hôte selon les parasites envisagés est reflétée par la diversité des cinétiques des éosinophilies sanguines et tissulaires. Comme l'IL-5 favorise la prolifération, la croissance, l'activation et la survie des éosinophiles, cette interleukine pourrait être impliquée dans l'éosinophilie observée lors d'infestations parasitaires. Dans cette partie, les rôles de l'IL-5 et ceux d'autres molécules dans la cinétique de recrutement des éosinophiles seront analysés.

Cinétique de l'éosinophilie pendant la migration parasitaire

Induction des éosinophilies sanguine et tissulaire

Ce sont le plus souvent les stades larvaires des parasites qui induisent une éosinophilie : la forme infestante puis les formes migrantes peuvent engendrer une éosinophilie tissulaire et sanguine. L'éosinophilie sanguine est d'intensité variable. Elle est très marquée lors d'ankylostomiase bien que la dynamique varie selon les espèces de parasite et selon l'hôte infesté [252, 277, 307, 432, 462]. Chez l'homme, les volontaires exposés à des L3 de *Necator americanus* développent rapidement une éosinophilie sanguine dont le premier pic a lieu entre J38 et J64 [277]. La quantité d'éosinophiles périphériques est aussi augmentée quand les larves L4 arrivent dans l'intestin. En revanche, dans le cas des infestations de veaux de buffle domestique par *Toxocara vitulorum*, l'augmentation de l'éosinophilie sanguine n'est pas très importante mais est constante, depuis le début de l'infestation par les larves jusqu'au rejet [310].

L'éosinophilie sanguine induite par les larves d'un même parasite peut aussi varier selon l'hôte infesté. Lors de l'infestation de moutons par *Ostertagia ostertagi* elle n'augmente pas de manière significative et même, selon certaines études, elle pourrait diminuer [418]. Par contre, chez les bovins, ce même parasite induit une éosinophilie sanguine et tissulaire précoce [214]. A l'inverse, l'évolution de l'éosinophilie sanguine peut être similaire pour un même genre de parasite chez des hôtes différents. Par exemple, chez la souris, dans les infestations primaires induites par administration orale de L3 musculaires de *Trichinella spiralis*, l'éosinophilie sanguine est moyenne, puis augmente à partir de J35 et jusqu'à J56 [161]. Chez l'homme, une étude récente sur une infestation accidentelle par du saucisson de sanglier a mis en évidence que l'éosinophilie sanguine est augmentée chez presque 60% des individus et qu'elle le reste au moins 2 mois. Le parasite incriminé ici était *Trichinella britovi*,

espèce moins prolifique et dont le temps d'incubation est plus long que *T. spiralis*, mais la cinétique de l'éosinophilie est néanmoins similaire [357].

Bien que les larves soient généralement responsables de l'augmentation de l'éosinophilie, les adultes peuvent aussi en être la cause. Lors d'infestation avec *Nippostrongylus brasiliensis*, on retrouve des vers adultes intestinaux à partir de J3 et jusqu'à J9 et des œufs dans les fèces entre J6 et J8. L'éosinophilie sanguine augmente entre J9 et J11, c'est-à-dire après l'expulsion. Comme ce parasite a un cycle très court, il est possible que dans ce cas ce soient les adultes plutôt que les larves qui induisent une éosinophilie [86, 98].

Le stade parasitaire responsable de l'éosinophilie tissulaire est souvent un stade larvaire et est alors facilement identifiable : le trajet emprunté par les larves migrantes par les poumons explique l'infiltration éosinophilique pulmonaire. Cependant, comme pour l'éosinophilie sanguine, certains parasites adultes peuvent aussi être à l'origine d'un afflux d'éosinophiles. Par exemple, le Métastrongyloidea *Angiostrongylus cantonensis* est un parasite responsable d'une méningo-encéphalite éosinophilique chez l'homme et chez le rat, son HD. Lors de l'infestation par voie orale de ces derniers avec des larves L3, la migration vers le SNC est rapide et, après deux mues, les jeunes adultes migrent à la surface du cerveau à partir de J10 et jusqu'à J15, puis ils gagnent le cœur et les poumons à partir de J26. Une méningo-encéphalite éosinophilique sévère apparaît vers J11 et à J14-15, le stade parasitaire inducteur de l'infiltration éosinophilique étant certainement le stade jeune adulte [109]. Comme dans le cas de l'infestation par *Nippostrongylus brasiliensis* pour l'éosinophilie sanguine, le stade incriminé est l'adulte et le cycle parasitaire est court. La mue rapide des larves, et donc la brièveté des stades larvaires, pourrait expliquer que l'augmentation des éosinophilies soit induite par les adultes de façon privilégiée.

Délai d'apparition des afflux leucocytaires

Les délais d'apparition des éosinophilies tissulaire et sanguine varient avec les parasitoses. Les éosinophiles peuvent être mobilisés du sang vers les tissus, d'où une éosinophilie tissulaire associée parfois à une diminution de l'éosinophilie sanguine, puis le stock des cellules sanguines est reconstitué grâce à l'augmentation de l'éosinopoïèse. Ainsi, lors de la réinfestation de souris avec des larves d'*Ancylostoma caninum*, la quantité d'éosinophiles circulants diminue entre J2 et J5 (J0 étant la dernière infestation), revient à la normale à J9 puis augmente entre J16 et J30. Parallèlement, l'éosinophilie dans l'intestin

grêle augmente entre J1 et J5 puis reste élevée malgré une légère tendance à diminuer jusqu'à J30 [447]. La cinétique est parfois plus complexe comme par exemple lors de trichinellose. Lors d'une infestation primaire avec *Trichinella spiralis* chez la souris induite par administration orale de L3 musculaires, l'infiltration éosinophilique du jéjunum (sous-muqueuse et *lamina propria*) commence à J4, présente un pic à J11 et un nadir à J20, suivie d'un second pic à J30 et d'un plateau jusqu'à J56. L'éosinophilie sanguine est moyenne, puis augmente à partir de J35 et jusqu'à J56 [161]. Cette cinétique peut varier avec la souche de souris utilisée puisque avec un autre modèle, l'éosinophilie intestinale ne présente qu'un seul pic à J14 et revient à un niveau identique à celui des souris non infestées dès J21 [203]. La présence des deux pics d'éosinophilie dans le premier modèle montre que certains facteurs dépendent de la biologie du parasite, comme la différence de nature et de localisation des stades parasitaires avant et après J11. Mais ces différences de cinétique illustrent aussi le fait que l'hôte est lui aussi un facteur déterminant : il se peut qu'un appel intense d'éosinophiles avant J11 épuise ou non le stock leucocytaire présent selon la souche de souris.

L'augmentation de l'éosinophilie est souvent précédée par l'afflux des neutrophiles. Par exemple, lors de l'infestation expérimentale des souris par voie péritonéale avec des filaires du genre *Brugia*, des leucocytes sont recrutés dans la cavité péritonéale. La quantité des éosinophiles est moyenne jusqu'à J7 puis augmente nettement, représentant 25% à 30% des cellules péritonéales à J15 et semblant assez stable jusqu'à J21 au moins. L'accumulation des neutrophiles est beaucoup plus précoce : ce sont les leucocytes prédominant jusqu'à J7 [134, 352]. Le même schéma de recrutement biphasique a lieu chez les souris servant de modèle pour l'étude de la cécité dans l'onchocercose humaine : lors d'injection intrastromale d'Ag, les neutrophiles sont présents à J1 et les éosinophiles ne sont majoritaires dans l'infiltrat qu'à partir de J3 [180, 196].

Une autre population leucocytaire très impliquée dans les parasitoses est celle des mastocytes. La plupart du temps éosinophilie et mastocytose sont concomitantes, comme lors d'ankylostomose [252, 447] de trichinellose [160, 175] et de trichostrongyloïdose [214, 263], mais dans certaines parasitoses elles pourraient dépendre de l'âge et de l'immunité de l'hôte. Lors d'infestation avec les cyathostomes, Strongylidés parasites des Equidés, le développement de la larve a lieu dans la paroi du gros intestin. L'analyse des cellules infiltrant la paroi montre que chez les jeunes animaux les éosinophiles prédominent alors que chez les animaux plus âgés ce sont les mastocytes [79].

Corrélation avec la protection

Lors des infestations primaires, malgré une augmentation des éosinophilies sanguine et tissulaire induite par un stade parasitaire, la corrélation avec la protection de l'hôte est rarement flagrante. En effet, de nombreux facteurs entraînent l'élimination du parasite et la quantification de la participation des éosinophiles reste difficile. L'infestation de moutons avec *Teladorsagia circumcincta* induit une augmentation de l'éosinopoïèse et de l'éosinophilie sanguine, mais aucune corrélation avec les charges parasitaires n'est mise en évidence dans ce modèle [163]. L'analyse du rapport entre l'éosinophilie tissulaire et l'évolution du parasite n'est pas plus facile. Lors de l'infestation de veaux de buffle domestique par *Toxocara vitulorum*, l'infiltration de l'intestin grêle concerne la *lamina propria* et commence dès le début de l'infestation. Elle présente un pic en même temps que le pic de l'infestation puis diminue lentement lors du rejet et ne revient à un niveau normal qu'une fois le rejet terminé. Cependant, bien que les auteurs de cette étude concluent que l'exposition au parasite induit une éosinophilie, ils ne font que suggérer que les éosinophiles aient un rôle important dans le mécanisme de rejet du ver [310]

En revanche, dans le cas des réinfestations, la présence des éosinophiles semble fréquemment contribuer à la diminution de la charge parasitaire. Ainsi chez le rat, lors d'infestations répétées avec *Strongyloides venezuelensis*, nématode gastro-intestinal avec migration pulmonaire obligatoire, la migration pulmonaire induit un processus local d'inflammation éosinophilique péribronchique et seules quelques larves atteignent les poumons à J2. Le nombre d'adultes intestinaux, bien que plus élevé à J5, diminue plus vite que dans les infestations primaires et le taux de fécondité (nombre d'œufs dans les fèces) est plus faible. Dans la moelle, les concentrations en leucocytes totaux et en éosinophiles sont plus élevées que chez les rats infestés une seule fois et l'éosinophilie est 10 fois supérieure à celle des rats non infestés [398]. L'éosinophilie sanguine augmente lorsque les larves arrivent dans les poumons. Elle est deux fois plus élevée lors d'une réinfestation que dans les infestations primaires et elle dure plus longtemps [21]. Finalement, les données de ces études montrent qu'il existe une immunité acquise chez les rats infestés par *S. venezuelensis* et que l'augmentation de l'éosinophilie coïncide avec la diminution de la charge parasitaire (liée aux dommages aux organes reproducteurs des vers) [21].

Dans les infestations primaires, il y a parfois des réactions granulomateuses, comme dans les toxocaroses [101]. Lors d'infestation orale d'agneaux avec des œufs de *T. canis*, une infiltration éosinophilique massive de la sous-muqueuse de l'intestin grêle a lieu dès J1 et

partir de J14 il existe des lésions hépatiques qui sont des granulomes éosinophiliques, certains contenant des larves piégées [7].

Cependant, le granulome est plutôt caractéristique des réinfestations. Une conséquence de la participation des éosinophiles à l'immunité acquise humorale et cellulaire est la précocité de leur présence en cas de réinfestation. Lors de trichostrongylose induite par *Nippostrongylus brasiliensis* chez la souris, des larves peuvent être piégées dans les poumons entourées d'un infiltrat riche en éosinophiles uniquement lors des réinfestations [86, 98]. Cela s'explique certainement en partie par le fait que chez ce parasite le cycle est court : les éosinophiles ne sont présents en assez grande quantité et assez tôt dans le cycle parasitaire que lors des réinfestations.

Ce piégeage des larves dans un granulome est classiquement rencontré dans plusieurs parasitoses mais la corrélation avec la diminution de la charge parasitaire n'est pas prouvée. Le cas des schistosomiasés est très étudié et illustre bien la problématique : chez les souris, l'exposition à des cercaires de *Schistosoma mansoni* entraîne la formation de granulomes dont les éosinophiles représentent alors environ 40% et en parallèle l'éosinophilie sanguine est 4 fois plus élevée que la normale. Mais l'absence d'éosinophiles dans la moelle et dans le sang (grâce à des Ac anti IL-5), bien qu'elle induise l'absence des éosinophiles du granulome, n'a pas d'incidence sur la taille de ce dernier et ne modifie pas la protection de l'hôte [392].

La création de souris knock-out pour le gène de l'IL-5 (IL-5 KO), chez lesquelles le gène de IL-5 a été délété ou rendu inactif au niveau de toutes les cellules, et de souris transgéniques pour le gène de l'IL-5 (IL-5 Tr), chez lesquelles la surproduction de IL-5 est induite, a permis de mener de nombreuses études sur le rôle de l'IL-5 dans le recrutement des éosinophiles lors de parasitoses. Un important facteur de variabilité de la protection associée à l'éosinophilie est le statut immunitaire de l'hôte. En effet, la protection lors d'une première rencontre avec un parasite relève de l'immunité innée alors que les défenses en cas de rencontre d'un parasite connu implique l'immunité acquise de l'hôte.

Chez les Nématodes

L'IL-5 et l'immunité innée

Chez certains Nématodes, dans le cas de l'immunité innée, la concentration de l'IL-5 n'est corrélée ni à la survie, ni à la croissance, ni à la fécondité du ver. Ainsi, chez des souris infestées par *Trichuris muris*, considérées comme un modèle assez représentatif de l'infestation humaine par *Trichuris trichiura*, l'absence de IL-5, et de l'éosinophilie induite, ne modifie pas la résistance des souris [35]. L'infestation avec une autre espèce de Trichuridés, *Trichinella spiralis*, conduit à une conclusion similaire : lors d'infestation primaire chez la souris, il y a pic d'éosinophilie à 3 semaines dans le sang et la moelle, ce qui n'est pas le cas chez des souris traitées avec un Acm anti IL-5. Cependant, le nombre de larves musculaires recueillies à 3-4 semaines post infestation est le même dans les deux groupes [178]. De même, chez les souris IL-5 Tr en comparaison avec des souris sauvages, le nombre de larves musculaires et d'adultes intestinaux recueillis sont les mêmes et ni la fécondité des femelles ni l'infectivité des larves nouveau-nées n'est modifiée [181]. Par ailleurs, dans une autre étude avec des souris IL-5 déficientes, le nombre de larves musculaires est le même que chez les souris sauvages, seul le délai d'expulsion semble un peu plus long chez les souris IL-5 déficientes [445]. Il semble donc que lors d'infestation primaire par des Trichuridés, l'IL-5 n'a pas ou peu de rôle dans la protection.

La réponse innée ne semble pas non plus dépendre de l'IL-5 dans l'infestation par une autre famille de Nématodes, celle des Ascarides, dont un représentant est *Toxocara canis*.

Chez les souris IL-5 Tr infestées par *T. canis*, la concentration des éosinophiles sanguins est élevée avant l'infestation, diminue vers J4 puis augmente jusqu'à atteindre son niveau initial à J14 et la concentration en IL-5 subit les mêmes variations. Parallèlement, d'une part l'éosinophilie pulmonaire est plus marquée à J4 uniquement chez les transgéniques et d'autre part le nombre de larves recueillies est maximal à J4 dans les deux groupes de souris [415]. Une autre étude avec des souris sauvages et IL-5 Tr confirme ces résultats : les souches transgéniques utilisées présentent des éosinophilies basses ou élevées, et chez toutes les souris les vers recueillis sont identiques en nombre, taille et fécondité à ceux recueillis chez les sauvages [98].

L'étude de souris IL-5 déficientes et normales infestées avec des oeufs de *T. canis* confirme que l'IL-5 induit une éosinophilie sanguine et tissulaire chez l'hôte mais le nombre et la localisation des larves ne sont pas modifiés en l'absence de l'IL-5 et/ou des éosinophiles. Au contraire, les dommages pulmonaires chez les déficientes sont même moins étendus que chez les sauvages ce qui suggère que les éosinophiles auraient une part de responsabilité dans la pathologie observée chez les souris infestées [423].

Au contraire des espèces que nous venons de citer, le contrôle de l'infestation avec plusieurs espèces de nématodes, qui ont la particularité d'appartenir toutes à la classe des Secernentea est parfois très dépendant de l'IL-5.

Les souris IL-5 Tr infestées avec des L3 de *Nippostrongylus brasiliensis*, un Trichostrongyle, sont très résistantes comparées aux souris sauvages, la plupart des larves n'arrivant même pas dans les poumons. Les éosinophiles sont les constituants majoritaires de l'infiltrat cellulaire au site sous-cutané de l'injection, et chez les souris normales, l'infiltrat est bien moins important. Il semble que les éosinophiles peuvent restreindre le mouvement des larves de *N. brasiliensis* dans les premières heures de l'infestation primaire puisque 75% à 95% des larves sont retenues au moins 24h au site d'injection, alors que chez les sauvages seulement 20% sont recueillies et beaucoup de larves atteignent les poumons en 48h. En outre, l'expulsion finale n'est pas affectée mais les parasites sont moins nombreux, moins féconds et plus petits [86]. De plus, le transfert d'éosinophiles issus d'une souris IL-5 Tr à une souris normale entraîne une augmentation de la protection en réduisant le nombre de larves pulmonaires [394]. Bien qu'on ne puisse pas exclure d'autres mécanismes liés à l'IL-5 favorisant la protection de l'hôte, il semble que les éosinophiles sont responsables de la résistance accrue observée chez les souris IL-5 transgéniques.

L'infestation avec le Metastrongyloidea *Angiostrongylus cantonensis* résulte en une méningite éosinophilique. L'administration d'Ac anti IL-5 à des souris infestées induit la

diminution du nombre des éosinophiles périphériques, ou du LCR (liquide céphalo-rachidien) et au sein de la moelle osseuse. En parallèle, le nombre de vers intracrâniens augmente chez les souris traitées avec l'Ac, alors que chez les souris normales, les vers sont presque totalement éliminés à J32 [378]. De même, chez des souris IL-5R α KO, le nombre de vers recueillis augmente et l'infestation n'est pas accompagnée d'une augmentation des éosinophiles dans le LCR, certainement en raison d'un défaut d'éosinopoïèse [474]. A l'inverse, chez les souris C3H/HeN IL-5 Tr, le nombre des éosinophiles augmente dans la moelle, le sang et le LCR alors que le nombre de vers décroît. De plus, les souris femelles présentent un retard de croissance et, dans le cerveau, les éosinophiles infiltrés dégranulent [417]. Ce parasite, *A. cantonensis*, induit donc la production de l'IL-5, responsable de la survie et de l'activation des éosinophiles du LCR, et les éosinophiles sont des cellules effectrices impliquées dans la destruction des parasites intracrâniens [416, 417].

Les souris IL-5 déficientes infestées avec le Rhabditidé *Strongyloides ratti* libèrent deux à quatre fois plus d'œufs et de larves que les souris sauvages et les adultes recueillis, plus féconds, sont 60% plus nombreux. Parallèlement, aucune augmentation du nombre des éosinophiles n'est décelée ni dans la cavité péritonéale, ni dans la moelle, ni dans l'intestin grêle [322]. Des résultats similaires sont obtenus avec une autre espèce, *S. stercoralis*, infestant des souris IL-5 Tr ou déficientes en comparaison à des souris sauvages. La survie des larves est diminuée chez les transgéniques alors qu'elle est augmentée chez les déficientes et la charge parasitaire est moins importante chez les transgéniques. De plus, la résistance chez ces dernières est associée à une infiltration éosinophilique [177]. Enfin, il en va de même lors d'infestation avec *S. venezuelensis*, puisque chez les souris IL-5 Tr la plupart des larves infestantes sous-cutanées sont éliminées pendant la migration et seuls quelques adultes gagnent l'intestin. De plus, même lors d'implantation directe d'adulte dans l'intestin de souris IL-5 transgéniques, moins d'œufs et moins d'adultes sont dénombrés dans les fécès, même si le temps d'expulsion total reste le même. L'IL-5 a donc un rôle protecteur dans les infestations primaires avec *Strongyloides spp.*, en corrélation avec l'éosinophilie sanguine et tissulaire qu'elle induit. Les éosinophiles présents auraient peut être aussi un rôle dans la destruction des strongles adultes [122].

L'infestation de souris avec des L3 de *O. volvulus* conduit à des résultats un peu différents. Aucune différence dans la survie du parasite chez les souris IL-5 KO et chez les souris normales n'est observée, alors que chez les IL-5 Tr, la survie du parasite est diminuée dès J7 et les larves induisent le recrutement d'un grand nombre d'éosinophiles. Il est donc possible que, contrairement au cas de *Strongyloides stercoralis* cité précédemment dont la survie est augmentée chez des souris IL-5 KO en comparaison avec des souris sauvages, les

éosinophiles ne soient tout simplement pas assez nombreux pour éliminer les larves d'*O. volvulus*. Cela pourrait d'ailleurs expliquer en partie la longue survie de ces parasites chez leurs hôtes [2]. Le cas des filarioses induites chez les souris avec *Litomosoides sigmodontis* sera développé ultérieurement, en particulier en raison de la variabilité des résultats en fonction des souches murines utilisées.

L'IL-5 et l'immunité acquise

Comme nous venons de le voir, les mécanismes de protection lors des infestations primaires par des Nématodes n'impliquent pas toujours l'action de l'IL-5 ou des éosinophiles. Dans le cas des infestations secondaires, l'immunité mise en jeu est l'immunité acquise et la contribution de l'IL-5 dans le recrutement des éosinophiles est, comme pour l'immunité primaire, très variable selon les parasites.

Lors de l'infestation avec *Trichinella spiralis* de souris immunisées avec un Ag somatique du ver, aucune différence significative dans le recueillement des larves musculaires ou des adultes dans l'intestin grêle, dans la fécondité des femelles adultes, et dans l'infectivité des larves nouveau-nées n'a été observée entre les souris sauvages et transgéniques pour IL-5 [181]. Chez des souris sauvages infestées deux fois à 28 jours d'intervalle, le pic d'éosinophilie est plus précoce lors de la deuxième infestation (3 semaines vs. 2 semaines) et, si les souris sont traitées avec un Acm anti IL-5, l'éosinophilie reste à un niveau similaire à celui des souris non infestées. Cependant, dans les deux groupes, la résistance, mesurée par le nombre de larves musculaires à J56, est la même [178]. Ainsi, l'absence des éosinophiles n'a pas affecté la résistance de l'hôte pas plus que l'éosinophilie marquée chez les souris IL-5 transgéniques n'arrive à empêcher l'infestation avec *Trichinella spiralis*. Ces résultats chez des souris transgéniques ou traitées par un Acm anti IL-5 suggèrent que les éosinophiles ne sont pas essentiels à l'immunité acquise, résultats similaires à ceux obtenus pour les infestations primaires avec les mêmes parasites.

Des groupes de souris infestées à J0 et J28 par des larves de *Toxocara canis* puis traitées ou non avec un Acm anti IL-5 sont sacrifiées à J42. La concentration des éosinophiles circulants chez les souris traitées est extrêmement réduite en comparaison avec celui des souris contrôles et l'infiltration éosinophilique hépatique qui constitue le granulome chez les souris sauvages a disparu chez les souris traitées par l'Ac. Cependant, le nombre de larves recueillies est identique dans les différents groupes [329]. De même, il n'y a pas de différence du nombre de larves recueillies à J21 chez des souris IL-5 transgéniques et sauvages

C3H/HeN, toutes vaccinées avec un Ag d'Excétion-Sécrétion de larves de *T. canis*. Comme nous l'avons déjà vu dans les infestations primaires, la présence de l'IL-5 et des éosinophiles n'est donc pas essentielle au piégeage des larves dans le foie lors de toxocarose. En outre, puisqu'il y a une différence entre les nombres de larves recueillies chez les souris vaccinées et non-vaccinées, qu'elles soient transgéniques ou normales, les éosinophiles ne sont probablement pas les cellules immunocompétentes qui ont un rôle dans la protection contre une infestation par *T. canis* [415].

Dans les infestations secondaires avec *Strongyloides stercoralis*, l'IL-5 semble jouer un rôle puisque l'utilisation d'Ac anti IL-5 chez des souris BALB/cByJ immunisées empêche la destruction des larves [364]. Chez ces mêmes souris, la concentration des éosinophiles est augmentée et les larves ne sont tuées que s'il y a un contact entre les cellules et le parasite [3]. Il semble donc que dans ce modèle l'IL-5 induit le recrutement des éosinophiles qui assurent l'éradication des larves. D'autre part, l'immunisation de souris IL-5 KO n'entraîne pas le développement d'une immunité protectrice comme c'est le cas chez les C57BL/6 sauvages. Chez les souris IL-5 KO, l'immunité protectrice peut être reconstituée si on fournit des éosinophiles pendant l'immunisation. Ces éosinophiles ont une durée de vie courte en raison de l'absence de l'IL-5, durée qui correspond à la phase d'induction de l'immunité mais pas à la phase effectrice. Ainsi, il est probable que l'IL-5 soit nécessaire à l'immunité protectrice pour sa capacité à induire la production d'éosinophiles [177]. Cependant, lors d'une infestation avec *S. ratti*, en dépit de la similitude des parasites, les souris C57BL/6 IL-5 déficientes et normales résistent de façon identique à une deuxième infestation, peut être en raison de la différence de souches de souris [322].

Enfin, dans le cas des filarioses, chez des souris BALB/cBYJ, vaccinées contre les L3 de *Onchocerca volvulus* par des L3 irradiées, la protection est augmentée ; les éosinophiles et l'IL-5 de même que la destruction des larves sont synchrones. L'utilisation d'Ac anti IL-5 diminue les effets protecteurs de la vaccination contre les larves [229] et l'élimination des éosinophiles entraîne l'abolition de la protection [2]. De même, avec *O. lienalis*, les Ac anti IL-5 diminuent la résistance à la réinfestation [136]. L'IL-5 semble donc participer à l'établissement de l'immunité dans l'onchocercose en induisant le recrutement des éosinophiles.

Comme l'illustre le tableau 8, le rôle de l'IL-5 varie avec de nombreux paramètres. Malgré le rôle avéré de l'IL-5 dans la stimulation des éosinophiles, certaines expériences montrent parfois une absence de corrélation entre la cytokine et le leucocyte : l'IL-5 peut ne

Tableau 8 : Tableau récapitulatif des effets de l'IL-5 sur l'hôte et le parasite chez des souris IL-5 KO (souris knock-out pour le gène de l'IL-5), IL-5Tr (souris transgéniques pour le gène de l'IL-5), traitées par un AC anti IL-5 (anticorps anti IL-5) en comparaison avec des souris sauvages au cours des différents modèles d'infestation primaire et secondaire.

Parasite	Infestation primaire	Infestation secondaire
<i>Trichuris muris</i>	<u>AC anti IL-5</u> : Pas de modification de la résistance de l'hôte.	
<i>Trichinella spiralis</i>	<u>AC anti IL-5</u> : pas de pic du nombre d'éosinophiles (sang, moelle osseuse) à 3 semaines, le nombre de larves à 4 semaines est identique. <u>IL-5 KO</u> : nombre de larves identique, délai d'expulsion plus long. <u>IL-5 Tr</u> : nombre de larves et d'adultes identique, pas de modification de la fécondité des femelles ni de l'infectivité des larves.	<u>AC anti IL-5</u> : Pas de modification de la résistance de l'hôte. <u>IL-5 Tr</u> : Pas de modification de la résistance de l'hôte.
<i>Toxocara canis</i>	<u>IL-5 KO</u> : Pas de modification du nombre et de la localisation des larves, moins de dommages pulmonaires pour l'hôte. <u>IL-5 Tr</u> : IL-5 et nombre d'éosinophiles augmentent avant infestation et retournent à leur niveau initial à J 14, augmentation des éosinophiles pulmonaires à J 4, nombre de larves maximal à J4 (Tr et sauvages) (pas d'incidence sur les vers).	<u>AC anti IL-5</u> : Diminution des éosinophiles circulants, pas de granulome, nombre de larves identique. <u>IL-5 Tr</u> : Nombre de larves identique.
<i>Nippostrongylus brasiliensis</i>	<u>IL-5 Tr</u> : Augmentation de la résistance ; 75 à 95 % des larves retenues au site d'infestation à 24h. Parasites moins nombreux, moins féconds et diminution de leur taille.	
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	<u>AC anti IL-5</u> : Diminution du nombre d'éosinophiles (sang, LCR, moelle osseuse), nombre des vers intracrâniens augmenté. <u>IL5Rα KO</u> : nombre de vers augmenté, pas d'augmentation des éosinophiles (LCR). <u>IL-5 Tr</u> : Augmentation du nombre d'éosinophiles (sang, LCR, moelle osseuse) Nombre de vers diminué et réduction de leur croissance.	
<i>Strongyloides ratti</i>	<u>IL-5 KO</u> : Augmentation du nombre d'œufs, de larves, d'adultes et de la fécondité mais pas du nombre d'éosinophiles.	<u>IL-5 KO</u> : Résistance identique.
<i>Strongyloides stercoralis</i>	<u>IL-5 KO</u> : Augmentation de la survie des larves. <u>IL-5 Tr</u> : Diminution de la survie des larves, diminution de la charge parasitaire et Augmentation du nombre d'éosinophiles.	<u>AC anti IL-5</u> : Augmentation du nombre d'éosinophiles et de la survie des larves. <u>IL-5 KO</u> : L'immunisation n'induit pas d'immunité protectrice.
<i>Strongyloides venezuelensis</i>	<u>IL-5 Tr</u> : Elimination des larves infectantes sous-cutanées.	
<i>Onchocerca volvulus</i>	<u>IL-5 KO</u> : Même survie du parasite. <u>IL-5 Tr</u> : Diminution de la survie du parasite et augmentation du nombre d'éosinophiles.	<u>AC anti IL-5</u> : Diminution de la protection vaccinale.
<i>Onchocerca lienalis</i>		<u>AC anti IL-5</u> : Diminution de la résistance à la réinfection.

pas avoir de rôle dans la protection alors que les éosinophiles sont présents et, inversement, l'IL-5 peut parfois avoir un rôle autre que son action sur les éosinophiles.

Au-delà du problème des biais induits par les différences de souches chez les souris que nous développerons ultérieurement, il ne faut pas perdre de vue que les études menées chez les souris IL-5 déficientes ne reflètent pas les situations naturelles. Elles ne permettent pas de définir le rôle exact des éosinophiles lors des infestations, mais plutôt mettent en évidence l'existence d'autres mécanismes en leur absence. Quant aux études avec les souris IL-5 transgéniques, elles fournissent peut-être un début d'explication aux différences de réactions chez les patients allergiques ou co-infestés et les patients sains puisqu'elles correspondent à une éosinophilie préexistante.

Finalement, la diversité des réponses en fonction des couples parasite/hôte est assez peu surprenante, étant donné que chaque parasite a évolué et développé des stratégies de survie disparates, impliquant ou non l'évitement de la destruction par les éosinophiles. De plus, ils ont des localisations et des schémas migratoires assez différents, ce qui peut certainement influencer leur susceptibilité à un mécanisme immun inné ou acquis. Il semble donc que les conclusions dans un modèle ne doivent pas être trop rapidement appliquées à un autre.

Modèle murin : influence de la génétique de l'hôte

Environ 120 millions de personnes sont atteintes de filariose lymphatique ou d'onchocercose (cécité des rivières) et au moins un milliard d'autres sont exposées au risque de les contracter, c'est-à-dire un sixième de la population mondiale. Ces parasitoses chroniques causées principalement par les filaires *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* et *Brugia timori* peuvent être très invalidantes du fait des parasites adultes (éléphantiasis) ou des microfilaires qu'ils libèrent (cécité des rivières). Cette famille de parasites suscite donc beaucoup d'intérêt et l'utilisation de l'infestation par *Litomosoides sigmodontis* chez la souris, son HD, a ouvert de nouvelles perspectives dans l'étude des processus immunologiques déterminant l'établissement ou le rejet du parasite lors de filariose. En effet, les souris BALB/c sont immunocompétentes et susceptibles (elles développent une infestation patente, c'est-à-dire que les L3 muent jusqu'au stade adulte qui produit des microfilaires à partir de J60, début de la phase patente), alors que les souris C57BL/6 sont très résistantes à l'infestation et ne présentent jamais d'infestation patente (il n'y a qu'une mue de la larve et les filaires sont enkystées par l'hôte avant J40, donc avant la production de microfilaires). De nombreuses autres souches peuvent être utilisées, par exemple les souris CBA/Ca, chez

Tableau 9 : Modèle murin : effet du statut génique des souris lors d'infestation par *Litomosoides sigmodontis*.

			Effets chez l'hôte	Conséquences pour le parasite
C57BL6 résistantes	sauvages		Augmentation des IL-4 et IL-5	- Pas de microfilaires - Adultes et larves petits - Retard de mue en L4
		vaccinées	Protection complète	- Pas d'adultes
	IL-5 KO		?	- Pas de modification du développement parasitaire par rapport aux sauvages
		vaccinées	Pas de protection	?
	IL-4 KO		?	- Diminution de la protection : accomplissement de la phase patente
BALB/c sensibles	sauvages		Pas d'augmentation des IL-4 et IL-5	- Phase patente - Microfilaires à partir de J60
		vaccinées	- Augmentation IL-5 - Augmentation du nombre d'éosinophiles	- Diminution de 50% du nombre d'adultes - Microfilarémie non modifiée
	IL-5 KO		Réduction des nodules inflammatoires	- Augmentation du nombre d'adultes - Microfilarémie augmentée et plus longue - Augmentation de la survie des adultes
	IL-4 KO		?	- Augmentation du nombre d'adultes - Microfilarémie augmentée et plus longue
CBA/Ca	Sauvages		?	- Pas de microfilaires
	IL-5 Tr		?	- Augmentation de la croissance des larves à J10 - Diminution nombre de larves à J30 - Diminution de la survie du parasite (nombre d'adultes diminué)

lesquelles les larves deviennent adultes mais sans que les souris ne soient microfilarémiques, bien qu'il y ait des microfilaires dans l'utérus des femelles (Tableau 9) [17, 267].

Lorsqu'on compare pendant le premier mois les quantités de larves qui se développent chez les souches sensibles et résistantes, elles sont très similaires. Il en va différemment pour les paramètres de croissance : chez les souris C57BL/6 résistantes, la taille des adultes et des larves est plus petite et il y a un retard de mue en L4. La proportion de larves qui se développent n'est donc pas influencée par la génétique de hôte, c'est la qualité du développement qui est modifiée. Par contre, la réponse immune est très différente entre ces deux souches : bien qu'à J30 la population leucocytaire chez les C57BL/6 résistantes soit similaire à celle observée chez les BALB/c, les concentrations des cytokines telles que IL-4 et IL-5 sont plus élevées dans l'exsudat pleural et dans le sérum. L'augmentation de la quantité des cellules de l'exsudat pleural entre J10 et J30 post-infestation chez les souris C57BL/6, qui n'a pas lieu chez les souris BALB/c, pourrait être une explication suffisante aux concentrations de cytokines élevées *in vivo* [17]. Lors d'infestation primaire avec *Litomosoides sigmodontis*, chez les souris sensibles CBA/Ca IL-5 transgéniques, il y a une diminution de la survie des parasites. Le nombre d'adultes à 2 mois post-infestation est diminué bien qu'à J10 il y ait eu une accélération de la croissance des larves. La réduction a lieu entre J10 et J30 puisque à J10 il y a autant de larves chez les sauvages et les transgéniques et qu'à J30 il y a 41 % de larves en moins chez les transgéniques. Il n'est pas exclu que l'IL-5 soit responsable de l'augmentation de la croissance des larves à J10 [267].

Chez les souris résistantes C57BL/6 et lors d'infestation primaire, la déficience en IL-5 ne modifie ni le développement ni la survie du parasite à J10, J20 et J40 par rapport aux sauvages [227], mais une déficience en IL-4 diminue la protection en entraînant l'accomplissement de la phase patente [230]. Chez les souris BALB/c déficientes en IL-4 ou IL-5 en comparaison aux sauvages, davantage de larves atteignent le stade adulte et la microfilarémie est augmentée et est plus longue, et nécessite la présence d'un adulte et d'un cycle complet. Cependant, l'augmentation de la survie des adultes et la réduction des nodules inflammatoires les entourant n'a lieu que chez les IL-5 KO [450, 451]. Ainsi, chez les souris sensibles BALB/c, les IL-4 et IL-5 agissent sur des stades différents du parasite.

L'IL-4, chez les souris BALB/c comme chez les C57BL/6, semble être nécessaire au contrôle de la microfilarémie plutôt par une voie indirecte impliquant le parasite adulte. Par contre, la déficience en IL-5 permet le développement d'un nombre plus important de larves chez les souris BALB/c. Ainsi, un rôle effecteur des éosinophiles dans la destruction de ver pendant l'infestation primaire semble être mieux établi chez les souris BALB/c que chez les souris C57BL/6. En fait, il semblerait que la balance entre les réponses de type Th1 et Th2

soit différente entre ces deux lignées. Chez des souris BALB/c et des souris C57BL/6 IL-4 KO qui présentent la même parasitémie lors d'infestation, la comparaison des concentrations de cytokines et d'Ac apporte un éclairage notable : chez l'hôte BALB/c permissif le parasite se développe malgré une réponse de type Th2, alors que chez les C57BL/6 la résistance est Th2 dépendante [230] et la réponse immune est de type mixte Th1 et Th2.

L'infestation de souris C57BL/6, vaccinées trois fois avec des larves irradiées de *Litomosoides sigmodontis* entraîne une protection complète puisque aucun parasite n'est trouvé, ce qui n'est pas le cas en l'absence de vaccination. Par contre, malgré un profil d'Ac identique à celui des sauvages, les souris déficientes en IL-5 sont incapables de générer une réponse protectrice. Les éosinophiles semblent donc être une clé dans la résistance au parasite, puisqu'une incapacité génétique à recruter les éosinophiles peut rendre les souris normalement résistantes C57BL/6 plus susceptibles à l'infestation [227]. Le même type de protocole de vaccination chez des souris BALB/c normales entraîne une diminution de la charge en adultes de 50% mais le schéma migratoire et la microfilarémie ne sont pas affectés. Il y a une augmentation de l'IL-5 et du nombre d'éosinophiles, en particulier dans les tissus sous-cutanés, ce qui permet la destruction rapide et précoce, durant les deux premiers jours, des larves L3 entrantes [232].

