

Article de synthèse – L'apoptose de l'éosinophile : cible d'intérêt thérapeutique dans le traitement de l'inflammation allergique

G. SEUMOIS. (1), L. FIEVEZ (2), R. LOUIS (3), P. LEKEUX (4), F. BUREAU (5)

(1) Attaché de Recherche, (3) Professeur, Service de Pneumologie, Département des Sciences Cliniques, Faculté de Médecine, CHU Sart Tilman, ULg

(4) Professeur, Service de Physiologie, (2) Assistante, (5) Professeur, Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Département des Sciences Fonctionnelles, Faculté de Médecine Vétérinaire, Centre de Thérapie Cellulaire et Moléculaire, ULg

Résumé : La régulation de la vie des éosinophiles par le mécanisme de mort programmée cellulaire qu'est l'apoptose procure un équilibre judicieux entre leur fonction de cellules effectrices dans la défense de l'organisme et le renouvellement sécurisé de ces cellules potentiellement dangereuses. L'apoptose spontanée constitue un processus nécessaire pour le maintien de l'homéostasie des cellules immunes, telles que les éosinophiles. L'inflammation allergique, telle que l'asthme, est caractérisée par une accumulation tissulaire excessive d'éosinophiles. Des altérations dans les mécanismes de l'apoptose spontanée des éosinophiles ainsi que la production excessive de facteurs de survie ont été proposées comme étant responsables en partie de cette accumulation. La diminution de la concentration en cytokines comme elle survient lors de la phase de résolution de l'inflammation, ou l'expression de médiateurs anti-inflammatoires, conduit par contre à l'induction de l'apoptose des éosinophiles. Il a été montré que l'induction thérapeutique de la mort des éosinophiles réduit l'inflammation allergique. Les objectifs de cette revue sont (i) de résumer les connaissances actuelles liées aux mécanismes moléculaires qui régulent l'apoptose spontanée des éosinophiles, (ii) de résumer brièvement les moyens thérapeutiques actuellement développés pour lutter contre l'inflammation allergique via l'induction de la mort des éosinophiles.

Mot-clefs: Eosinophile, apoptose, inflammation, cytokine

Title : Eosinophil apoptosis : potential therapeutic target for the treatment of allergic inflammation

Summary : Regulation of eosinophil life span by apoptosis provides a fine balance between their function as effector cells of host defence and a turnover of these potentially harmful cells. Apoptosis is thus necessary to maintain physiologic cellular homeostasis. Allergic inflammation such as asthma is characterised by an excessive accumulation of tissue eosinophils. Dysregulation of eosinophil apoptosis and excessive production of eosinophil-survival factors have been proposed as key mechanisms implicating such inflammatory responses. Induction of eosinophil apoptosis occurs when there is a withdrawal in cytokines in the resolution phase of inflammation, or when there is an increase in the expression of anti-inflammatory mediators. Importantly, therapeutic induction of eosinophil apoptosis has been shown to reduce allergic inflammation. The aim of this review is (i) to summarise the principal molecular mechanisms and regulatory components of spontaneous eosinophil apoptosis, and (ii) to summarise the mode of action of therapeutic agents modulating allergic inflammation via the induction of eosinophil apoptosis.

