

Prix de Thèse GREMI 2016

Etude de la dynamique de dégranulation des mastocytes & Analyse de l'effet des éicosanoïdes dans la coopération entre mastocytes et lymphocytes T Helper

Régis Joulia

Directeurs de thèse : Dr. Eric Espinosa et Prof. Salvatore Valitutti,
INSERM U1043, CPTP, Université Paul Sabatier, Toulouse

Les mastocytes sont des cellules immunitaires présentes dans tous les tissus de l'organisme. Ils ont été depuis longtemps associés aux réponses allergiques, mais ces cellules sont aussi des acteurs majeurs de la réponse inflammatoire. La dégranulation des mastocytes, ou exocytose des granules sécrétoires, est un mécanisme d'action important de ces cellules.

Mes travaux de thèse ont permis de mettre en évidence un nouveau mécanisme d'action des mastocytes. En effet, nous avons montré que lorsque les mastocytes humains sont mis en contact avec des cellules ciblées par des anticorps (IgE ou IgG), ils reconnaissent alors ces cellules via leurs récepteurs Fc (RFc ϵ 1 ou RFc γ IIA respectivement) et dégranulent de manière polarisée vers la cellule cible. Nous avons proposé d'appeler ce mécanisme l'ADDS (*Antibody Dependent Degranulatory Synapse*) (**Figure 1A**). De plus, cette synapse dégranulatoire peut aussi avoir lieu lorsque le mastocyte est au contact d'un parasite (*Toxoplasma Gondii*) opsonisé par des IgG (**Figure 1B**). Cette dégranulation polarisée induit la mort du parasite, phénomène dépendant en partie de l'action de la tryptase contenue dans les granules (**Figure 1C**) (1,2).

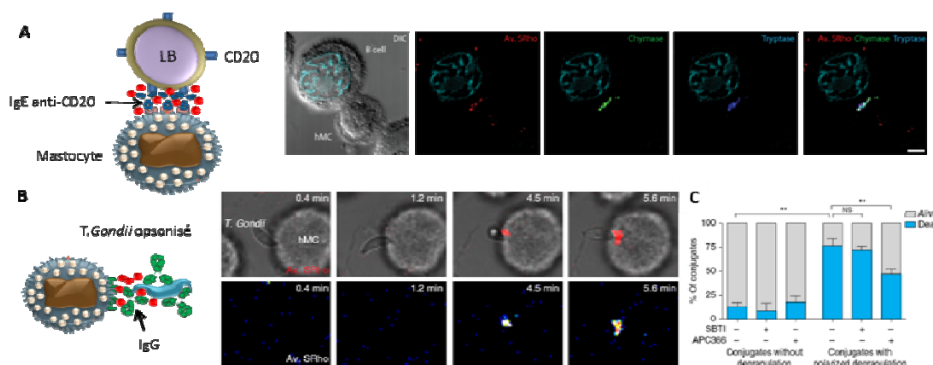


Figure 1 : Les mastocytes dégranulent de manière polarisée après activation par des antigènes cellulaire. (A) Des mastocytes humains sensibilisés avec l'IgE anti-CD20 ont été incubés avec des lymphocytes B en présence d'avidine sulforhodamine (rouge) pendant 30 minutes. Les cellules ont été fixées et marquées pour la

chymase (vert) et tryptase (bleu). Barres 5 μ m. (B) Les tachyzoïtes ont été opsonisés avec une IgG anti-SAG1 puis incubés avec des mastocytes en présence d'Av. SRho. Séquence d'images extraites du film décrivant l'interaction entre mastocytes et *T. Gondii* opsonisés. (C) Fréquence de conjugués avec des parasites morts (bleu) ou vivants (gris) lorsque les mastocytes dégranulent ou non en présence d'inhibiteur de chymase (SBTI) ou de tryptase (APC366). Test Wilcoxon apparié, non-significatif (NS) $p > 0.05$, **, $p < 0.01$.

Notre méthode d'étude de la dégranulation nous a aussi permis d'analyser en détail les modalités et la dynamique de la dégranulation à l'échelle « single cell » et sa régulation par des facteurs pro-inflammatoires. Nous avons pu mettre en évidence que la dégranulation induite par l'agrégation des RFc ϵ 1 était contrôlée par deux mécanismes : un premier qui contrôle le nombre de mastocytes qui dégranulent et un second qui régule l'intensité de la dégranulation. L'interleukine 33 est une alarmine connue pour booster l'activation des mastocytes. Nous avons montré que l'IL-33 peut finement jouer sur ces deux mécanismes en augmentant la fréquence de mastocytes qui dégranulent mais aussi, de façon

intéressante, l'intensité de la dégranulation. Ces résultats indiquent que l'IL-33 induit ainsi l'émergence de cellules hautement inflammatoires (3).