Finalement, il semble que dans le cas des filaires, l'IL-5, par son action sur les éosinophiles, joue un rôle protecteur plus important lors d'infestation secondaire que lors d'une primo-infestation.

Chez les Trématodes et les Cestodes

La comparaison des réponses à l'infestation primaire par les Cestodes *Mesocestoides corti* et *Hymenolepis diminuta* et le trématode *Fasciola hepatica* chez des souris sauvages et déficientes en IL-5 montre que les réponses immunes dépendant de l'IL-5 n'ont pas de rôle majeur dans la défense de l'hôte [321]. En fait, il est possible que l'IL-5 n'ait pas un rôle de recrutement des éosinophiles comme cela a été longtemps supposé et que les éosinophiles ne soient pas des cellules importantes pour la protection contre ces helminthes. En effet, lors d'infestation avec le cestode *Taenia crassiceps*, les souris déficientes en MIF augmentent leur capacité à recruter des éosinophiles mais présentent des charges parasitaires plus élevées que les souris sauvages. Les éosinophiles ne semblent donc pas jouer un rôle de destruction contre ce parasite. Par ailleurs, leur recrutement paraît être indépendant de l'IL-5 puisque la concentration de l'IL-5 mesurée est identique chez les souris déficientes et sauvages ; cela

suggère que d'autres facteurs, tels que l'éotaxine, pourraient être impliqués dans ce phénomène [358].

Dans le cas des schistosomiasés, l'éosinophilie dépend de l'IL-5 [68, 369] et chez des souris vaccinées avec des cercaires irradiées puis infestées avec des cercaires de *Schistosoma mansoni*, l'administration d'Ac anti IL-5 entraîne la suppression des éosinophilies tissulaire et sanguine. Cependant, la protection contre le parasite reste la même que chez les souris contrôles. Ainsi, les éosinophiles ne semblent pas avoir de rôle protecteur dans la vaccination [391].

Par ailleurs, chez des souris IL-5 transgéniques infestées avec des cercaires de *S. mansoni*, le nombre de larves hépatiques est augmenté en comparaison avec la quantité récupérée chez les souris sauvages [97, 99]. Lorsque ces mêmes souris sont immunisées avec des cercaires irradiées, J0 étant la dernière immunisation, puis réinfestées à J30, les souris transgéniques ont un nombre plus élevé de larves hépatiques que les sauvages à J60, malgré des éosinophiles ayant une ultra-structure normale et étant fonctionnels. Comme nous l'avons vu précédemment, certains parasites semblent avoir développé une stratégie qui les rend résistants à l'action des éosinophiles. Pour *Schistosoma mansoni*, les études portant sur l'IL-5 montrent que la charge parasitaire n'est pas affectée (elle serait même augmentée), par une modification du niveau d'expression de l'IL-5. Il se pourrait donc qu'une éosinophilie chronique ou une surexpression de l'IL-5 soit préjudiciable à la résistance de l'hôte dans ce cas [99].

Autres interleukines chez les Nématodes

Comme nous l'avons vu dans la première partie, plusieurs autres interleukines peuvent avoir un rôle dans le recrutement des éosinophiles. Nous nous attacherons ici aux rôles des interleukines de type Th2, et en particulier à l'IL-4 et l'IL-13, dans les trichostrongyloses et les filarioses pour lesquelles la présence des éosinophiles induite par l'IL-5 semble avoir un rôle protecteur.

Lors d'infestation de souris BALB/c IL-4 KO par *Litomosoides sigmodontis*, on observe une diminution de l'éosinophilie sanguine et de l'accumulation d'éosinophiles dans la cavité thoracique et une augmentation de la quantité de microfilaires dans ces deux milieux (x100 et x20) [451]. Chez des souris de même lignée mais infestées par *Brugia malayi*, la charge parasitaire augmente également [18] mais plus modérément que dans le modèle d'infestation par *Litomosoides sigmodontis*. Cette différence est liée à la différence de permissivité entre *Brugia* (semi-permissif) et *Litomosoides* (permissif), c'est-à-dire à leur capacité à accomplir leur cycle chez leur hôte. Chez des souris C57BL/6 IL-4 KO infestées par *Brugia malayi* ou *B. pahangi*, bien qu'il y ait aussi une augmentation de la survie des vers et une diminution du recrutement des éosinophiles, les quantités de microfilaires recueillies ne sont pas différentes. Chez les souris BALB/c l'élimination aurait lieu plus tard que chez les C57BL/6, surtout lors d'un déficit en IL-4, entraînant l'accomplissement de la phase patente chez les BALB/c IL-4 KO mais pas chez les C57BL/6 IL-4 KO [407]. Il semble donc que l'IL-4 joue un rôle dans la diminution de la charge de microfilaire en partie via son action sur les éosinophiles [451]. L'infestation par *Brugia* de souris BALB/c déficientes en IL-4, ou pour le récepteur de IL-4 (IL-4R) ou pour STAT-6 a permis de montrer que l'IL-4 exerce ses effets en activant STAT-6. De plus, chez ces trois groupes, le défaut de recrutement des éosinophiles a lieu au même moment que l'augmentation du nombre de vers vivants recueillis. Il est donc probable que, chez les souris qui ont un défaut de signalement de l'IL-4, l'un des facteurs contribuant à la diminution des capacités d'élimination du ver est l'incapacité à recruter les éosinophiles au site d'infestation [407].

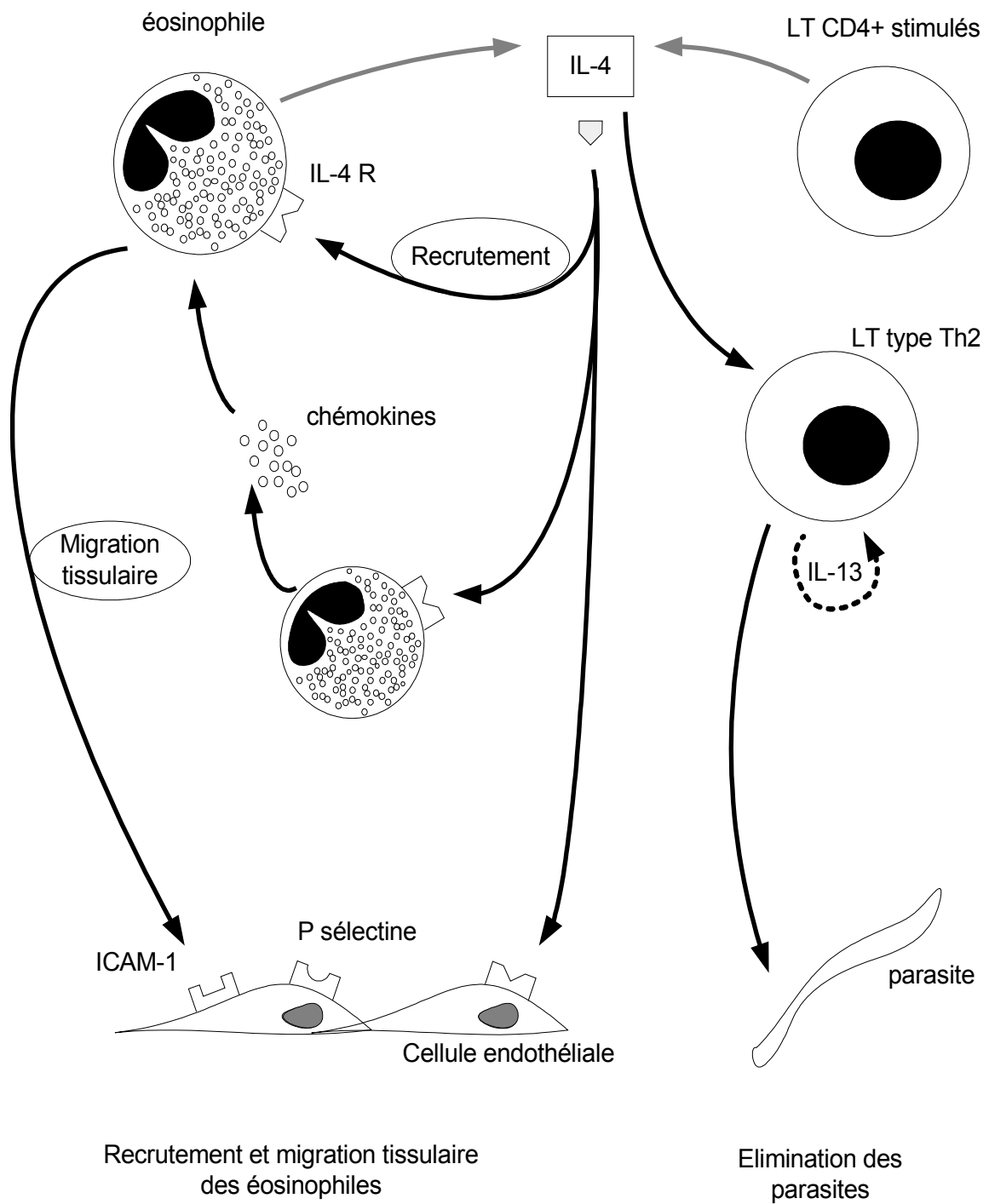
L'IL-4 est un inducteur important de l'orientation de la différenciation des cellules T en cellules Th2 qui à leur tour sont source d'IL-4 ; mais en l'absence de cellules T comme

source d'IL-4, d'autres cellules, dont les éosinophiles, peuvent produire cette interleukine. Chez les souris déficientes en cellules T, l'élimination du ver est grandement diminuée, ce qui montre que les cellules T sont nécessaires à la résistance. Cependant, même si on fournit des cellules T issues de souris IL-4 KO ou IL-4R KO, la résistance est restaurée. Ainsi les cellules T sont nécessaires à l'accumulation des éosinophiles mais indépendamment de leur production d'IL-4 ou de leur réponse à l'IL-4. Puisque les souris déficientes en IL-4R présentent aussi un défaut de recrutement des éosinophiles, les auteurs de cette étude proposent plusieurs mécanismes pour expliquer le rôle de l'IL-4 auprès des éosinophiles : l'IL-4 en se liant au IL-4R des éosinophiles induit leur chimiotactisme, ou bien l'IL-4 se fixe sur l'IL-4R d'une autre cellule qui à son tour produirait des chémoattractants pour les éosinophiles [134] ou encore l'IL-4 est reconnue le IL-4R des cellules endothéliales, ce qui favorise la transmigration des éosinophiles [83, 408].

Chez les souris déficientes en IL-4 infestées par *Nippostrongylus brasiliensis*, l'expulsion des vers est sensiblement identique à celle des sauvages alors que chez les souris déficientes en IL-13, leur expulsion est très retardée. En outre, leur élimination est encore plus différée chez les souris doublement déficientes en IL-4 et IL-13. L'IL-13 semble donc avoir un rôle principal et l'IL-4 un rôle additionnel. Chez les souris doublement déficientes, la production d'IL-5 et l'éosinophilie sont augmentées au moins autant que chez les sauvages mais de façon retardée. Il existe donc une voie indépendante de l'IL-4 et de l'IL-13 qui assure l'expression de l'IL-5 et l'éosinophilie et qui permet le développement d'une réponse de type Th2 [259].

Un nouveau lien entre l'IL-4, les éosinophiles et les cellules T a été récemment proposé. En l'absence de LB et LT, donc en l'absence de système immunitaire adaptatif, chez des souris infestées par *Nippostrongylus brasiliensis*, des cellules IL4⁺ mais ni de type B ni de type T sont recrutées dans les poumons avec la même cinétique que chez les souris sauvages. Ces cellules IL4⁺ recrutées néanmoins en faible quantité sont des éosinophiles sécrétant l'IL-4 mais incapables de dégranuler. Si on apporte des LT CD4, que le groupe donneur soit normal ou déficient en IL-4, en IL-4 et IL-13 ou en STAT-6 (qui est phosphorylé en réponse à des cytokines ou à des facteurs de croissance, puis agit comme activateur de la transcription après sa translocation nucléaire) (cf *supra*), les éosinophiles dégranulent au site d'infestation et créent des dommages tissulaires. Il faut cependant que ces cellules T aient été au préalable stimulées avec un Ag adéquat. Par conséquent les cellules Th confèrent une spécificité antigénique à la toxicité de l'éosinophile mais pas à la réponse envers les cytokines [397]. Finalement, en l'absence de l'IL-4, des mécanismes additionnels existent pour recruter des

éosinophiles et détruire les parasites, ce qui n'exclut pas que dans les infestations naturelles (mécanisme similaire à celui décrit précédemment pour *Nippostrongylus* [397]) le signal IL-4



IL-4 R : Récepteur pour IL-4 R

Figure 21 : Place de l'IL-4 dans des infestations parasitaires par des Nématodes (*L. sigmodontis*, *B. malayi*, *N. brasiliensis*, *O. volvulus*) induites expérimentalement chez la souris.

et la production de cette cytokine par les LT soit néanmoins un composant important de la réponse immune de l'hôte.

Les souris sauvages immunisées détruisent une grande quantité de larves d'*Onchocerca volvulus* en parallèle avec l'augmentation des concentrations en IL-4, IL-5 et celle des éosinophiles. Chez les souris déficientes en IL-4 et immunisées, la protection est moins efficace et les éosinophiles moins présents malgré la présence de l'IL-5. L'IL-4 semble donc avoir un rôle central et indépendant de l'IL-5 dans l'établissement de l'immunité [193]. L'infestation humaine par *O. volvulus* est responsable d'une kératite qui a la particularité d'être biphasique, caractérisée par une majorité de neutrophiles dans les 3 premiers jours puis par un afflux d'éosinophiles. La cornée étant avasculaire, les éosinophiles présents sont forcément recrutés à partir de la circulation sanguine. Les souris IL-4 KO ne développent pas de pathologie cornéenne et ne présentent pas de diminution de l'éosinophilie sanguine. L'IL-4 serait impliquée dans le passage des éosinophiles dans la cornée [334]. *In vitro*, l'IL-4 favorise l'expression de la P-sélectine sur les cellules endothéliales qui favorise l'attachement des éosinophiles. Chez des souris déficientes en P-sélectine, le recrutement des éosinophiles est très diminué [197]. L'injection d'Ag d'*Onchocerca volvulus* dans la cornée chez des souris normales induit l'augmentation de PECAM-1, VCAM-1 et ICAM-1 dans les vaisseaux du limbe, l'expression d'ICAM-1 présentant un plateau d'augmentation à 12h et qui dure jusqu'à J7. Les Ac anti ICAM-1 inhibent le recrutement des éosinophiles [196]. L'injection intrastromale d'IL-4 et d'IL-13 augmente l'expression d'ICAM-1 sur les vaisseaux du limbe et celle d'Ac anti IL-4 ou anti IL-13 diminue l'expression de ICAM-1 ainsi que le recrutement des éosinophiles, l'IL-4 étant plus efficace que l'IL-13. Finalement, l'IL-4 et l'IL-13 dans une moindre mesure, sont responsables du passage des éosinophiles dans la cornée en induisant l'expression d'ICAM-1 et de la P-sélectine [34].

De l'analyse des modèles parasitaires murins présentés ici (*L. sigmodontis*, *B. malayi*, *N. brasiliensis*, *O. volvulus*), il ressort que l'IL-4, produite par des LT CD4⁺ stimulés ou par des éosinophiles locaux, intervient dans le recrutement des éosinophiles sur le site de l'infestation en favorisant notamment leur migration tissulaire et participe également à l'élimination des parasites en induisant la différenciation des LT en LTh2 directement ou en potentialisant l'action de l'IL-13 (Figure 21).

Chémoattractants chez les Nématodes

L'IL-5 est une interleukine qui a un rôle majeur sur l'activation et la multiplication des éosinophiles ainsi que sur leur devenir, mais l'adhésion des éosinophiles est aussi une étape importante qui conditionne parfois leur présence dans les tissus. La migration induite par des chémoattractants est aussi un facteur assurant une éosinophilie tissulaire massive. En outre, les interleukines peuvent être inductrices des chémoattractants, comme l'IL-4 qui induit la synthèse de l'ARNm de l'éotaxine de façon temps et dose dépendante dans les fibroblastes du derme, l'éotaxine favorisant ensuite le recrutement des éosinophiles [286]. On peut supposer que le même type d'implication de ces différentes molécules a lieu dans les helminthiases.

L'éotaxine, chémokine dont le CCR3 est le récepteur, est un puissant chémoattractant très spécifique des éosinophiles. Une injection intrastromale d'IL-12, bien qu'elle induise une diminution des cytokines de type 2 (IL-4, IL-5 et IL-13), est aussi associée à une augmentation de chémokines actives sur les éosinophiles comme l'éotaxine et à un afflux d'éosinophiles [335]. Avec des souris éotaxine KO, le recrutement des éosinophiles dans la cornée de souris infestées par *O. volvulus* est très diminué mais pas complètement aboli à J1 et n'est que peu modifié à J8. L'éotaxine intervient dans le développement de la kératite de l'onchocercose en assurant le recrutement précoce des éosinophiles en coopération avec d'autres chémoattractants [362]. Comme l'éosinophilie cornéenne n'est majoritaire qu'après J3, ce mécanisme est peut-être mineur dans la situation naturelle mais est capable de compenser la diminution, mais pas l'absence, des IL-4 et IL-13. Le cas de l'onchocercose montre bien que plusieurs mécanismes impliquant différentes IL peuvent avoir des rôles complémentaires afin d'assurer la présence des éosinophiles. Chez des souris immunisées avec larves irradiées puis infestées par des larves d'*Onchocerca volvulus*, le traitement avec un Acm anti CCR3 conduit à une diminution des éosinophiles dans le site d'infestation et à une abolition de l'immunité protectrice. De plus, la survie des parasites lors de la deuxième infestation chez les souris immunisées augmente significativement par rapport à celle observée chez les souris naïves qui ont reçu le même traitement [2].

L'ankylostome *Necator americanus* sécrète une protéase capable de cliver l'éotaxine ; ce parasite peut donc potentiellement empêcher le recrutement des éosinophiles mais il est difficile d'être affirmatif en l'absence d'étude avec des Ac anti éotaxine ou avec des souris déficientes en éotaxine [81]. Dans une récente étude de Babayan *et al.* [17] sur la comparaison des réponses des souris C57BL/6 et BALB/c lors d'infestation primaire avec *Litomosoides sigmodontis*, l'analyse des exsudats pleuraux montre que la concentration en éotaxine est plus élevée chez les souris résistantes C57BL/6, et les concentrations locales en IL-4, IL-5, et l'infiltration éosinophilique dans les tissus pulmonaires sont également augmentées. L'augmentation de la cellularité de l'exsudat pleural, plus marquée chez les souris C57BL/6, pourrait expliquer les concentrations élevées de cytokines *in vivo*. Bien que les facteurs initiaux responsables de l'accumulation intense des leucocytes chez les souris C57BL/6 n'aient pas été identifiés, il est possible que la mue en stade 4 soit incriminée [17]. Puisque l'activation de l'éotaxine peut induire une éosinophilie chez des souris IL-5 déficientes [294], il n'est pas

impossible qu'il y ait un mécanisme indépendant de l'IL-5, impliquant l'éotaxine, qui soit responsable en partie du recrutement des éosinophiles dans les filarioses.

Certaines chémokines, comme MCP-1, MCP-3 ou MCP-5 sont de puissants chémoattractants des éosinophiles, et ont en commun avec l'éotaxine leur action via le CCR3. La création d'un Ac anti CCR3 spécifique des éosinophiles de souris a permis de montrer que lors d'infestation avec *Nippostrongylus brasiliensis* chez la souris ce récepteur est important pour la mobilisation des éosinophiles [156]. De même, lors d'infestation primaire avec *Trichinella spiralis* chez des souris CCR3 déficientes, les éosinophiles, au contraire des mastocytes, ne sont pas recrutés dans la muqueuse du jéjunum et sont absents dans les muscles squelettiques autour des larves enkystées. Le nombre de kystes musculaires augmente et celui des larves enkystées mortes diminue. Puisque les éosinophiles n'infiltrent pas les tissus périphériques mais augmentent dans le sang, l'IL-5 ne peut être incriminée et, étant donné que les réponses des mastocytes sont normales chez les souris déficientes, il semble que l'occupation du CCR3 des éosinophiles soit indispensable.

L'absence de CCR3 ne modifie pas la production d'éosinophiles par la moelle osseuse ni leur sortie vers le secteur sanguin. Comme ce récepteur a un rôle majeur dans l'adhésion, la migration transendothéliale et la rétention des éosinophiles dans les organes, la modification des éosinophilies tissulaires chez les souris déficientes en CCR3 reflète sûrement une altération de la perméabilité vasculaire locale et des caractéristiques d'adhésion. Néanmoins, le recrutement des éosinophiles dans le cæcum n'a été que partiellement diminué, ce qui suggère l'existence d'un autre récepteur spécifiquement exprimé dans ce tissu. Finalement, le CCR3 est nécessaire au recrutement des éosinophiles lors d'infestation avec *Trichinella spiralis* mais son expression est spécifique des tissus [161].

La participation du médiateur lipidique PAF ou de son récepteur (PAFR) aux helminthiases est peu documentée. La fixation du PAF sur le récepteur spécifique PAFR induit notamment le chimiotactisme et l'activation des éosinophiles et une altération de la perméabilité vasculaire. L'infestation par *Nippostrongylus brasiliensis* induit une augmentation des concentrations systémique et intestinale du PAF pendant l'expulsion du ver et les vers adultes peuvent synthétiser une acétylhydrolase capable d'inhiber l'activité de ce médiateur [36]. Chez des souris PAFR déficientes infestées par *Strongyloides venezuelensis*, ni la migration larvaire ni l'établissement des vers dans l'intestin ne sont modifiés mais une diminution de la fécondité et un retard de l'expulsion en comparaison avec les souris sauvages infestées sont observés. En parallèle, le nombre des éosinophiles circulants et tissulaires diminue ainsi que les concentrations en IL-4 et en IL-5 à J7. Puisque la migration des éosinophiles est défectueuse précocement dans l'infestation, il est possible que le défaut de réponse Th2 soit en fait secondaire à une réduction de l'afflux d'éosinophiles chez ces souris PAFR déficientes, selon le même type de mécanisme que celui suggéré dans l'infestation avec *N. brasiliensis* [309].

Des facteurs chimiotactiques pour les éosinophiles peuvent aussi être sécrétés par les vers, comme par exemple par *Ostertagia ostertagi* dont les produits d'Excrétion-Sécrétion contiennent une ECF (eosinophil chemotactic factor)-lectine. La migration des éosinophiles

dans ce cas est induite s'il y a un gradient de concentration de l'ECF, les éosinophiles migrant vers la plus grande concentration [214]. D'autres parasites appartenant aux familles des Ascaridés, des Strongylidés, des Metastrongylidés aussi bien que des Cestodes ou des Trématodes secrètent aussi des chémoattractants pour les éosinophiles [96]. L'autre mécanisme d'attraction des éosinophiles dépendant des parasites est la production des chémoattractants par les cellules de l'hôte elles-mêmes. Par exemple, les cellules mononuclées sanguines de poneys stimulées par un Ag de *Strongylus vulgaris* fabriquent une cytokine (non identifiée dans cette étude) ayant une activité chimiotactique pour les éosinophiles [96].

La protection contre les Trichinellidés ne semble pas dépendre des éosinophiles ; les macrophages sont dominants autour des larves musculaires de *T. spiralis* jusqu'à J55, mais ces macrophages sont des macrophages « activés alternativement », c'est-à-dire qu'ils n'ont pas de propriétés destructrices [31]. L'IL-4 et l'IL-13 (Th2 cytokines) sont des « clés » de l'induction de cette population activée de macrophages. Les macrophages péritonéaux de souris oralement infestées avec *T. spiralis* produisent la protéine Ym1 ou ECF-L (eosinophil chemotactic factor-lectine), une lectine [65] qui est un chémoattractant des éosinophiles, qui, dans ce cas pourrait expliquer l'hyperéosinophilie. Le MIF est une cytokine humaine qui possède une activité chimiotactique pour les monocytes/macrophages ainsi qu'une activité enzymatique. La découverte d'homologues ou d'orthologues (conservation de séquence ou de fonction) de MIF chez les L4 de *Trichinella spiralis*, les adultes de *Trichuris muris*, l'adulte filaire *Brugia pahangi* [338] et chez *Brugia malayi* laisse supposer que le MIF pourrait être une molécule importante dans le lien entre les macrophages et le recrutement des éosinophiles durant l'infestation par ces nématodes [134]. Lors des infestations par *Brugia malayi*, le recrutement péritonéal des éosinophiles chez des souris déficientes en IL-4 et IL-5 montre que ce recrutement dépend de l'IL-5 mais aussi partiellement de l'IL-4. L'étude des macrophages recrutés dans ce modèle montre qu'ils sont « activés alternativement », de façon entièrement dépendante de l'IL-4. En présence de l'IL-4, on note une augmentation très importante de l'induction de ECF-L/Ym1 chez les macrophages activés de souris allergiques [460]. Parallèlement, l'administration d'un homologue du MIF secrété par *Brugia* induit l'augmentation de la transcription de Ym1 par les macrophages. De ces données, il pourrait être avancé que le parasite considéré sécrète le MIF qui induit indirectement le recrutement des éosinophiles après production de Ym1 par les macrophages [134]. Néanmoins, cette hypothèse est remise en cause par une étude récente qui montre que chez des souris MIF déficientes infestées par *Taenia crassiceps*, la charge parasitaire est augmentée mais les

éosinophiles sont recrutés en plus grande quantité que chez les sauvages alors que le nombre de macrophages a diminué : le recrutement des éosinophiles apparaît alors indépendant de l'IL-5 ou du MIF.

En plus des IL-4 et IL-5, plusieurs facteurs chémoattractants sont par conséquent impliqués dans le recrutement des éosinophiles lors d'infestation par les Nématodes (Figure 22) :

- le PAF (produit par les macrophages, les neutrophiles, les basophiles, les éosinophiles, les cellules endothéliales et les plaquettes) [309]
- l'éotaxine et les MCP-1, MCP-3, MCP-5
- la lectine Ym1 produite par les macrophages activés alternativement par le MIF ou des homologues libérés par le parasite lui-même
- des composés (Ym1 et autres) libérés directement par les parasites.

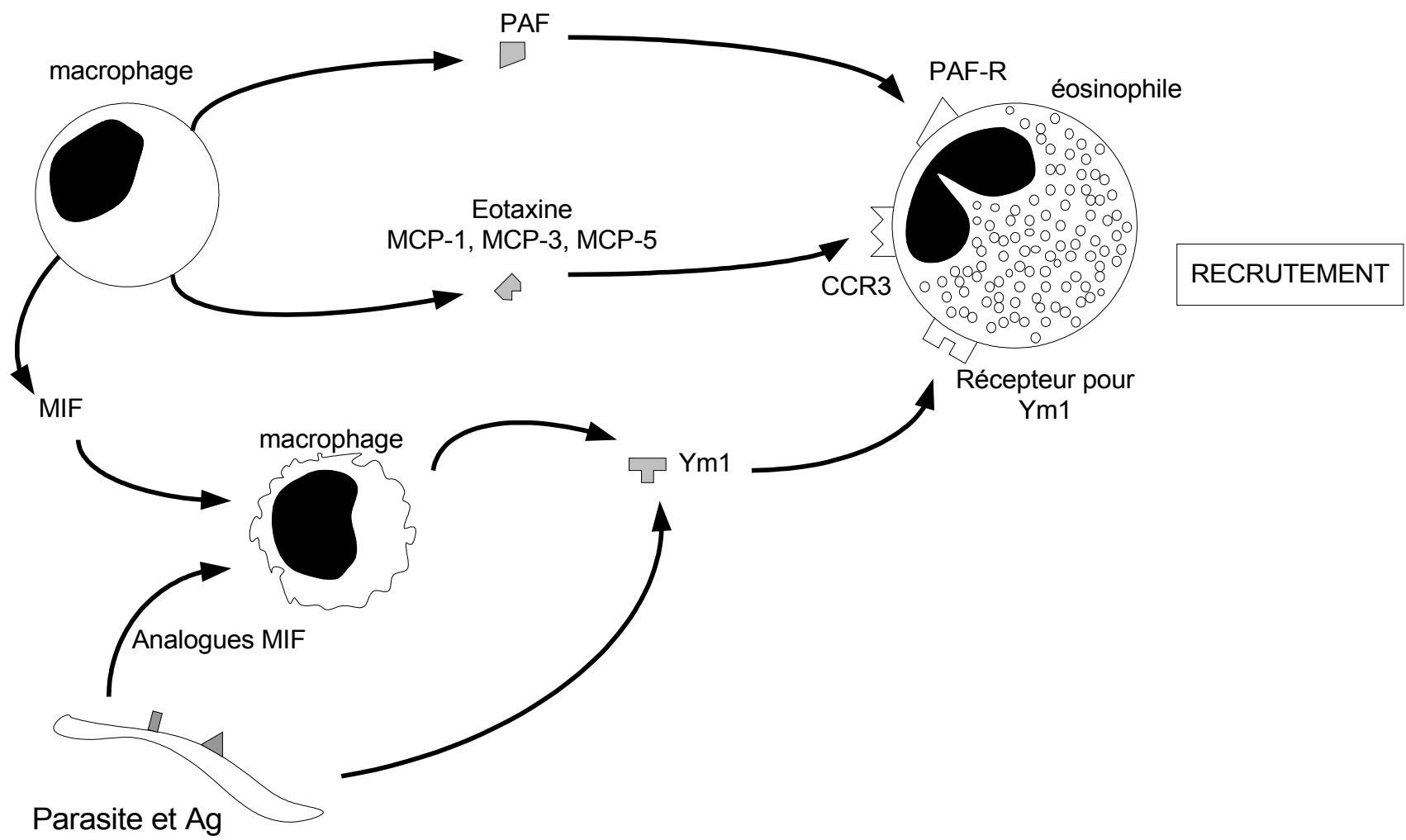


Figure 22 : Intervention de facteurs chémoattractants autres que les IL-4 et IL-5 dans le recrutement des éosinophiles lors d'infestation parasitaire par des Nématodes.

Le granulome éosinophilique et la schistosomiase

Bien que les fonctions des éosinophiles ne soient pas clairement établies dans les infestations avec *S. mansoni*, leur recrutement est pourtant assez bien étudié. Dans la schistosomiase, la pathologie qui résulte de l'infestation avec l'helminthe *S. mansoni* est principalement causée par la réaction de l'hôte aux œufs du parasite qui sont dans le système porte veineux puis piégés dans le foie. Il y a alors formation d'un granulome hépatique autour de ces œufs et la réaction inflammatoire associée, en particulier la fibrose portale, peut entraîner une hypertension, principale cause de morbidité et de mortalité dans cette maladie [70]. En outre, les cercaires migrant vers le système circulatoire mésentérique passent par les poumons. Le granulome pulmonaire est aussi une réaction fréquente mais il est moins pathogène que le granulome hépatique. Le granulome est une réponse de séquestration obtenue par un groupe d'agents très divers. Ils sont formés par un afflux de leucocytes inflammatoires qui s'agrègent et, dans le cas des granulomes induits par une maladie parasitaire, les éosinophiles constituent la majorité des leucocytes rencontrés. Les cytokines sont reconnues depuis peu comme un important groupe de médiateurs dans la formation des granulomes.

L'infestation de souris avec des cercaires est un modèle qui reflète assez bien l'infestation naturelle, dont la réaction hépatique. Chez des souris IL-4 KO et sauvages infestées avec des cercaires et sacrifiées à 8 semaines, la charge parasitaire est semblable dans tous les groupes de souris mais la taille du granulome hépatique est diminuée en l'absence d'IL-4 et/ou d'IL-13. Les éosinophiles ne représentent que 28% des cellules du granulome chez les IL-4 KO alors que chez les souris sauvages ce pourcentage atteint 46 %. Au contraire, l'inhibition de l'IL-13 (par sIL-13R α 2-Fc (soluble IL-13 receptor α 2-Fc fusion protein)) chez les souris sauvages entraîne une augmentation de 46% à 64% du recrutement local des éosinophiles. En dépit du rôle apparemment contradictoire de l'IL-13 et de l'IL-4 pour l'éosinophilie tissulaire, un effet inhibiteur combiné est observé quand les souris IL-4 déficientes sont traitées avec l'inhibiteur de l'IL-13 (sIL-13R α 2-Fc) : chez ces souris, la proportion des éosinophiles du granulome passe de 28% à moins de 10%. Par conséquent, chez les souris IL-4 KO, l'IL-13 semble servir d'intermédiaire pour assurer une éosinophilie tissulaire alors qu'elle antagonise partiellement le recrutement des éosinophiles chez les souris sauvages. Les concentrations en IL-4, IL-5, IL-10 et IL-13 sont élevées chez les souris sauvages et le blocage de l'IL-13 n'a pas d'effet sur leur production. Par contre, chez les

souris IL-4 KO, les productions de cytokines sont diminuées mais une faible quantité d'IL-13 suffit à expliquer la formation d'un granulome. L'IL-4 et l'IL-13 participent donc toutes les deux activement à la formation du granulome hépatique, mais elles ont aussi des rôles uniques : l'IL-13 a un rôle direct et dominant dans la fibrose hépatique et n'est pas nécessaire à la différenciation ou au recrutement des éosinophiles alors que l'IL-4 est la principale responsable du développement de la population des éosinophiles dans le granulome [70].

Il est possible d'induire la formation d'un granulome pulmonaire avec des Ag d'œuf de *S. mansoni* et les résultats pour l'IL-4 et l'IL-13 sont assez semblables à ceux obtenus avec le granulome hépatique. Alors qu'avec un Ac anti IL-13 il n'y a pas de modification de la composition du granulome pulmonaire et qu'avec un Ac anti IL-4 le recrutement des éosinophiles est diminué de 60%, l'association des deux entraîne une diminution de 80% des éosinophiles [368]. En outre, dans ce modèle, chez des souris déficientes en IL-4 la diminution de l'éosinophilie sanguine est associée à une réduction des IL-5 et IL-10 et chez les souris doublement déficientes (IL-4 et IL-13) la production en IL-5 et l'infiltration éosinophilique sont complètement inhibées [69, 259, 368].

Cet effet important de l'IL-4 dans le recrutement des éosinophiles est peut-être dû à un effet en boucle. En effet, en l'absence d'éosinophilie précoce, la production en IL-4 est absente tandis que dans les gros granulomes, les éosinophiles constituent 90% des cellules et sont la principale source en IL-4 [69, 365]. Plus récemment, *ex vivo*, Chen *et al.* [66] ont montré que l'IL-4 peut induire la différenciation des éosinophiles en cellules productrices d'IL-4, un peu comme elle induit la différenciation de lymphocytes CD4⁺ naïfs en LTh2. L'IL-4 a donc un rôle pivot, en dirigeant la différenciation des progéniteurs [66]. Finalement, il est donc possible que l'IL-4 déjà présente contrôle la production de l'IL-5, principale interleukine des éosinophiles, induisant une légère éosinophilie précoce, puis que les éosinophiles eux-mêmes auto-entretiennent cette réaction en produisant l'IL-4 [369]. Les éosinophiles seraient donc responsables de l'orientation du profil de cytokines [69, 365].

L'induction de granulomes pulmonaires est un modèle expérimental souvent utilisé. Les granulomes sont induits soit avec des dérivés de protéines purifiés (PPD (purified protein derivative of mycobacteria)) de *Mycobacteria bovis*, soit avec des Ag d'œuf de *Schistosoma mansoni* (SEA (schistosomal soluble egg antigen)), qui sont dans les deux cas immobilisés sur des perles d'agarose. Les souris sont d'abord immunisées par injection sous-cutanée de PPD ou d'œufs de *Schistosoma mansoni*, puis la deuxième infestation a lieu par injection intraveineuse de perles de sépharose couplées à des PPD ou à des SEA [72, 349, 390]. Les

granulomes induits par les perles couvertes de PPD sont en relation principalement avec les cytokines associées aux Th1. Ils sont dits de type 1. Ceux induits par les perles couvertes de SEA sont en relation avec les cytokines associées aux Th2 et sont dits de type 2. Ils ont fait l'objet de nombreuses études comparatives et l'analyse de leur évolution pendant 8 jours montre très clairement que chacun présente des profils cellulaires, de chémokines et de cytokines assez spécifiques. La composition cellulaire du granulome de type 2 est nettement dominée par les éosinophiles à partir de J4 et jusqu'à J8. Le niveau des protéines reflète le niveau des transcripts des chémokines et, dans le granulome de type 2, l'expression des ARNm des chémokines MCP-3 (CCL7), MCP-5 (CCL12), éotaxine (CCL11) et TARC (thymus activation-related chemokine) (CCL17) est plus marquée que dans le granulome de type 1. Les MCP-1 (CCL2), MCP-2 (CCL8), TCA-3 (CCL1) et MDC (CCL22) sont aussi plutôt induits mais ils sont exprimés dans les deux types de granulome. L'étude des cytokines IFN γ , IL-4, IL-10, IL-12, et IL-13 dans les deux types de granulomes montre que l'IL-4 et l'IL-13 sont spécifiques du type 2 alors que l'IL-10 et l'IL-12 sont exprimées dans les deux types de lésions avec, cependant, une expression plus tardive dans le type 2. La neutralisation de ces cytokines à l'aide d'Ac spécifiques a permis d'étudier leur relation avec les niveaux d'expression des chémokines ainsi que leur relation avec la taille du granulome. Les seules cytokines ayant un impact sur la taille des granulomes sont l'IFN γ , l'IL-4 et l'IL-13 dans une moindre mesure.

La relation entre ces cytokines et l'expression des chémokines est rapportée dans le tableau 10 : on note que la transcription de l'éotaxine, du MDC, du TARC, et du TCA-3 est favorisée par les cytokines IL-4, IL-10, ou IL-13, alors que la transcription de MIP-1 β , MCP-1, MCP-2, MCP-3, et MCP-5 est potentiellement induite par des cytokines de type Th1 ou de type Th2 [69, 72, 349, 390].