Liste des abréviations

Bcl-2: *B-cell leukemia/lymphoma 2-like*; CD40L : CD40 ligand; DP : récepteur aux prostanoïdes D; ERK : *extracellular-regulated kinase*; EP₂ : récepteur aux prostanoïdes E-2; FasL : Fas ligand; FC γ RII : récepteur de type II de la région constante des immunoglobulines G; FRO : forme réactive de l'oxygène; GC : glucocorticoïde; GM-CSF : *granulocyte/macrophage-colony stimulating factor*; HR : récepteur à l'histamine; IAP : protéines inhibitrices de l'apoptose; IgG : les immunoglobulines G; IL : interleukine; LT : leucotriène; LThx : lymphocytes T auxiliaires de type x; MAPK : *mitogen-activated protein kinase*; MEK : *mitogen-activated protein kinase kinase*; Mst : *sterile 20-homologues kinases*; NF- κ B : facteur de transcription nucléaire κ B; NOS : NO synthase; PDE : phosphodiesterase; PG : prostaglandine; PKA/B : protéine kinase A/B; PI3-K : phosphatidyl-inositol-3 kinase; PPAR : *peroxisome-proliferator-activated receptor*; RCPG : récepteur couplé aux protéines G; STATs : signal transducteur et activateur de transcription; TGF: facteur de croissance tumoral; TNF/NGF : *tumor necrosis factor/nerve growth factor*; TRAIL : ligands similaires au TNF induisant l'apoptose

Eosinophilie et apoptose

L'éosinophilie est une caractéristique majeure des inflammations pulmonaires à composante allergique telle que l'asthme ou la rhinite allergique, maladies pour lesquelles la prévalence n'a cessé de s'accroître dans les pays industrialisés au cours de ces dernières dizaines d'années. Il a été montré dans l'asthme que l'afflux d'éosinophiles au niveau des voies respiratoires est proportionnel à la sévérité de la maladie démontrant le rôle essentiel de ces cellules dans le développement et le maintien de ce type d'inflammation (1). Il a été proposé que l'inhibition de la mort cellulaire programmée, apoptose, des éosinophiles constitue un événement clé dans le développement, le maintien et la résolution de l'éosinophilie dans les maladies à composante allergique (2, 3). Corollairement, il a été suggéré que l'induction thérapeutique de l'apoptose des éosinophiles pourrait être un moyen de lutter contre l'inflammation, et plus particulièrement l'inflammation à éosinophiles.

Dans la circulation, et en l'absence de signaux pro-inflammatoires, les éosinophiles vieillissants entrent *spontanément*, au bout de quelques heures (18-36 h), en apoptose. La mort par apoptose est un mécanisme cellulaire qui, contrairement à d'autres types de mort cellulaire telle que la nécrose, permet l'élimination des éosinophiles en évitant la libération de leur contenu cytoplasmique cytotoxique et le déclenchement subséquent d'une réaction inflammatoire.

L'éosinophile apoptotique

Bien que témoins tardifs, les caractéristiques morphologiques (la perte du volume cytoplasmique, l'apparition d'anomalies mitochondrielles, la condensation extrême de la chromatine, la disparition de l'enveloppe nucléaire) et moléculaires (l'externalisation du sphingolipide phosphatidylsérine depuis le feuillet interne vers le feuillet externe de la membrane plasmique, la fragmentation du noyau et la fragmentation précise de l'ADN nucléaire) restent des éléments majeurs de la reconnaissance d'un éosinophile apoptotique. En fin de processus, la cellule se décompose en corps apoptotiques, vésicules membranaires contenant le cytoplasme et les organites cellulaires dégradés. Ces corps apoptotiques sont phagocytés non seulement par les macrophages mais également, contrairement aux neutrophiles, par les cellules épithéliales des voies aériennes supérieures et inférieures (4). Le processus d'élimination des éosinophiles apoptotiques par phagocytose est un événement aussi important que le processus apoptotique car il permet d'éviter un processus de nécrose secondaire impliquant dans le tissu environnant la libération du contenu cytoplasmique cytotoxique et pro-inflammatoire. D'un point de vue thérapeutique, il est donc important de veiller à non seulement agir sur la mort des éosinophiles mais également sur leur élimination immédiate, afin d'éviter d'amplifier l'inflammation.