Dans un second axe de recherche, nous avons étudié quel pouvait être l'impact des prostaglandines dans le dialogue entre mastocytes et lymphocytes T CD4⁺ Helper (T_H). Les prostaglandines sont des acteurs majeurs de la réponse inflammatoire mais leur impact sur la biologie des LT_H n'est toujours pas établi. En collaboration avec le Dr. Nicolas Cénac (IRSD), nous avons observé que les LT_H induisent la production de certaines prostaglandines par les mastocytes (PGE₂, PGD₂ et 15-dPGJ₂ notamment). En retour, nous avons pu identifier un rôle insoupçonné de la prostaglandine D₂ et la prostaglandine E₂ produites les mastocytes comme des acteurs importants pour la production d'interleukine 17 par les LT_H.

En conclusion, mes travaux de thèse nous ont permis de révéler l'existence de la synapse dégranulatoire des mastocytes, de nouveaux mécanismes contrôlant la dégranulation et d'identifier les mastocytes comme une source importante de prostaglandines impliquées dans l'orientation des réponses T_H.

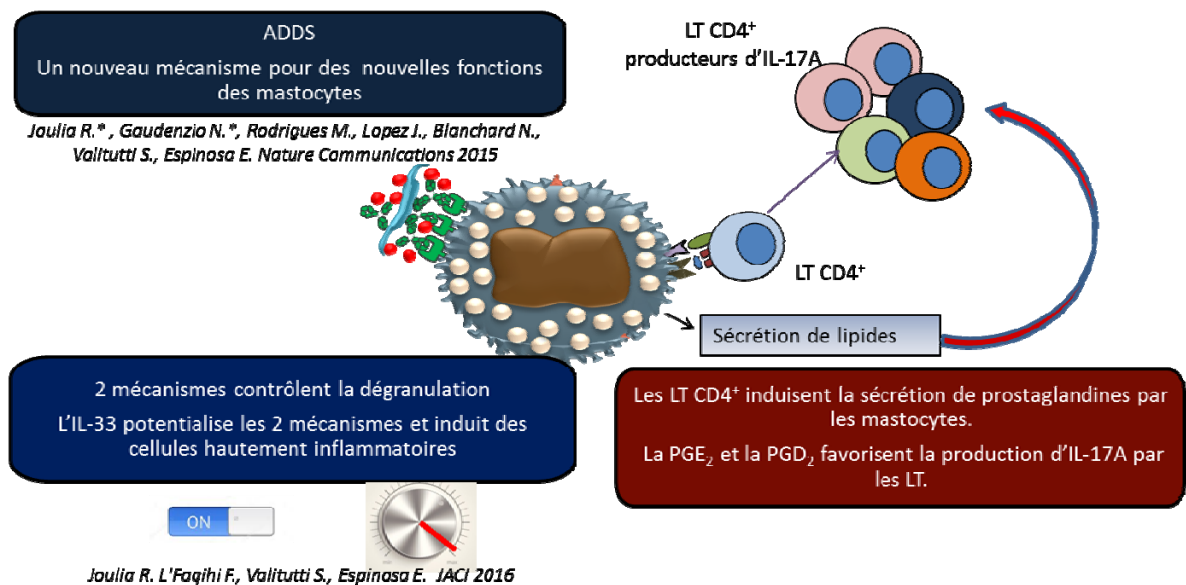


Schéma 1 : Etude de la dynamique de dégranulation des mastocytes & Analyse de l'effet des éicosanoïdes dans la coopération entre mastocytes et lymphocytes T Helper.

Publications :

- (1) **Jouliia R.**, L'Faqih F., Valitutti S., Espinosa E. "IL-33 fine-tunes mast cell degranulation and chemokine production at the single cell level." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. (2016) DOI: 10.1016/j.jaci.2016.09.049
- (2) Valitutti S., **Jouliia R.**, Espinosa E. "The mast cell antibody-dependent degranulatory synapse." *Method Molecular Biology*, (2016) In press
- (3) **Jouliia R.*.**, Gaudenzio N*., Rodrigues M., Lopez J., Blanchard N., Valitutti S., Espinosa E. "Mast cells form antibody-dependent degranulatory synapse for dedicated secretion and defence." *Nature communications*, (2015) DOI: 10.1038/ncomms7174 (* joint first authors).