Cependant, le traitement avec des Ac anti éotaxine *in vivo* ne modifie que très peu le recrutement des éosinophiles [367]. Par contre, pour MCP-3, *in vivo*, l'administration d'un Ac anti MCP3 montre que le MCP-3 est responsable de 40 à 50% du recrutement des éosinophiles. La combinaison de la déplétion en éotaxine et en MCP-3 ne réduit pas davantage le recrutement, confirmant le faible rôle de l'éotaxine dans la formation du granulome. Mais la neutralisation de MCP-3 *in vivo* ne réduit pas non plus complètement le recrutement des éosinophiles, donc le MCP-3 a un rôle important mais pas unique. Il faudrait peut être étudier l'action de l'éotaxine-2, dont la production est induite par une surexpression transgénique de l'IL-4 dans le poumon, via un mécanisme STAT-6 dépendant [484]. Par ailleurs, d'une part les Ac anti IL-4 abrogent l'expression des transcripts de MCP-3 et d'autre

Tableau 10 : Formation d'un granulome de type 2 induit par une infestation parasitaire : effets des différents types de cytokines sur la taille du granulome et sur l'expression des chémokines induisant le recrutement cellulaire (d'après 72). (0 : pas d'effet).

	Cytokine spécifique du type 1	Cytokines mixtes		Cytokines spécifiques du type 2	
	IFN γ	IL-12	IL-10	IL-13	IL-4
Taille du granulome	Diminuée	0	0	Augmentée	Augmentée
MCP3	réprimée	réprimée	0	induite	induite
MCP5	0	réprimée	0	0	induite
Eotaxine	0	réprimée	0	induite	induite
TARC	réprimée	0	0	induite	induite
MIP1 α	0	réprimée	0	0	0
MCP1	0	réprimée	induite	induite	induite
MIP- β	0	réprimée	0	induite	induite
MCP2	réprimée	réprimée	0	induite	induite
TCA3	0	réprimée	0	induite	induite
MDC	réprimée	réprimée	0	0	induite

part les cellules endothéliales en présence de l'IL-4 peuvent libérer MCP-3. Il semble donc que l'IL-4 pourrait induire la production du MCP-3 qui recruterait alors les éosinophiles [390].

L'embolisation d'œufs plutôt que d'Ag pour induire la formation d'un granulome pulmonaire donne des résultats similaires. Néanmoins, dans cette étude, MIP-1 α est associée, comme l'éotaxine et TCA3, à la réponse de type 2 et à l'exacerbation de la réaction granulomateuse. Cependant, la différence de niveau de MIP-1 α entre les réactions de type 1 et 2 est moins marquée que pour les niveaux des deux autres chémokines. Une autre chémokine qui semble être associée aux granulomes de type 2 avec ce modèle *in vivo* est MIP-1 γ , qui pourrait avoir un rôle pour le recrutement des lymphocytes et des monocytes.

Certains auteurs estiment que l'induction de granulomes pulmonaires, même avec des œufs de *Schistosoma*, n'est pas un modèle très représentatif de la réalité de l'infestation naturelle. Il semble en particulier que l'injection intrapéritoneale, et non intraveineuse, d'œufs de *Schistosoma* soit un modèle plus approprié pour l'étude du développement du granulome hépatique [328]. Néanmoins, quel que soit le modèle utilisé, le granulome induit par les œufs de *Schistosoma* est d'abord dominé par les cytokines de type 1 puis devient de type 2.

Il y a donc une régulation croisée des cytokines Th1/Th2 qui est à l'origine de l'expression d'un schéma complexe de chémokines pendant la formation des granulomes de type 1 et 2. Les cytokines ont un effet régulateur de la réponse à une infestation parasitaire et leur très grande diversité dans la réaction granulomateuse de type 2 pourrait expliquer qu'aucune d'entre elles ne soit strictement nécessaire à la mise en place d'une réaction donnée comme le recrutement des éosinophiles.

Conséquences de la présence des éosinophiles

L'existence d'une éosinophilie lors de parasitose n'est pas toujours protectrice et la frontière est souvent difficile à mettre en évidence expérimentalement. Les éosinophiles présents peuvent soit participer à l'isolement puis à la destruction de différents stades parasitaires, soit être inopérants, voire préjudiciables aux mécanismes protecteurs mis en place par l'hôte. Du point de vue du parasite, la présence des éosinophiles peut induire un évitement passif ou des mécanismes plus actifs permettant la modulation de la réponse protectrice de l'hôte.

Pour l'hôte

Les modes de défense de l'hôte en cas de parasitose sont l'expulsion, l'encapsulation ou la destruction, un mode n'excluant pas l'autre. Les helminthes présentent une large surface non phagocytable et sont donc sensibles à une série de mécanismes effecteurs différant quantitativement et qualitativement de ceux actifs contre des parasites plus petits ou contre des cellules anormales.

Rôle des éosinophiles dans l'encapsulation et l'expulsion

L'encapsulation par l'hôte est en fait la formation d'un granulome afin d'isoler le parasite et, comme nous l'avons vu précédemment, c'est un mécanisme réactionnel important dans les schistosomiasis. Le granulome est composé de leucocytes et les éosinophiles sont très souvent impliqués lorsqu'il s'agit de réactions parasitaires, ce qui suggère qu'ils ont une fonction importante. Comme dans le cas des schistosomiasis, leur présence n'est pas forcément nécessaire, non seulement pour la formation du granulome mais aussi pour contrôler l'infestation. En revanche, il existe des parasitoses au cours desquelles le granulome éosinophilique participe à la protection de l'hôte.

Le cas des infestations primaires par *Litomosoides sigmodontis* chez les souris illustre bien la variabilité des réponses granulomateuses. Le contrôle de l'infestation a lieu grâce à la formation de nodules inflammatoires autour des filaires adultes vivantes qui peuvent éventuellement mourir en quelques semaines. A J30 post-infestation, ces granulomes existent chez les souris IL-5 transgéniques mais pas chez les sauvages ; ce processus dépendrait de la quantité d'éosinophiles présents. A ce moment de l'infestation, chez les souris transgéniques, les filaires sont localisées dans la cavité pleurale et 41% d'entre elles sont lysées. Les

granulomes sont constitués de macrophages et d'éosinophiles, et certains sont entourés d'anneaux acidophiles, appelés dépôts de Splendore-Hoeppli, phénomène illustrant la libération de la MBP par les éosinophiles [267]. A J80, des granulomes composés d'éosinophiles et de neutrophiles sont formés autour des filaires même chez les souris sauvages, mais ce sont les neutrophiles qui sont essentiellement en contact avec le ver. La neutralisation de IL-5 grâce à des Ac anti IL-5 chez les souris sauvages empêche l'accumulation de neutrophiles et d'éosinophiles dans la cavité thoracique et prévient la formation du nodule [11]. Cependant, la genèse de ces nodules inflammatoires requiert principalement des neutrophiles : un traitement avec un Ac anti G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) aboutit au même résultat qu'avec un Ac anti IL-5, même en présence des éosinophiles [11]. Ainsi, le contrôle des helminthes est assuré par les neutrophiles, l'IL-5 agissant indirectement sur leur migration (Figure 23). En présence d'Ac anti IL-5, la production de plusieurs cytokines par des macrophages essentiellement (TNF α , G-CSF...) et favorisant l'accumulation de neutrophiles est diminuée. Comme l'adhérence des macrophages *in vitro* est favorisée par la présence d'éosinophiles ou de leurs produits de dégranulation, et comme d'autre part les éosinophiles peuvent former un regroupement avec les macrophages dans certaines helminthiases (trichinellose ou infestation par *L. sigmodontis*) les éosinophiles stimulés par l'IL-5 induisent la production par les macrophages de puissants chémoattractants pour les neutrophiles [11]. Finalement, chez les souris, il semblerait que l'IL-5 n'ait pas de rôle précoce dans les infestations primaires, certainement en raison d'un retard de l'accumulation des éosinophiles dans le tissu sous-cutané. Dans ce cas, les macrophages agiraient comme les effecteurs en libérant de l'oxyde nitreux (NO \bullet), capable de s'immiscer dans les interstices entre les collagènes cuticulaires des nématodes [351]. Contrairement aux infestations primaires dans lesquelles l'IL-5 intervient relativement tardivement, les éosinophiles sont recrutés dès le début d'une infestation secondaire chez les souris en raison d'une libération plus précoce de l'IL-5. Dans ce cas, ces cellules jouent le rôle d'effecteur en libérant dans le milieu différents messagers chimiques et des enzymes au cours de la dégranulation mais elles ne sont pas prépondérantes dans la formation d'un granulome. Il existe donc des mécanismes différents, s'appuyant sur la coopération cellulaire dans le temps et dans l'espace, selon le statut de l'hôte et dans lesquels les éosinophiles ont des rôles variés mais essentiels (Figure 23) [266]. De même, lors de l'infestation secondaire des souris par *Brugia*, l'élimination des parasites est accélérée par rapport aux infestations primaires. Les granulomes péritonéaux sont principalement composés de macrophages, d'éosinophiles et de

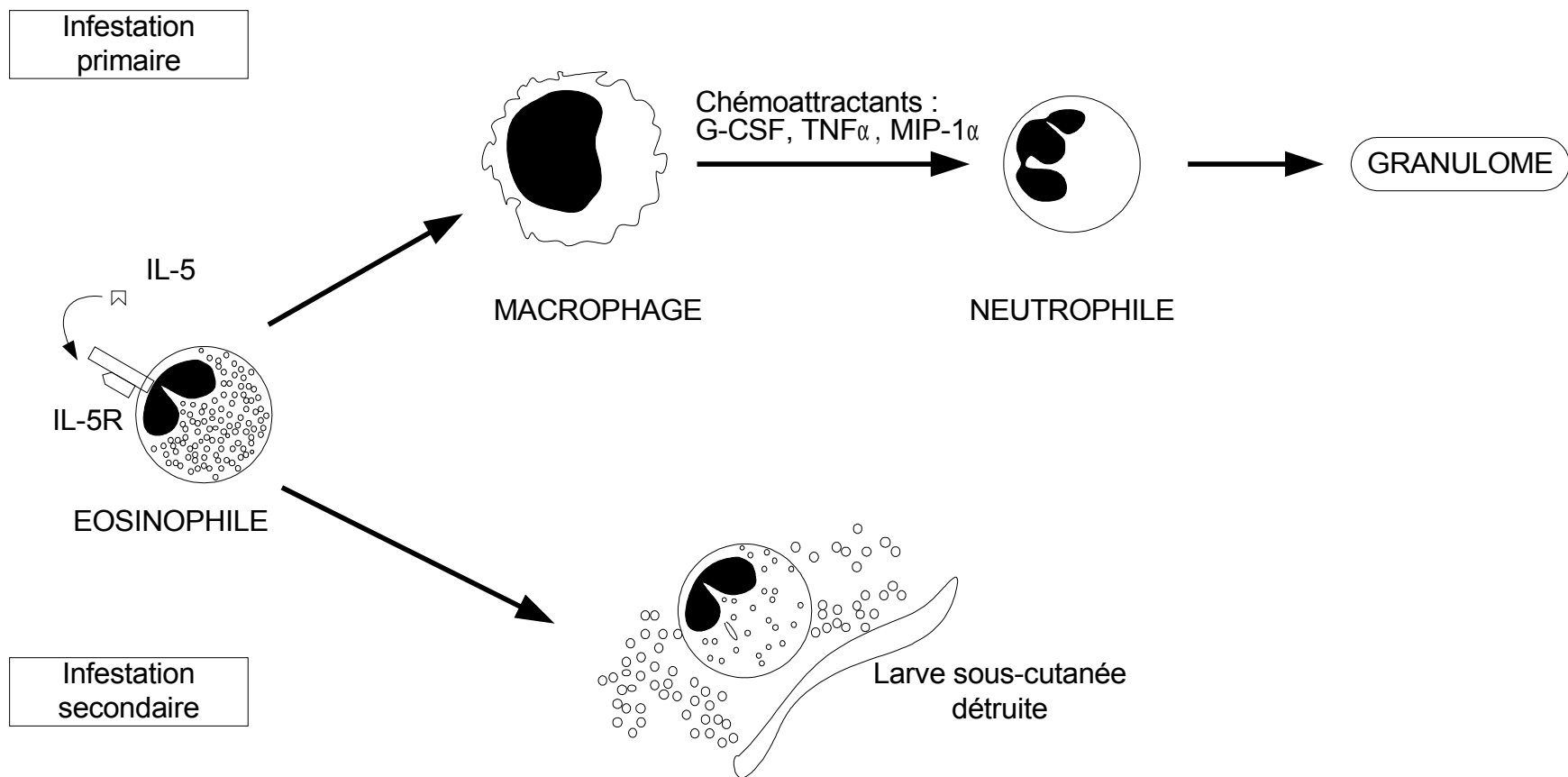


Figure 23 : Coopération entre éosinophiles, macrophages et neutrophiles lors d'infestation primaire et secondaire par *Litomosoides sigmodontis* chez la souris.

quelques lymphocytes B et contiennent des larves, parfois viables mais qui sont le plus souvent à des stades différents de désintégration. En microscopie électronique par transmission, on observe la pénétration des éosinophiles sous la cuticule des larves et leur association étroite avec les structures internes [350]. Un mécanisme de protection de l'hôte (élimination des parasites) contre *Brugia* consisterait en la formation d'un granulome autour de larves. L'encapsulation est donc un mode de défense qui peut concerner les stades larvaires ou adultes, selon les parasites et le statut de l'hôte, et qui nécessite le plus souvent l'action des éosinophiles.

Cette séquestration des larves n'est pas forcément au bénéfice de l'hôte. Le cas des larva migrans de *Toxocara canis* ou des œufs de *Schistosoma mansoni* en sont des illustrations notables. En effet, dans ces deux cas, la séquestration a un effet pathogène majeur : la formation d'un granulome éosinophilique rétinien pouvant entraîner la cécité ou celle d'un granulome hépatique induisant une fibrose [101].

L'expulsion est un mode de défense qui concerne principalement les parasites intestinaux adultes. La comparaison de l'hyper-contractilité des muscles lisses intestinaux chez des souris déficientes en IL-5 et sauvages lors d'infestation primaire par *Trichinella spiralis* montre que l'expulsion a également lieu chez les souris déficientes. Cependant, elle est retardée et l'intestin est un peu moins contractile : l'IL-5 et donc les éosinophiles auraient un rôle mineur au cours de l'expulsion. Il est aussi intéressant de noter que cette participation à l'expulsion et au changement de fonction musculaire n'a été constatée que dans les derniers stades de l'infestation [445]. Pour la plupart des parasites, un déficit en IL-5 et donc en éosinophiles ne modifie que très peu la contractilité des muscles lisses intestinaux et le temps nécessaire à l'expulsion. Encore une fois, il est possible que cette participation des éosinophiles varie en fonction des parasites. Ainsi, une étude récente sur le transfert oral d'ankylostomes adultes (*Ancylostoma ceylanicum*) chez des espèces tolérantes et non tolérantes a permis d'envisager un rôle pour les éosinophiles dans l'expulsion. En temps normal, ce sont les larves qui induisent l'éosinophilie de la muqueuse intestinale, alors que ce mécanisme est aboli avec un transfert d'adultes. Bien que n'ayant pas confirmé définitivement le rôle protecteur des éosinophiles, les auteurs estiment tout de même concevable qu'ils soient impliqués dans l'expulsion des vers adultes [54].

Rôle des éosinophiles dans la destruction des parasites

Les éosinophiles peuvent s'attaquer à différentes espèces d'helminthes à des stades variables dont la destruction peut être précédée ou non d'une séquestration par un granulome. Quelle que soit l'organisation spatiale des éosinophiles présents, ils sont effecteurs grâce à leurs produits de dégranulation, ce mécanisme étant contrôlé par le milieu environnant. Néanmoins, les éosinophiles peuvent aussi être les intermédiaires d'autres actions mettant en jeu des mécanismes de coopération cellulaire, comme la présentation d'antigènes aux LT.

Produits de dégranulations des éosinophiles

Les expériences *in vitro* sur l'activation et la dégranulation des éosinophiles dans des modèles d'helminthiases sont assez nombreuses. Mais, selon les parasites et même parfois selon le couple parasite/hôte considéré, les données *in vivo* sont éparses et parfois contradictoires. Etant donné que la corrélation entre l'éosinophilie et les effets des produits de dégranulations des éosinophiles semble assez spécifique, nous nous contenterons de comparer les connaissances *in vitro* et *in vivo* pour chaque famille de parasite.

Schistosoma mansoni (Trématode)

In vitro, les protéines des granules des éosinophiles sont toutes plus ou moins toxiques pour les schistosomules (cercaires qui ont « perdu » leur queue lors de leur pénétration dans l'HD) de *Schistosoma mansoni*. Parmi celles-ci, on trouve:

- la MBP, protéine majoritaire des granules des éosinophiles, très toxique [86],
- l'ECP qui paralyse de façon réversible les larves mais ne les tue pas, même à de fortes concentrations [261],
- l'EDN (appelée aussi EPX) moins toxique que l'ECP [261],
- l'EPO qui tue les schistosomules de *Schistosoma mansoni* quand elle est combinée avec H₂O₂ et un halide (complexe entre un O et un halogène), formant un complexe EPO-H₂O₂-halide [194].

Malgré cette toxicité mise en évidence *in vitro*, les expériences *in vivo* sont plus controversées. Bien que les éosinophiles ne soient, dans les schistosomiasés, ni nécessaires à la formation du granulome ni essentiels à la diminution de la charge parasitaire, il n'en reste pas moins que les éosinophiles des granulomes hépatiques sont hypodenses, donc activés, et que leur population est très homogène entre 7 et 11 semaines. Cependant, dans cette étude sur les souris, les auteurs n'ont exploré que la production de cytokines et n'ont pas identifié les

protéines cytotoxiques certainement présentes puisque les éosinophiles des granulomes ont dégranulé [365].

Par ailleurs, les concentrations sériques en ECP et EDN chez des patients présentant une schistosomiase intestinale sont plus élevées que chez les patients sains, paludéens ou porteurs chroniques et elles excèdent même de loin celles des patients atopiques ou asthmatiques [433]. En outre, les mêmes auteurs ont montré un peu plus récemment que chez les patients atteints de schistosomiase, ceux chez lesquels le nombre d'œufs par gramme est inférieur à 1 000 ont une concentration sérique en EDN moins élevée que ceux chez lesquels le nombre d'œufs par gramme est supérieur à 1 000 [433, 434]. Les concentrations des protéines granulaires sont donc proportionnelles à l'intensité de la pathologie et sont en relation avec l'activité fonctionnelle des éosinophiles, mais on ne sait pas exactement quelles sont les circonstances exactes de l'action des éosinophiles dans les schistosomiasis, ni s'ils ont un rôle effectivement protecteur.

Les Ankylostomes

In vitro, les éosinophiles de volontaires infestés par *Necator americanus* produisent des superoxydes et ont une meilleure réponse chimiotactique. Le pourcentage d'éosinophiles hypodenses augmente de 34% à 80% pendant l'infestation [462].

Cependant, contrairement à d'autres espèces d'helminthes, il semble que, *in vivo*, l'absence d'éosinophiles circulants induite chez des souris IL-5 KO n'augmente pas la sensibilité des souris à l'infestation par des L3 d'ankylostomes puisque, après 6 semaines, le nombre de larves en comparaison avec des souris sauvages infestées est le même [252]. Ce résultat est assez surprenant compte tenu du fait que l'éosinophilie sanguine associée à ces helminthiases est prononcée [252, 462], que les concentrations sériques en ECP et EDN sont élevées chez les patients atteints d'ankylostomose et que l'EDN est même détectable dans les urines [434]. Ainsi, comme pour les schistosomiasis, les produits de dégranulation des éosinophiles sont toxiques *in vitro* et sont présents chez les malades *in vivo* mais l'absence des éosinophiles n'influe pas sur la protection de l'hôte.

Les Trichuroidea (Trichinelle, Trichure, Capillaria)

Les premières études *in vitro* sur les trichinelloses ont montré que la MBP endommage les larves nouveau-nées de *T. spiralis* : elles sont dures, immobiles et présentent un aspect granuleux [457]. Plus récemment, une étude comparée de la toxicité entre les différentes protéines envers les mêmes larves a montré que la MBP est toxique rapidement (1h), alors

que la toxicité de l'ECP s'exprime plus tardivement (3h) et augmente jusqu'à 12h, et que, enfin, l'EDN est moins toxique [166].

Cependant, *in vivo*, les rôles des éosinophiles sont controversés. Ainsi, d'une part, chez des souris sauvages ou IL-5 transgéniques infestées par des larves de *T. spiralis*, l'ajout d'Ac anti IL-5 n'a modifié ni la charge parasitaire ni le nombre de larves musculaires ou d'adultes intestinaux et ni la fécondité des femelles. Ces résultats montrent que les éosinophiles ne favorisent pas l'immunité contre les aspects variés de l'infestation par *T. spiralis* [178]. D'autre part, l'administration d'un sérum anti-éosinophile à des souris infestées induit une augmentation massive du nombre de larves musculaires : les éosinophiles auraient un rôle dans la phase systémique [158]. Plus récemment, Gurish *et al.* [161] ont montré grâce à des souris CCR3^{-/-} que les éosinophiles jouent un rôle dans la toxicité contre les larves. En effet, chez ces souris, le nombre de kystes musculaires, c'est-à-dire la charge larvaire, augmente et celui des larves enkystées mortes diminue. Ces résultats avec des souris CCR3 déficientes, chez lesquelles il y a un manque d'éosinophiles infiltrés dans les muscles squelettiques, sont en accord avec les expériences *in vitro* qui concluent que les éosinophiles humains et de souris sont cytotoxiques pour les larves de *Trichinella spiralis* [161]. Ces divergences de résultats sont peut-être liées à l'utilisation de souches de souris différentes et à l'utilisation d'une cible différente (IL-5, éosinophiles, CCR3), mais rendent difficile une extrapolation des résultats à l'homme.

Les Ascarides

Il a été précédemment vu que l'infestation par les Ascaridés entraînait une éosinophilie importante et que, quelle que soit la quantité d'éosinophiles, la protection de l'hôte était inchangée (cf *supra*). Dans les infestations avec *Toxocara canis*, les dommages pulmonaires chez des souris IL-5 déficientes sont moins marqués que chez les souris sauvages [423] et on observe une accumulation marquée de l'EPO dans les poumons entre 2 et 6 semaines [105]. De même, chez l'homme, les *larva migrans* sont à l'origine de granulomes éosinophiliques hépatiques et rétinien [101]. Il se pourrait donc que les éosinophiles présents dans les ascaridoses non seulement ne soient pas protecteurs mais aient même un rôle pathogène par leur dégranulation.

Les Trichostrongyloidea (*Nippostrongylus*)

Comme nous l'avons déjà évoqué, l'éosinophilie marquée chez les souris IL-5 transgéniques n'induit pas toujours une augmentation nette de la résistance de l'hôte. Lors de l'infestation avec des L3 de *Nippostrongylus brasiliensis* par voie sous-cutanée, les souris

sauvages et IL-5 transgéniques ont un temps final d'expulsion du ver identique. Cependant, chez ces dernières, les vers sont moins nombreux, plus petits et moins féconds. Les éosinophiles sont recrutés au site d'inoculation des larves dans les 6 premières heures et il semble que c'est une phase majeure pendant laquelle la migration des parasites est inhibée. Chez les souris transgéniques, puisque les adultes sont plus petits les larves subissent certainement des dommages, dont les modalités restent ignorées [98]. Une autre étude utilisant le même modèle montre que, bien que quelques larves soient piégées et tuées dans les poumons des souris IL-5 transgéniques, la plupart n'y arrivent même pas ; elles ont donc été retenues avant ce stade. En fait, chez les souris transgéniques, 75% à 95% des larves injectées dans le tissu sous-cutané sont retenues sur place pendant au moins 24h. Par contre, chez les sauvages, moins de 20% des larves sont récupérées dans la peau après 2h ou plus post-injection. Chez les souris transgéniques, dès 2h après l'injection, les éosinophiles constituent majoritairement l'infiltrat cellulaire au site sous-cutané de l'injection et leur dégranulation est intensive, alors que chez les sauvages l'activité des éosinophiles, d'ailleurs peu nombreux, reste modeste. La mesure de l'EPO dans le tissu sous-cutané n'est positive que chez les souris transgéniques, de 2h à 32h. Finalement, le piégeage et la destruction des larves auraient lieu précocement (en moins de 48h) sur le site d'injection chez les souris transgéniques. L'amplitude et la durée de ce mécanisme sont supérieures chez les souris IL-5 transgéniques et la destruction précoce locale des larves pourrait expliquer la résistance accrue de ces souris. Ces données montrent que les éosinophiles peuvent limiter le mouvement des larves de *N. brasiliensis* (dont le cycle est court) dans les premières heures de l'infestation primaire et indirectement induire de profondes altérations du développement du parasite [86].

Malheureusement, nous n'avons pas trouvé d'étude *in vitro* ou *in vivo* concernant les autres produits de dégranulation des éosinophiles lors d'infestation avec des Trichostrongyloïdés. Les auteurs extrapolent les résultats obtenus avec d'autres parasites, mais il faut garder à l'esprit que non seulement le modèle murin est assez controversé, mais aussi que les espèces de parasites semblent présenter des spécificités de défense.

Les Rhabditoïdea (Strongyloïdes)

In vitro, les protéines MBP et ECP sont toxiques pour les larves de *S. stercoralis* alors que l'EPO et l'EDN ne le sont pas. Cependant, la MBP et l'ECP ne sont actives que contre des larves « adaptées à l'hôte » (par opposition aux larves L3 infestantes) ; les éosinophiles ont peut-être des cibles restreintes [364].

Lors d'infestation primaire par *Strongyloides stercoralis* du rat, son hôte naturel, la diminution de la charge parasitaire coïncide avec une éosinophilie maximale [308]. De plus, la migration pulmonaire induit une inflammation éosinophilique locale qui reste élevée tout au long de l'infestation. Ces éosinophiles dégranulent puisque l'EPO peut être mesurée dans les tissus pulmonaires et dans le liquide de LBA. Lors d'infestation secondaire, l'éosinophilie ainsi que les concentrations en EPO sont plus élevées et plus précoces [398]. L'utilisation du rat permet d'étudier le comportement du parasite chez son hôte définitif mais chez cet animal, de nombreux outils biologiques, par exemple les Ac anti IL-5, ne sont pas disponibles.

Chez les souris, de nombreuses larves passent par les muscles dans lesquels elles sont piégées par un granulome composé principalement d'éosinophiles et d'histiocytes. Lors d'une seconde infestation, la réaction granulomateuse et la destruction de la larve sont plus intenses [159]. De même, la comparaison entre les réponses de souris IL-5 KO, sauvages et IL-5 transgéniques lors d'infestation avec *S. stercoralis* montre que la destruction des larves à 24h est identique dans les trois groupes, mais qu'à 72h, la survie est inversement corrélée à la production d'IL-5. L'amplitude de l'infiltration éosinophilique est elle aussi corrélée négativement à la survie des parasites. La concentration en EPO, témoin de dégranulation des éosinophiles, est également corrélée positivement à la quantité d'éosinophiles présents. Le temps nécessaire à la destruction des larves par les souris transgéniques pourrait refléter le temps de migration des éosinophiles ou le temps mis par le parasite pour se développer en un stade sensible aux produits des granules éosinophiliques. Il semble finalement probable que les éosinophiles ont un rôle significatif dans le contrôle du parasite, en particulier dans la destruction des larves [177]. Le nombre de *Strongyloides venezuelensis* adultes implantés dans l'intestin de souris IL-5 transgéniques, ainsi que les nombres d'œufs et d'adultes diminue alors que l'infiltration éosinophilique est triplée à J3 par rapport aux souris sauvages. Néanmoins, le temps d'expulsion du ver reste identique pour les deux groupes, bien que les éosinophiles infiltrés dans l'épithélium intestinal entourent le ver adulte chez les souris transgéniques. Les éosinophiles sont peut être capables d'attaquer les adultes comme les larves, sans être forcément assez nombreux pour induire leur expulsion massive [122].

Les Filarioidea (*Brugia*, *Onchocerca*, *Litomosoides*, *Acanthocheilonema*)

In vitro, les tests de toxicité des protéines granulaires pour les microfilaires de *Brugia pahangi* et *B. malayi* montrent que les protéines MBP, ECP, et EDN tuent ces vers de façon dose dépendante mais qu'une grande concentration en EDN est nécessaire. L'EPO, en présence de H₂O₂ et d'un halogène (I⁻, Br⁻ ou Cl⁻) est la plus puissante, mais, même en l'absence de H₂O₂, elle est tout de même efficace à des concentrations équivalentes à celles en

MBP et en ECP. La MBP est la plus abondante, ce qui lui confère une activité helminthotoxique importante. Ainsi, toutes les protéines granulaires sont toxiques pour les microfilaires, ce qui confirme l'hypothèse selon laquelle la dégranulation des éosinophiles, *in vivo*, est la cause de leur destruction [167].

Il semble, *in vitro*, que le rôle des éosinophiles est différent selon le stade du ver. Ainsi, lors de l'incubation de L3 et de stades en train de muer L3-L4 de *Onchocerca volvulus* en présence d'éosinophiles, on observe une adhérence rapide des cellules à la cuticule de la cible, un aplatissement du leucocyte, la sécrétion des contenus des granules et la formation de vacuoles puis, finalement sa complète dégranulation. Près du site d'attache, on constate qu'il y a une altération des structures épicuticulaires et cuticulaires. Par contre, l'incubation des éosinophiles avec des L4 ne montre aucune interaction. Sur les dépouilles de L3, les cellules adhérentes sont en monocouche alors que sur les L3 intactes, plusieurs couches cellulaires permettent de paralyser la larve et d'amplifier les effets toxiques par adhésion inter-éosinophilique. Les larves L4, dans les mêmes conditions, ne sont pas du tout attaquées par les éosinophiles [46, 413].

Plusieurs études sur l'infestation de souris par *Litomosoides sigmodontis*, seule espèce de filaire qui accomplisse un cycle complet chez la souris, ont été publiées par Martin *et al.* [233, 266-268]. Dans l'infestation primaire, l'infestation avec 40 larves par voie sous-cutanée de souris sauvages et de souris IL-5 transgéniques montrent que chez ces dernières les larves grandissent plus vite mais que le nombre d'adulte est diminué 2 mois après l'infestation. La réduction a lieu entre J10 et J30 dans les cavités cœlomiques et, dès J10, on observe des éosinophiles et des macrophages attachés aux larves. Cette adhésion est réversible *in vitro* à J10. A J30, les jeunes filaires sont piégées dans les granulomes et les éosinophiles ont dégranulé [267].

Chez les souris vaccinées avec des larves irradiées puis réinfestées, une réduction précoce du nombre de larves, associée à une forte densité d'éosinophiles dans les tissus sous-cutanés est observée. Le développement du ver est inversement corrélé à la production de cytokines et à l'éosinophilie. De plus, 6h après la réinfestation, la plupart des éosinophiles ont dégranulé. Cependant, les expériences n'ont pas pu mettre en évidence de MBP autour des larves, ce qui, d'après les auteurs, est peut-être lié à la sensibilité de la technique employée et à la dispersion des éosinophiles dans le tissu sous-cutané. Il est possible que l'adhérence des éosinophiles aux larves soit favorisée dans les tissus sous-cutanés en raison de la réduction de la mobilité des filaires à cet endroit [268]. L'attaque puis la destruction des larves entrantes qui a lieu dans les deux premiers jours résulte en une réduction de 70% de la charge

parasitaire et le traitement avec un Ac anti IL-5 supprime cette protection. Chez des souris déficientes en cellules B, non protégées par la vaccination, les éosinophiles sont présent mais non dégranulés. En conclusion, chez les souris vaccinées, les éosinophiles semblent être les cellules effectrices principales responsables de l'augmentation de la destruction des larves infestantes [233, 266, 268]. L'infestation par *Brugia malayi* de souris immunisées apporte les mêmes conclusions : des granulomes composés d'éosinophiles et d'histiocytes entourent des larves vivantes ou des larves à des stades variés de désintégration. Les éosinophiles peuvent pénétrer sous la cuticule des larves et sont très proches des structures internes [350].

Lors de l'infestation de différentes souches de souris (sauvages, IL-5 KO, IL-5 Tr et EPO KO) par *Onchocerca volvulus*, on observe d'une part que la survie des larves et le recrutement des éosinophiles sont identiques chez les souris sauvages et les souris IL-5 KO, et d'autre part que, chez les souris IL-5 transgéniques, le pic de destruction des larves correspond au pic d'augmentation des éosinophiles et de l'EPO. L'EPO issue de la dégranulation des éosinophiles serait l'agent toxique qui tue les larves. Dans les études ci-dessus, les larves ne sont tuées que si les éosinophiles présents dégranulent. Ainsi, le rôle de l'EPO est possible mais pas nécessaire, puisque, chez des souris EPO KO immunisées ou non, la destruction des larves n'est pas affectée par rapport aux souris sauvages immunisées ou non. Une autre protéine, telle que la MBP des granules secondaires serait donc également responsable de la destruction des larves. Il est aussi possible que des combinaisons d'au moins deux protéines soient nécessaires. Enfin, la nature des protéines de dégranulation et leur toxicité potentielle pourraient varier selon le statut génique (souche) des modèles murins utilisés [2].

De même, chez la gerbille vaccinée avec des larves L3 irradiées d'*Acanthocheilonema viteae*, lors d'une réinfestation, la charge parasitaire est réduite de 10%. Les éosinophiles, macrophages et mastocytes sont présents à J2. Les éosinophiles sont aplatis à la surface des vers, dégranulent et les surfaces des L3 sont rompues à J4, puis l'intérieur du ver est envahi par les cellules phagocytaires. Les larves sont attaquées avant la première mue et la dégranulation des éosinophiles est nécessaire à leur destruction [38]. Ainsi, comme pour les souris infestées par *L. sigmodontis*, les produits de dégranulation des éosinophiles semblent bien être nécessaires à la destruction des larves [268]. Cependant, malgré la toxicité de toutes les protéines éosinophiliques montrée *in vitro*, notamment avec *Brugia spp.*, les protéines responsables de la destruction *in vivo* chez la gerbille ne sont pas identifiées.

Les concentrations sériques des protéines granulaires éosinophiliques ECP et EDN sont plus élevées dans les sérums de patients atteints de filariose à *Wuchereria bancrofti* et d'onchocercose que dans les groupes contrôles (sains) [434]. L'EDN est aussi détectable dans les urines [434] et les concentrations des protéines des granules éosinophiliques excèdent de loin celles atteintes dans l'atopie ou l'asthme. La concentration de l'ECP est plus élevée chez les patients atteints d'onchodermatose chronique hyperréactive (« sowda ») que chez ceux atteints d'onchocercose généralisée (hyporéactive). La quantité d'ECP semble donc être corrélée au degré d'activité clinique de la maladie. Elle reflète l'activation des éosinophiles et indique que le mécanisme de défense contre le parasite est plus actif chez les patients atteints de « sowda » [433, 434]. Ces résultats sont en désaccord avec ceux d'une étude plus récente [316] dans laquelle les concentrations en ECP et en EDN ne sont pas significativement plus élevées chez les patients atteints d'éléphantiasis que chez les patients sains. Dans cette étude, les groupes contrôles (sains) sont issus d'une zone endémique de filariose. Puisque les groupes contrôles des études précédemment citées étaient issus de zone non endémique de filariose, il est possible que la discordance de résultats soit la conséquence de cette différence d'échantillonnage [316, 433, 434].

Chez l'homme, la filariose lymphatique peut parfois se manifester cliniquement par une éosinophilie pulmonaire tropicale (TPE). Bien que peu fréquente, cette pathologie est associée à une augmentation marquée des IgE et des éosinophiles dans le sérum et à une infiltration inflammatoire pulmonaire éosinophilique par rapport aux patients atteints de filariose lymphatique « classique » [316]. Les microfilaires, qui sont généralement sanguines dans la filariose lymphatique, sont piégées dans les poumons et entourées d'éosinophiles [164]. Chez les patients atteints de TPE, les concentrations en EDN dans le sérum et dans le LBA sont plus élevées que chez les groupes contrôles (sains, asthmatiques et atteints d'éléphantiasis), et cette réponse est compartimentée (la concentration en EDN dans le liquide de LBA est plus élevée que dans le sérum). Mais aucune corrélation entre les concentrations en EDN et la quantité d'éosinophiles présents, quel que soit le groupe, n'est observée. Les concentrations en EDN dans la TPE reflètent une plus grande activation des éosinophiles, qui a lieu préférentiellement dans les poumons, et pas leur nombre. A l'inverse, les concentrations en ECP restent peu modifiées. Cette différence entre l'EDN et l'ECP, malgré leurs similarités habituellement constatées, est étonnante et ramène à la question très controversée de la libération sélective des produits de dégranulation des éosinophiles [316]. De même, chez les patients atteints de filariose chronique asymptomatique induite par *Wuchereria bancrofti*, un pic de MBP est observé à J1 après traitement alors que le pic d'EDN n'a lieu qu'à J13 après traitement [151]. Chez les souris immunisées puis infestées par voie intraveineuse par des

Tableau 11 : Conséquences *in vitro* et *in vivo* des produits cytotoxiques de dégranulation des éosinophiles lors d'infestations par des trématodes (*S. mansoni*) ou des Nématodes (*Trichinella*, *Strongyloides*, *Ascaris*, *Nippostrongylus*, filaires, ankylostomes).

Produits de dégranulation	Résultats <i>in vitro</i>	Résultats <i>in vivo</i>
MBP Majoritaire Toxicité : +++	- Action rapide - Destruction des larves (<i>S. mansoni</i> , <i>Trichinella</i> , <i>Strongyloides</i> , filaires) - Relation dose-effet (microfilaires)	Augmentation précoce des concentrations sériques (filaires)
ECP Toxicité : ++	- Action différée - Destruction ou paralysie des larves (<i>S. mansoni</i> , <i>Trichinella</i> , <i>Strongyloides</i> , filaires) - Relation dose-effet (microfilaires)	Augmentation des concentrations sériques (<i>S. mansoni</i> , ankylostomes, filaires)
EDN Toxicité : + à ++ (filaires)	- Destruction des larves (<i>S. mansoni</i> , <i>Trichinella</i> , filaires) - Relation dose-effet (microfilaires)	- Augmentation des concentrations sériques (<i>S. mansoni</i> , ankylostomes, filaires) - Augmentation des concentrations urinaires (ankylostomes, filaires)
EPO Toxicité : 0 (larve de <i>Strongyloides</i>) à +++ (filaires)	- Destruction des larves par formation d'un complexe EPO / H ₂ O ₂ / Halogène(<i>S. mansoni</i> , filaires) - Relation dose-effet (microfilaires)	- Augmentation des concentrations sériques (filaires) - Accumulation pulmonaire (<i>Ascaris</i> , <i>Strongyloides</i>) - Accumulation dans les tissus sous-cutanés (<i>Nippostrongylus</i>)

microfilaires de *Brugia malayi*, la MBP, qui est cytotoxique de façon dose dépendante pour les cellules épithéliales trachéales, est détectée dans les poumons dès le premier jour après l'infestation [164]. Lors d'onchocercose humaine, on peut observer que la MBP est déposée autour des microfilaires dégénérées d'*Onchocerca volvulus* [208].