Mécanismes moléculaires impliqués dans l'apoptose spontanée des éosinophiles

D'un point de vue moléculaire, le processus de mort par apoptose, aboutit à la transactivation d'enzymes protéolytiques particulières appartenant à la famille des cystéines-aspartates protéases, les caspases (5). Les caspases ont la capacité de s'activer mutuellement et d'entamer un processus d'activation en chaîne. Certaines ont un rôle régulateur et d'autres sont dites effectrices car, une fois activées, ces caspases sont directement impliquées dans la dégradation protéolytique irréversible des constituants cellulaires qui donne à la cellule sa morphologie apoptotique. Les caspases-3, -6, -7, -8 et -9 ont été détectées dans les éosinophiles. Cependant, bien que l'apoptose spontanée des éosinophiles puisse être ralenti par l'utilisation d'inhibiteurs de caspases, il a été montré que les caspases-3 et -8 ne sont pas nécessaires à la mort spontanée des éosinophiles (6-8). Dans les éosinophiles, le processus exact d'activation des caspases menant au délabrement cellulaire caractéristique de l'apoptose reste à découvrir.

Actuellement, deux hypothèses moléculaires ont été proposées pour expliquer le caractère spontané de la mort des éosinophiles. D'une part, l'hypothèse extrinsèque où le processus de mort est déclenché par la liaison de ligands spécifiques (solubles ou membranaires) à des récepteurs transmembranaires exprimés à la surface des granulocytes. Ces récepteurs, tels que Fas, appartiennent à la super-famille des récepteurs *Tumor Necrosis Factor/nerve growth factor* (TNF/NGF). Cependant, si cette hypothèse peut expliquer la mort spontanée des neutrophiles (9), Liles *et al.* ont montré que des éosinophiles fraîchement isolés du sang et placés en culture n'expriment pas spontanément le ligand de Fas (FasL) (10). L'hypothèse extrinsèque ne constitue donc pas la principale explication de la mort spontanée des éosinophiles (10).

L'autre hypothèse proposée, dite intrinsèque, s'explique par l'apparition progressive au cours du temps d'un déséquilibre spontané entre facteurs cellulaires pro- et anti-apoptotiques et ce, en faveur des pro-apoptotiques. Les molécules régulatrices de l'apoptose que sont les membres de la famille *B-cell leukemia/lymphoma 2-like* (Bcl-2) sont particulièrement impliquées dans l'apparition de ce déséquilibre pro-apoptotique intrinsèque. Parmi les membres de cette famille ont été identifiés, dans les éosinophiles, tant des protéines pro-apoptotiques (Bax et Bid) qu'anti-apoptotiques (Bcl-2, Bcl-x_L, Mcl-1, A1). Celles-ci ont la capacité de s'associer pour former des homo-, hétéro-di(-multi)-mères. Les interactions entre membres Bcl-2 pro-/anti-apoptotiques contrôlent la libération de facteurs pro-apoptotiques séquestrés notamment dans l'espace mitochondrial intermembranaire (11).

La protéine pro-apoptotique Bax existe sous deux formes, cytosolique (Baxc) ou membranaire (Baxm), discernables par immunodétection. Au cours du processus apoptotique, Baxc subit un changement de conformation, libérant un domaine protéique d'ancrage membranaire et se relocalise au niveau de la membrane mitochondriale externe. Il a été montré que les éosinophiles de la circulation expriment de grandes quantités de Bax et que la forme Baxm augmente progressivement et spontanément au cours du temps. De plus, sa relocalisation au niveau de la membrane mitochondriale en altère la perméabilité et la structure, facilite la libération de facteurs pro-apoptotiques comme le cytochrome c depuis l'espace inter-membranaire mitochondrial vers le cytosol et accélère l'activation des caspases-9 et -3 (12).

La protéine Bcl-x existe sous deux variantes issues d'un épissage alternatif, l'une, longue et anti-apoptotique (Bcl-x_L) et l'autre, courte et pro-apoptotique (Bcl-x_S). Les éosinophiles de la circulation expriment de grandes quantités de Bcl-x_L. Il a été montré que le niveau d'expression de Bcl-x_L diminue progressivement à mesure que les éosinophiles, placés en culture, vieillissent. En outre, notre équipe a montré que, dans les granulocytes placés en culture, Bcl-x_S, apparaît progressivement au détriment de la variante anti-apoptotique, Bcl-x_L (7, 8, 13).

D'autres familles de molécules semblent impliquées dans l'apparition d'un déséquilibre apoptotique intrinsèque. Entre autres, p38-MAPK (famille des *mitogen-activated protein kinase* (MAPK)) et Mst-1/2 (famille des *mammalian sterile 20-homologues kinases*) sont constitutivement actives dans les éosinophiles vieillissants. Leur inhibition respective réduit et augmente la survie des éosinophiles placés en culture (8, 14).

Un déséquilibre spontané et progressif entre molécules oxydantes (H₂O₂, NO, ...) et anti-oxydantes (catalase, ...) peut également constituer une explication à l'apoptose spontanée de l'éosinophile (8).

Enfin, récemment, il a été montré que l'apoptose spontanée des éosinophiles pourrait être expliquée par la diminution au cours du temps de l'expression de x-IAP qui appartient à la famille des protéines inhibitrices de l'apoptose (IAPs) ; son rôle serait d'inhiber l'activité de la caspase-3 (15).

Modulation de l'apoptose des éosinophiles par des médiateurs endogènes

Le tableau 1 répertorie les principaux facteurs d'origine endogène rapportés pour jouer un rôle régulateur dans le processus d'apoptose des éosinophiles.

Granulocyte/macrophage-colony stimulating factor, Interleukine -3 et -5

Le *Granulocyte/macrophage-colony stimulating factor* (GM-CSF), l'interleukine (IL)-3 et -5 sont des cytokines impliquées dans la réponse immunitaire orchestrée par les lymphocytes T auxiliaires de type 2 (LTh₂) et sont actuellement les cytokines anti-apoptotiques les mieux étudiées chez l'éosinophile. L'IL-5 a une action spécifique sur les éosinophiles contrairement au GM-CSF et l'IL-3 qui sont impliqués dans des mécanismes de différenciation et d'activation d'autres types cellulaires (16). La production autocrine d'IL-5/GM-CSF par les éosinophiles est induite et ne s'observe que dans un contexte inflammatoire. Les récepteurs pour ces cytokines sont des dimères composés d'une sous-unité β commune et d'une sous-unité α spécifique pour chacune des cytokines (2, 17). *Ex vivo*, il a été montré que les niveaux d'expression de l'IL-5, -3 et GM-CSF sont plus importants dans les voies aériennes de patients asthmatiques que chez des sujets sains et sont positivement corrélés avec la fréquence des éosinophiles non-apoptotiques ainsi qu'avec le degré de sévérité de l'asthme (7).

Comme le montre schématiquement la figure 1, la sous-unité β commune aux récepteurs à l'IL-3, -5 et GM-CSF est étroitement associée avec les protéines tyrosine-kinases Lyn et Syk. Constitutivement exprimées à un faible niveau dans les éosinophiles, l'expression de ces deux kinases est rapidement augmentée après stimulation avec l'IL-5/GM-CSF. L'utilisation de séquences nucléotidiques antisens dirigées contre les ARN messagers de Syk et Lyn empêche l'action anti-apoptotique de l'IL-5.

Constitutivement associées dans les éosinophiles aux sous-unités β et IL-5R α , les protéines tyrosine-kinases Jak-1, -2 sont activées après stimulation avec l'IL-5/GM-CSF. Ces protéines activent par phosphorylation les facteurs de transcription nucléaires STATs (signal transducteur et activateur de transcription). Il a été décrit que l'IL-5 active les facteurs de transcription STAT-1, -3 et -5 dans les éosinophiles (6). Cependant, le rôle des STATs dans l'apoptose des éosinophiles reste à découvrir (8, 14).

L'analyse de l'expression différenciée de 2409 gènes d'éosinophiles traités ou pas à l'IL-5 a montré qu'après une heure de traitement, 80 gènes ont une expression modulée d'au moins deux fois leur niveau basal. Parmi ces gènes, 4 sont décrits pour être impliqués dans des processus anti-apoptotiques dans d'autres types cellulaires : SLP-76, Pim-1, DSP-5 et CD24. Cependant, leur rôle dans l'apoptose de l'éosinophile n'a pas encore été étudié (18).