Au cours des études menées *in vitro* et *in vivo* lors d'infestations par des Trématodes (*Schistosoma mansoni*) ou des Nématodes (ankylostomes, trichures, Ascaridés, Trichostrongyloïdés, Rhabditoidés et filaires), il apparaît que l'éosinophilie induite participe activement à l'éradication du parasite bien que, dans le cas d'infestation par des ankylostomes, cet effet ne soit pas réellement prouvé et que, dans le cas des ascaridoses, l'afflux d'éosinophiles puisse même être préjudiciable à l'hôte. Cependant, dans tous les modèles envisagés, les éosinophiles agissent sur les stades larvaires de façon privilégiée et parfois sur les adultes (*Strongyloides*) grâce à la libération de protéines cytotoxiques (MBP, ECP, EDN et EPO) au cours de leur dégranulation (Tableau 11).

Les protéines MBP et ECP s'avèrent les plus toxiques sur l'ensemble des parasites envisagés ici (à l'exception des Ascaridés), la MBP offrant une protection précoce et l'ECP une protection plus tardive alors que le spectre de toxicité semble plus réduit pour les deux autres protéines : l'EDN et l'EPO ne sont pas actives sur les larves de *Strongyloides* adaptées à l'hôte mais à l'inverse, elles interviennent activement, et plus particulièrement l'EPO, dans la destruction des larves de filaires et de *S. mansoni*, grâce à l'association avec des agents oxydants (H₂O₂ et halogènes). Comme ces quatre protéines cytotoxiques ne sont pas systématiquement décelées dans les différents modèles *in vivo* et également incriminées, il est possible que la dégranulation des éosinophiles soit sélective du parasite et/ou que la présence de ces substances dans les granules éosinophiliques dépende du statut génétique de l'hôte.

Conditions nécessaires à la dégranulation

Le milieu environnant est primordial pour l'action des éosinophiles : la présence d'Ig et parfois de complément déclenche un mécanisme cytotoxique d'ADCC. Cependant, il n'est pas universel puisque les éosinophiles peuvent parfois adhérer puis être activés en l'absence d'Ac et même de complément. En outre, en dépit de leur potentiel toxique, les éosinophiles sont parfois des cellules intermédiaires et non effectrices.

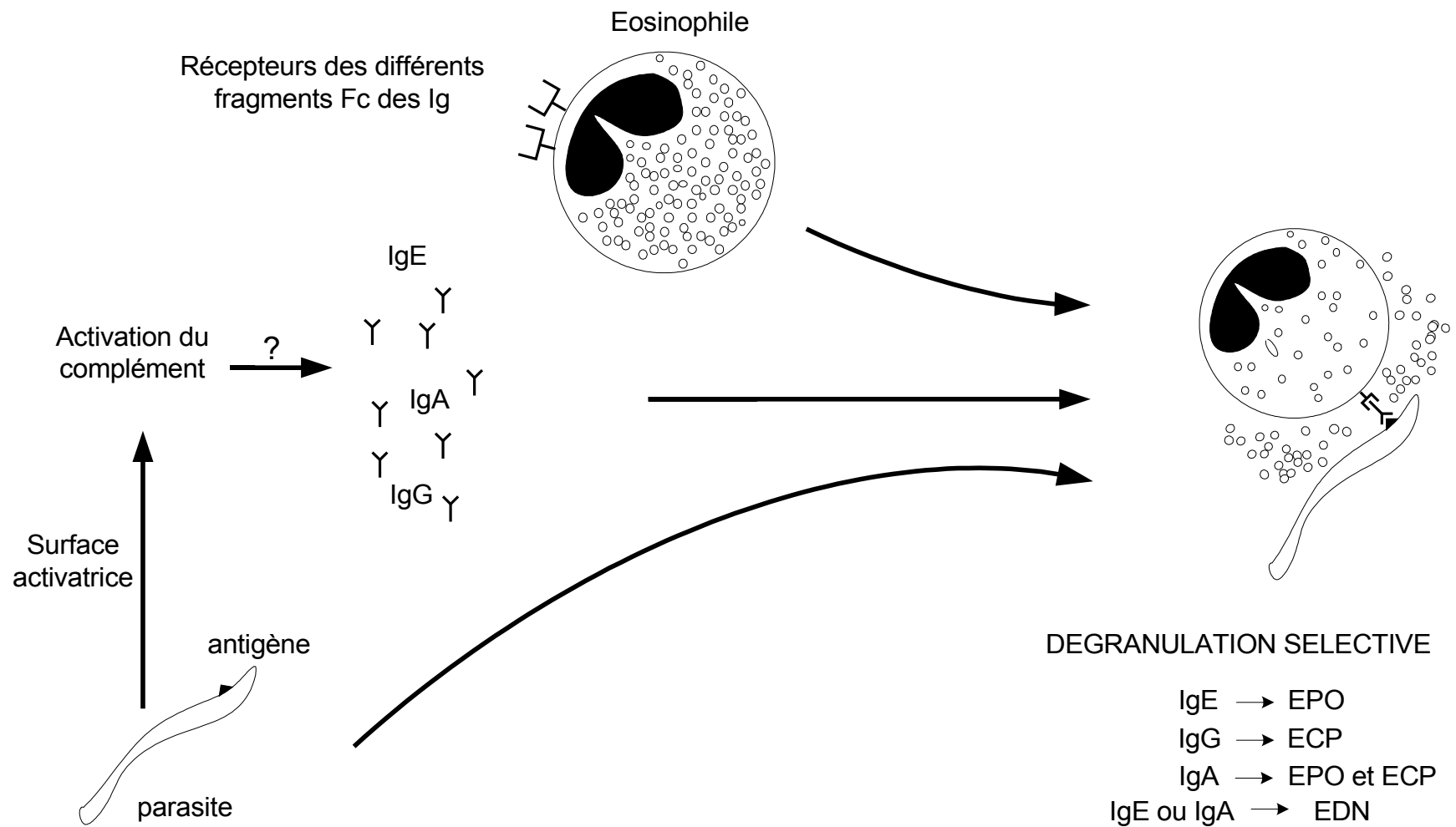


Figure 24 : Mécanismes de dégranulation sélective des éosinophiles et d'ADCC (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity).

Ig et ADCC

Comme son nom l'indique, l'ADCC est un mécanisme qui met en jeu une cellule sanguine et un Ac et qui induit une cytotoxicité par dégranulation. Les éosinophiles possèdent, de façon variable selon l'espèce, des récepteurs pour les différents isotopes d'Ig, exceptés ceux des IgE (de haute affinité) sur les éosinophiles de souris. Dans le cas des helminthiases, plusieurs Ig sont mises à contribution par les éosinophiles.

In vitro, il existe de nombreuses études qui montrent que les Ig sont impliquées dans la destruction des parasites en agissant comme un ligand pour la cytotoxicité de type ADCC des éosinophiles. Chez le rat, la destruction d'une schistosomule de *S. japonicum* par les éosinophiles dépend des IgE et les dommages sont associés à augmentation de récepteurs Fc des IgE sur les éosinophiles [218]. L'isotype d'Ig qui sert de ligand peut varier dans le temps puisque les éosinophiles ont une activité cytotoxique qui dépend précocement des IgG et des IgE après 6 semaines. Des facteurs favorisants, comme les produits des mastocytes (ECF-A tetrapeptides) [59] ou le PAF chez l'homme qui agit en favorisant la liaison de IgE, l'adhérence IgE dépendante et la cytotoxicité des éosinophiles envers les schistosomules de *Schistosoma mansoni* peuvent également intervenir. Le LTB4 et l'histamine ont aussi une action favorisante, quoique moins puissante que celle du PAF [61, 291]. L'incubation d'éosinophiles issus de patients normaux ou peu éosinophiliques avec des sérums inactivés par la chaleur de patients atteint de schistosomiase a montré chez le rat et l'homme que la destruction de ces parasites nécessite aussi des IgG1 et des IgG3 [202].

Une compétition peut survenir entre les Ig, puisque les IgM, IgG2 et IgG4 sont non seulement des sous-types inactifs pour induire l'ADCC, mais elles peuvent même bloquer les effets des sous-types actifs [202].

La nature des Ig et la cinétique de leur reconnaissance par les éosinophiles sont deux éléments prépondérants dans le déclenchement de l'ADCC et peuvent induire une dégranulation sélective des éosinophiles (Figure 24). Ainsi, la stimulation IgE dépendante d'éosinophiles issus de patients allergiques ou non provoque la libération d'EPO mais pas celle d'ECP, la fixation des IgG conduit à la libération sélective d'ECP et la fixation des IgA aboutit à la sécrétion des deux protéines [436]. L'existence de ces mécanismes *in vitro* et la présence dans les maladies parasitaires des Ig (en particulier des IgE) ainsi que celle des éosinophiles fait penser que l'ADCC est un mécanisme de destruction des parasites. Néanmoins, *in vivo*, la sécrétion sélective des produits de sécrétion des éosinophiles n'est pas clairement démontrée.

Chez des souris infestées par *O. volvulus*, les éosinophiles semblent responsables de la protection induite par la « vaccination » (immunisation par deux [2] ou trois injections [231] sous-cutanées de larves irradiées) en relation avec le profil d'Ig obtenu. La destruction des larves entrantes chez les souris « vaccinées » pourrait donc avoir lieu par un mécanisme d'ADCC impliquant les éosinophiles [2, 231]. Pourquoi les éosinophiles contribueraient-ils à une réponse précoce chez les souris « vaccinées » mais pas à une réponse plus tardive chez les souris « infestées primaires » alors que dans les deux cas des Ac spécifiques et des éosinophiles sont présents ? Plusieurs hypothèses sont envisageables [231] :

- la quantité d'Ac est plus importante chez les « vaccinées »
- les larves entrantes sont plus sensibles que les stades ultérieurs à l'attaque des éosinophiles, plus précoce chez les « vaccinées »
- la localisation des parasites plus matures (en dehors des tissus sous-cutanés) leur permet d'éviter plus facilement l'attaque des éosinophiles.

Comme dans l'onchocercose, l'IL-5 est essentielle pour la protection induite par des L3 irradiées de *L. sigmodontis*, mais pas pour la protection lors d'infestation primaire, pour des raisons similaires, notamment le temps nécessaire à l'arrivée des éosinophiles dans les tissus sous-cutanés [266]. En effet, l'établissement de la protection des souris « vaccinées » a lieu dans les deux jours qui suivent la réinfestation. Ces souris ont un statut immunitaire particulier avant la seconde inoculation caractérisé par des concentrations élevées en IgM, IgG1, IgG2a et IgG3, associées à la sécrétion d'IL-5 et à une densité élevée d'éosinophiles dans les tissus sous-cutanés [233]. L'infestation avec des larves de *L. sigmodontis* par voie sous-cutanée de souris déficientes en LB induit, comme chez les souris sauvages, un afflux d'éosinophiles dans le tissu sous-cutané. Lors d'infestation primaire, la survie et la croissance des larves ne sont pas modifiées alors que lors de réinfestation, les souris déficientes en LB ne sont pas protégées. Bien que les éosinophiles soient présents ils sont incapables de dégranuler. Par conséquent, les Ac produits par les LB à l'issue d'une première infestation provoquent la dégranulation des éosinophiles et la destruction des larves. D'autre part, les LB sont nécessaires à la production précoce de cytokines Th2 ainsi qu'au recrutement de cellules inflammatoires, mais aucun lien avec les éosinophiles n'a pu être clairement établi [325]. Enfin, puisque la concentration des IgE lors de TPE humaine est très élevée, que l'EDN semble être majeure dans la survenue des symptômes cliniques et que, *in vitro*, les éosinophiles ont besoin d'une stimulation avec des IgE ou IgA pour libérer l'EDN, il serait possible que la concentration très élevée des IgE dans la TPE ait un impact sur la libération spécifique de l'EDN [316].

Le mécanisme d'ADCC nécessite parfois certaines conditions pour avoir lieu. Le complément est soit nécessaire soit potentialisateur (Figure 24). En effet, l'adhérence des éosinophiles humains aux larves L3 de *Necator americanus* dépend de la qualité du sérum *in vitro* : les Ac facilitent l'adhérence des éosinophiles, mais ce mécanisme n'est maximal qu'en présence du complément. Il semble que ce soit par la voie alterne que le complément est activé puisque avec du sérum inactivé par la chaleur, l'adhérence est totalement inhibée. La surface des larves de *Necator* ou d'autres Nématodes semble donc être antigénique et activatrice du complément [100]. L'activation des éosinophiles et le stade auquel ils sont confrontés peuvent aussi jouer des rôles importants. Les éosinophiles normaux s'attachent *in vitro* aux larves nouveau-nées de *Trichinella spiralis* âgées de 2h ou de 20h en présence de sérum contenant des Ac et du complément mais seules les larves de 20h sont détruites après cette adhésion. Par contre, avec des éosinophiles issus de patients hyperéosinophiliques les larves de 2h et de 20h sont tuées dans les mêmes conditions. Ainsi, la maturation de la larve et le statut d'activation des éosinophiles sont importants pour le déroulement de l'ADCC [448].

Les éosinophiles ne sont pas les seules cellules effectrices capables d'une ADCC même dans le cas d'infestations parasitaires. Herbert *et al.* ont montré que le transfert non seulement d'éosinophiles issus de souris IL-5 transgéniques au moment de l'infestation mais aussi d'IgM issues de souris sauvages immunisées contre *Strongyloides stercoralis* à des souris sauvages naïves ou KO pour l'IL-5 conférait une protection contre le parasite. Ces résultats suggèrent que le mécanisme d'ADCC dépendant des IgM implique les neutrophiles et que les éosinophiles favoriseraient l'action des neutrophiles en jouant le rôle d'une CPA et en amplifiant ainsi la production par les LB d'IgM dirigées contre les Ag parasitaires. Les éosinophiles auraient donc un triple rôle : source de cytokine, source de molécules toxiques pour les larves et principale CPA [177]. De même, les IgG engendrent un mécanisme d'ADCC dépendant des neutrophiles et partiellement du complément lors d'infestation par *Strongyloides stercoralis*. Les IgG et IgM assureraient une protection impliquant un mécanisme similaire d'ADCC exercé par les neutrophiles, complémentaire dans le temps puisque les IgM sont produites plus précocement que les IgG [239].

Autres ligands

Ce mécanisme d'ADCC pose le problème de la défense des hôtes non immuns. Il existe sûrement des mécanismes complémentaires de l'ADCC pour détruire les larves de parasites, en l'absence d'Ig.

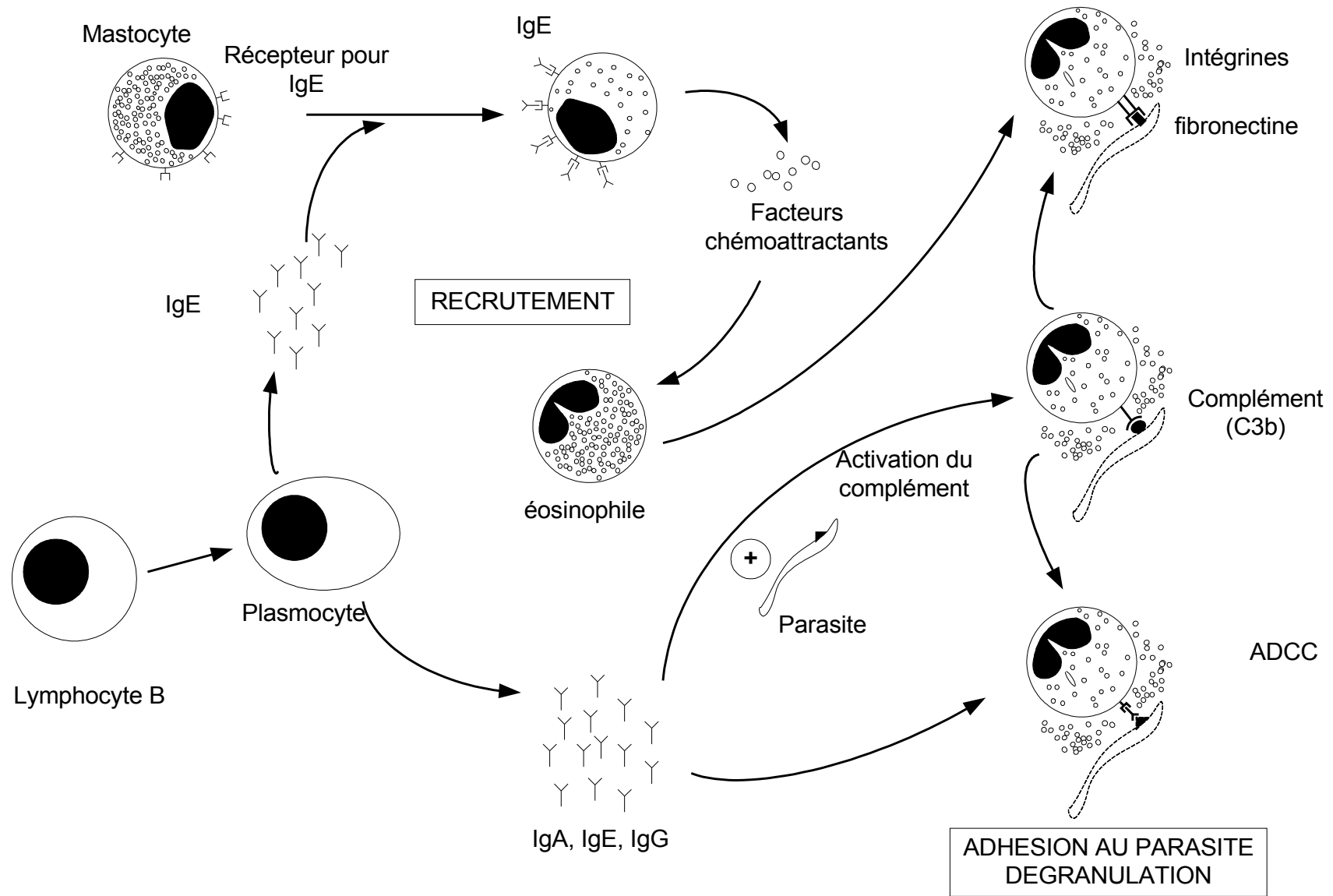


Figure 25 : Modalités d'adhésion des éosinophiles aux parasites et dégranulation consécutive.

Dans l'infestation par des larves de *Dipetalonema viteae* (Filarioidea), l'activation du complément permet l'adhérence des éosinophiles, qui dégranulent ensuite. Alors que les macrophages semblent avoir besoin de la présence des éosinophiles pour adhérer efficacement, les mastocytes n'adhèrent pas aux larves et ne favorisent pas l'adhésion des macrophages ; cependant, s'ils sont en grand nombre, ils favorisent celle des éosinophiles et par la suite les dommages causés aux larves [170]. Les macrophages et les neutrophiles de rat incubés avec du sérum normal adhèrent aux larves et les détruisent. Les éosinophiles sont surtout cytotoxiques en présence de macrophages et leur action est peut être indirecte en favorisant la destruction des larves infestantes par les macrophages. C'est la voie alterne du complément qui est utile puisque son inhibition empêche l'adhérence des cellules aux parasites. Ainsi, le complément a une action dans l'ADCC comme dans la coopération cellulaire [64]. Assez récemment, grâce à la microscopie électronique, l'activité larvicide des éosinophiles *in vitro* en l'absence d'Ig a été confirmée sur des larves de *Nippostrongylus brasiliensis*. On observe l'attachement ferme des éosinophiles à la surface cuticulaire des larves, qui sont endommagées par les produits de dégranulation des éosinophiles. L'activité larvicide n'est pas modifiée en l'absence des IgG ou IgM dans le sérum donc la destruction n'a pas lieu par un mécanisme d'ADCC dépendant des neutrophiles. Par contre, la liaison des éosinophiles aux larves de *N. brasiliensis* est bloquée avec des Acm anti CD11b ou anti VLA-4, ce qui suggère que la liaison dépende de leurs ligands, complément et fibronectine. Par ailleurs, il y a un dépôt de C3c et de fibronectine plasmatique sur la cuticule. Ainsi, l'interaction entre CD11b et VLA-4 et leurs ligands déposés sur la cuticule sont essentiels pour l'adhérence des éosinophiles et la survenue des dommages causés aux larves (Figure 25) [395].

La présence de molécules telles que la fibronectine à la surface de parasites comme *O. volvulus* [45] et *Nippostrongylus brasiliensis* laisse penser que ce mécanisme n'est pas rare. D'ailleurs, les éosinophiles de patients infestés par *O. volvulus* présentent une augmentation de l'expression des molécules d'adhésion, en particulier du récepteur pour la fibronectine [45]. Ainsi, l'adhésion des éosinophiles aux parasites peut tout à fait être indépendante des Ig et du complément (Figure 25).

Comme les récepteurs des IgE sont absents des éosinophiles murins, d'autres mécanismes distincts de l'ADCC interviennent dans la destruction des larves. D'une part, la liaison des éosinophiles aux larves de *N. brasiliensis* pourrait dépendre des ligands tels que le complément ou la fibronectine, et d'autre part l'augmentation de la quantité de mastocytes présents en même temps que les éosinophiles facilite leur action : dans un premier temps, les

mastocytes interagissent avec les IgE spécifiques des L3 de *O. volvulus* et libèrent des médiateurs inflammatoires capables de recruter les éosinophiles. Les éosinophiles recrutés s'accumulent autour de L3, se lient au parasite par l'intermédiaire de la fibronectine et dégranulent, entraînant la libération de substances cytotoxiques pour les L3 (cf *supra*) (Figure 25). De façon analogue, la destruction des larves de *Dipetalonema viteae* par les éosinophiles est diminuée en l'absence de mastocytes [170]. La spécificité du mécanisme proposé vient du fait que la destruction a lieu par les éosinophiles mais de façon indépendante des IgE [2]. La présence concomitante des IgE, des éosinophiles et des mastocytes dans les parasitoses permettrait donc la mise en place d'une réponse puissante, fondée sur la coopération cellulaire.

Finalement, ni les Ig ni le complément ne sont des acteurs strictement nécessaires à l'adhésion des éosinophiles sur les larves de parasites et d'autres modalités, impliquant les protéines d'adhésion cellulaire (intégrines) peuvent intervenir. Ces mécanismes ne sont pas exclusifs les uns des autres et les éosinophiles n'ont donc pas toujours un rôle direct mais ils sont tout de même des acteurs essentiels dans la cascade d'évènement qui mène à la protection de l'hôte.

Devenir des éosinophiles

L'éosinophilie peut être transitoire dans certaines maladies parasitaires comme la trichinellose. Cependant, très peu d'éosinophiles apoptotiques sont retrouvés dans l'intestin grêle lors de la phase de résolution de cette infestation. En fait, ils sont acheminés vers les nœuds lymphatiques [140]. Au contraire, dans d'autres helminthiases, les éosinophiles persistent longtemps au site infectieux et leur nombre peut être source de dommages pour l'hôte.

Dans les granulomes induits par les schistosomes, les éosinophiles, au contraire des lymphocytes, ne subissent pas d'apoptose. Il est possible que l'IL-5, présent dans les granulomes, soit un facteur important de cette augmentation de la survie des éosinophiles [365]. Cependant, comme les éosinophiles ne sont pas nécessaires au bon fonctionnement du granulome schistosomien, cette augmentation de leur survie n'est pas bénéfique pour l'hôte. Curieusement, cette modification de l'apoptose des éosinophiles semble être localisée aux sites d'établissement des parasites. En effet, dans les infestations de rat avec *Angiostrongylus cantonensis*, les éosinophiles du LCR sont résistants à l'apoptose alors que les péritonéaux ne le sont pas. Cette résistance, favorisée par l'IL-5, est liée à l'expression de l'ARNm de Bcl-2

et Bcl-xL qui est plus importante dans les éosinophiles du LCR que dans les péricytaires [416]. Comme la quantité de l'IL-5 est souvent augmentée lors des réactions parasitaires, en particulier localement dans le granulome, la persistance de l'éosinophilie est favorisée. Cependant, ce phénomène n'est pas forcément bénéfique pour l'hôte, comme dans le cas du granulome schistosomien, voire délétère, comme dans l'angiostrongylose. En effet, l'infestation par *Angiostrongylus cantonensis* des cobayes entraîne, au contraire des rats, des symptômes cliniques alors que *in vitro*, les éosinophiles de cobaye en présence d'IgE sont plus cytotoxiques pour les L3 que ceux de rats. Les éosinophiles sont plus nombreux dans le sang, le cerveau et le LCR et ils sont activés puisque le LCR contient de l'EPO [339]. Ainsi, parallèlement aux dégâts mécaniques provoqués par les larves migrantes, la dégranulation des éosinophiles est un facteur important de la méningo-encéphalite éosinophilique parasitaire, et la diminution de l'apoptose des éosinophiles accentue ce mécanisme. Néanmoins, en l'absence d'éosinophile, les lésions traumatiques et hémorragiques causées par les larves sont plus sévères. De même, la TPE est certainement liée à l'emballement de la réponse des éosinophiles, mais malheureusement il n'y a pas à notre connaissance d'étude sur l'apoptose des éosinophiles dans cette pathologie. Finalement, il est nécessaire qu'il y ait un équilibre de l'éosinophilie, en particulier dans le temps, afin de pouvoir éliminer les parasites sans engendrer trop de lésions collatérales.

Pour le parasite

De nombreux parasites sont difficiles à éliminer et certains peuvent même rester chez leur hôte plusieurs années en partie parce qu'ils ont développé une résistance adaptative complexe. Les techniques de survie mises en place par le parasite relèvent principalement d'un système d'évasion très efficace et de leur capacité à moduler les réponses humorales et cellulaires mises en place par l'hôte.

La variabilité antigénique

La variabilité des Ag permet aux parasites de ne pas rester longtemps sous forme d'une même cible dans un site donné et la migration permet de varier les sites tissulaires qui réagissent.

Les larves L3 de *Strongyloides stercoralis* sont antigéniquement différentes selon leur parcours : il y a des L3 vivant libres qui sont infestantes (L3), des L3 adaptées à leur hôte et

transformées (L3+) et des L3 auto-infestantes dans les parasitoses chroniques (L3a). Il existe des Ag communs aux trois larves mais aussi des Ag spécifiques. Ainsi, les L3a ne sont pas reconnues au même titre que les L3 venant de l'extérieur, ce qui fait qu'il y a deux voies d'infestations qui induisent deux protections différentes et que les L3 reconnues par un système ne sont pas éliminées par l'autre. De plus, indépendamment des L3a, ce sont les L3+ qui sont visées et détruites par les systèmes immuns de l'hôte et pas les L3, ce qui fait penser que certaines transformations sont nécessaires pour que les larves de parasites puissent être détruites [48, 49]. De même, la réponse des Ig qui détruit le stade muant L3-L4 et les L4 d'*Onchocerca volvulus* n'a aucun effet sur les larves L3 [1] et inversement les éosinophiles adhèrent aux L3, aux L3 muantes mais pas aux L4 [46, 413]. Finalement, comme les larves ont des surfaces antigéniques ainsi que des molécules de surface variées selon leur stade, les cellules de l'hôte, en particulier les éosinophiles, ne sont pas capables d'attaquer tous les stades et l'immunité développée n'est pas efficace contre tous les stades lors de réinfestation. Un autre mécanisme qui permet de tromper les défenses de l'hôte est la variabilité au cours du temps des Ag de surface. A ce titre, les larves de *Toxocara canis* peuvent rester dans les tissus de l'hôte pendant des mois ou des années sans interférer en apparence avec l'hôte. On présume qu'elles meurent de vieillesse ! La surface des larves est couverte de produits d'Excrétion-Sécrétion très antigéniques tels que des mucines TES-120 [107]. Les structures de ces produits d'Excrétion-Sécrétion sont modifiées régulièrement par le parasite, de telle sorte que le système immunitaire reconnaît un Ag qui n'est déjà plus présent à la surface des larves [101]. On a montré que les éosinophiles étaient également trompés *in vitro*, certainement en relation avec leur liaison aux Ac. *In vivo*, la microscopie électronique met en évidence l'adhésion des éosinophiles à une couche membranaire qui ressemble à la cuticule (sheath-like) mais qui est fréquemment détachée de la surface de l'épicuticule larvaire. Les couches composées d'Ag de surface et d'Ac pourraient permettre de fournir une protection à la larve contre les Ac et contre les toxines des éosinophiles en empêchant le contact direct avec l'épicuticule. La libération d'Ag de surface pourrait aussi permettre l'évasion en facilitant le dégagement des Ac et des éosinophiles [20].

Les produits d'Excrétion-Sécrétion des parasites

Les parasites secrètent une grande quantité de produits d'Excrétion-Sécrétion antigéniques, différents selon les stades et capables de provoquer une forte réponse en Ac. Ces molécules pourraient aider le ver à survivre dans son hôte en minimisant la réaction

inflammatoire, en maîtrisant la coagulation ou en orientant la réponse immune vers un phénotype moins délétère pour le parasite. Les helminthes et leurs produits ont un effet immunomodulateur potentiel sur le système immunitaire de l'hôte et peuvent diminuer la réponse immune contre un Ag et finalement prévenir la cytotoxicité des cellules hôtes.

Le clivage des Ig est une tactique d'évasion fréquemment employée par les parasites (Tableau 12). Ainsi, les protéases secrétées par *Fasciola hepatica* [33, 62], et *Spirometra mansoni* [219] clivent spécifiquement les IgG. Cette activité modulatrice par la maîtrise des Ig semble dépendre du stade parasitaire et des possibilités d'expression des protéases : *Paragonimus westermani* produit au moins 6 cystéines protéases au cours de son développement. L'activité comparée de ces protéases montre qu'il y a une hydrolyse complète des métacercaires puis que l'activité diminue avec l'âge du parasite [74, 75]. De même, les protéases des produits d'Excrétion-Sécrétion de *Necator americanus* sont capables de cliver les IgA, signaux très puissants pour déclencher la dégranulation des éosinophiles [4], dans des proportions plus importantes que les autres classes d'Ig. Dans ce cas, le clivage mène à des fragments Fab capables de bloquer le complément et l'attaque phagocytaire qui utilisent normalement des IgG ou des IgM intactes [252]. L'absence de la forme sécrétoire de IgA, mais pas des IgE, IgG, et IgM sécrétoires, est peut être le résultat de l'action de ces protéases clivant spécifiquement les IgA.

Une autre manière de moduler la réponse de l'hôte est de diminuer le recrutement des cellules effectrices dans la protection parasitaire (Tableau 12). Ainsi, les produits d'Excrétion-Sécrétion de certains parasites comme *Brugia malayi*, *Nippostrongylus brasiliensis* et *Toxocara canis* peuvent induire la génération de cellules suppressives, qui empêchent la prolifération des LT, ce mécanisme nécessitant la production d'IL-4 par l'hôte [9]. D'autres parasites, comme *Necator americanus*, peuvent induire, directement et de façon dose dépendante, l'apoptose des LT. Le mécanisme, indépendant de la voie *fas/fasL* reste cependant inconnu [73]. La maîtrise de la population des LT permet de réguler en amont la réponse cellulaire mais certains parasites peuvent aussi agir directement sur les cellules effectrices ou sur leur recrutement. Une des possibles causes de l'absence relative des neutrophiles lors d'ankylostomose est la sécrétion de NIF (Neutrophil Inhibitory Factor) par le parasite. Cette glycoprotéine secrétée par l'adulte de *A. caninum* est capable de se lier aux intégrines des leucocytes et d'inhiber les fonctions CD11b/CD18-dépendantes des neutrophiles. Ces cellules perdent alors leurs capacités d'adhésion et de sécrétion d'H₂O₂ [295]. Etant donnée l'importance des intégrines dans la migration des éosinophiles, de tels

mécanismes ne sont pas à exclure pour cet autre groupe de leucocytes effecteurs, d'autant plus qu'il existe des mécanismes communs agissant sur le recrutement leucocytaire. Par exemple, le PAF est un stimulateur puissant du recrutement et de l'activation des éosinophiles et des neutrophiles et favorise la destruction des parasites par les éosinophiles IgE dépendants [291]. *N. brasiliensis* secrète une PAF-acetylhydrolase qui clive le PAF, le rendant inactif. Cette

Tableau 12 : Effets d'échappement du parasite aux défenses de l'hôte en fonction des produits d'Excrétion-Sécrétion.

Produits d'Excrétion-Sécrétion		Effets sur les défenses de l'hôte	Parasites
Enzymes	Protéases	Clivage des Ig Clivage des chémokines (éotaxine)	<i>F. hepatica, S. mansoni, P. westermani, N. americanus</i> <i>N. americanus</i>
	PAF acétyl hydrolase	Perte du recrutement des neutrophiles et des éosinophiles	<i>N. brasiliensis</i>
	GSH S Transférase	Anti-oxydant	<i>N. americanus</i>
	Hyaluronidase	Dispersion des cellules effectrices	<i>N. americanus</i>
Cytokines	NIF	Inhibition des neutrophiles	<i>A. caninum</i>
	?	Induction de cellules suppressives	<i>B. malayi, N. brasiliensis, T. canis</i>
	?	Apoptose des LT	<i>N. americanus</i>

inhibition du messenger est proportionnelle à la concentration des produits d'Excrétion-Sécrétion et à la durée de préincubation avec le PAF [36] et empêche le recrutement des leucocytes effecteurs.

Comme pour les neutrophiles, des mécanismes spécifiques d'inhibition des fonctions des éosinophiles ont été décrits : les produits d'Excrétion-Sécrétion, riches en protéases, de *N. americanus* inhibent le recrutement des éosinophiles *in vivo*, en hydrolysant certaines chémokines. Les protéases de *N. americanus*, de type métalloprotéinases, montrent une spécificité pour l'éotaxine, puisqu'elles ne neutralisent pas les effets chémoattractants du LTB₄, de l'IL-5, ou de l'éotaxine-2 sur les éosinophiles ni de l'IL-8 sur les neutrophiles. La production d'enzymes inactivant l'éotaxine par clivage pourrait être une stratégie employée par les helminthes pour empêcher le recrutement et l'activation des éosinophiles au site de l'infestation (Tableau 12). Cela serait un nouveau mécanisme de régulation de la fonction des chémokines *in vivo*. L'existence de ligands du CCR3 autres que l'éotaxine (l'éotaxine-2 par exemple) pourrait refléter une évolution de l'hôte pour contourner les défenses parasitaires [81].

Outre des protéases capables de cliver des Ig ou des chémokines (éotaxine), les ankylostomes (*N. americanus*) secrètent aussi une GST : cette enzyme assure une fonction anti-oxydante en neutralisant les dérivés toxiques de l'oxygène [40 in 81]. L'activation de cette protéine permet donc au parasite d'échapper aux lésions oxydatives induites par les radicaux oxygénés synthétisés par les éosinophiles. Ces parasites possèdent aussi une hyaluronidase qui, en dégradant la matrice extracellulaire, pourrait faciliter la dispersion des cellules effectrices dans les tissus environnant les parasites. Les ankylostomes constituent une famille de Nématodes contre lesquels la protection de l'hôte dépend de l'IL-5 et des éosinophiles et ils auraient développé de nombreux mécanismes visant à contrer les défenses de l'hôte dépendantes des éosinophiles (Tableau 12).

De façon très surprenante, il semblerait de plus qu'il y ait des adaptations de l'hôte aux adaptations du parasite. En effet, la survie de vers est favorisée chez des souris déficientes en récepteur pour le PAF infestées par *Strongyloides venezuelensis* et leur fécondité est augmentée, alors que l'inflammation intestinale, notamment éosinophilique, l'éosinophilie périphérique et la quantité d'EPO sont diminuées. Il ressort de cette étude que la réponse de type Th2 de l'hôte diminue certes la survie des vers, mais ces derniers se seraient adaptés en utilisant les messagers produits pendant cette réponse pour faciliter la reproduction et l'élimination des œufs dans le milieu extérieur. Le même type d'hypothèse peut être avancée lors d'infestation par *Onchocerca volvulus* au cours de laquelle le parasite produit de la PgD2

directement à l'interface hôte-parasite. Les éosinophiles possèdent deux récepteurs pour cette prostaglandine et le parasite pourrait donc utiliser une réponse défensive de l'hôte pour son propre bénéfice [404].

La place des éosinophiles dans les défenses antiparasitaires est variable selon les parasites. Ils peuvent être des cellules effectrices dans la destruction des parasites, généralement des stades larvaires, par libération de leurs protéines toxiques (MBP, ECP, EDN, EPO) par dégranulation. Dans certains cas (ankylostomiase, schistosomiase) la toxicité *in vivo* de ces produits n'est pas prouvée. En revanche, dans le cas de *Strongyloides*, de *Nippostrongylus* et des filaires, la dégranulation des éosinophiles est responsable des dommages aux parasites. Elle est souvent précoce et nécessite parfois la présence d'autres cellules telles que les mastocytes, les macrophages ou les lymphocytes B (filaires). L'ADCC est un mécanisme de destruction mis en évidence chez les filaires mais qui concerne certainement d'autres familles de parasites. Les éosinophiles peuvent aussi être des cellules intermédiaires, c'est-à-dire essentielles mais non effectrices. Pour les neutrophiles, ils peuvent être des CPA (*Strongyloides*) ou induire la production par les macrophages de chémoattractants (*Litomosoides*, trichinellose). Les éosinophiles entretiennent aussi des relations interdépendantes avec les mastocytes et les macrophages dans les filarioses. Enfin, ces granulocytes peuvent avoir des effets délétères liés à leur persistance au-delà de l'infestation (diminution de l'apoptose dans la schistosomiase, l'angiostrongylose et la trichinellose) ou en relation avec la formation d'un granulome (schistosomiase, toxocarose).