Dans les éosinophiles, il a été montré que le signal transduit par l'IL-5 active différentes protéines MAPKs. Il a été rapporté que suite à une stimulation d'éosinophiles par l'IL-5, la protéine *extracellular-regulated kinase* (ERK)-1/2 est activée via la cascade d'activation *Ras-Raf-1-mitogen-activated protein kinase* (MEK). La transfection d'éosinophiles avec un vecteur exprimant une forme humaine mutée dominante négative de la protéine Ras (hRas) ou leur traitement avec des inhibiteurs spécifiques réduisent l'activité ERK-1/2 et diminue l'effet anti-apoptotique induit par l'IL-5. Cependant, le rôle anti-apoptotique de la voie des MAPKs dans l'éosinophile est sujet à controverse. En effet, il a été montré que des éosinophiles stimulés avec IL-5/GM-CSF et traités avec des inhibiteurs spécifiques des protéines MEK et p38-MAPK ont une activité des ERK-1/2 diminuée mais que leur survie n'est pas modifiée (8, 14).

La protéine tyrosine phosphatase SH2 (SHPTP-2) et les protéines associées Grb2 et shc participent également à la transmission du signal induit par l'IL-5. L'inhibition de l'expression de SHPTP-2 par l'utilisation de séquences nucléotidiques antisens, inhibe l'activité ERK et la survie des éosinophiles stimulés par l'IL-5, ce qui apporte un élément supplémentaire à la thèse impliquant ERK dans le signal de survie induit par l'IL-5 (8, 14).

L'activité constitutive de p38-MAPK dans les éosinophiles n'est pas modulée par un traitement à l'IL-5. Corollairement, une modulation de l'activité de p38-MAPK par l'utilisation d'inhibiteurs spécifiques n'a aucun effet sur la survie prolongée des éosinophiles stimulés par l'IL-5. Cependant, *in vivo*, il a été montré que l'inhibition pharmacologique de p38-MAPK réduit l'éosinophilie chez des patients asthmatiques et que parallèlement cette inhibition réduit le taux de Bcl-2 présent dans les éosinophiles de patients asthmatiques (8, 14).

Alors que la voie de signalisation impliquant la protéine kinase phosphatidyl-inositol-3 (PI3-K) et la protéine kinase B (PKB)/Akt est connue pour son rôle anti-apoptotique dans d'autres types cellulaires y compris les neutrophiles (9), et bien qu'il ait été montré que l'IL-5/GM-CSF active ces kinases dans les éosinophiles, il a été montré que cette voie de signalisation ne joue pas de rôle dans la survie induite par l'IL-5/GM-CSF (8, 14).

In vitro, il a été montré que le délai de survie induit par un traitement IL-5/GM-CSF se transmet via l'augmentation du niveau d'expression de l'ARN messager et des protéines Bcl-2 et Bcl-x_L. Cependant, cette expression augmentée de Bcl-2 et de Bcl-x_L est sujet à controverse (7, 8, 12). *Ex vivo*, il a été montré que les éosinophiles isolés à partir d'expectorations induites de patients souffrant d'asthme et de syndrome d'hyperéosinophilie, expriment un niveau de Bcl-2 élevé et que dans l'asthme, ce niveau d'expression était corrélé avec le taux d'IL-5 et avec la sévérité de la maladie (19).

Le traitement d'éosinophiles avec IL-5/GM-CSF ne modifie pas le niveau d'expression de Mcl-1 et de BAX mais inhibe sa relocalisation membranaire mitochondriale, la libération de cytochrome c et l'activation consécutive des caspases-9, -3, -7, -6, -8 (12).

Récemment, il a été montré que les éosinophiles isolés à partir de sang de patients atteints du syndrome d'hyperéosinophilie, ont une expression augmentée des protéines c-IAP2 et de survivine, (famille des IAPs). *In vitro*, le traitement des éosinophiles sanguins provenant de sujets sains, avec de l'IL-5 et -3 augmente le niveau d'expression de ces 2 protéines. Vassina *et al.* (15) ont montré que l'effet anti-apoptotique médié par c-IAP2 et la survivine inhibe l'activité de la caspase-3.

Interleukine -4 et -13

Les éosinophiles expriment à leur surface les récepteurs pour l'IL-4 et l'IL-13 dont une des sous-unités est commune (2, 17). *In vitro*, le rôle de ces deux cytokines sur la survie des éosinophiles est sujet à débats (2, 8). Par contre, des observations menées *ex vivo* sur des patients asthmatiques, ont montré un effet anti-inflammatoire de l'IL-4, notamment en réduisant l'éosinophilie. Il a été montré que les quantités relatives d'IL-5 et -4 ainsi que leurs périodes d'expression au cours de l'inflammation jouent sur l'évolution de l'éosinophilie locale (8). Cet équilibre quantitatif et temporel entre cytokines pro-/anti-inflammatoires pourrait donc déterminer le destin des éosinophiles.

D'autres interleukines semblent jouer un rôle sur la vie des éosinophiles. *In vitro*, l'IL-9 augmente la durée de vie d'éosinophiles isolés du sang de sujets sains via l'induction de l'expression de IL-5R α (21). Bien que l'effet pro-apoptotique direct de l'IL-12 sur l'apoptose de l'éosinophile soit sujet à discussion, il a été montré dans un modèle murin d'asthme qu'un traitement à l'IL-12 inhibait la réponse allergique en réduisant la réaction d'hypersensibilité et l'éosinophilie (22). Le rapport entre les cytokines dérivées des cellules dendritiques (IL-12) et les cytokines dérivées de LTh₂ (IL-5, GM-CSF), semble déterminant dans la survie des éosinophiles et le développement de l'éosinophilie.

Le facteur de croissance tumoral - β

Le facteur de croissance tumoral (TGF)- β induit, *in vitro*, l'apoptose des éosinophiles stimulés avec de l'IL-3, -5 ou du GM-CSF. Il a été montré qu'un traitement avec des doses élevées d'IL-5 supprime l'effet pro-apoptotique du TGF-

β . Ceci suggère l'existence, *in vivo*, d'un équilibre entre ces cytokines, aux effets antagonistes, sur la survie des éosinophiles. Le mécanisme moléculaire par lequel se transmet le signal du TGF- β implique l'inhibition de la phosphorylation des protéines tyrosine kinase Lyn, Jak-2 et de la protéine sérine-thréonine kinase p44-MAPK (7). *In vivo*, le TGF- β est largement exprimé dans les éosinophiles présents dans les voies aériennes lors d'inflammations chroniques. Ceci suggère que le TGF- β pourrait jouer un rôle dans la modulation de la réponse inflammatoire (2).

Membres de la famille TNF/NGF

Comme le montre la figure 2, plusieurs membres de la famille de récepteurs au TNF- α /NGF sont associés au contrôle de la survie des éosinophiles. Parmi ces récepteurs, Fas (CD95, APO-1) est le plus étudié. Comme plusieurs membres de cette famille, Fas est caractérisé par un motif extracellulaire riche en résidus cystéines et par un domaine intracellulaire "de mort". *In vitro*, l'activation de Fas avec un anticorps agoniste ou avec la forme soluble de son ligand spécifique, sFasL, induit l'apoptose des éosinophiles via l'activation des caspases-8 et -3. Il a été montré que la mitochondrie ne participe pas à la transmission du signal de mort induit par Fas. L'effet pro-apoptotique de l'interaction Fas/FasL peut être ralenti par un traitement à l'IL-5 et par l'élévation des taux intracellulaires de monoxyde d'azote (NO) ou d'AMP/GMPcycliques. L'induction de l'apoptose par Fas a également été mise en évidence *ex vivo* par l'étude de polypes nasaux et *in vivo* dans des poumons de souris (7, 8). L'utilisation d'inhibiteurs spécifiques et de séquences nucléotidiques antisens a montré que le signal induit par Fas provoque la phosphorylation de plusieurs protéines intracellulaires dont la protéine tyrosine kinase Lyn. Un processus de résistance ou de désensibilisation à l'activation de Fas a été observé dans l'étude de l'éosinophilie associée au développement de polypes nasaux. Cette accoutumance peut s'expliquer comme étant une conséquence de l'exposition continue des éosinophiles à des cytokines éosinophilactiques, dont l'IL-5 (7, 8).