CONCLUSION

La présence des éosinophiles dans le sang et les tissus est liée à la multiplication et la différenciation de leurs précurseurs (communs aux basophiles), sous le contrôle des hématopoïétines, puis à leur migration régulée par une grande diversité de molécules. Les études menées sur la structure des éosinophiles montrent qu'ils ont la faculté de libérer leurs produits de dégranulation, en particulier par « dégranulation par bouts ». Certains sont des protéines toxiques reconnues comme facteurs de destruction de larves de parasites, mais leur toxicité n'est pas toujours avérée.

Par ailleurs les éosinophiles possèdent de nombreux récepteurs membranaires, témoignant notamment de leur interactivité avec les autres leucocytes. Leur rôle de CPA et leur participation à l'ADCC sont des illustrations de leurs rôles multiples.

Dans le cadre des parasitoses, les éosinophiles tiennent leur rôle d'effecteur (ADCC) ou d'intermédiaire (CPA) et peuvent aussi participer à la formation du granulome mais leurs effets ne sont pas toujours identifiés. Il est vrai que les parasites présentent des adaptations, spécifiques d'une famille voire d'une espèce, telles que la variabilité antigénique de surface et la synthèse de produits d'Excrétion-Sécrétion, rendant difficile d'une part leur étude et d'autre part l'extrapolation des résultats à l'homme. Enfin nous retiendrons la place prépondérante de la régulation de leur survie, principalement assurée par l'IL-5.

L'intérêt suscité par les éosinophiles est assez récent et en majeure partie attribuable à son rôle capital dans l'asthme. Nous ne pouvons que regretter que cet engouement ne s'étende pas plus à l'étude de leur participation aux parasitoses. Il semble que le financement des recherches est l'une des explications de ce constat. En effet, les parasitoses chroniques telles que les filarioses et la schistosomiase touchent principalement les populations de pays en voie de développement (Afrique, Asie du Sud-est), alors que les maladies allergiques ont une incidence élevée dans les pays riches. La compréhension des mécanismes gouvernant la vie des éosinophiles serait utile pour favoriser leur effets bénéfiques et diminuer leurs effets néfastes, maîtrisant ainsi les conséquences de parasitoses chroniques graves et leurs répercussions sociales et économiques.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 ABRAHAM D, LEON O, LEON S, LUSTIGMAN S : Development of a recombinant antigen vaccine against infection with the filarial worm *Onchocerca volvulus*. *Infect. Immun.*, 2001, **69(1)** : 262-270.
- 2 ABRAHAM D, LEON O, SCHNYDER-CANDRIAN S, WANG CC, GALIOTO AM, KEREPESE LA, LEE JJ, LUSTIGMAN S : Immunoglobulin E and eosinophil-dependent protective immunity to larval *Onchocerca volvulus* in mice immunized with irradiated larvae. *Infect. Immun.*, 2004, **72(2)** : 810-817.
- 3 ABRAHAM D, ROTMAN HL, HABERSTROH HF, YUTANAWIBOONCHAI W, BRIGANDI RA, LEON O, NOLAN TJ, SCHAD GA : *Strongyloides stercoralis*: protective immunity to third-stage larvae in BALB/cByJ mice. *Exp. Parasitol.*, 1995, **80(2)** : 297-307.
- 4 ABU-GHAZALEH RI, FUJISAWA T, MESTECKY J, KYLE RA, GLEICH GJ : IgA-induced eosinophil degranulation. *J Immunol.*, 1989, **142(7)** : 2393-2400.
- 5 ACKERMAN SJ, LIU L, KWATIA MA, SAVAGE MP, LEONIDAS DD, SWAMINATHAN GJ, ACHARYA KR : Charcot-Leyden crystal protein (Galectin-10) is not a dual function galectin with lysophospholipase activity but binds a lysophospholipase inhibitor in a novel structural fashion. *J. Biol. Chem.*, 2002, **277(17)** : 14859-14868.
- 6 ADACHI T, STAFFORD S, SUR S, ALAM R : A novel Lyn-binding peptide inhibitor blocks eosinophil differentiation, survival, and airway eosinophilic inflammation. *J. Immunol.*, 1999, **163(2)** : 939-946.
- 7 ALDAWEK AM, LEVKUT M, REVAJOVA V, KOLODZIEYSKI L, SEVEIKOVA Z, DUBINSKY P : Larval toxocarosis in sheep : the immunohistochemical characterization of lesions in some affected organs. *Vet. Parasitol.*, 2002, **105(3)** : 207-214.
- 8 ALDEBERT D, LAMKHIOUED B, DESAINT C, SOUSSI-GOUNNI A, GOLDMAN M, CAPRON A, PRIN L, CAPRON M : Eosinophils express a functional receptor for interferon α : inhibitory role of interferon α on the release of mediators. *Blood*, 1996, **87(6)** : 2354-2360.
- 9 **ALLEN JE, McDONALD AS : Profound suppression of cellular proliferation mediated by the secretions of nematodes. *Parasite Immunol.*, 1998, 20(5) : 241-247.**
- 10 ALON R, CHEN S, PURI KD, FINGER EB, SPRINGER TA : The kinetics of L-selectin tethers and the mechanics of selectin-mediated rolling. *J. Cell Biol.*, 1997, **138(5)** : 1169-1180.
- 11 AL-QAOUUD KM, PEARLMAN E, HARTUNG T, KLUKOWSKI J, FLEISCHER B, HOERAUF A : A new mechanism for IL-5-dependent helminth control: neutrophil accumulation and neutrophil-mediated worm encapsulation in murine filariasis are abolished in the absence of IL-5. *Int. Immunol.*, 2000, **12(6)** : 899-908.
- 12 AMES RS, LI Y, SARAU HM, NUTHULAGANTI P, FOLEY JJ, ELLIS C, ZENG Z,

- SU K, JUREWICZ AJ, HERTZBERG RP, BERGSMA DJ, KUMAR C : Molecular cloning and characterization of the human anaphylatoxin C3a receptor. *J. Biol. Chem.*, 1996, **271(34)** : 20231-20234.
- 13 AMES RS, TOMETTA MA, FOLEY JJ, HUGLI TE, SARAU HM : Evidence that the receptor for C4a is distinct from the C3a receptor. *Immunopharmacol.*, 1997, **38 (1-2)** : 87-92. Abstract.
- 14 AMIRI P, HAAK-FRENDSCHO M, ROBBINS K, McKERROW JH, STEWART T, JARDIEU P : Anti-immunoglobulin E treatment decreases worm burden and egg production in *Schistosoma mansoni*-infected normal and interferon γ knockout mice. *J. Exp. Med.*, 1994, **180(1)** : 43-51.
- 15 ANDERSON RC : *Nematodes parasites of vertebrates. Their development and transmission*. 2nd Edition. CABI Publishing (Ed), Oxon (UK), 650 pages, 2000.
- 16 ASSELIN S, BREBAN M, FRADELIZI D : Immunité cellulaire ou immunité humorale ? L'action des cytokines IL-12 et IL-4 sur les lymphocytes T auxiliaires. *Presse Med.*, 1997, **26(6)** : 278-283.
- 17 BABAYAN S, UNGEHEUER MN, MARTIN C, ATTOUT T, BELNOUE E, SNOUNOU G, RENIA L, KORENAGA M, BAIN O : Resistance and susceptibility to filarial infection with *Litomosoides sigmodontis* are associated with early differences in parasite development and in localized immune reactions. *Infect. Immun.*, 2003, **71(12)** : 6820-6829.
- 18 BABU S, GANLEY LM, KLEI TR, SHULTZ LD, RAJAN TV : Role of γ interferon and interleukin-4 in host defense against the human filarial parasite *Brugia malayi*. *Infect. Immun.*, 2000, **68(5)** : 3034-3035.
- 19 BADEWA AP, HUDSON CE HEIMAN AS : Regulatory effects of eotaxin, eotaxin-2, and eotaxin-3 on eosinophil degranulation and superoxide anion generation. *Exp. Biol. Med.*, 2002, **227(8)** : 645-651.
- 20 BADLEY JE, GRIEVE RB, ROCKEY JH, GLICKMAN LT : Immune-mediated adherence of eosinophils to *Toxocara canis* infective larvae: the role of excretory-secretory antigens. *Parasite Immunol.* 1987, **9(1)** : 133-143.
- 21 BAEK BK, ISLAM MK, KIM BS, LIM CW, HUR J, OLUOCH AO, KIM CH, KAKOMA I : Characterization of the protective response against a homologous challenge infection with *Strongyloides venezuelensis* in rats. *Vet. Parasitol.*, 2003, **113(3-4)** : 217-227.
- 22 BAILEY SR, CUNNINGHAM FM : Inflammatory mediators induce endothelium-dependant adherence of equine eosinophils to cultured endothelial cells. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 2001, **24(3)** : 209-214.
- 23 BANDEIRA-MELO C, GILLARD G, GHIRAN I, WELLER PF : EliCell: a gel-phase dual antibody capture and detection assay to measure cytokine release from eosinophils. *J. Immunol. Methods*, 2000, **244(1-2)** : 105-115.

- 24 BANDEIRA-MELO C, PHOOFOLO M, WELLER PF : Extranuclear lipid bodies, elicited by CCR3-mediated signaling pathways, are the sites of chemokine-enhanced leukotriene C₄ production in eosinophils and basophils. *J. Biol. Chem.*, 2001, **276(25)** : 22779-22787.
- 25 BANDEIRA-MELO C, SUGIYAMA K, WOODS LJ, PHOOFOLO M, CENTER DM, CRUIKSHANK WW, WELLER PF : IL-16 promotes leukotriene C₄ and IL-4 release from human eosinophils via CD4- and autocrine CCR3-chemokine-mediated signaling. *J. Immunol.*, 2002, **168(9)** : 4756-4763.
- 26 BANDEIRA-MELO C, SUGIYAMA K, WOODS LJ, WELLER PF : Eotaxin elicits rapid vesicular transport-mediated release of preformed IL-4 from human eosinophils. *J. Immunol.*, 2001, **166(8)** : 4813-4817.
- 27 BARNES PJ : Reactive oxygen species and airway inflammation. *Free Radic. Biol. Med.*, 1990, **9(3)** : 235-243.
- 28 BARTEMES KR, McKINNEY S, GLEICH GJ, KITA H : Endogenous platelet-activating factor is critically involved in effector functions of eosinophils stimulated with IL-5 or IgG. *J. Immunol.*, 1999, **162(5)** : 2982-2989.
- 29 BEGLEY CG, LOPEZ AF, NICOLA NA, WARREN DJ, VADAS MA, SANDERSON CJ, METCALF D : Purified colony-stimulating factors enhance the survival of human neutrophils and eosinophils *in vitro* : A rapid and sensitive microassay for colony-stimulating factors. *Blood*, 1986, **68(1)** : 162-166.
- 30 BEIL WJ, WELLER PF, TZIZIK DM, GALLI SJ, DVORAK AM : Ultrastructural immunogold localization of tumor necrosis factor- α to the matrix compartment of eosinophil secondary granules in patients with idiopathic hypereosinophilic syndrome. *J. Histochem. Cytochem.*, 1993, **41(11)** : 1611-1615.
- 31 BEITING DP, BLISS SK, SCHLAFER DH, ROBERTS VL, APPLETON JA : Interleukin-10 limits local and body cavity inflammation during infection with muscle-stage *Trichinella spiralis*. *Infect. Immun.*, 2004, **72(6)** : 3129-3137.
- 32 BELLER DI, SPRINGER TA, SCHREIBER RD : Anti-Mac-1 selectively inhibits the mouse and human type three complement receptor. *J. Exp. Med.*, 1982, **156(4)** : 1000-1009.
- 33 BERASAIN P, CARMONA C, FRANGIONE B, DALTON JP, GONI F : *Fasciola hepatica*: parasite-secreted proteinases degrade all human IgG subclasses: determination of the specific cleavage sites and identification of the immunoglobulin fragments produced. *Exp Parasitol.* 2000, **94(2)** : 99-110.
- 34 BERGER RB, BLACKWELL NM, LASS JH, DIACONU E, PEARLMAN E : IL-4 and IL-13 regulation of ICAM-1 expression and eosinophil recruitment in *Onchocerca volvulus* keratitis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2002, **43(9)** : 2992-2997.
- 35 BETTS CJ, ELSE KJ : Mast cells, eosinophils and antibody-mediated cellular

- cytotoxicity are not critical in resistance to *Trichuris muris*. *Parasite Immunol.*, 1999, **21(1)** : 45-52.
- 36 **BLACKBURN CC, SELKIRK ME : Inactivation of platelet-activating factor by a putative acetylhydrolase from the gastrointestinal nematode parasite *Nippostrongylus brasiliensis*. *Immunology*, 1992, 75(1) : 41-46.**
 - 37 BLACKWELL NM, ELSE KJ : B cells and antibodies are required for resistance to the parasitic gastrointestinal nematode *Trichuris muris*. *Infect. Immun.*, 2001, **69(6)** : 3860-3868.
 - 38 BLEISS W, OBERLANDER U, HARTMANN S, ADAM R, MARKO A, SCHONEMEYER A, LUCIUS R : Protective immunity induced by irradiated third-stage larvae of the filaria *Acanthocheilonema viteae* is directed against challenge third-stage larvae before molting. *J. Parasitol.*, 2002, **88(2)** : 264-270.
 - 39 BLOM M, TOOL AT, WEVER PC, WOLBINK GJ, BROUWER MC, CALAFAT J, EGESTEN A, KNOL EF, HACK CE, ROOS D, VERHOEVEN AJ : Human eosinophils express, relative to other circulating leukocytes, large amounts of secretory 14-kDa phospholipase A₂. *Blood*, 1998, **91(8)** : 3037-3043.
 - 40 BOCHNER BS, BICKEL CA, TAYLOR ML, McGLASHAN DW, GRAY PW, RAPORT CJ, GODISKA R : Macrophage-derived chemokine induces human eosinophil chemotaxis in a CC chemokine receptor 3- and CC chemokine receptor 4-independent manner. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999, **103(3)** : 527-532.
 - 41 BOCHNER BS, KLUNK DA, STERBINSKY SA, COFFMAN RL, SCHLEIMER RP : IL-13 selectively induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *J. Immunol.*, 1995, **154(2)** : 799-803. Abstract.
 - 42 BOEHME SA, SULLIVAN SK, CROWE PD, SANTOS M, CONLON PJ, SRIMARAO P, BACON KB : Activation of mitogen-activated protein kinase regulates eotaxin-induced eosinophil migration. *J. Immunol.*, 1999, **163(3)** : 1611-1618.
 - 43 BOZZA PT, YU W, PENROSE JF, MORGAN ES, DVORAK AM, WELLER PF : Eosinophil lipid bodies: specific, inducible intracellular sites for enhanced eicosanoid formation. *J. Exp. Med.*, 1997, **186(6)** : 909-920.
 - 44 BRACKE M, Van De GRAAF E, LAMMERS JW, COFFER PJ, KOENDERMAN L : *In vivo* priming of Fc α R functioning on eosinophils of allergic asthmatics. *J. Leukoc. Biol.*, 2000, **68(5)** : 655-661.
 - 45 BRATTIG NW, ABAKAR AZ, GEISINGER F, KRUPPA TF : Cell-adhesion molecules expressed by activated eosinophils in *Onchocerca volvulus* infection. *Parasitol. Res.*, 1995, **81(5)** : 398-402.
 - 46 BRATTIG NW, TISCHENDORF FW, STROTE G, MEDINA DE LA GARZA CE : Eosinophil-larval interaction in onchocerciasis: heterogeneity of *in vitro* adherence of eosinophils to infective third and fourth stage larvae and microfilariae of *Onchocerca volvulus*. *Parasite Immunol.*, 1991, **13(1)** : 13-22.

- 47 BRET-BENNIS L, ROUSSEAU C, PALANCHE F, DELVERDIER M : Apoptose et cancer. *Rev. Med. Vet.*, 1999, **150(2)** : 111-132.
- 48 BRIGANDI RA, ROTMAN HL, LEON O, NOLAN TJ, SCHAD GA, ABRAHAM D : *Strongyloides stercoralis* host-adapted third-stage larvae are the target of eosinophil-associated immune-mediated killing in mice. *J. Parasitol.*, 1998, **84(2)** : 440-445.
- 49 BRIGANDI RA, ROTMAN HL, NOLAN TJ, SCHAD GA, ABRAHAM D : Chronicity in *Strongyloides stercoralis* infections: dichotomy of the protective immune response to infective and autoinfective larvae in a mouse model. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1997, **56(6)** : 640-646.
- 50 BROIDE D : Fast flowing eosinophils. Signals for stopping and stepping out of blood vessels. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2002, **26(6)** : 637-640.
- 51 BROIDE DH, CAMPBELL K, GIFFORD T, SRIMARAO P: Inhibition of eosinophilic inflammation in allergen-challenged, IL-1 receptor type 1-deficient mice is associated with reduced eosinophil rolling and adhesion on vascular endothelium. *Blood*, 2000, **95(1)** : 263-269.
- 52 BROIDE DH, HUMBER D, SULLIVAN S, SRIMARAO P : Inhibition of eosinophil rolling and recruitment in P-selectin- and intracellular adhesion molecule-1-deficient mice. *Blood*, 1998, **91(8)** : 2847-2856.
- 53 BROIDE DH, STACHNICK G, CASTANEDA D, NAYAR J, SRIMARAO P : Inhibition of eosinophilic inflammation in allergen-challenged TNF receptor p55/p75- and TNF receptor p55-deficient mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2001, **24(3)** : 304-311.
- 54 BUNGIRO RD Jr, ANDERSON BR, CAPPELLO M : Oral transfer of adult *Ancylostoma ceylanicum* hookworms into permissive and nonpermissive host species. *Infect. Immun.*, 2003, **71(4)** : 1880-1886.
- 55 BURKE-GAFFNEY A, BLEASE K, HARTNELL A, HELLEWELL PG : TNF- α potentiates C5a-stimulated eosinophil adhesion to human bronchial epithelial cells : A role for $\alpha 5\beta 1$ integrin. *J. Immunol.*, 2002, **168(3)** : 1380-1388.
- 56 CAMERON L, CHRISTODOULOPOULOS P, LAVIGNE F, NAKAMURA Y, EIDELMAN D, McEUVEN A, WALLS A, TAVERNIER J, MINSHALL E, MOQBEL R, HAMID Q : Evidence for local eosinophil differentiation within allergic nasal mucosa: inhibition with soluble IL-5 receptor. *J. Immunol.*, 2000, **164(3)** : 1538-1545.
- 57 CAMPBELL EM, PROUDFOOT AE, YOSHIMURA T, ALLET B, WELLS TN, WHITE AM, WESTWICK J, WATSON ML : Recombinant guinea pig and human RANTES activate macrophages but not eosinophils in the guinea pig. *J. Immunol.*, 1997, **159(3)** : 1482-1489.
- 58 CAMPBELL HD, TUCKER WQ, HORT Y, MARTINSON ME, MAYO G, CLUTTERBUCK EJ, SANDERSON CJ, YOUNG IG : Molecular cloning, nucleotide

- sequence, and expression of the gene encoding human eosinophil differentiation factor (interleukin 5). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1987, **84(19)** : 6629-6633.
- 59 CAPRON M, BAZIN H, JOSEPH M, CAPRON A : Evidence for IgE-dependent cytotoxicity by rat eosinophils. *J. Immunol.*, 1981; **126(5)** : 1764 - 1768.
- 60 CAPRON M, JOUAULT T, PRIN L, JOSEPH M, AMEISEN JC, BUTTERWORTH AE, PAPIN JP, KUSNIERZ JP, CAPRON A : Functional study of a monoclonal antibody to IgE Fc receptor (FcεR2) of eosinophils, platelets, and macrophages. *J. Exp. Med.*, 1986, **164(1)** : 72-89.
- 61 CAPRON M, SPIEGELBERG HL, PRIN L, BENNICH H, BUTTERWORTH AE, PIERCE RJ, OUAISSI MA, CAPRON A : Role of IgE receptors in effector function of human eosinophils. *J. Immunol.*, 1984, **132(1)** : 462-468.
- 62 CARMONA C, DOWD AJ, SMITH AM, DALTON JP : Cathepsin L proteinase secreted by *Fasciola hepatica in vitro* prevents antibody-mediated eosinophil attachment to newly excysted juveniles. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 1993, **62(1)** : 9-17.
- 63 CELESTIN J, ROTSCHKE O, FALK K, RAMESH N, JABARA H, STROMINGER J, GEHA RS : IL-3 induces B7.2 (CD86) expression and costimulatory activity in human eosinophils. *J. Immunol.*, 2001, **167(11)** : 6097-6104.
- 64 CHANDRASHEKAR R, RAO UR, PARAB PB, SUBRAHMANYAM D : *Brugia malayi*: rat cell interactions with infective larvae mediated by complement. *Exp. Parasitol.*, 1986, **62(3)** : 362.
- 65 CHANG NCA, HUNG SI, HWA KY, KATO I, CHEN JE, LIU CH, CHANG AC : A macrophage protein, Ym1, transiently expressed during inflammation is a novel mammalian lectin. *J. Biol. Chem.*, 2001, **276(20)** : 17497-17506.
- 66 CHEN L, GRABOWSKI KA, XIN JP, COLEMAN J, HUANG Z, ESPIRITU, ALKAN S, XIE HB, ZHU Y, WHITE FA, CLANCY JJr, HUANG H : IL-4 induces differentiation and expansion of Th2 cytokine-producing eosinophils. *J. Immunol*, 2004, **172(4)** : 2059-2066.
- 67 CHENG G, UEDA T, EDA F, ARIMA M, YOSHIDA N, FUKUDA T : A549 cells can express interleukin-16 and stimulate eosinophil chemotaxis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2001, **25(2)** : 212-218.
- 68 CHENSUE SW, LUKACS NW, YANG TY, SHANG X, FRAIT KA, KUNKEL SL, KUNG T, WIEKOWSKI MT, HEDRICK JA, COOK DN, ZINGONI A, NARULA SK, ZLOTNIK A, BARRAT FJ, O'GARRA A, NAPOLITANO M, LIRA SA : Aberrant *in vivo* T helper type 2 cell response and impaired eosinophil recruitment in CC chemokine receptor 8 knockout mice. *J. Exp. Med.*, 2001, **193(5)** : 573-584.
- 69 CHENSUE SW, WARMINGTON K, RUTH JH, LUKACS N, KUNKEL SL : Mycobacterial and schistosomal antigen-elicited granuloma formation in IFN-γ and IL-4 knockout mice: analysis of local and regional cytokine and chemokine networks. *J. Immunol.*, 1997, **159(7)** : 3565-3573. [published erratum appears in *J. Immunol.*, 1999, **162 (5)** : 3106].

- 70 CHIARAMONTE MG, DONALDSON DD, CHEEVER AW, WYNN TA : An IL-13 inhibitor blocks the development of hepatic fibrosis during a T-helper type 2–dominated inflammatory response. *J. Clin. Invest.*, 1999, **104(6)** : 777-785.
- 71 CHIHARA J, KAKAZU T, HIGASHIMOTO I, YAMAMOTO T, KURACHI D, NAKAJIMA S : Increased eosinophil oxidative metabolism by treatment with soluble intercellular adhesion molecule-1. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1995, **108 (Suppl 1)** : 45-47.
- 72 CHIU BC, FREEMAN CM, STOLBERG VR, KOMUNIECKI E, LINCOLN PM, KUNKEL SL, CHENSUE SW : Cytokine-chemokine networks in experimental mycobacterial and schistosomal pulmonary granuloma formation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2003, **29(1)** : 106-116.
- 73 CHOW SC, BROWN A, PRITCHARD D : The human hookworm pathogen *Necator americanus* induces apoptosis in T lymphocytes. *Parasite Immunol.*, 2000, **22(1)** : 21-29.
- 74 CHUNG YB, KONG Y, YANG HJ, KANG SY, CHO SY : Cysteine protease activities during maturation stages of *Paragonimus westermani*. *J. Parasitol.*, 1997, **83(5)** : 902-907.
- 75 CHUNG YB, YANG HJ, KANG SY, KONG Y, CHO SY : Activities of different cysteine proteases of *Paragonimus westermani* in cleaving human IgG. *Korean J. Parasitol.*, 1997, **35(2)** : 139-142.
- 76 CLUTTERBUCK EJ, HIRST EM, SANDERSON CJ : Human interleukin-5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6 and GM-CSF. *Blood*, 1989, **73(6)** : 1504-1512.
- 77 CLUTTERBUCK EJ, SANDERSON CJ : Regulation of human eosinophil precursor production by cytokines: a comparison of recombinant human interleukin-1 (rhIL-1), rhIL-3, rhIL-5, rhIL-6, and rh granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 1990, **75(9)** : 1774-1779.
- 78 COLLINS PD, MARLEAU S, GRIFFITHS-JOHNSON DA, JOSE PJ, WILLIAMS TJ : Cooperation between interleukin-5 and the chemokine eotaxin to induce eosinophil accumulation *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 1995, **182(4)** : 1169-1174.
- 79 COLLOBERT-LAUGIER C, HOSTE H, SEVIN C, CHARTIER C, DORCHIES P : Mast cell and eosinophil mucosal responses in the large intestine of horses naturally infected with cyathostomes. *Vet. Parasitol.*, 2002, **107(3)** : 251-264.
- 80 COMBADIÈRE C, AHUJA SK, MURPHY PM : Cloning and functional expression of a human eosinophil CC chemokine receptor. *J. Biol. Chem.*, 1995, **270(28)** : 16491-16494.

- 81 CULLEY FJ, BROWN A, CONROY DM, SABROE I, PRITCHARD DI, WILLIAMS TJ : Eotaxin is specifically cleaved by hookworm metalloproteases preventing its action *in vitro* and *in vivo*. *J. Immunol.*, 2000, **165(11)** : 6447-6453.
- 82 CURRY AJ, ELSE KJ, JONES F, BANCROFT A, GRENCIS RK, DUNNE DW : Evidence that cytokine-mediated immune interactions induced by *Schistosoma mansoni* alter disease outcome in mice concurrently infected with *Trichuris muris*. *J. Exp. Med.*, 1995, **181(2)** : 769-774.
- 83 CUVELIER SL, PATEL KD : Shear-dependent eosinophil transmigration on interleukin 4-stimulated endothelial cells: a role for endothelium-associated eotaxin-3. *J. Exp. Med.*, 2001, **194(12)** : 1699-1709.
- 84 CUVELIER SL, PAUL S, SHARIAT N, COLARUSSO P, PATEL KD : Eosinophil adhesion under flow conditions activates mechanosensitive signaling pathways in human endothelial cells. *J. Exp. Med.*, 2005, **202(6)** : 865-876.
- 85 **DAHINDEN CA, GEISER T, BRUNNER T, VON TSCHARNER V, CAPUT D, FERRARA P, MINTY A, BAGGIOLINI M : Monocyte chemotactic protein 3 is most effective basophil- and eosinophil-activating chemokine. *J. Exp. Med.*, 1994, 179(2) : 751-756.**
- 86 DALY CM, MAYRHOFER G, DENT LA : Trapping and immobilization of *Nippostrongylus brasiliensis* larvae at the site of inoculation in primary infections of interleukin-5 transgenic mice. *Infect. Immun.*, 1999, **67(10)** : 5315-5323.
- 87 DAUGHERTY BL, SICILIANO SJ, DeMARTINO JA, MALKOWITZ L, SIROTINA A, SPRINGER MS : Cloning, expression, and characterization of the human eosinophil eotaxin receptor. *J. Exp. Med.*, 1996, **183(5)** : 2349-2354.
- 88 DAVENPECK KL, ZAGORSKI J, SCHLEIMER RP, BOCHNER BS : Lipopolysaccharide-induced leukocyte rolling and adhesion in the rat mesenteric microcirculation: regulation by glucocorticoids and role of cytokines. *J. Immunol.*, 1998, **161(12)** : 6861-6870.
- 89 DE ANDRES B, MUELLER AL, BLUM A, WEINSTOCK J, VERBEEK S, SANDOR M, LYNCH RG : Fc γ RII (CD32) is linked to apoptotic pathways in murine granulocyte precursors and mature eosinophils. *Blood*, 1997, **90(3)** : 1267-1274.
- 90 DE ANDRES B, RAKASZ E, HAGEN M, McCORMIK ML, MUELLER AL, ELLIOT D, METWALI A, SANDOR M, BRITIGAN BE, WEINSTOCK JV, LYNCH RG : Lack of Fc- ϵ receptors on murine eosinophils : Implications for the functional significance of elevated IgE and eosinophils in parasitic infections. *Blood*, 1997, **89(10)** : 3826-3836.
- 91 DEL POZO V, DE ANDRES B, MARTIN E, CARDABA B, FERNANDEZ JC, GALLARDO S, TRAMON P, LEYVA-COBIAN F, PALOMINO P, LAHOZ C : Eosinophil as antigen-presenting cell: activation of T cell clones and T cell hybridoma by eosinophils after antigen processing. *Eur. J. Immunol.*, 1992, **22(7)** : 1919-1925.

- 92 DEL POZO V, DE ANDRES B, MARTIN E, MARURI N, ZUBELDIA JM, PALOMINO P, LAHOZ C : Murine eosinophils and IL-1: α IL-1 mRNA detection by in situ hybridization. Production and release of IL-1 from peritoneal eosinophils. *J. Immunol.*, 1990, **144(8)** : 3117-3122.
- 93 DELVERDIER M, BRET L, RAYMOND I, MAGNOL JP : La réaction inflammatoire : II Dynamique et signification biologique. *Prat. Med. Chir. Anim. Comp.*, 1993, **28(6)**, 589-603.
- 94 DENBURG JA : Haemopoietic mechanisms in nasal polyposis and asthma. *Thorax*, 2000, **55(Suppl 2)** : S24-S25.
- 95 DENBURG JA, TELIZYN S, BELDA A, MESSNER H, LIM B, JAMAL N, ACKERMAN SJ, GLEICH GJ, BIENENSTOCK J : **Heterogeneity of human peripheral blood eosinophil-type colonies: evidence of a common basophil-eosinophil progenitor.** *Blood*, 1985, **66(2)** : 312-318.
- 96 DENNIS VA., KLEI TR, CHAPMAN MR : Generation and partial characterization of an eosinophil chemotactic cytokine produced by sensitized equine mononuclear cells stimulated with *Strongylus vulgaris* antigen. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1993, **37(2)** : 135-149.
- 97 DENT LA, DALY C, GEDDES A, CORMIE J, FINLAY DA, BIGNOLD L, HAGAN P, PARKHOUSE RM, GARATE T, PARSONS J, MAYRHOFER G : Immune responses of IL-5 transgenic mice to parasites and aeroallergens. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1997, **92(Suppl. II)** : 45-54.
- 98 DENT LA, DALY CM, MAYRHOFER G, ZIMMERMAN T, HALLETT A, BIGNOLD LP, CREANEY J, PARSONS JC : Interleukin-5 transgenic mice show enhanced resistance to primary infections with *Nippostrongylus brasiliensis* but not primary infections with *Toxocara canis*. *Infect. Immun.*, 1999, **67(2)** : 989-993.
- 99 DENT LA, MUNRO GH, PIPER KP, SANDERSON CJ, FINLAY DA, DEMPSTER RK, BIGNOLD LP, HARKIN DG, HAGAN P : Eosinophilic interleukin 5 (IL-5) transgenic mice: eosinophil activity and impaired clearance of *Schistosoma mansoni*. *Parasite Immunol.*, 1997, **19(7)** : 291-300.
- 100 DESAKORN V, SUNTHARASAMAI P, PUKRITTAYAKAMEE S, MIGASENA S, BUNNAG D : Adherence of human eosinophils to infective filariform larvae of *Necator americanus* in vitro. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 1987, **18(1)** : 66-72.
- 101 DESPOMMIER D : Toxocariasis : Clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2003, **16(2)** : 265-272.
- 102 DEWSON G, COHEN GM, WARDLAW AJ : Interleukin-5 inhibits translocation of Bax to the mitochondria, cytochrome c release, and activation of caspases in human eosinophils. *Blood*, 2001, **98(7)** : 2239-2247.
- 103 DEWSON G, WALSH GM, WARDLAW AJ : Expression of Bcl-2 and its homologues in human eosinophils. Modulation by interleukin-5. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999,

20(4) : 720-728.

- 104 DIBBERT B, DAIGLE I, BRAUN D, SCHRANZ C, WEBER K, BLASER K, ZANGEMEISTER-WITTKE U, AKBAR AN, SIMON H-U : Role for Bcl-x_L in delayed eosinophil apoptosis mediated by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-5. *Blood*, 1998, **92(3)** : 778-783.
- 105 DIMAYUGA E, STOBER M, KAYES SG : Eosinophil peroxidase levels in hearts and lungs of mice infected with *Toxocara canis*. *J. Parasitol.*, 1991, **77(3)** : 461-466. Abstract. [Erratum in : *J. Parasitol.*, 1991, **77(5)** : 748].
- 106 DI SCIPIO RG, DAFFERN PJ, JAGELS MA, BROIDE DH, SRIMARAO P : A comparison of C3a and C5a-mediated stable adhesion of rolling eosinophils in postcapillary venules and transendothelial migration *in vitro* and *in vivo*. *J. Immunol.*, 1999, **162(2)** : 1127-1136.
- 107 DOEDENS A, LOUKAS A, MAIZELS RM : A cDNA encoding Tc-MUC-5, a mucin from *Toxocara canis* larvae identified by expression screening. *Acta Trop.*, 2001, **79(3)** : 211-217.
- 108 DU J, ALSAYED YM, XIN F, ACKERMAN SJ, PLATANIAS LC : Engagement of the CrkL adapter in interleukin-5 signaling in eosinophils. *J. Biol. Chem.*, 2000, **275(42)** : 33167-33175.
- 109 DU WY, LIAO JW, FAN CK, SU KE : Combined treatment with interleukin-12 and mebendazole lessens the severity of experimental eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis* in ICR Mice. *Infect. Immun.*, 2003, **71(7)** : 3947-3953.
- 110 DUBUCQUOI S, DESREUMAUX P, JANIN A, KLEIN O, GOLDMAN M, TAVERNIER J, CAPRON A, CAPRON M : Interleukin 5 synthesis by eosinophils: association with granules and immunoglobulin-dependent secretion. *J. Exp. Med.*, 1994, **179(2)** : 703-708.
- 111 DULKYS Y, KLUTHE C, BUSCHERMÖHLE T, BARG I, Sabine KNÖSS, KAPP A, PROUDFOOT AEI, ELSNER J : IL-3 induces down-regulation of CCR3 protein and mRNA in human eosinophils. *J. Immunol.*, 2001, **167(6)** : 3443-3453.
- 112 DUNCAN GS, ANDREW DP, TAKIMOTO H, KAUFMAN SA, YOSHIDA H, SPELBERG J, De La POMPA JL, ELIA A, WAKEHAM A, KARAN-TAMIR B, MULLER WA, SENALDI G, ZUKOWSKI MM, MAK TW : Genetic evidence for functional redundancy of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1): CD31-deficient mice reveal PECAM-1 dependent and PECAM-1 independent functions. *J. Immunol.*, 1999, **162(5)** : 3022-3030.
- 113 DVORAK AM, ACKERMAN SJ, FURITSU T, ESTRELLA P, LETOURNEAU L, ISHIZAKA T : Mature eosinophils stimulated to develop in human-cord blood mononuclear cell cultures supplemented with recombinant human interleukin-5. II.

Vesicular transport of specific granule matrix peroxidase, a mechanism for effecting piecemeal degranulation. *Am. J. Pathol.*, 1992, **140(4)** : 795-807.

- 114 DVORAK AM, FURITSU T, LETOURNEAU L, ISHIZAKA T, ACKERMAN SJ : Mature eosinophils stimulated to develop in human cord blood mononuclear cell cultures supplemented with recombinant human interleukin-5. Part I. Piecemeal degranulation of specific granules and distribution of Charcot-Leyden crystal protein. *Am. J. Pathol.*, 1991, **138(1)** : 69-82.
- 115 DVORAK AM, LETOURNEAU L, LOGIN GR, WELLER PF, ACKERMAN SJ : Ultrastructural localization of the Charcot-Leyden crystal protein (lysophospholipase) to a distinct crystalloid-free granule population in mature human eosinophils. *Blood.*, 1988, **72(1)** : 150-158.
- 116 DVORAK AM, MIHM MCJr, OSAGE JE, KWAN TH, AUSTEN KF, WINTROUB BU : Bullous pemphigoid, an ultrastructural study of the inflammatory response: eosinophil, basophil and mast cell granule changes in multiple biopsies from one patient. *J. Invest. Dermatol.*, 1982, **78(2)** : 91-101.
- 117 DVORAK AM, ONDERDONK AB, McLEOD RS, MONAHAN-EARLEY RA, ANTONIOLI DA, CULLEN J, BLAIR JE, CISNEROS R, LETOURNEAU L, MORGAN E, et al. : Ultrastructural identification of exocytosis of granules from human gut eosinophils *in vivo*. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1993, **102(1)** : 33-45.
- 118 EBISAWA M, BOCHNER BS, GEORAS SN, SCHLEIMER RP : Eosinophil transendothelial migration induced by cytokines. I. Role of endothelial and eosinophil adhesion molecules in IL-1 β -induced transendothelial migration. *J. Immunol.*, 1992, **149(12)** : 4021-4028.
- 119 EBISAWA M, LIU MC, YAMADA T, KATO M, LICHTENSTEIN LM, BOCHNER BS, SCHLEIMER RP : Eosinophil transendothelial migration induced by cytokines. II. Potentiation of eosinophil transendothelial migration by eosinophil- active cytokines. *J. Immunol.*, 1994, **152(9)** : 4590-4596.
- 120 EBISAWA M, YAMADA T, BICKEL C, KLUNK D, SCHLEIMER RP : Eosinophil transendothelial migration induced by cytokines. III. Effect of the chemokine RANTES. *J. Immunol.*, 1994, **153(5)** : 2153-2160.
- 121 EGESTEN A, CALAFAT J, KNOL EF, JANSSEN H, WALZ TM : Subcellular localization of transforming growth factor- α in human eosinophil granulocytes. *Blood*, 1996, **87(9)** : 3910-3918.
- 122 EL-MALKY M, MARUYAMA H, HIRABAYASHI Y, SHIMADA S, YOSHIDA A, AMANO T, TOMINAGA A, TAKATSU K, OHTA N : Intraepithelial infiltration of eosinophils and their contribution to the elimination of adult intestinal nematode *Strongyloides venezuelensis* in mice. *Parasitol. Int.*, 2003, **52(1)** : 71-79.
- 123 ELOVIC E, OHYAMA H, SAUTY A, McBRIDE J, TSUJI T, NAGAI M, WELLER

- PF, WONG DTW : IL-4-dependent regulation of TGF- α and TGF- β 1 expression in human eosinophils. *J. Immunol.*, 1998, **160(12)** : 6121-6127.
- 124 ELSNER J, MACK M, BRÜHL H, DULKYS Y, KIMMIG D, SIMMONS G, CLAPHAM PR, SCHLÖNDORFF D, KAPP A, WELLS TNC, PROUDFOOT AEI : Differential activation of CC chemokine receptors by AOP-RANTES. *J. Biol. Chem.*, 2000, **275(11)** : 7787-7794.
- 125 ELSNER J, OPPERMANN M, KAPP A : Detection of C5a receptors on human eosinophils and inhibition of eosinophil effector functions by anti-C5a receptor (CD88) antibodies. *Eur. J. Immunol.*, 1996, **26(7)** : 1560-1564.
- 126 ERGER RA, CASALE TB : Tumor Necrosis Factor α is necessary for Granulocyte-Macrophage-Colony-Stimulating-Factor-induced eosinophil transendothelial migration. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1998, **115(1)** : 24-32.
- 127 ERJEFÄLT JS, ANDERSSON M, GREIFF L, KORSGREN M, GIZYCKI M, JEFFERY PK, PERSSON CGA : Cytolysis and piecemeal degranulation as distinct modes of activation of airway mucosal eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998, **102(2)** : 286-294.
- 128 ERJEFÄLT JS, GREIFF L, ANDERSSON M, ÄDELROTH E, JEFFERY PK, PERSSON CGA : Degranulation patterns of eosinophil granulocytes as determinants of eosinophil driven disease. *Thorax*, 2001, **56(5)** : 341-344.
- 129 ERJEFÄLT JS, GREIFF L, ANDERSSON M, MATSSON E, PETERSEN H, LINDEN M, ANSARI T, JEFFERY PK, PERSSON CGA : Allergen-induced eosinophil cytolysis is a primary mechanism for granule protein release in human upper airways. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1999, **160(1)** : 304-312.
- 130 ERJEFÄLT JS, KORSGREN M, NILSSON MC, SUNDLER F, PERSSON CGA : Association between inflammation and epithelial damage-restitution processes in allergic airways *in vivo*. *Clin. Exp. Allergy*, 1997, **27(11)** : 1344-1355.
- 131 ERJEFÄLT JS, PERSSON CGA : New aspects of degranulation and fates of airway mucosal eosinophils. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000, **161(6)** : 2074-2085.
- 132 ERJEFÄLT JS, SUNDLER F, PERSSON CGA : Eosinophils, neutrophils, and venular gaps in the airway mucosa at epithelial removal-restitution. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1996, **153(5)** : 1666-1674.
- 133 ESNAULT S, MALTER JS : Extracellular signal-regulated kinase mediates granulocyte-macrophage colony-stimulating factor messenger RNA stabilization in tumor necrosis factor- α plus fibronectin-activated peripheral blood eosinophils. *Blood*, 2002, **99(11)** : 4048-4052.
- 134 FALCONE FH, LOKE P'N, ZANG X, McDONALD AS, MAIZELS RM, ALLEN JE : A *Brugia malayi* homolog of macrophage migration inhibitory factor reveals an

- important link between macrophages and eosinophil recruitment during nematode infection. *J. Immunol.*, 2001, **167(9)** : 5348-5354.
- 135 FAULKNER H, TURNER J, KAMGNO J, PION SD, BOUSSINESQ M, BRADLEY JE : Age- and infection intensity-dependent cytokine and antibody production in human trichuriasis: the importance of IgE. *J. Infect. Dis.*, 2002, **185(5)** : 665-672.
- 136 FOLKARD SG, HOGARTH PJ, TAYLOR MJ, BIANCO AE : Eosinophils are the major effector cells of immunity to microfilariae in a mouse model of onchocerciasis. *Parasitology*, 1996, **112(3)** : 323-329.
- 137 FONDATI A, FONDEVILA D, FERRER L : Piecemeal degranulation (PMD) morphology in feline circulating eosinophils. *Res. Vet. Sci.*, 2003, **75(2)** : 127-132.
- 138 FORSSMANN U, UGUCCIONI M, LOETSCHER P, DAHINDEN CA, LANGEN H, THELEN M, BAGGIOLINI M : Eotaxin-2, a novel CC chemokine that is selective for the chemokine receptor CCR3, and acts like eotaxin on human eosinophil and basophil leukocytes. *J. Exp. Med.*, 1997, **185(12)** : 2171-2176.
- 139 FREEMAN GJ, BORRELIO F, HODES RJ, REISER H, GRIBBEN JG, NG JW, KIM J, GOLDBERG JM, HATHCOCK K, LASZLO G, *et al.* : Murine B7-2, an alternative CTLA-4 counter-receptor that costimulates T cell proliferation and interleukin 2 production. *J. Exp. Med.*, 1993, **178(6)** : 2185-2192.
- 140 FRIEND DS, GURISH MF, AUSTEN KF, HUNT J, STEVENS RL : Senescent jejunal mast cells and eosinophils in the mouse preferentially translocate to the spleen and draining lymph node, respectively, during the recovery phase of helminth infection. *J. Immunol.*, 2000, **165(1)** : 344-352.
- 141 FUJISAWA T, ABU-GHAZALEH R, KITA H, SANDERSON CJ, GLEICH GJ : Regulatory effect of cytokines on eosinophil degranulation. *J. Immunol.*, 1990, **144(2)** : 642-646.
- 142 FUJISAWA T, KATO Y, NAGASE H, ATSUTA J, TERADA A, IGUCHI K, KAMIYA H, MORITA Y, KITAURA M, KAWASAKI H, YOSHIE O, HIRAI K : Chemokines induce eosinophil degranulation through CCR-3. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, **106(3)** : 507-513.
- 143 GARCIA-ZEPEDA EA, COMBADIÈRE C, ROTHENBERG ME, SARAFI MN, LAVIGNE F, HAMID Q, MURPHY PM, LUSTER AD : Human monocyte chemoattractant protein (MCP)-4 is a novel CC chemokine with activities on monocytes, eosinophils, and basophils induced in allergic and nonallergic inflammation that signals through the CC chemokine receptors (CCR)-2 and -3. *J. Immunol.*, 1996, **157(12)** : 5613 - 5626.
- 144 GARCIA-ZEPEDA EA, ROTHENBERG ME, OWNBEY RT, CELESTIN J, LEDER P, LUSTER AD : Human eotaxin is a specific chemoattractant for eosinophil cells and provides a new mechanism to explain tissue eosinophilia. *Nat. Med.*, 1996, **2(4)** : 449-456.

- 145 GAUCHAT JF, HENCHOZ S, FATTAH D, MAZZEI G, AUBRY JP, JOMOTTE T, DASH L, PAGE K, SOLARI R, ALDEBERT D, CAPRON M, DAHINDEN C, BONNEFOY JY : CD40 ligand is functionally expressed on human eosinophils. *Eur. J. Immunol.*, 1995, **25(3)** : 863-865.
- 146 GEORAS SN, McINTYRE BW, EBISAWA M, BEDNARCZYK JL, STERBINSKY SA, SCHLEIMER RP, BOCHNER BS : Expression of a functional laminin receptor ($\alpha_6\beta_1$, very late activation antigen-6) on human eosinophils. *Blood*, 1993, **82(9)** : 2872-2879.
- 147 GERARD NP, HODGES MK, DRAZEN JM, WELLER PF, GERARD C : Characterization of a receptor for C5a anaphylatoxin on human eosinophils. *J. Biol. Chem.*, 1989, **264(3)** : 1760-1766.
- 148 GIBSON PG, MANNING PJ, O'BYRNE PM, GIRGIS-GABARDO A, DOLOVICH J, DENBURG JA, HARGREAVE FE : Allergen-induced asthmatic responses. Relationship between increases in airway responsiveness and increases in circulating eosinophils, basophils, and their progenitors. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1991, **143(2)** : 331-335.
- 149 GIEMBYCZ MA, LINDSAY MA : Pharmacology of the eosinophil. *Pharmacol. Rev.*, 1999, **51(2)** : 213-340.
- 150 GONZALO JA, LLOYD CM, KREMER L, FINGER E, MARTINEZ-A C, SIEGELMAN H, CYBULSKY M, GUTIERREZ-RAMOS JC : Eosinophil recruitment to the lung in a murine model of allergic inflammation. The role of T cells, chemokines, and adhesion receptors. *J. Clin. Invest.*, 1996, **98(10)** : 2332-2345.
- 151 GOPINATH R, HANNA LE, KUMARASWAMI V, PERUMAL V, KAVITHA V, VIJAYASEKARAN V, NUTMAN TB : Perturbations in eosinophil homeostasis following treatment of lymphatic filariasis. *Infect. Immun.*, 2000, **68(1)** : 93-99.
- 152 GOTSCH U, JAGER U, DOMINIS M, VESTWEBER D : Expression of P-selectin on endothelial cells is upregulated by LPS and TNF- α *in vivo*. *Cell. Adhes. Commun.*, 1994, **2(1)** : 7-14. Abstract.
- 153 GRABOVSKY V, FEIGELSON S, CHEN C, BLEIJS DA, PELED A, CINAMON G, BALEUX F, ARENZANA-SEISDEDOS F, LAPIDOT T, VAN KOOYK Y, LOBB RR, ALON R : Subsecond induction of α_4 integrin clustering by immobilized chemokines stimulates leukocyte tethering and rolling on endothelial vascular cell adhesion molecule 1 under flow conditions. *J. Exp. Med.*, 2000, **192(4)** : 495-506.
- 154 GREIFF L, ERJEFÄLT JS, ANDERSSON M, SVENSSON C, PERSSON CG : Generation of clusters of free eosinophil granules (Cfegs) in seasonal allergic rhinitis. *Allergy*, 1998, **53(2)** : 200-203.
- 155 GREWE M, CZECH W, MORITA A, WERFEL T, KLAMMER M, KAPP A, RUZICKA T, SCHÖPF E, KRUTMANN J : Human eosinophils produce biologically

- active IL-12: Implications for control of T-cell responses. *J. Immunol.*, 1998, **161(1)** : 415-420.
- 156 GRIMALDI JC, YU NX, GRUNIG G, SEYMOUR BW, COTTREZ F, ROBINSON DS, HOSKEN N, FERLIN WG, WU X, SOTO H, O'GARRA A, HOWARD MC, COFFMAN RL : Depletion of eosinophils in mice through the use of antibodies specific for C-C chemokine receptor 3 (CCR3). *J. Leukoc. Biol.*, 1999, **65(6)** : 846-853.
- 157 GROULADE P, GUELFY JF : *Atlas d'hématologie et de cytologie du chien et du chat*, (C. N. V. S. P. A. Ed.), 1983. 249 pp.
- 158 GROVE DI, MAHMOUD AA, WARREN KS : Eosinophils and resistance to *Trichinella spiralis*. *J. Exp. Med.*, 1977, **145(3)** : 755-759.
- 159 GROVE DI, NORTHERN C, HEENAN PJ : *Strongyloides stercoralis* infections in the muscle of mice: a model for investigating the systemic phase of strongyloidiasis. *Pathology*, 1986, **18(1)** : 72-76.
- 160 GURISH MF, BRYCE PJ, TAO H, KISSELGOF AB, THORNTON EM, MILLER HR, FRIEND DS, OETTGEN HC : IgE enhances parasite clearance and regulates mast cell responses in mice infected with *Trichinella spiralis*. *J. Immunol.*, 2004, **172(2)** : 1139-1145.
- 161 GURISH MF, HUMBLE A, TAO H, FINKELSTEIN S, BOYCE JA, GERARD C, FRIEND DS, AUSTEN KF : CCR3 is required for tissue eosinophilia and larval cytotoxicity after infection with *Trichinella spiralis*. *J. Immunol.*, 2002; **168(11)** : 5730-5736. [Erratum in 2002, 169 : 2797 et erratum in 2002, 169 : 4054].
- 162 HAFEZ I, STOLPE A, LINDAU M : Compound exocytosis and cumulative fusion in eosinophils. *J. Biol. Chem.*, 2003, **278(45)** : 44921-44928.
- 163 HAIG DM, STEVENSON LM, THOMSON J, PERCIVAL A, SMITH WD : Haemopoietic cell responses in the blood and bone marrow of sheep infected with the abomasal nematode *Teladorsagia circumcincta*. *J. Comp. Path.*, 1995, **112(2)** : 151-164.
- 164 HALL LR, MEHLOTRA RK, HIGGINS AW, HAXHIU MA, PEARLMAN E : An essential role for interleukin-5 and eosinophils in helminth-induced airway hyperresponsiveness. *Infect. Immun.*, 1998, **66(9)** : 4425-4430.
- 165 HALLGREN J, PEJLER G : Biology of mast cell tryptase: An inflammatory mediator. *FEBS J.*, 2006, **273(9)** : 1871-1895.
- 166 HAMANN KJ, BARKER RL, LOEGERING DA, GLEICH GJ : Comparative toxicity of purified human eosinophil granule proteins for newborn larvae of *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.*, 1987, **73(3)** : 523-529.
- 167 HAMANN KJ, GLEICH GJ, CHECKEL JL, LOEGERING DA, McCALL JW, BARKER RL : *In vitro* killing of microfilariae of *Brugia pahangi* and *Brugia malayi* by eosinophil granule proteins. *J. Immunol.*, 1990, **144(8)** : 3166-3173.

- 168 HAN SJ, KIM JH, NOH YJ, CHANG HS, KIM CS, KIM KS, KI SY, PARK CS, CHUNG IY : Interleukin (IL)-5 downregulates tumor necrosis factor (TNF)-induced eotaxin messenger RNA (mRNA) expression in eosinophils. Induction of eotaxin mRNA by TNF and IL-5 in eosinophils. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999, **21(3)** : 303-310.
- 169 HANSEL TT, DE VRIES IJ, CARBALLIDO JM, BRAUN RK, CARBALLIDO-PERRIG N, RIHS S, BLASER K, WALKER C : Induction and function of eosinophil intercellular adhesion molecule-1 and HLA-DR. *J. Immunol.*, 1992, **149(6)** : 2130-2136.
- 170 HAQUE A, OUAISSI A, SANTORO F, DES MOUTIS I, CAPRON A : Complement-mediated leukocyte adherence to infective larvae of *Dipetalonema viteae* (Filarioidea): requirement for eosinophils or eosinophil products in effecting macrophage adherence. *J. Immunol.*, 1982, **129(5)** : 2219-2225.
- 171 HARALDSEN G, KVALE D, LIEN B, FARSTAD IN, BRANDTZAEG P : Cytokine-regulated expression of E-selectin, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in human microvascular endothelial cells. *J. Immunol.*, 1996, **156(7)** : 2558-2565.
- 172 HARRIS DP, HAYNES L, SAYLES PC, DUSO DK, EATON SM, LEPAK NM, JOHNSON LL, SWAIN SL, LUND FE : Reciprocal regulation of polarized cytokine production by effector B and T cells. *Nat. Immunol.*, 2000, **1(6)** : 475-482.
- 173 HARTMANN J, SCEPEK S, HAFEZ I, LINDAU M : Differential regulation of exocytotic fusion and granule-granule fusion in eosinophils by Ca²⁺ and GTP analogs. *J. Biol. Chem.*, 2003, **278(45)** : 44929-44934.
- 174 HEATH H, QIN S, RAO P, WU L, LaROSA G, KASSAM N, PONATH PD, McKAY CR : Chemokine receptor usage by human eosinophils. The importance of CCR3 demonstrated using an antagonistic monoclonal antibody. *J. Clin. Invest.*, 1997, **99(2)** : 178-184.
- 175 HELMBY H, GRENCIS RK : IL-18 regulates intestinal mastocytosis and Th2 cytokine production independently of IFN- γ during *Trichinella spiralis* Infection. *J. Immunol.*, 2002, **169(5)** : 2553-2560.
- 176 HENDERSON WR, CHI EY : Ultrastructural characterization and morphometric analysis of human eosinophil degranulation. *J. Cell. Sci.*, 1985, **73(1)** : 33-48.
- 177 HERBERT DR, LEE JJ, LEE NA, NOLAN TJ, SCHAD GA, ABRAHAM D : Role of IL-5 in innate and adaptive immunity to larval *Strongyloides stercoralis* in mice. *J. Immunol.*, 2000, **165(8)** : 4544-4551.
- 178 HERNDON FJ, KAYES SG : Depletion of eosinophils by anti-IL-5 monoclonal antibody treatment of mice infected with *Trichinella spiralis* does not alter parasite burden or immunological resistance to reinfection. *J. Immunol.*, 1992, **149(11)** : 3642-3647.

- 179 HIRAI H, TANAKA K, YOSHIE O, OGAWA K, KENMOTSU K, TAKAMORI Y, ICHIMASA M, SUGAMURA K, NAKAMURA M, TAKANO S, NAGATA K : Prostaglandin D2 selectively induces chemotaxis in T helper type 2 cells, eosinophils, and basophils via seven-transmembrane receptor CRTH2. *J. Exp. Med.*, 2001, **193(2)** : 255-262.
- 180 HOERAUF A, BUTTNER DW, ADJEI O, PEARLMAN E : Science, medicine, and the future : Onchocerciasis. *Br. Med. J.*, 2003, **326(7382)** : 207-210.
- 181 HOKIBARA S, TAKAMOTO M, TOMINAGA A, TAKATSU K, SUGANE K: Marked eosinophilia in interleukin-5 transgenic mice fails to prevent *Trichinella spiralis* infection. *J. Parasitol.*, 1997, **83(6)** : 1186-1189.
- 182 HORIUCHI T, WELLER PF : Expression of vascular endothelial growth factor by human eosinophils : Upregulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-5. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1997, **17(1)** : 70-77.
- 183 HOSOI T, KOGUCHI Y, SUGIKAWA E, CHIKADA A, OGAWA K, TSUDA N, SUTO N, TSUNODA S, TANIGUCHI T, OHNUKI T : Identification of a novel human eicosanoid receptor coupled to G_{i/o}. *J. Biol. Chem.*, 2002, **277(35)** : 31459-31465.
- 184 HUANG WW, GARCIA-ZEPEDA EA, SAUTY A, OETTGEN HC, ROTHENBERG ME, LUSTER AD : Molecular and biological characterization of the murine leukotriene B4 receptor expressed on eosinophils. *J. Exp. Med.*, 1998, **188(6)** : 1063-1074.
- 185 HUBER-LANG MS, SARMA JV, McGUIRE SR, LU KT, PADGAONKAR VA, YOUNKIN EM, GUO RF, WEBER CH, ZUIDERWEG ER, ZETOUNE FS, WARD PA : Structure-function relationships of human C5a and C5aR. *J. Immunol.*, 2003, **170(12)** : 6115-6124.
- 186 HUMBLE AA, CONROY DM, MARLEAU S, RANKIN SM, PALFRAMAN RT, PROUDFOOT AEI, WELLS TNC, LI D, JEFFERY PK, GRIFFITHS-JOHNSON DA, WILLIAMS TJ, JOSE PJ : Kinetics of eotaxin generation and its relationship to eosinophil accumulation in allergic airways disease : Analysis in a guinea pig model *in vivo*. *J. Exp. Med.*, 1997, **186(4)** : 601-612.
- 187 HUMBLE AA, LU B, FRIEND DS, OKINAGA S, LORA J, AL-GARAWI A, MARTIN TR, GERARD NP, GERARD C : The murine CCR3 receptor regulates both the role of eosinophils and mast cells in allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2002, **99(3)** : 1479-1484.
- 188 INGLEEY E, YOUNG IG : Characterization of a receptor for interleukin-5 on human eosinophils and the myeloid leukemia line HL-60. *Blood*, 1991, **78(2)** : 339-344.
- 189 INMAN MD, ELLIS R, WATTIE J, DENBURG JA, O'BYRNE PM : Allergen-induced increase in airway responsiveness, airway eosinophilia, and bone-marrow eosinophil progenitors in mice. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999, **21(4)** : 473-479.

- 190 JIA GQ, GONZALO JA, HIDALGO A, WAGNER D, CYBULSKY M, GUTIERREZ-RAMOS JC : Selective eosinophil transendothelial migration triggered by eotaxin via modulation of Mac-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 interactions. *Int. Immunol.*, 1999, **11(1)** : 1-10.
- 191 JINQUAN T, JING C, JACOBI HH, REIMERT CM, MILLNER A, QUAN S, HANSEN JB, DISSING S, MALLING HJ, SKOV PS, POULSEN LK : CXCR3 expression and activation of eosinophils : Role of IFN- γ -inducible protein-10 and monokine induced by IFN- γ . *J. Immunol.*, 2000, **165(3)** : 1548-1556.
- 192 JINQUAN T, QUAN S, JACOBI HH, REIMERT CM, MILLNER A, HANSEN JB, THYGESEN C, RYDER LP, MADSEN HO, MALLING HJ, POULSEN LK : Cutting edge : Expression of the NF of activated T cells in eosinophils : Regulation by IL-4 and IL-5. *J. Immunol.*, 1999, **163(1)** : 21-24.
- 193 JOHNSON EH, SCHYNDER-CANDRIAN S, RAJAN TV, NELSON FK, LUSTIGMAN S, ABRAHAM D : Immune responses to third stage larvae of *Onchocerca volvulus* in interferon- γ and interleukin-4 knockout mice. *Parasite Immunol.*, 1998, **20(7)** : 319-324.
- 194 **JONG EC, MAHMOUD AA, KLEBANOFF SJ : Peroxidase-mediated toxicity to schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *J. Immunol.*, 1981, 126(2) : 468 - 471.**
- 195 JOSE PJ, GRIFFITHS-JOHNSON DA, COLLINS PD, WALSH DT, MOQBEL R, TOTTY NF, TRUONG O, HSUAN JJ, WILLIAMS TJ : Eotaxin : A potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea pig model of allergic airways inflammation. *J. Exp. Med.*, 1994, **179(3)** : 881-886.
- 196 KAIFI JT, DIACONU E, PEARLMAN E : Distinct roles for PECAM-1, ICAM-1, and VCAM-1 in recruitment of neutrophils and eosinophils to the cornea in ocular onchocerciasis (river blindness). *J. Immunol.*, 2001, **166(11)** : 6795-6801.
- 197 KAIFI JT, HALL LR, DIAZ C, SYPEK J, DIACONU E, LASS JH, PEARLMAN E : Impaired eosinophil recruitment to the cornea in P-selectin-deficient mice in *Onchocerca volvulus* keratitis (River Blindness). *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2000, **41(12)** : 3856-3861.
- 198 KAMPEN GT, STAFFORD S, ADACHI T, JINQUAN T, QUAN S, GRANT JA, SKOV PS, POULSEN LK, ALAM R : Eotaxin induces degranulation and chemotaxis of eosinophils through the activation of ERK2 and p38 mitogen-activated protein kinases. *Blood*, 2000, **95(6)** : 1911-1917.
- 199 KARAWAJCZYK M, SEVEUS L, GARCIA R, BJÖRNSSON E, PETERSON CGB, ROOMANS GM, VENGE P : Piecemeal degranulation of peripheral blood eosinophils. A study of allergic subjects during and out of the pollen season. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2000, **23(4)** : 521-529.

- 200 KATO M, KIMURA H, MOTEGI Y, TACHIBANA A, MINAKAMI H, MORIKAWA A, KITA H : Platelet-activating factor activates two distinct effector pathways in human eosinophils. *J. Immunol.*, 2002, **169(9)** : 5252-5259.
- 201 KHALDOYANIDI S, SIKORA L, BROIDE DH, ROTHENBERG ME, SRIRAMARAO P : Constitutive overexpression of IL-5 induces extramedullary hematopoiesis in the spleen. *Blood*, 2003, **101(3)** : 863-868.
- 202 KHALIFE J, DUNNE DW, RICHARDSON BA, MAZZA G, THORNE KJ, CAPRON A, BUTTERWORTH AE: Functional role of human IgG subclasses in eosinophil-mediated killing of schistosome of *Schistosoma mansoni*. *J. Immunol.*, 1989, **142(12)** : 4422-4427.
- 203 KHAN WI, VALLANCE BA, BLENNERHASSETT PA, DENG Y, VERDU EF, MATTHAEI KI, COLLINS SM : Critical role for signal transducer and activator of transcription factor 6 in mediating intestinal muscle hypercontractility and worm expulsion in *Trichinella spiralis*-infected mice. *Infect. Immun.*, 2001, **69(2)** : 838-844.
- 204 KHEW-GOODALL Y, WADHAM C, STEIN BN, GAMBLE JR, VADAS MA : Stat6 activation is essential for interleukin-4 induction of P-selectin transcription in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999, **19(6)** : 1421-1429.
- 205 KIM CH, ROTT L, KUNKEL EJ, GENOVESE MC, ANDREW DP, WU L, BUTCHER EC : Rules of chemokine receptor association with T cell polarization *in vivo*. *J. Clin. Invest.*, 2001, **108(9)** : 1331-1339.
- 206 KIM YK, UNO M, HAMILOS DL, BECK L, BOCHNER B, SCHLEIMER R, DENBURG JA : Immunolocalization of CD34 in nasal polyposis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999, **20(3)** : 388-397.
- 207 KING CL, XIANLI J, MALHOTRA I, LIU S, MAHMOUD AA, OETTGEN HC : Mice with a targeted deletion of the IgE gene have increased worm burdens and reduced granulomatous inflammation following primary infection with *Schistosoma mansoni*. *J. Immunol.*, 1997, **158(1)** : 294-300.
- 208 KITA H, GLEICH GJ : Eosinophils and IgE receptors : A continuing controversy. *Blood*, 1997, **89(10)** : 3497-3501.
- 209 KITAURA M, NAKAJIMA T, IMAI T, HARADA S, COMBADIERE C, TIFFANY HL, MURPHY PM, YOSHIE O : Molecular cloning of human eotaxin, an eosinophil-selective CC chemokine, and identification of a specific eosinophil eotaxin receptor, CC chemokine Receptor 3. *J. Biol. Chem.*, 1996, **271(13)** : 7725-7730.
- 210 KITAURA M, SUZUKI N, IMAI T, TAKAGI S, SUZUKI R, NAKAJIMA T, HIRAI K, NOMIYAMA H, YOSHIE O : Molecular cloning of a novel human CC chemokine (eotaxin-3) that is a functional ligand of CC chemokine receptor 3. *J. Biol. Chem.*, 1999, **274(39)** : 27975-27980.

- 211 KITAYAMA J, FUHLBRIGGE RC, PURI KD, SPRINGER TA : P-selectin, L-selectin, and $\alpha 4$ integrin have distinct roles in eosinophil tethering and arrest on vascular endothelial cells under physiological flow conditions. *J. Immunol.*, 1997, **159(8)** : 3929-3939.
- 212 KITAYAMA J, McKAY CR, PONATH PD, SPRINGER TA : The C-C chemokine receptor CCR3 participates in stimulation of eosinophil arrest on inflammatory endothelium in shear flow. *J. Clin. Invest.*, 1998, **101(9)** : 2017-2024.
- 213 KLEIN A, TALVANI A, CARA DC, KENIA L, GOMES KL, LUKACS NW, TEIXEIRA MM : Stem cell factor plays a major role in the recruitment of eosinophils in allergic pleurisy in mice via the production of leukotriene B4. *J. Immunol.*, 2000, **164(8)** : 4271-4276.
- 214 KLESIUS PH : Regulation of immunity to *Ostertagia ostertagi*. *Vet. Parasitol.*, 1993, **46(1-4)** : 63-79.
- 215 KOBAYASHI H, GLEICH GJ, BUTTERFIELD JH, KITA H : Human eosinophils produce neurotrophins and secrete nerve growth factor on immunologic stimuli. *Blood*, 2002, **99(6)** : 2214-2220.
- 216 KOCIBA GJ : Leucocytes changes in disease in *Textbook of veterinary internal medicine vol.2*. Ettinger SJ, Feldman EC (Eds.) 5th ed., WB Saunders Company, 2000, pp : 1842-1857
- 217 KODAMA T, MATSUYAMA T, MIYATA S, NISHIMURA H, NISHIOKA Y, KITADA O, SUGITA M : Kinetics of apoptosis in the lung of mice with allergic airway inflammation. *Clin. Exp. Allergy*, 1998, **28(11)** : 1435-1443.
- 218 KOJIMA S, YAMAMOTO N, KANAZAWA T, OVARY Z : Monoclonal IgE-dependent eosinophil cytotoxicity to haptenedated schistosomula of *Schistosoma japonicum*: enhancement of the cytotoxicity and expression of Fc receptors for IgE by *Nippostrongylus brasiliensis* infection. *J. Immunol.*, 1985, **134(4)** : 2719-2722.
- 219 **KONG Y, CHUNG YB, CHO SY, KANG SY : Cleavage of immunoglobulin G by excretory-secretory cathepsin S-like protease of *Spirometra mansoni* plerocercoid. *Parasitology.*, 1994, 109 (5) : 611-621.**
- 220 KORSGREN M, PERSSON CGA, SUNDLER F, BJERKE T, HANSSON T, CHAMBERS BJ, HONG S, VAN KAER L, LJUNGGREN HG, KORSGREN O : Natural Killer cells determine development of allergen-induced eosinophilic airway inflammation in mice. *J. Exp. Med.*, 1999, **189(3)** : 553-562.
- 221 KROEGEL C, YUKAWA T, DENT G, VENGE P, CHUNG KF, BARNES PJ : Stimulation of degranulation from human eosinophils by platelet-activating factor. *J. Immunol.*, 1989, **142(10)** : 3518-3526.
- 222 KROEGEL C, YUKAWA T, WESTWICK J, BARNES PJ : Evidence for two platelet activating factor receptors on eosinophils: dissociation between PAF-induced

intracellular calcium mobilization degranulation and superoxides anion generation in eosinophils. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989, **162(1)** : 511-521.

- 223 KRUG N, TSCHERNIG T, ERPENBECK VJ, HOHLFELD JM, KOHL J : Complement factors C3a and C5a are increased in bronchoalveolar lavage fluid after segmental allergen provocation in subjects with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001, 164(10) : 1841-1843.
- 224 KUO HP, WANG CH, LIN HC, HWANG KS, LIU SL, CHUNG KF : Interleukin-5 in growth and differentiation of blood eosinophil progenitors in asthma: effect of glucocorticoids. *Br. J. Pharmacol.*, 2001, **134(7)** : 1539-1547.
- 225 LACY P, LEVI-SCHAFFER F, MAHMUDI-AZER S, BABLITZ B, HAGEN SC, VELAZQUEZ J, KAY AB, MOQBEL R : Intracellular localization of interleukin-6 in eosinophils from atopic asthmatics and effects of interferon γ . *Blood*, 1998, **91(7)** : 2508-2516.
- 226 LACY P, MAHMUDI-AZER S, BABLITZ B, HAGEN SC, VELAZQUEZ JR, MAN SFP, MOQBEL R : Rapid mobilization of intracellularly stored RANTES in response to interferon- γ in human eosinophils. *Blood*, 1999, **94(1)** : 23-32.
- 227 LAMKHIOUED B, ABDELILAH SG, HAMID Q, MANSOUR N, DELESPESE G, RENZI PM : The CCR3 receptor is involved in eosinophil differentiation and is up-regulated by Th2 cytokines in CD34⁺ progenitor cells. *J. Immunol.*, 2003, **170(1)** : 537-547.
- 228 LAMKHIOUED B, SOUSSI-GOUNNI A, ALDEBERT D, DELAPORTE E, PRIN L, CAPRON A, CAPRON M : Synthesis of type 1 (IFN γ) and type 2 (IL-4, IL-5, and IL-10) cytokines by human eosinophils. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1996, **796(1)** : 203-208.
- 229 LANGE AM, YUTANAWIBOONCHAI W, SCOTT P, ABRAHAM D : IL-4- and IL-5-dependent protective immunity to *Onchocerca volvulus* infective larvae in BALB/cBYJ mice. *J. Immunol.*, 1994, **153(1)** : 205-211.
- 230 LE GOFF L, LAMB TJ, GRAHAM AL, HARCUS Y, ALLEN JE : IL-4 is required to prevent filarial nematode development in resistant but not susceptible strains of mice. *Int. J. Parasitol.*, 2002, **32(10)** : 1277-1284. Abstract.
- 231 LE GOFF L, LOKE P'N, ALI HF, TAYLOR DW, ALLEN JE : Interleukin-5 is essential for vaccine-mediated immunity but not innate resistance to a filarial parasite. *Infect. Immun.*, 2000, **68(5)** : 2513-2517.
- 232 LE GOFF L, MARÉCHAL P, PETIT G, TAYLOR DW, HOFFMANN W, BAIN O : Early reduction of the challenge recovery rate following immunization with irradiated infective larvae in a filaria mouse system. *Trop. Med. Int. Health.*, 1997, **2(12)** : 1170-1174.
- 233 LE GOFF L, MARTIN C, OSWALD IP, VUONG PN, PETIT G, UNGEHEUER MN, BAIN O : Parasitology and immunology of mice vaccinated with irradiated *Litomosoides sigmodontis* larvae. *Parasitology*, 2000, **120(3)** : 271-280.

- 234 LETUVE S, DRUILHE A, GRANDSAIGNE M, AUBIER M, PRETOLANI M : Involvement of caspases and of mitochondria in *Fas* ligation-induced eosinophil apoptosis: modulation by interleukin-5 and interferon- γ . *J. Leukoc. Biol.*, 2001, **70(5)** : 767-775.
- 235 LEVI-SCHAFFER F, BARKANS J, NEWMAN TM, YING S, WAKELIN M, HOHENSTEIN R, BARAK V, LACY P, KAY AB, MOQBEL R : Identification of interleukin-2 in human peripheral blood eosinophils. *Immunology*, 1996, **87(1)** : 155-161.
- 236 LEVI-SCHAFFER F, LACY P, SEVERS NJ, NEWMAN TM, NORTH J, GOMPERS B, KAY AB, MOQBEL R : Association of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor with the crystalloid granules of human eosinophils. *Blood*, 1995, **85(9)** : 2579-2586.
- 237 LI H, ZHU H, XU CJ, YUAN J : Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the *Fas* pathway of apoptosis. *Cell*, 1998, **94(4)** : 491-501.
- 238 LI P, NIJHAWAN D, BUDIHARDJO I, SRINIVASULA SM, AHMAD M, ALNEMRI ES, WANG X : Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell*, 1997, **91(4)** : 479-489.
- 239 LIGAS JA, KEREPEZI LA, GALIOTO AM, LUSTIGMAN S, NOLAN TJ, SCHAD GA, ABRAHAM D : Specificity and mechanism of immunoglobulin M (IgM)- and IgG-dependent protective immunity to larval *Strongyloides stercoralis* in mice. *Infect. Immun.*, 2003, **71(12)** : 6835-6843.
- 240 LILLIEHÖÖK I, JOHANNISSON A, HAKANSSON L : Expression of adhesion and Fc γ -receptors on canine blood eosinophils and neutrophils studied by anti-human monoclonal antibodies. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1998, **61(2-4)** : 181-193.
- 241 LIM KG, WAN HC, BOZZA PT, RESNICK MB, WONG DT, CRUIKSHANK WW, KORNFIELD H, CENTER DM, WELLER PF : Human eosinophils elaborate the lymphocyte chemoattractants. IL-16 (lymphocyte chemoattractant factor) and RANTES. *J. Immunol.*, 1996, **156(7)** : 2566-2570.
- 242 LIM LHK, BOCHNER BS, WAGNER EM : Leukocyte recruitment in the airways: an intravital microscopic study of rat tracheal microcirculation. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.*, 2002, **282(5)** : L959-L967.
- 243 LINDAU M, NÜSSE O, BENNETT J, CROMWELL O : The membrane fusion events in degranulating guinea pig eosinophils. *J. Cell. Sci.*, 1993, **104(1)** : 203-209.
- 244 LINSLEY PS, BRADY W, GROSMARE L, ARUFFO A, DAMLE NK, LEDBETTER JA : Binding of the B cell activation antigen B7 to CD28 costimulates T cell proliferation and interleukin 2 mRNA accumulation. *J. Exp. Med.*, 1991, **173(3)** : 721-730.
- 245 LIU L, ZUURBIER AE, MUL FP, VERHOEVEN AJ, LUTTER R, KNOL EF, ROOS D : Triple role of platelet-activating factor in eosinophil migration across monolayers of lung epithelial cells: eosinophil chemoattractant and priming agent and epithelial cell

- activator. *J. Immunol.*, 1998, **161(6)** : 3064-3070.
- 246 LIU LY, SEDGWICK JB, BATES ME, VRTIS RF, GERN JE, KITA H, JARJOUR NN, BUSSE WW, KELLY EAB : Decreased expression of membrane IL-5 receptor α expression on human eosinophils: I. Loss of membrane IL-5 receptor α on airway eosinophils and increased soluble IL-5 receptor α in the airway after allergen challenge. *J. Immunol.*, 2002, **169(11)** : 6452-6458.
- 247 LIU LY, SEDGWICK JB, BATES ME, VRTIS RF, GERN JE, KITA H, JARJOUR NN, BUSSE WW, KELLY EAB : Decreased expression of membrane IL-5 receptor α expression on human eosinophils. II. IL-5 down-modulates its receptor via a proteinase-mediated process. *J. Immunol.*, 2002, **169(11)** : 6459-6466.
- 248 LOPEZ AF, VADAS MA, WOODCOCK JM, MILTON SE, LEWIS A, ELLIOTT MJ, GILLIS D, IRELAND R, OLWELL E, PARK LS : **Interleukin-5, interleukin-3, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor cross-compete for binding to cell surface receptors on human eosinophils.** *J. Biol. Chem.*, 1991, **266(36)** : 24741-24747.
- 249 LOPEZ AF, WILLIAMSON DJ, GAMBLE JR, BEGLEY CG, HARLAN JM, KLEBANOFF SJ, WALTERSDORPH A, WONG G, CLARK SC, VADAS MA : Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates *in vitro* mature human neutrophil and eosinophil function, surface receptor expression and survival. *J. Clin. Invest.*, 1986, **78(5)** :1220-1228.
- 250 LORENZON P, VECILE E, NARDON E, FERRERO E, HARLAN JM, TEDESCO F, DOBRINA A : Endothelial cell E- and P-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 function as signaling receptors. *J. Cell Biol.*, 1998, **142(5)** : 1381-1391.
- 251 LOUKAS A, HINTZ M, LINDER D, MULLIN NP, PARKINSON J, TETTEH KKA, MAIZELS RM : A family of secreted mucins from the parasitic nematode *Toxocara canis* bears diverse mucin domains but shares similar flanking six-cysteine repeat motifs. *J. Biol. Chem.*, 2000, **275(50)** : 39600-39607.
- 252 LOUKAS A, PROCIV P : Immune responses in hookworm infections. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001, **14(4)** : 689-703.
- 253 LUCEY DR, DORSKY DI, NICHOLSON-WELLER A, WELLER PF : Human eosinophils express CD4 protein and bind human immunodeficiency virus gp120. *J. Exp. Med.*, 1989, **169(1)** : 327-332.
- 254 LUCEY DR, NICHOLSON-WELLER A, WELLER PF : Mature human eosinophils have the capacity to express HLA-DR. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1989, **86(4)** : 1348-1351.
- 255 LUTTMANN W, KNOEHEL B, FOERSTER M, MATTHYS H, VIRCHOW JCJr, KROEGEL C : Activation of human eosinophils by IL-13. Induction of CD69 surface antigen, its relationship to messenger RNA expression, and promotion of cellular viability. *J. Immunol.*, 1996, **157(4)** : 1678-1683.

- 256 MACARI DMT, TEIXEIRA MM, ANSARI T, JEFFERY PK, HELLEWELL PG : Priming and induction of eosinophil trafficking in guinea-pig cutaneous inflammation by tumour necrosis factor α . *Br. J. Pharmacol*, 1998, **125(6)** : 1228-1235.
- 257 MacDONALD AJ, TURAGA PSD, HARMON-BROWN C, TIERNEY TJ, BENNETT KE, McCARTHY MC, SIMONEK SC, ENYONG PA, MOUKATTE DW, LUSTIGMAN S : Differential cytokine and antibody responses to adult and larval stages of *Onchocerca volvulus* consistent with the development of concomitant immunity. *Infect. Immun.*, 2002, **70(6)** : 2796-2804.
- 258 MacDONALD AS, ILMA-ARAUJO M, PEARCE EJ : Immunology of parasitic helminth infections. *Infect. Immun.*, 2002, **70(2)** : 427-433.
- 259 MacKENZIE GJ, FALLON PG, EMSON CL, GRENCIS RK, McKENZIE ANJ : Simultaneous disruption of interleukin (IL)-4 and IL-13 defines individual roles in T helper cell type 2-mediated responses. *J. Exp. Med.*, 1999, **189(10)** : 1565-1572.
- 260 MacKENZIE JR, MATTES J, DENT LA, FOSTER PS : Eosinophils promote allergic disease of the lung by regulating CD4⁺ Th2 lymphocyte function. *J. Immunol.*, 2001, **167(6)** : 3146-3155.
- 261 MacLAREN DJ, PATERSON CG, VENGE P : *Schistosoma mansoni*: further studies of the interaction between schistosomula and granulocyte derived cationic proteins *in vitro*. *Parasitology*, 1984, **88(3)** : 491-503.
- 262 MacSHARRY C, XIA Y, HOLLAND CV, KENNEDY MW : Natural immunity to *Ascaris lumbricoides* associated with immunoglobulin E antibody to ABA-1 allergen and inflammation indicators in children. *Infect. Immun.*, 1999, **67(2)** : 484-489.
- 263 MADDEN KB, URBAN JF Jr, ZILTENER HJ, SCHRADER JW, FINKELMAN FD, KATONA IM : Antibodies to IL-3 and IL-4 suppress helminth-induced intestinal mastocytosis. *J. Immunol.*, 1991, **147(4)** : 1387-1391.
- 264 MAGHNI K, DE BRUM-FERNANDES AJ, FÖLDES-FILEP E, GAUDRY M, BORGEAT P, SIROIS P : Leukotriene B4 receptors on guinea pig alveolar eosinophils. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1991, **258(3)** : 784-789.
- 265 MALM-ERJEFÄLT M, PERSSON CGA, ERJEFÄLT JS : Degranulation status of airway tissue eosinophils in mouse models of allergic airway inflammation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2001, **24(3)** : 352-359.
- 266 MARTIN C, AL-QAOUUD KM, UNGEHEUER M-N, PAEHLE K, VUONG PN, BAIN O, FLEISCHER B, HOERAUF A : IL-5 is essential for vaccine induced protection and for resolution of primary infection in murine filariasis. *Med. Microbiol. Immunol. (Berl)*. 2000, **189(2)** : 67-74.
- 267 MARTIN C, LE GOFF L, UNGEHEUER M-N, VUONG PN, BAIN O : Drastic reduction of a filarial infection in eosinophilic interleukin-5 transgenic mice. *Infect. Immun.*, 2000, **68(6)** : 3651-3656.

- 268 MARTIN C, SAEFTEL M, VUONG PN, BABAYAN S, FISCHER K, BAIN O, HOERAUF A : B-cell deficiency suppresses vaccine-induced protection against murine filariasis but does not increase the recovery rate for primary infection. *Infect. Immun.*, 2001, **69(11)** : 7067-7073.
- 269 MARTIN U, BOCK D, ARSENIIEV L, TORNETTA MA, AMES RS, BAUTSCH W, KÖHL J, GANSER A, KLOS A : The human C3a receptor is expressed on neutrophils and monocytes, but not on B or T lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 1997, **186(2)** : 199-207.
- 270 MARTINELLI R, SABROE I, LaROSA G, WILLIAMS TJ, PEASE JE : The CC chemokine eotaxin (CCL11) is a partial agonist of CC chemokine receptor 2b. *J. Biol. Chem.*, 2001, **276(46)** : 42957-42964.
- 271 MARTINEZ-MOCZYGEMBA M, HUSTON DP : Proteasomal regulation of β c signaling reveals a novel mechanism for cytokine receptor heterotypic desensitization. *J. Clin. Invest.*, 2001, **108(12)** : 1797-1806.
- 272 MATSUMOTO K, APPIAH-PIPPIM J, SCHLEIMER RP, BICKEL CA, BECK LA, BOCHNER BS : CD44 and CD69 represent different types of cell-surface activation markers for human eosinophils. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1998, **18(6)** : 860-866.
- 273 MATSUMOTO K, SCHLEIMER RP, SAITO H, IIKURA Y, BOCHNER BS : Induction of apoptosis in human eosinophils by anti-*Fas* antibody treatment *in vitro*. *Blood*, 1995, **86(4)** : 1437-1443.
- 274 MATSUMOTO K, TERAOKAWA M, MIURA K, FUKUDA S, NAKAJIMA T, SAITO H : Extremely rapid and intense induction of apoptosis in human eosinophils by anti-CD30 antibody treatment *in vitro*. *J. Immunol.*, 2004, **172(4)** : 2186-2193.
- 275 MATTES J, YANG M, MAHALINGAM S, KUEHR J, WEBB DC, SIMSON L, HOGAN SP, KOSKINEN A, McKENZIE ANJ, DENT LA, ROTHENBERG ME, MATTHAEI KI, YOUNG IG, FOSTER PS : Intrinsic defect in T cell production of interleukin (IL)-13 in the absence of both IL-5 and eotaxin precludes the development of eosinophilia and airways hyperreactivity in experimental asthma. *J. Exp. Med.*, 2002, **11(3)** : 1433-1444.
- 276 MAWHORTER SD, STEPHANY DA, OTTESEN EA, NUTMAN TB : Identification of surface molecules associated with physiologic activation of eosinophils. Application of whole-blood flow cytometry to eosinophils. *J. Immunol.*, 1996, **156(12)** : 4851-4858.
- 277 MAXWELL C, HUSSAIN R, NUTMAN TB, POINDEXTER RW, LITTLE MD, SCHAD GA, OTTESEN EA : The clinical and immunologic responses of normal human volunteers to low dose hookworm (*Necator americanus*) infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1987, **37(1)** : 126-134.
- 278 MEHLHORN H : *Encyclopedic reference of parasitology. Biology, structure , function. Second Edition (rev.)*. Springer-Verlag, , 2006. 676 pp.

- 279 MELO RCN, PEREZ SAC, SPENCER LA, DVORAK AM, WELLER PF : Intragranular vesiculotubular compartments are involved in piecemeal degranulation by activated human eosinophils. *Traffic*, 2005, **6(10)** : 866-879.
- 280 MELO RCN, SPENCER LA, PEREZ SAC, IONITA G, DVORAK AM, WELLER PF : Human eosinophils secrete preformed, granule-stored interleukin-4 through distinct vesicular compartments. *Traffic*, 2005, **6(11)** : 1047-1057.
- 281 MIIKE S, McWILLIAM AS, KITA H : Trypsin induces activation and inflammatory mediator release from human eosinophils through protease-activated receptor-2. *J. Immunol.*, 2001, **167(11)** : 6615-6622.
- 282 MILLER M, SUNG KLP, MULLER WA, CHO JY, ROMAN M, CASTANEDA D, NAYAR J, CONDON T, KIM J, SRIRAMARAO P, BROIDE DH : Eosinophil tissue recruitment to sites of allergic inflammation in the lung is Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule independent. *J. Immunol.*, 2001, **167(4)** : 2292-2297.
- 283 MINSHALL M, LEUNG DYM, MARTIN RJ, SONG YL, CAMERON L, ERNST P, HAMID Q : Eosinophil-associated TGF- β 1 mRNA expression and airways fibrosis in bronchial asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1997, **17(3)** : 326-333.
- 284 MISHRA A, HOGAN SP, BRANDT EB, ROTHENBERG ME : An etiological role for aeroallergens and eosinophils in experimental esophagitis. *J. Clin. Invest.*, 2001, **107(1)** : 83-90.
- 285 MISHRA A, HOGAN SP, LEE JJ, FOSTER PS, ROTHENBERG ME : Fundamental signals that regulate eosinophil homing to the gastrointestinal tract. *J. Clin. Invest.*, 1999, **103(12)** : 1719-1727.
- 286 MOCHIZUKI M, BARTELS J, MALLET AI, CHRISTOPHERS E, SCHRODER J-M : IL-4 induces eotaxin : a possible mechanism of selective eosinophil recruitment in helminth infection and atopy. *J. Immunol.*, 1998, **160(1)** : 60-68.
- 287 MOMOSE T, OKUBO Y, HORIE S, TAKASHI S, TSUKADAIRA A, SUZUKI J, ISOBE M, SEKIGUCHI M : Interferon- γ increases CD62L expression on human eosinophils. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1999, **120(Suppl 1)** : 30-33. Abstract.
- 288 MONNERET G, GRAVEL S, DIAMOND M, ROKACH J, POWELL WS : Prostaglandin D₂ is a potent chemoattractant for human eosinophils that acts via a novel DP receptor. *Blood*, 2001, **98(6)** : 1942-1948.
- 289 MONTECLARO FS, CHARO IF : The amino-terminal extracellular domain of the MCP-1 receptor, but not the RANTES/MIP-1 α receptor, confers chemokine selectivity. Evidence for a two-step mechanism for MCP-1 receptor activation. *J. Biol. Chem.*, 1996, **271(32)** : 19084-19092.

- 290 MONTEIRO RC, HOSTOFFER RW, COOPER MD, BONNER JR, GARTLAND, GL, KUBAGAWA H : Definition of immunoglobulin A receptors on eosinophils and their enhanced expression in allergic individuals. *J. Clin. Invest.*, 1993, **92(4)** : 1681-1685.
- 291 M 302 Ab MOQBEL R, WALSH GM, NAGAKURA T, McDONALD AJ, WARDLAW AJ, IIKURA Y, KAY AB : The effect of platelet-activating factor on IgE binding to, and IgE-dependent biological properties of, human eosinophils. *Immunology*, 1990, **70(2)** : 251-257.
- 292 MOQBEL R, YING S, BARKANS J, NEWMAN TM, KIMMITT P, WAKELIN M, TABORDA-BARATA L, MENG Q, CORRIGAN CJ, DURHAM SR : Identification of messenger RNA for IL-4 in human eosinophils with granule localization and release of the translated product. *J. Immunol.*, 1995, **155(10)** : 4939-4947.
- 293 MOSER R, FEHR J, BRUIJNZEEL PL : IL-4 controls the selective endothelium-driven transmigration of eosinophils from allergic individuals. *J. Immunol.*, 1992, **149(4)** : 1432-1438.
- 294 MOULD AW, MATTHAEI KI, YOUNG IG, FOSTER PS : Relationship between interleukin-5 and eotaxin in regulating blood and tissue eosinophilia in mice. *J. Clin. Invest.*, 1997, **99(5)** : 1064-1071.
- 295 MOYLE M, FOSTER DL, McGRATH DE, BROWN SM, LAROCHE Y, DE MEUTTER J, STANSSENS P, BOGOWITZ CA, FRIED VA, ELY JA : A hookworm glycoprotein that inhibits neutrophil function is a ligand of the integrin CD11b/CD18. *J. Biol. Chem.*, 1994, **269(13)** : 10008-10015.
- 296 MURATA Y, TAKAKI S, MIGITA M, KIKUCHI Y, TOMINAGA A, TAKATSU K : Molecular cloning and expression of the human interleukin 5 receptor. *J. Exp. Med.*, 1992, **175(2)** : 341-351.
- 297 MURDOCH C, FINN A : Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood*, 2000, **95(10)** : 3032-3043.
- 298 MURPHY PM, BAGGIOLINI M, CHARO IF, HEBERT CA, HORUK R, MATSUSHIMA K, MILLER LH, OPPENHEIM JJ, POWER CA : International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol. Rev.*, 2000, **52(1)** : 145-176.
- 299 NAGASE H, KUDO K, IZUMI S, OHTA K, KOBAYASHI N, YAMAGUCHI M, MATSUSHIMA K, MORITA Y, YAMAMOTO K, HIRAI K : Chemokine receptor expression profile of eosinophils at inflamed tissue sites: Decreased CCR3 and increased CXCR4 expression by lung eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, **108(4)** : 563-569.
- 300 NAGASE H, MIYAMASU M, YAMAGUCHI M, FUJISAWA T, OHTA K, YAMAMOTO K, MORITA Y, HIRAI K : Expression of CXCR4 in eosinophils : functional analyses and cytokine-mediated regulation. *J. Immunol.*, 2000, **164(11)** :

5935-5943.

- 301 NAGATA M, SEDGWICK JB, BATES ME, KITA H, BUSSE WW : Eosinophil adhesion to vascular cell adhesion molecule-1 activates superoxide anion generation. *J. Immunol.*, 1995, **155(4)** : 2194-2202.
- 302 NAKAJIMA H, GLEICH GJ, KITA H : Constitutive production of IL-4 and IL-10 and stimulated production of IL-8 by normal peripheral blood eosinophils. *J. Immunol.*, 1996, **156(12)** : 4859-4866.
- 303 NAKAJIMA, H., SANO H, NISHIMURA T, YOSHIDA S, IWAMOTO I : Role of vascular cell adhesion molecule 1/very late activation antigen 4 and intercellular adhesion molecule 1/lymphocyte function-associated antigen 1 interactions in antigen-induced eosinophil and T cell recruitment into the tissue. *J. Exp. Med.*, 1994, **179(4)** : 1145-1154.
- 304 NAKAJIMA T, YAMADA H, IIKURA M, MIYAMASU M, IZUMI S, SHIDA H, OHTA K, IMAI T, YOSHIE O, MOCHIZUKI M, SCHRÖDER JM, MORITA Y, YAMAMOTO K, HIRAI K : Intracellular localization and release of eotaxin from normal eosinophils. *FEBS Lett.*, 1998, **434(3)** : 226-230.
- 305 NAKAMURA M, HONDA Z, IZUMI T, SAKANAKA C, MUTOH H, MINAMI M, BITO H, SEYAMA Y, MATSUMOTO T, NOMA M : Molecular cloning and expression of platelet-activating factor receptor from human leukocytes. *J. Biol. Chem.*, 1991, **266(30)** : 20400-20405.
- 306 NARUMIYA S, SUGIMOTO Y, USHIKUBI F : Prostanoid receptors : structures, properties, and functions. *Physiol. Rev.*, 1999, **79(4)** : 1193-1226.
- 307 NAWALINSKI TA, SCHAD GA : Arrested development in *Ancylostoma duodenale* : course of a self-induced infection in man. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1974, **23(5)** : 895-898.
- 308 NEGRAO-CORREA D, SILVEIRA MR, BORGES CM, SOUZA DG, TEIXEIRA MM : Changes in pulmonary function and parasite burden in rats infected with *Strongyloides venezuelensis* concomitant with induction of allergic airway inflammation. *Infect. Immun.*, 2003, **71(5)** : 2607-2614.
- 309 NEGRAO-CORREA D, SOUZA DG, PINHO V, BARSANTE MM, SOUZA ALS, TEIXEIRA MM : Platelet-activating factor receptor deficiency delays elimination of adult worms but reduces fecundity in *Strongyloides venezuelensis*-infected mice. *Infect. Immun.*, 2004, **72(2)** : 1135-1142.
- 310 NEVES MF, STARKE-BUZETTI WA, CASTRO AMMG : Mast cell and eosinophils in the wall of the gut and eosinophils in the blood stream during *Toxocara vitulorum* infection of the water buffalo calves (*Bubalus bubalis*). *Vet. Parasitol.*, 2003, **113(1)** : 59-72.
- 311 NEWMAN TM, TIAN M, GOMPERS BD : Ultrastructural characterization of tannic

- acid-arrested degranulation of permeabilized guinea pig eosinophils stimulated with GTP- γ -S. *Eur. J. Cell Biol.*, 1996, **70(3)** : 209-220.
- 312 NISHIKAWA K, MORII T, AKO H, HAMADA K, SAITO S, NARITA N : *In vivo* expression of CD69 on lung eosinophils in eosinophilic pneumonia: CD69 as a possible activation marker for eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, **90(2)** : 169-174.
- 313 NONAKA M, NONAKA R, WOOLLEY K, ADELROTH E, MIURA K, OKHAWARA Y, GLIBETIC M, NAKANO K, O'BYRNE P, DOLOVICH J : Distinct immunohistochemical localization of IL-4 in human inflamed airway tissues. IL-4 is localized to eosinophils *in vivo* and is released by peripheral blood eosinophils. *J. Immunol.*, 1995, **155(6)** : 3234-3244.
- 314 NUTKU E, SOUSSI-GOUNNI A, OLIVENSTEIN R, HAMID Q : Evidence for expression of eosinophil-associated IL-12 messenger RNA and immunoreactivity in bronchial asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, **106(2)** : 288-292.
- 315 NYINDO M, KARIUKI TM, MOLA PW, FARAH IO, ELSON L, BLANTON RE, KING CL : Role of adult worm antigen-specific immunoglobulin E in acquired immunity to *Schistosoma mansoni* infection in baboons. *Infect. Immun.*, 1999, **67(2)** : 636-642.
- 316 O'BRYAN L, PINKSTON P, KUMARASWAMI V, VIJAYAN V, YENOKIDA G, ROSENBERG HF, CRYSTAL R, OTTESEN EA, NUTMAN TB : Localized eosinophil degranulation mediates disease in tropical pulmonary eosinophilia. *Infect. Immun.*, 2003, **71(3)** : 1337-1342.
- 317 OGAWA M : Hematopoiesis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1994, **94(3)** : 645-650.
- 318 OHKAWARA Y, LIM KG, XING Z, GLIBETIC M, NAKANO K, DOLOVICH J, CROITORU K, WELLER PF, JORDANA M : CD40 Expression by human peripheral blood eosinophils. *J. Clin. Invest.*, 1996, **97(7)** : 1761-1766.
- 319 OHKAWARA Y, TAMURA G, IWASAKI T, TANAKA A, KIKUCHI T, SHIRATO K : Activation and Transforming Growth Factor- β production in eosinophils by hyaluronan. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2000, **23(4)** : 444 - 451.
- 320 OHNO I, NITTA Y, YAMAUCHI K, HOSHI H, HONMA M, WOOLLEY K, O'BYRNE P, DOLOVICH J, JORDANA M, TAMURA G : Eosinophils as a potential source of platelet-derived growth factor B-chain (PDGF-B) in nasal polyposis and bronchial asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1995, **13(6)** : 639-647.
- 321 OVINGTON KS, BEHM CA : The enigmatic eosinophil: investigation of the biological role of eosinophils in parasitic helminth infection. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1997, **92(Suppl 2)** : 93-104.
- 322 OVINGTON KS, MCKIE K, MATTHAEI KI, YOUNG IG, BEHM CA : Regulation of primary *Strongyloides ratti* infections in mice : a role for interleukin-5. *Immunology*, 1998, **95(3)** : 488-493.

- 323 OWEN WF Jr, ROTHENBERG ME, SILBERSTEIN DS, GASSON JC, STEVENS RL, AUSTEN KF, SOBERMAN RJ : Regulation of human eosinophil viability, density, and function by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor in the presence of 3T3 fibroblasts. *J. Exp. Med.*, 1987, **166(1)** : 129-141.
- 324 PACIORKOWSKI N, PORTE P, SHULTZ LD, RAJAN TV : B1 B Lymphocytes play a critical role in host protection against lymphatic filarial parasites. *J. Exp. Med.*, 2000, **191(4)** : 731-736.
- 325 PACIORKOWSKI N, SHULTZ LD, RAJAN TV : Primed peritoneal B lymphocytes are sufficient to transfer protection against *Brugia pahangi* infection in mice. *Infect. Immun.*, 2003, **71(3)** : 1370-1378.
- 326 PALFRAMAN RT, COLLINS PD, SEVERS NJ, ROTHERY S, WILLIAMS TJ, RANKIN SM : Mechanisms of acute eosinophil mobilization from the bone marrow stimulated by interleukin 5: the role of specific adhesion molecules and phosphatidylinositol 3-kinase. *J. Exp. Med.*, 1998, **188(9)** : 1621-1632.
- 327 PALFRAMAN RT, COLLINS PD, WILLIAMS TJ, RANKIN SM : Eotaxin induces a rapid release of eosinophils and their progenitors from the bone marrow. *Blood*, 1998, **91(7)** : 2240-2248.
- 328 PARK MK, HOFFMANN KF, CHEEVER AW, AMICHAY D, WYNN TA, FARBER JM : Patterns of chemokine expression in models of *Schistosoma mansoni* inflammation and infection reveal relationships between type 1 and type 2 responses and chemokines *in vivo*. *Infect. Immun.*, 2001, **69(11)** : 6755-6768.
- 329 **PARSONS JC, COFFMAN RL, GRIEVE RB : Antibody to interleukin 5 prevents blood and tissue eosinophilia but not liver trapping in murine larval toxocariasis. *Parasite Immunol.*, 1993, 15(9) : 501-508.**
- 330 PATEL VP, KREIDER BL, LI Y, LI H, LEUNG K, SALCEDO T, NARDELLI B, PIPPALLA V, GENTZ S, THOTAKURA R, PARMELEE D, GENTZ R, GAROTTA G : Molecular and functional characterization of two novel human C-C chemokines as inhibitors of two distinct classes of myeloid progenitors. *J. Exp. Med.*, 1997, **185(7)** : 1163-1172.
- 331 PAZDRAK K, ADACHI T, ALAM R : Src homology 2 protein tyrosine phosphatase (SHPTP2)/Src homology 2 phosphatase 2 (SHP2) tyrosine phosphatase is a positive regulator of the interleukin 5 receptor signal transduction pathways leading to the prolongation of eosinophil survival. *J. Exp. Med.*, 1997, **186(4)** : 561-568.
- 332 PAZDRAK K, OLSZEWSKA-PAZDRAK B, STAFFORD S, GAROFALO RP, ALAM R : Lyn, Jak2, and Raf-1 kinases are critical for the antiapoptotic effect of interleukin 5, whereas only Raf-1 kinase is essential for eosinophil activation and degranulation. *J. Exp. Med.*, 1998, **188(3)** : 421-429.
- 333 PEACHMAN KK, LYLES DS, BASS DA : Mitochondria in eosinophils: functional role in apoptosis but not respiration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2001, **98(4)** : 1717-1722.

- 334 PEARLMAN E, LASS JH, BARDENSTEIN DS, DIACONU E, HAZLETT FEJr, ALBRIGHT J, HIGGINS AW, KAZURA JW : *Onchocerca volvulus*-mediated keratitis: cytokine production by IL-4-deficient mice. *Exp. Parasitol.*, 1996, **84(2)** : 274-281.
- 335 PEARLMAN E, LASS JH, BARDENSTEIN DS, DIACONU E, HAZLETT FEJr, ALBRIGHT J, HIGGINS AW, KAZURA JW : IL-12 exacerbates helminth-mediated corneal pathology by augmenting inflammatory cell recruitment and chemokine expression. *J. Immunol.*, 1997, **158(2)** : 827-833.
- 336 PEASE JE, WANG J, PONATH PD, MURPHY PM : The N-terminal extracellular segments of the chemokine receptors CCR1 and CCR3 are determinants for MIP-1 α and eotaxin binding, respectively, but a second domain is essential for efficient receptor activation. *J. Biol. Chem.*, 1998, **273(32)** : 19972-19976.
- 337 PENIDO C, CASTRO-FARIA-NETO HC, VIEIRA-DE-ABREU A, FIGUEIREDO RT, PELLER A, MARTINS MA, JOSE PJ, WILLIAMS TJ, BOZZA PT : LPS induces eosinophil migration via CCR3 signaling through a mechanism independent of RANTES and eotaxin. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2001, **25(6)** : 707-716.
- 338 PENNOCK JL, BEHNKE JM, BICKLE QD, DEVANEY E, GRENCIS RK, ISAAC RE, JOSHUA GWP, SELKIRK ME, ZHANG Y, MEYER DJ : Rapid purification and characterization of L-dopachrome-methyl ester tautomerase (macrophage migration inhibitory factor) from *Trichinella spiralis*, *Trichuris muris* and *Brugia pahangi*. *Biochem. J.*, 1998, **335(3)** : 495-498.
- 339 PEREZ O, CAPRON M, LASTRE M, VENGE P, KHALIFE J, CAPRON A : *Angiostrongylus cantonensis*: role of eosinophils in the neurotoxic syndrome (Gordon-like phenomenon). *Exp. Parasitol.*, 1989, **68(4)** : 403-413.
- 340 PERSSON CGA, ERJEFÄLT JS : "Ultimate activation" of eosinophils *in vivo*: lysis and release of clusters of free eosinophil granules (Cfegs). *Thorax*, 1997, **52(6)** : 569-574.
- 341 PERSSON-DAJOTOY T, ANDERSSON P, BJARTELL A, CALAFAT J, EGESTEN A : Expression and production of the CXC chemokine growth-related oncogene- α by human eosinophils. *J. Immunol.*, 2003, **170(10)** : 5309-5316.
- 342 PETERING H, GÖTZE O, KIMMIG D, SMOLARSKI R, KAPP A, ELSNER J : The biologic role of interleukin-8 : functional analysis and expression of CXCR1 and CXCR2 on human eosinophils. *Blood*, 1999, **93(2)** : 694-702.
- 343 PETERS MS, GLEICH GJ, DUNNETTE SL, FUKUDA T : Ultrastructural study of eosinophils from patients with the hypereosinophilic syndrome: a morphological basis of hypodense eosinophils. *Blood*, 1988, **71(3)** : 780-785.
- 344 PONATH PD, QIN S, POST TW, WANG J, WU L, GERARD NP, NEWMAN W, GERARD C, McKAY CR : Molecular cloning and characterization of a human eotaxin receptor expressed selectively on eosinophils. *J. Exp. Med.*, 1996, **183(6)** : 2437-2448.

- 345 PONATH PD, QIN S, RINGLER DJ, CLARK-LEWIS I, WANG J, KASSAM N, SMITH H, SHI X, GONZALO JA, NEWMAN W, GUTIERREZ-RAMOS JC, McKAY CR : Cloning of the human eosinophil chemoattractant, eotaxin. Expression, receptor binding, and functional properties suggest a mechanism for the selective recruitment of eosinophils. *J. Clin. Invest.*, 1996, **97(3)** : 604-612.
- 346 POWELL PP, KLAGSBRUN M, ABRAHAM JA, JONES RC : Eosinophils expressing heparin-binding EGF-like growth factor mRNA localize around lung microvessels in pulmonary hypertension. *Am. J. Pathol.*, 1993, **143(3)** : 784-793.
- 347 POWELL WS, CHUNG D, GRAVEL S : 5-Oxo-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid is a potent stimulator of human eosinophil migration. *J. Immunol.*, 1995, **154(8)** : 4123-4132.
- 348 POWELL WS, GRAVEL S, HALWANI F : 5-oxo-6,8,11,14-eicosatetraenoic acid is a potent stimulator of L-selectin shedding, surface expression of CD11b, actin polymerization, and calcium mobilization in human eosinophils. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999, **20(1)** : 163-170.
- 349 QIU B, FRAIT KA, REICH F, KOMUNIECKI E, CHENSUE SW : Chemokine expression dynamics in mycobacterial (type-1) and schistosomal (type-2) antigen-elicited pulmonary granuloma formation. *Am. J. Pathol.*, 2001, **158(4)** : 1503-1515.
- 350 RAJAN TV, GANLEY L, PACIORKOWSKI N, SPENCER L, KLEI TR, SCHULTZ LD : Brugian infections in the peritoneal cavities of laboratory mice: kinetics of infection and cellular responses. *Exp Parasitol.*, 2002, **100(4)** : 235-247.
- 351 RAJAN TV, PORTE P, YATES JA, KEEFER L, SHULTZ LD : Role of nitric oxide in host defense against an extracellular, metazoan parasite, *Brugia malayi*. *Infect. Immun.*, 1996, **64(8)** : 3351-3353.
- 352 RAMALINGAM T, RAJAN B, LEE J, RAJAN TV : Kinetics of cellular responses to intraperitoneal *Brugia pahangi* infections in normal and immunodeficient mice. *Infect. Immun.*, 2003, **71(8)** : 4361-4367.
- 353 **RAND TH, CRUIKSHANK WW, CENTER DM, WELLER PF : CD4-mediated stimulation of human eosinophils: lymphocyte chemoattractant factor and other CD4-binding ligands elicit eosinophil migration. *J. Exp. Med.*, 1991, 173(6) : 1521-1528.**
- 354 RAND TH, SILBERSTEIN DS, KORNFELD H, WELLER PF : Human eosinophils express functional interleukin 2 receptors. *J. Clin. Invest.*, 1991, **88(3)** : 825-832.
- 355 RICHARDS IM, SUN FF, TAYLOR BM, SHIELDS SK, GRIFFIN RL, MORRIS J, WISHKA DG, SMITH HW, JOHNSON RA, DUNN CJ : Contribution of leukotriene B4 to airway inflammation and the effect of antagonists. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1991,

629(1) : 274-287.

- 356 ROBINSON DS, DAMIA R, ZEIBECOGLOU K, MOLET S, NORTH J, YAMADA T, BARRY KA, HAMID Q : CD34(+)/interleukin-5R α messenger RNA+ cells in the bronchial mucosa in asthma: potential airway eosinophil progenitors. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999, **20(1)** : 9-13.
- 357 RODRIGUEZ-OSORIO M, GOMEZ-GARCIA V, BENITO R, GIL J : *Trichinella britovi* human infection in Spain : antibody response to surface, excretory/secretory and somatic antigens. *Parasite*, 2003, **10** : 159-164.
- 358 RODRIGUEZ-SOSA M, ROSAS LE, DAVID JR, BOJALIL R, SATOSKAR AR, TERRAZAS LI : Macrophage migration inhibitory factor plays a critical role in mediating protection against the helminth parasite *Taenia crassiceps*. *Infect. Immun.*, 2003, **71(3)** : 1247-1254.
- 359 ROT A, KRIEGER M, BRUNNER T, BISCHOFF SC, SCHALL TJ, DAHINDEN CA : RANTES and macrophage inflammatory protein 1 α induce the migration and activation of normal human eosinophil granulocytes. *J. Exp. Med.*, 1992, **176(6)** : 1489-1495.
- 360 ROTHENBERG ME : Eotaxin. An essential mediator of eosinophil trafficking into mucosal tissues. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999, **21(3)** : 291-295.
- 361 ROTHENBERG ME, LUSTER AD, LEDER P : Murine eotaxin: An eosinophil chemoattractant inducible in endothelial cells and in interleukin 4-induced tumor suppression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1995, **92(19)** : 8960-8964.
- 362 ROTHENBERG ME, McLEAN JA, PEARLMAN E, LUSTER AD, LEDER P : Targeted disruption of the chemokine eotaxin partially reduces antigen-induced tissue eosinophilia. *J. Exp. Med.*, 1997, **185(4)** : 785-790.
- 363 ROTHENBERG ME, OWEN WF, SILBERSTEIN DS : Human eosinophils have prolonged survival, enhanced functional properties, and become hypodense when exposed to human interleukin-3. *J. Clin. Invest.*, 1988, **81(6)** : 1986-1992.
- 364 ROTMAN HL, YUTANAWIBOONCHAI W, BRIGANDI RA, LEON O, GLEICH GJ, NOLAN TJ, SCHAD GA, ABRAHAM D : *Strongyloides stercoralis*: eosinophil-dependent immune-mediated killing of third stage larvae in BALB/cByJ mice. *Exp. Parasitol.*, 1996, **82(3)** : 267-278. Abstract.
- 365 RUMBLEY CA, SUGAYA H, ZEKAVAT SA, EL REFAEI M, PERRIN PJ, PHILLIPS SM : Activated eosinophils are the major source of Th2-associated cytokines in the schistosome granuloma. *J. Immunol.*, 1999, **162(2)** : 1003-1009.
- 366 RUMI C, RUTELLA S, LEONE G, BONINI S, BONINI S : Fc- ϵ R2/CD23 receptor on circulating human eosinophils. *Blood*, 1998, **91(7)** : 2621-2622.
- 367 RUTH JH, LUKACS NW, WARMINGTON KS, POLAK TJ, BURDICK M, KUNKEL SL, STRIETER RM, CHENSUE SW : Expression and participation of eotaxin during

- mycobacterial (type 1) and schistosomal (type 2) antigen-elicited granuloma formation. *J. Immunol.*, 1998, **161(8)** : 4276-4282.
- 368 RUTH JH, WARMINGTON KS, SHANG X, LINCOLN P, EVANOFF H, KUNKEL SL, CHENSUE SW : Interleukin 4 and 13 participation in mycobacterial (type-1) and schistosomal (type-2) antigen-elicited pulmonary granuloma formation: multiparameter analysis of cellular recruitment, chemokine expression and cytokine networks. *Cytokine*, 2000, **12(5)** : 432-444.
- 369 SABIN EA, KOPF MA, PEARCE EJ : *Schistosoma mansoni* egg-induced early IL-4 production is dependent upon IL-5 and eosinophils. *J. Exp. Med.*, 1996, **184(5)** : 1871-1878.
- 370 SABROE I, CONROY DM, GERARD NP, LI Y, COLLINS PD, POST TW, JOSE PJ, WILLIAMS TJ, GERARD CJ, PONATH PD : Cloning and characterization of the guinea pig eosinophil eotaxin receptor, C-C chemokine receptor-3 : blockade using a monoclonal antibody *in vivo*. *J. Immunol.*, 1998, **161(11)** : 6139-6147.
- 371 SABROE I, HARTNELL A, JOPLING LA, BEL S, PONATH PD , PEASE JE, COLLINS PD, WILLIAMS TJ : Differential regulation of eosinophil chemokine signaling via CCR3 and non-CCR3 pathways. *J. Immunol.*, 1999, **162(5)** : 2946-2955.
- 372 SALLUSTO F, McKAY CR, LANZAVECCHIA A : Selective expression of the eotaxin receptor CCR3 by human T Helper 2 cells. *Science*, 1997, **277(5334)** : 2005-2007.
- 373 SAMOSZUK M, CORWIN M, HAZEN SL : Effects of human mast cell tryptase and eosinophil granule proteins on the kinetics of blood clotting. *Am. J. Hematol.*, 2003, **73(1)** : 18-25.
- 374 SANNOHE S, ADACHI T, HAMADA K, HONDA K, YAMADA Y, SAITO N, CUI CH, KAYABA H, ISHIKAWA K, CHIHARA J : Upregulated response to chemokines in oxidative metabolism of eosinophils in asthma and allergic rhinitis. *Eur. Respir. J.*, 2003, **21(6)** : 925-931.
- 375 SANO H, NAKAGAWA N, NAKAJIMA H, YOSHIDA S, IWAMOTO I : Role of vascular cell adhesion molecule-1 and platelet-activating factor in selective eosinophil migration across vascular endothelial cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1995, **107(4)** : 533-540.
- 376 SANZ MJ, MARINOVA-MUTAFCHIEVA L, GREEN P, LOBB RR, FELDMANN M, NOURSHARGH S : IL-4-Induced eosinophil accumulation in rat skin is dependent on endogenous TNF- α and α 4 integrin/VCAM-1 adhesion pathways. *J. Immunol.*, 1998, **160(11)** : 5637-5645.
- 377 SANZ MJ, PONATH PD, McKAY CR, NEWMAN W, MIYASAKA M, TAMATANI T, FLANAGAN BF, LOBB RR, WILLIAMS TJ, NOURSHARGH S, JOSE PJ : Human eotaxin induces α 4 and β 2 integrin-dependent eosinophil accumulation in rat skin *in vivo*: delayed generation of eotaxin in response to IL-4. *J. Immunol.*, 1998, **160(7)** : 3569-3576.

- 378 SASAKI O, SUGAYA H, ISHIDA K, YOSHIMURA K : Ablation of eosinophils with anti-IL-5 antibody enhances the survival of intracranial worms of *Angiostrongylus cantonensis* in the mouse. *Parasite Immunol.*, 1993, **15(6)** : 349-354.
- 379 SCEPEK S, LINDAU M : Focal exocytosis by eosinophils : compound exocytosis and cumulative fusion. *EMBO J.*, 1993, **12(5)** : 1811-1817.
- 380 SCHLEIMER RP, STERBINSKY SA, KAISER J, BICKEL CA, KLUNK DA, TAMIOKA K, NEWMAN W, LUSCINSKAS FW, GIMBRONE MAJr, McINTYRE BW : IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. Association with expression of VCAM-1. *J. Immunol.*, 1992, **148(4)** : 1086-1092.
- 381 SCHMID-GRENDELMEIER P, ALTZNAUER F, FISCHER B, BIZER C, STRAUMANN A, MENZ G, BLASER K, WÜTHRICH B, SIMON HU : Eosinophils express functional IL-13 in eosinophilic inflammatory diseases. *J. Immunol.*, 2002, **169(2)** : 1021-1027.
- 382 SCHMIDLIN F, AMADESI S, DABBAGH K, LEWIS DE, KNOTT P, BUNNETT NW, GATER PR, GEPPETTI P, BERTRAND C, STEVENS ME : Protease-activated receptor 2 mediates eosinophil infiltration and hyperreactivity in allergic inflammation of the airway. *J. Immunol.*, 2002, **169(9)** : 5315-5321.
- 383 SEHMI R, CROMWELL O, WARDLAW AJ, MOQBEL R, KAY AB : Interleukin-8 is a chemo-attractant for eosinophils purified from subjects with a blood eosinophilia but not from normal healthy subjects. *Clin. Exp. Allergy*, 1993, **23(12)** : 1027-1036.
- 384 SEHMI R, HOWIE K, SUTHERLAND DR, SCHRAGGE W, O'BYRNE PM, DENBURG JA : Increased levels of CD34⁺ hemopoietic progenitor cells in atopic subjects. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1996, **15(5)** : 645-655.
- 385 SEHMI R, WOOD LJ, WATSON R, FOLEY R, HAMID Q, O'BYRNE PM, DENBURG JA : Allergen induced increases in IL-5 receptor α -subunit expression on bone marrow derived CD34⁺ cells from asthmatic subjects: a novel marker of progenitor cell commitment toward eosinophilic differentiation. *J. Clin. Invest.*, 1997, **100(10)** : 2466-2475.
- 386 SERGEJEVA S, JOHANSSON AK, MALMHÄLL C, LÖTVALL J : Allergen exposure-induced differences in CD34⁺ cell phenotype : relationship to eosinophilopoietic responses in different compartments. *Blood*, 2004, **103(4)** : 1270-1277.
- 387 SHAHABUDDIN S, PONATH P, SCHLEIMER RP : Migration of eosinophils across endothelial cell monolayers : interactions among IL-5, endothelial-activating cytokines, and C-C chemokines. *J. Immunol.*, 2000, **164(7)** : 3847-3854.

- 388 SHALIT M, SEKHSARIA S, LI F, MAUHORTER S, MAHANTI S, MALECH HL : Early commitment to the eosinophil lineage by cultured human peripheral blood CD34+ cells: Messenger RNA analysis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1996, **98(2)** : 344-354.
- 389 SHALIT M, SEKHSARIA S, MALECH HL : Modulation of growth and differentiation of eosinophils from human peripheral blood CD34+ cells by IL5 and other growth factors. *Cell. Immunol.*, 1995, **160(1)** : 50-57.
- 390 SHANG XZ, CHIU BC, STOLBERG V, LUKACS NW, KUNKEL SL, MURPHY HS, CHENSUE SW : Eosinophil recruitment in type-2 hypersensitivity pulmonary granulomas. Source and contribution of monocyte chemotactic protein-3 (CCL7). *Am. J. Pathol.*, 2002, **161(1)** : 257-266.
- 391 SHER A, COFFMAN RL, HIENY S, CHEEVER AW : Ablation of eosinophil and IgE responses with anti-IL-5 or anti-IL-4 antibodies fails to affect immunity against *Schistosoma mansoni* in the mouse. *J. Immunol.*, 1990, **145(11)** : 3911-3916.
- 392 SHER A, COFFMAN RL, HIENY S, SCOTT P, CHEEVER AW : Interleukin 5 is required for the blood and tissue eosinophilia but not granuloma formation induced by infection with *Schistosoma mansoni*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1990, **87(1)** : 61-65.
- 393 SHI HZ, HUMBLE A, GERARD C, JIN Z, WELLER PF : Lymph node trafficking and antigen presentation by endobronchial eosinophil. *J. Clin. Invest.*, 2000, **105(7)** : 945-953.
- 394 SHIN EH, OSADA Y, CHAI JY, MATSUMOTO N, TAKATSU K, KOJIMA S : Protective roles of eosinophils in *Nippostrongylus brasiliensis* infection. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1997, **114(Suppl 1)** : 45-50.
- 395 SHIN EH, OSADA Y, SAGARA H, TAKATSU K, KOJIMA S : Involvement of complement and fibronectin in eosinophil-mediated damage to *Nippostrongylus brasiliensis* larvae. *Parasite Immunol.*, 2001, **23(1)** : 27-37.
- 396 SHINKAI A, YOSHISUE H, KOIKE M, SHOJI E, NAKAGAWA S, SAITO A, TAKEDA T, IMABEPPU S, KATO Y, HANAI N, ANAZAWA H, KUGA T, NISHI T : A novel human CC chemokine, eotaxin-3, which is expressed in IL-4-stimulated vascular endothelial cells, exhibits potent activity toward eosinophils. *J. Immunol.*, 1999, **163(3)** : 1602-1610.
- 397 SHINKAI K, MOHRS M, LOCKSLEY RM : Helper T cells regulate type-2 innate immunity *in vivo*. *Nature*, 2002, **420(6917)** : 825-829.
- 398 SILVEIRA MR, NUNES KP, CARA DC, SOUZA DG, CORREA AJr TEIXEIRA MM, NEGRAO-CORREA D : Infection with *Strongyloides venezuelensis* induces transient airway eosinophilic inflammation, an increase in immunoglobulin E, and hyperresponsiveness in rats. *Infect. Immun.*, 2002, **70(11)** : 6263-6272.
- 399 SIMON HU : Eosinophil apoptosis - pathophysiologic and therapeutic implications. *Allergy*, 2000, **55(10)** : 910-915.

- 400 SIMON HU, WEBER M, BECKER E, ZILBERMAN Y, BLASER K, LEVI-SCHAFFER F : Eosinophils maintain their capacity to signal and release eosinophil cationic protein upon repetitive stimulation with the same agonist. *J. Immunol.*, 2000, **165(7)** : 4069-4075.
- 401 SIMON HU, YOUSEFI S, SCHRANZ C, SCHAPOWAL A, BACHERT C, BLASER K : Direct demonstration of delayed eosinophil apoptosis as a mechanism causing tissue eosinophilia. *J. Immunol.*, 1997, **158(8)** : 3902-3908.
- 402 SITKAUSKIENE B, JOHANSSON AK , SERGEJEVA S, , LUNDIN S, SJOSTRAND M, LÖTVALL J : Regulation of bone marrow and airway CD34+ eosinophils by interleukin-5. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2004, **30(3)** : 367-378.
- 403 SOLOMON A, ALOE L, PE'ER J, FRUCHT-PERY J, BONINI S, BONINI S, LEVI-SCHAFFER F : Nerve growth factor is preformed in and activates human peripheral blood eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1998, **102(3)** : 454-460.
- 404 SOMMER A, RICKERT R, FISCHER P, STEINHART H, WALTER RD, LIEBAU E : A dominant role for extracellular glutathione S-transferase from *Onchocerca volvulus* is the production of prostaglandin D2. *Infect. Immun.*, 2003, **71(6)** : 3603-3606.
- 405 SOUSSI-GOUNNI A, LAMKHIOUED B, MORITA M, ALDEBERT D, SARFATI M, CAPRON A, CAPRON M : Molecular characterization of the low-affinity IgE receptor FcεRII/CD23 expressed by human eosinophils. *Int. Immunol.*, 1998, **10(4)** : 395-404.
- 406 SOUSSI-GOUNNI A, LAMKHIOUED B, OCHIAI K, TANAKA Y, DELAPORTE E, CAPRON A, KINET JP, CAPRON M : High-affinity IgE receptor on eosinophils is involved in defense against parasites. *Nature (Lond)*, 1994, **367(6459)** : 183-186.
- 407 SPENCER L, SHULTZ L, RAJAN TV : Interleukin-4 receptor-Stat6 signaling in murine infections with a tissue-dwelling nematode parasite. *Infect. Immun.*, 2001, **69(12)** : 7743-7752.
- 408 SPENCER L, SHULTZ L, RAJAN TV : T Cells are required for host protection against *Brugia malayi* but need not produce or respond to Interleukin-4. *Infect. Immun.*, 2003, **71(6)** : 3097-3106.
- 409 SRIRAMARAO P, DISCIPIO RG, COBB RR, CYBULSKY M, STACHNICK G, CASTANEDA D, ELICES M, BROIDE DH : **VCAM-1 is more effective than MAdCAM-1 in supporting eosinophil rolling under conditions of shear flow.** *Blood*, 2000, 95(2) : 592-601.
- 410 SRIRAMARAO P, VON ADRIAN UH, BUTCHER EC, BOURDON MA, BROIDE DH : L-selectin and very late antigen-4 integrin promote eosinophil rolling at physiological shear rates *in vivo*. *J. Immunol.*, 1994, **153(9)** : 4238-4246.
- 411 STAMATIOU P, HAMID Q, TAHA R, YU W, ISSEKUTZ TB, ROKACH J, KHANAPURE SP, POWELL WS : 5-oxo-EETE induces pulmonary eosinophilia in an

- integrin-dependent manner in brown norway rats. *J. Clin. Invest.*, 1998, **102(12)** : 2165-2172.
- 412 STIRLING RG, VAN RENSEN ELJ, BARNES PJ, CHUNG KF : Interleukin-5 induces CD34⁺ eosinophil progenitor mobilization and eosinophil CCR3 expression in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001, **164(8)** : 1403-1409.
- 413 STROTE G, BRATTIG NW, TISCHENDORF FW : Ultrastructural study of the interaction between eosinophilic granulocytes and third and fourth stage larvae of *Onchocerca volvulus*. *Acta Trop.*, 1990, **48(1)** : 1-8.
- 414 STUBBS VEL, SCHRATL P, HARTNELL A, WILLIAMS TJ, PESKAR BA, HEINEMANN A, SABROE I : Indomethacin causes prostaglandin D₂-like and eotaxin-like selective responses in eosinophils and basophils. *J. Biol. Chem.*, 2002, **277(29)** : 26012-26020.
- 415 SUGANE K, KUSAMA Y, TAKAMOTO M, TOMINAGA A, TAKATSU K : Eosinophilia, IL-5 level and recovery of larvae in IL-5 transgenic mice infected with *Toxocara canis*. *J. Helminthol.*, 1996, **70(2)**:153-158.
- 416 SUGAYA H, ABE T, YOSHIMURA K : Eosinophils in the cerebrospinal fluid of mice infected with *Angiostrongylus cantonensis* are resistant to apoptosis. *Int. J. Parasitol.*, 2001, **31(14)** : 1649-1658.
- 417 **SUGAYA H, AOKI M, YOSHIDA T, TAKATSU K, YOSHIMURA K : Eosinophilia and intracranial worm recovery in interleukin-5 transgenic and interleukin-5 receptor α chain-knockout mice infected with *Angiostrongylus cantonensis*. *Parasitol. Res.*, 1997, 83(6) : 583-590.**
- 418 SUTHERLAND LA, BROWN AE, GREEN RS, MILLER CM, LEATHWICK DM : The immune response of sheep to larval challenge with *Ostertagia circumcincta* and *O. ostertagi*. *Vet. Parasitol.*, 1999, **84(1-2)** : 125-135.
- 419 SUZUKI A, ANDREW DP, GONZALO JA, FUKUMOTO M, SPELLBERG J, HASHIYAMA M, TAKIMOTO H, GERWIN N, WEBB I, MOLINEUX G , et al . . CD34-deficient mice have reduced eosinophil accumulation after allergen exposure and show a novel crossreactive 90-kD protein. *Blood.*, 1996, **87(9)** : 3550-3562.
- 420 SYMON FA, LAWRENCE MB, WILLIAMSON ML, WALSH GM, WATSON SR, WARDLAW AJ : Functional and structural characterization of the eosinophil P-selectin ligand. *J. Immunol.*, 1996, **157(4)** : 1711-1719.
- 421 TACHIMOTO H, BURDICK MM, HUDSON SA, KIKUCHI M, KONSTANTOPOULOS K, BOCHNER BS : CCR3-active chemokines promote rapid detachment of eosinophils from VCAM-1 *in vitro*. *J. Immunol.*, 2000, **165(5)** : 2748-2754.
- 422 TACHIMOTO H, KIKUCHI M, HUDSON SA, BICKEL CA, HAMILTON RG,

- BOCHNER BS : Eotaxin-2 alters eosinophil integrin function via mitogen activated protein kinases. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2002, **26(6)** : 645-649.
- 423 TAKAMOTO M, OVERTON KS, BEHM CA, SUGANE K, YOUNG IG, MATTHAEI KI : Eosinophilia, parasite burden and lung damage in *Toxocara canis* infection in C57Bl/6 mice genetically deficient in IL-5. *Immunology*, 1997, **90(4)** : 511-517.
- 424 TAKIZAWA T, KATO M, KIMURA H, SUZUKI M, TACHIBANA A, OBINATA H, IZUMI T, TOKUYAMA K, MORIKAWA A : Inhibition of protein kinases A and C demonstrates dual modes of response in human eosinophils stimulated with platelet-activating factor. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2002, **110(2)** : 241-248.
- 425 TAMURA N, ISHII N, NAKAZAWA M, NAGOYA M, YOSHINARI M, AMANO T, NAKAZIMA H, MINAMI M : Requirement of CD80 and CD86 molecules for antigen presentation by eosinophils. *Scand. J. Immunol.*, 1996, **44(3)** : 229-238.
- 426 TAVERNIER J, DEVOS R, CORNELIS S, TUYSENS T, VAN DER HEYDEN J, FIERS W, PLAETINCK G : A human high affinity interleukin-5 receptor (IL5R) is composed of an IL5-specific α chain and a β chain shared with the receptor for GM-CSF. *Cell*, 1991, **66(6)** : 1175-1184.
- 427 TAVERNIER J, VAN DER HEYDEN J, VERHEE A, BRUSSELLE G, VAN OSTADE X, VANDEKERCKHOVE J, NORTH J, RANKIN SM, KAY AB, ROBINSON DS : Interleukin 5 regulates the isoform expression of its own receptor α -subunit. *Blood*, 2000, **95(5)** : 1600-1607.
- 428 TAWILL S, LE GOFF L, ALI F, BLAXTER M, ALLEN JE : Both free-living and parasitic nematodes induce a characteristic Th2 response that is dependent on the presence of intact glycans. *Infect. Immun.*, 2004, **72(1)** : 398-407.
- 429 TEIXEIRA MM, TALVANI A, TAFURI WL, LUKACS NW, HELLEWELL PG : Eosinophil recruitment into sites of delayed-type hypersensitivity reactions in mice. *J. Leukoc. Biol.*, 2001, **69(3)** : 353-360.
- 430 TEMKIN V, KANTOR B, WEG V, HARTMAN ML, LEVI-SCHAFFER F : Tryptase activates the mitogen-activated protein kinase/activator protein-1 pathway in human peripheral blood eosinophils, causing cytokine production and release. *J. Immunol.*, 2002, **169(5)** : 2662-2669.
- 431 THORLACIUS H, LINDBOM L, RAUD J : Cytokine-induced leukocyte rolling in mouse cremaster muscle arterioles is P-selectin dependent. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 1997, **272(4)** : H1725-H1729.
- 432 **TIMOTHY LM, BEHNKE JM : *Necator americanus* in inbred mice : evidence in support of genetically determined differences in the cellular immune response to a primary infection. *Parasitology*, 1997, 114(1) : 53-63.**

- 433 TISCHENDORF FW, BRATTIG NW, BÜTTNER DW, PIEPER A, LINTZEL M : Serum levels of eosinophil cationic protein, eosinophil-derived neurotoxin and myeloperoxidase in infections with filariae and schistosomes. *Acta Trop.*, 1996, **62(3)** : 171-182.
- 434 TISCHENDORF FW, BRATTIG NW, LINTZEL M, BUTTNER DW, BURCHARD GD, BORK K, MULLER M : Eosinophil granule proteins in serum and urine of patients with helminth infections and atopic dermatitis. *Trop. Med. Int. Health*, 2000, **5(12)** : 898-905.
- 435 TOMAKI M, ZHAO LL, LUNDAHL J, SJÖSTRAND M, JORDANA M, LINDEN A, O'BYRNE P, LÖTVALL J : Eosinophilopoiesis in a murine model of allergic airway eosinophilia : involvement of bone marrow IL-5 and IL-5 receptor α . *J. Immunol.*, 2000, **165(7)** : 4040-4050.
- 436 TOMASSINI M, TSICOPOULOS A, TAI PC, GRUART V, TONNEL AB, PRIN L, CAPRON A, CAPRON M : Release of granule proteins by eosinophils from allergic and nonallergic patients with eosinophilia on immunoglobulin-dependent activation. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1991, **88(3)** : 365-375.
- 437 TORPIER G, COLOMBEL JF, MATHIEU-CHANDELIER C, CAPRON M, DESSAINT JP, CORTOT A, PARIS JC, CAPRON A : Eosinophilic gastroenteritis: ultrastructural evidence for a selective release of eosinophil major basic protein. *Clin. Exp. Immunol.*, 1988, **74(3)** : 404-408.
- 438 TRIGGIANI M, GRANATA F, BALESTRIERI B, PETRAROLI A, SCALIA G, DEL VECCHIO L, MARONE G : Secretory phospholipases A2 activate selective functions in human eosinophils. *J. Immunol.*, 2003, **170(6)** : 3279-3288.
- 439 TRUONG MJ, GRUART V, CAPRON A, CAPRON M, TOURVIEILLE B : Cloning and expression of a cDNA encoding a non-classical MHC class I antigen (HLA-E) in eosinophils from hypereosinophilic patients. *J. Immunol.*, 1992, **148(2)** : 627-632.
- 440 TRUONG MJ, GRUART V, LIU FT, PRIN L, CAPRON A, CAPRON M : IgE-binding molecules (Mac-2/epsilon BP) expressed by human eosinophils. Implication in IgE-dependent eosinophil cytotoxicity. *Eur. J. Immunol.*, 1993, **23(12)** : 3230-3235.
- 441 TSUJI N, SUZUKI K, KASUGA-AOKI H, ISOBE T, ARAKAWA T, MATSUMOTO Y : Mice intranasally immunized with a recombinant 16-kilodalton antigen from roundworm ascaris parasites are protected against larval migration of *Ascaris suum*. *Infect. Immun.*, 2003, **71(9)** : 5314-5323.
- 442 TSUYUKI S, BERTRAND C, ERARD F, TRIFILIEFF A, TSUYUKI J, WESP M, ANDERSON GP, COYLE AJ : Activation of the *Fas* receptor on lung eosinophils leads to apoptosis and the resolution of eosinophilic inflammation of the airways. *J. Clin. Invest.*, 1995, **96(6)** : 2924-2931.
- 443 UGUCCIONI M, LOETSCHER P, FORSSMANN U, DEWALD B, LI H, LIMA SH, LI

- Y, KREIDER B, GAROTTA G, THELEN M, BAGGIOLINI M : Monocyte chemotactic protein 4 (MCP-4), a novel structural and functional analogue of MCP-3 and eotaxin. *J. Exp. Med.*, 1996, **183(5)** : 2379-2384.
- 444 UGUCCIONI M, McKAY CR, OCHENSBERGER B, LOETSCHER P, RHIS S, LaROSA GJ, RAO P, PONATH PD, BAGGIOLINI M, DAHINDEN CA : High expression of the chemokine receptor CCR3 in human blood basophils . Role in activation by eotaxin, MCP-4, and other chemokines. *J. Clin. Invest.*, 1997, **100(5)** : 1137-143.
- 445 VALLANCE BA, BLENNERHASSETT PA, DENG Y, MATTHAEI KI, YOUNG IG, COLLINS SM : IL-5 contributes to worm expulsion and muscle hypercontractility in a primary *T. spiralis* infection. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 1999, **277(2)** : G400-G408.
- 446 VAN DER BRUGGEN T, CALDENHOVEN E, KANTERS D, COFFER P, RAAIJMAKERS JA, LAMMERS JW, KOENDERMAN L : Interleukin-5 signaling in human eosinophils involves JAK2 tyrosine kinase and Stat1 α . *Blood*, 1995, **85(6)** : 1442-1448.
- 447 VARDHANI VV : Eosinophil relationship in gut anaphylaxis during experimental ancylostomosis. *Vet. Parasitol.*, 2003, **115(1)** : 25-33.
- 448 VENTURIELLO SM, GIAMBARTOLOMEI GH, COSTANTINO SN : Immune cytotoxic activity of human eosinophils against *Trichinella spiralis* newborn larvae. *Parasite Immunol.*, 1995, **17(11)** : 555-559.
- 449 VIGNOLA AM, CHANEZ P, CHIAPPARA G, SIENA L, MERENDINO A, REINA C, GAGLIARDO R, PROFITA M, BOUSQUET J, BONSIGNORE G : Evaluation of apoptosis of eosinophils, macrophages, and T lymphocytes in mucosal biopsy specimens of patients with asthma and chronic bronchitis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999, **103(4)** : 563-573.
- 450 VOLKMANN L, BAIN O, SAEFTEL M, SPECHT S, FISCHER K, BROMBACHER F, MATTHAEI KI, HOERAUF A : Murine filariasis: interleukin 4 and interleukin 5 lead to containment of different worm developmental stages. *Med. Microbiol. Immunol.(Berl)*, 2003, **192(1)** : 23-31.
- 451 VOLKMANN L, SAEFTEL M, BAIN O, FISCHER K, FLEISCHER B, HOERAUF A : Interleukin-4 is essential for the control of microfilariae in murine infection with the filaria *Litomosoides sigmodontis*. *Infect. Immun.*, 2001, **69(5)** : 2950-2956.
- 452 WALKER C, CHECKEL J, CAMMISULI S, LEIBSON PJ, GLEICH GJ : IL-5 Production by NK cells contributes to eosinophil infiltration in a mouse model of allergic inflammation. *J. Immunol.*, 1998, **161(4)** : 1962-1969.
- 453 WALSH GM, SYMON FA, LAZAROVILS AI, WARDLAW AJ : Integrin $\alpha 4 \beta 7$ mediates human eosinophil interaction with MAdCAM-1, VCAM-1 and fibronectin. *Immunology*, 1996, **89(1)** : 112-119.

- 454 WALSH GM, WILLIAMSON ML, SYMON FA, WILLIAMS GB, WARDLAW A : Ligation of CD69 induces apoptosis and cell death in human eosinophils cultured with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood*, 1996, 87(7) : 2815-2821.
- 455 WARDLAW AJ, MOQBEL R, CROMWELL O, KAY AB : Platelet activating factor. A potent chemotactic and chemokinetic factor for human eosinophils. *J. Clin. Invest.*, 1986, 78(6) : 1701-1706.
- 456 WARDLAW AJ, MOQBEL R, CROMWELL O, KAY AB : Eosinophils : biology and role in disease. *Adv. Immunol.*, 1995, 60(1) : 151-266.
- 457 WASSOM DL, GLEICH GJ : Damage to *Trichinella spiralis* newborn larvae by eosinophil major basic protein. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1979, 28(5) : 860-863.
- 458 WATSON ML, WHITE AM, CAMPBELL EM, SMITH AW, UDDIN J, YOSHIMURA T, WESTWICK J : Anti-inflammatory actions of interleukin-13. Suppression of tumor necrosis factor- α and antigen-induced leukocyte accumulation in the guinea pig lung. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1999, 20(5) : 1007-1012.
- 459 WEBER C, KITAYAMA J, SPRINGER TA : Differential regulation of β 1 and β 2 integrin avidity by chemoattractants in eosinophils. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1996, 93(20) : 10939-10944.
- 460 WELCH JS, ESCOUBET-LOZACH L, SYKES DB, LIDDIARD K, GREAVES DR, GLASS CK : Th2 cytokines and allergic challenge induce Ym1 expression in macrophages by a STAT6-dependent mechanism. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277(45) : 42821-42829.
- 461 WELLER PF, RAND TH, BARRETT T, ELOVIC A, WONG DT, FINBERG RW : Accessory cell function of human eosinophils. HLA-DR-dependent, MHC- restricted antigen-presentation and IL-1 alpha expression. *J. Immunol.*, 1993, 150(6) : 2554-2562.
- 462 WHITE CJ, MAXWELL CJ, GALLIN JI : Changes in the structural and functional properties of human eosinophils during experimental hookworm infection. *J. Infect. Dis.*, 1986, 154(5) : 778-783. Abstract.
- 463 WHITE JR, IMBURGIA C, DUL E, APPELBAUM E, O'DONNELL K, O'SHANNESY DJ, BRAWNER M, FORNWALD J, ADAMO J, ELSHOURBAGY NA, KAISER K, FOLEY JJ, SCHMIDT DB, JOHANSON K, MACPHEE C, MOORES K, McNULTY D, SCOTT GF, SCHLEIMER RP, SARAU HM : Cloning and functional characterization of a novel human CC chemokine that binds to the CCR3 receptor and activates human eosinophils. *J. Leukoc. Biol.*, 1997, 62(5) : 667-675.
- 464 WILD JS, SIGOUNAS A, SUR N, SIDDIQUI MS, ALAM R, KURIMOTO M, SUR S : IFN- γ -inducing factor (IL-18) increases allergic sensitization, serum IgE, Th2 cytokines, and airway eosinophilia in a mouse model of allergic asthma. *J. Immunol.*, 2000, 164(5)

: 2701-2710.

- 465 WOERLY G, ROGER N, LOISEAU S, DOMBROWICZ D, CAPRON A, CAPRON M : Expression of CD28 and CD86 by human eosinophils and role in the secretion of type 1 cytokines (interleukin 2 and interferon γ) : Inhibition by immunoglobulin A complexes. *J. Exp. Med.*, 1999, **190(4)** : 487-496.
- 466 WOLFF EA, GREENFIELD B, TAUB DD, MURPHY WJ, BENNETT KL, ARUFFO A : Generation of artificial proteoglycans containing glycosaminoglycan-modified CD44: demonstration of the interaction between rantes and chondroitin sulfate. *J. Biol. Chem.*, 1999, **274(4)** : 2518-2524.
- 467 WOLTMANN G, McNULTY CA, DEWSON G, SYMON FA, WARDLAW AJ : Interleukin-13 induces PSGL-1/P-selectin-dependent adhesion of eosinophils, but not neutrophils, to human umbilical vein endothelial cells under flow. *Blood*, 2000, **95(10)** : 3146-3152.
- 468 WONG DTW, ELOVIC A, MATOSSIAN K, NAGURA N, McBRIDE J, CHOU MY, GORDON JR, RAND TH, GALLI SJ, WELLER PF : Eosinophils from patients with blood eosinophilia express transforming growth factor β 1(TGF- β ₁). *Blood*, 1991, **78(10)** : 2702-2707.
- 469 WONG DTW, WELLER PF, GALLI SJ, ELOVIC A, RAND TH, GALLAGHER GT, CHIANG T, CHOU MY, MATOSSIAN K, McBRIDE J, TODD R : Human eosinophils express transforming growth factor- α (TGF- α). *J. Exp. Med.*, 1990, **172(3)** : 673-681.
- 470 YAMAGUCHI Y, SUDA T, OHTA S, TOMINAGA K, MIURA Y, KASAHARA T : Analysis of the survival of mature human eosinophils: interleukin-5 prevents apoptosis in mature human eosinophils. *Blood*, 1991, **78(10)** : 2542-2547.
- 471 YAMAGUCHI Y, SUDA T, SUDA J, EGUCHI M, MIURA Y, HARADA N, TOMINAGA K, TAKATSU K : Purified interleukin 5 supports the terminal differentiation and proliferation of murine eosinophilic precursors. *J. Exp. Med.*, 1988, **167(1)** : 43-56.
- 472 YAMAMOTO H, SEDGWICK JB, BUSSE WW : Differential regulation of eosinophil adhesion and transmigration by pulmonary microvascular endothelial cells. *J. Immunol.*, 1998, **161(2)** : 971-977.
- 473 YING S, ROBINSON DS, MENG Q, BARATA LT, McEUEEN AR, BUCKLEYMG, WALLS AF, ASKENASE PW, KAY AB : C-C chemokines in allergen-induced late-phase cutaneous responses in atopic subjects : Association of eotaxin with early 6-hour eosinophils, and of eotaxin-2 and monocyte chemoattractant protein-4 with the later 24-hour tissue eosinophilia, and relationship to basophils and other C-C chemokines (monocyte chemoattractant protein-3 and RANTES). *J. Immunol.*, 1999, **163(7)** : 3976-3984.

- 474 YOSHIDA T, IKUTA K, SUGAYA H, MAKI K, TAKAGI M, KANAZAWA H, SUNAGA S, KINASHI T, YOSHIMURA K, MIYAZAKI J, TAKAKI S, TAKATSU K : Defective B-1 cell development and impaired immunity against *Angiostrongylus cantonensis* in IL-5R α -deficient mice. *Immunity*, 1996, **4(5)** : 483-494.
- 475 YOUSEFI S, HEMMANN S, WEBER M, HOLZER C, HARTUNG K, BLASER K, SIMON HU : IL-8 is expressed by human peripheral blood eosinophils. Evidence for increased secretion in asthma. *J. Immunol.*, 1995, **154(10)** : 5481-5490.
- 476 YOUSEFI S, HOESSLI DC, BLASER K, MILLS GB, SIMON HU : Requirement of Lyn and Syk tyrosine kinases for the prevention of apoptosis by cytokines in human eosinophils. *J. Exp. Med.*, 1996, **183(4)** : 1407-1414.
- 477 YUAN Q, AUSTEN KF, FRIEND DS, HEIDTMAN M, BOYCE JA : Human peripheral blood eosinophils express a functional *c-kit* receptor for Stem Cell Factor that stimulates Very Late Antigen 4 (VLA-4)-mediated cell adhesion to fibronectin and Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (VCAM-1). *J. Exp. Med.*, 1997, **186(2)** : 313-323.
- 478 ZANGRILLI J, ROBERTSON N, SHETTY A, WU J, HASTIE A, FISH JE, LITWACK G, PETERS SP : Effect of IL-5, glucocorticoid, and Fas ligation on Bcl-2 homologue expression and caspase activation in circulating human eosinophils. *Clin. Exp. Immunol.*, 2000, **120(1)** : 12-21.
- 479 ZEIBECOGLOU K, YING S, YAMADA T, NORTH J, BURMAN J, BUNGRE J, MENG Q, KAY AB, ROBINSON DS : Increased mature and immature CCR3 messenger RNA⁺ eosinophils in bone marrow from patients with atopic asthma compared with atopic and nonatopic control subjects. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999, **103(1)** : 99-106.
- 480 ZHA J, HARADA H, YANG E, JOCKEL J, KORSMEYER SJ : Serine phosphorylation of death agonist BAD in response to survival factor results in binding to 14-3-3 not BCL-XL. *Cell*, 1996, **87(4)** : 619-628.
- 481 ZHU X, HAMANN KJ, MUNOZ NM, RUBIO N, MAYER D, HERNRREITER A, LEFF AR : Intracellular expression of Fc γ RIII (CD16) and its mobilization by chemoattractants in human eosinophils. *J. Immunol.*, 1998, **161(5)** : 2574-2579.
- 482 ZHU Z, HOMER RJ, WANG Z, CHEN Q, GEBA GP, WANG J, ZHANG Y, ELIAS JA : Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *J. Clin. Invest.*, 1999, **103(6)** : 779-788.
- 483 ZIMMERMANN N, CONKRIGHT JJ, ROTHENBERG ME : CC chemokine receptor-3 undergoes prolonged ligand-induced internalization. *J. Biol. Chem.*, 1999, **274(18)** : 12611-12618.
- 484 ZIMMERMANN N, HOGAN SP, MISHRA A, BRANDT EB, BODETTE TR, POPE SM, FINKELMAN FD, ROTHENBERG ME : Murine eotaxin-2: a constitutive eosinophil chemokine induced by allergen challenge and IL-4 overexpression. *J.*

Immunol., 2000, **165(10)** : 5839-5846.

485 ZOFFMANN S, CHOLLET A, GALZI JL : Identification of the extracellular loop 2 as the point of interaction between the N terminus of the chemokine MIP-1 and its CCR1 receptor. *Mol. Pharmacol.*, 2002, **62(3)** : 729-736.

ANNEXE

ANNEXE : Classification systématique des parasites cités (d'après 15).

Phylum : Nematoda						Classe : Secernentea					
ORDRE	SUPERFAMILLE	FAMILLE	SOUSFAMILLE	GENRE	ESPECE						
Strongylida	Strongyloidea	Strongylidae	Strongylinae	Strongylus	vulgaris						
		Syngamidae	Syngaminae	Cyathostoma							
	Trichostrongyloidea	Trichostrongylidae		Trichostrongylinae	Trichostrongylus						
				Ostertagiinae	Ostertagia	ostertagi					
				Teladorsagia	circumcincta						
		Dictyocaulidae									
		Heligmosomidae									
	Metastrongyloidea	Heligmonellidae	Nippostrongylinae	Nippostrongylus	brasiliensis						
		Metastrongylidae									
		Angiostrongylidae		Angiostrongylus	costaricensis						
	Ancylostomatoidea	Ancylostomatidae		Ancylostomatinae	Ancylostoma	caninum					
				Bunostominae	Necator	ceylanicum americanus					
Rhabditida	Rhabditoidea	Rhabditidae									
		Strongyloididae		Strongyloides	venezuelensis stercoralis ratti						
Ascaridida	Ascaridoidea	Ascarididae	Ascaridinae	Ascaris	lumbricoides suum						
				Toxascaris							
			Toxocarinae	Toxocara	canis cati vitulorum						
Spirurida (sous-ordre des Spirurina)	Spiruroidea	Spiruridae									
	Filarioidea	Onchocercidae	Onchocercinae	Brugia	malayi pahangi timori						
				Wuchereria	bancrofti						
				Litomosoides	sigmodontis						
				Onchocerca	volvulus lienalis						

Phylum : Nematoda						Classe : Adenophorea					
ORDRE	SUPERFAMILLE	FAMILLE	GENRE	ESPECE							
Mermithida											
Enoplida	Trichuroidea	Trichuridae	Trichuris	trichiura							
				muris vulpis							
		Trichinellidae	Trichinella	spiralis britovi							

Phylum : Platyhelminthes					
CLASSE	SOUS CLASSE	ORDRE	FAMILLE	GENRE	ESPECE
Trematoda	Digenea	Echinostomatida	Fasciolidae		
		Strigeatida	Schistosomatidae	<i>Schistosoma</i>	<i>mansoni</i>
Cestoda	Eucestoda	Cyclophyllidea	Taeniidae		
			Mesocestoididae		

TOULOUSE, 2008

NOM : RAFFI-HENRY

PRENOM : Hélène

**TITRE : GRANULOCYTE ÉOSINOPHILE : PHYSIOLOGIE ET IMPLICATION
DANS LES RÉACTIONS INFLAMMATOIRES PARASITAIRES. ÉTUDE
BIBLIOGRAPHIQUE.**

RESUME :

Les éosinophiles ont longtemps été considérés comme des témoins d'une possible infestation parasitaire mais leur participation dans les mécanismes de défense développés par l'hôte n'a été étudié que récemment.

Dans une première partie, les caractéristiques structurales du granulocyte éosinophile sont présentées ainsi que les mécanismes conduisant à leur recrutement et à leur migration. Les éosinophiles sont des granulocytes qui participent à l'immunité et qui peuvent libérer sélectivement (« dégranulation par bouts ») ou non leurs produits de synthèse, en particulier les protéines cytotoxiques MBP, ECP, EPO et EDN.

La seconde partie est consacrée à la place des éosinophiles dans les défenses antiparasitaires. La diversité des parasites est mise en parallèle avec la variabilité des réactions inflammatoires d'origine parasitaire et il ressort de cette étude que la migration larvaire est la source majeure des réponses impliquant les éosinophiles. Ils sont principalement recrutés par l'intermédiaire de l'interleukine-5, puis prennent part à la séquestration et à la destruction des formes parasitaires.

**MOTS CLES : EOSINOPHILE / INFLAMMATION / PARASITE / CYTOKINE /
CHIMIOTACTISME / CYTOTOXICITE / GRANULOME / COOPERATION
CELLULAIRE.**

**TITLE : EOSINOPHILIC GRANULOCYTE : PHYSIOLOGY AND CONTRIBUTION
TO INFLAMMATORY REACTIONS OF PARASITIC ORIGIN. A REVIEW.**

ABSTRACT :

Eosinophils are considered for a long time as witnesses of a potential parasite infection, but their involvement in the defence mechanisms of their host has been studied only recently.

In the first part, the structural characteristics of the eosinophilic granulocyte are reviewed and the mechanisms leading to recruitment and migration of the eosinophilic granulocyte are presented. The eosinophils are granulocytes which take part in immunity and which can release, selectively ("piecemeal degranulation") or not, their products of synthesis, in particular cytotoxic proteins MBP, ECP, EPO and EDN.

The second part is devoted to the role played by eosinophils in defending against parasites. The diversity of the parasites is put in parallel with the variability of the inflammatory reactions of parasitic origin. This study shows that larval migration is the major source of the responses involving eosinophils. They are mainly recruited via the interleukine-5, and then participate in the sequestration and the destruction of the parasitic forms.

**KEYWORDS : EOSINOPHIL / INFLAMMATION / PARASITE / CYTOKINE /
CHEMOTAXIS / CYTOTOXICITY / GRANULOMA / CELLULAR COOPERATION.**