Les deux types de récepteurs au TNF- α , TNF-RI (p55) et TNF-RII (p75), sont exprimés constitutivement à la surface des éosinophiles isolés à partir du sang d'individus sains et asthmatiques (2). Le TNF- α induit deux signaux distincts et antagonistes dans les éosinophiles placés en culture. D'une part, un signal anti-apoptotique médié par l'activation du facteur de transcription nucléaire (NF- κ B et l'expression autocrine augmentée de GM-CSF. D'autre part, un effet pro-apoptotique NF- κ B indépendant (23, 24). Il est probable qu'*in vivo*, le contexte inflammatoire régule et oriente la réponse de l'éosinophile au TNF- α .

Plusieurs récepteurs transmembranaires pour TRAIL (ligands similaires au TNF- α induisant l'apoptose) ont été identifiés à la surface des éosinophiles : (i) TRAIL-R1 (DR4), récepteur transmembranaire avec un domaine intracellulaire "de mort" ; (ii) TRAIL-R3 (DcR1) et TRAIL-R4 (DcR2), récepteurs transmembranaires avec une forme tronquée du domaine intracellulaire décrits comme des leurrez compétitifs empêchant TRAIL de se lier (25). Comme pour le TNF- α , l'effet de TRAIL sur la survie d'éosinophiles placés en culture est fonction du contexte cytokinique. En effet, il a été montré que les éosinophiles traités uniquement avec TRAIL ont leur durée de vie augmentée alors que dans un contexte pro-inflammatoire, associé à des cytokines anti-apoptotiques comme le GM-CSF, l'IL-5 ou l'IFN- γ , TRAIL inhibe le délai de survie induit (25).

Les éosinophiles isolés à partir de sang ou de tissu de patients asthmatiques expriment du CD40 à leur surface et l'activation subséquente de ce récepteur augmente leur survie (26, 27). Notre équipe a montré que les éosinophiles sanguins placés en culture au moins 18h expriment spontanément du CD40 à leur surface (27). En plus, avec l'utilisation de séquences nucléotidiques antisens, nous avons montré que le signal induit par l'activation de CD40 se transmet via l'induction de l'expression de c-IAP2 (27). L'inflammation éosinophilique a été étudiée par plusieurs équipes dans des modèles de souris déficientes pour les gènes codants pour CD40 et CD40 ligand (CD40L). A la lumière de nos résultats et ceux d'Ohkawara *et al.* (26), les résultats sur les souris soutiennent un modèle, où l'interaction CD40-CD40L n'intervient pas au début du développement de l'éosinophilie provoquée après exposition à un allergène, mais est plutôt requise pour le maintien de cette inflammation. *Ex vivo*, le niveau d'expression de CD40 et c-IAP2 est fortement corrélé à l'éosinophilie observée à partir d'expectorations induite chez des patients asthmatiques (27). CD40, CD40L et c-IAP2 peuvent être considérés comme des cibles pharmacologiques clés en vue de contrôler plus efficacement l'inflammation allergique.

Comme le montre la figure 2 et le tableau 1, d'autres membres de la famille TNF/NGF peuvent être considérés comme cibles d'intérêt pour lutter spécifiquement contre l'éosinophilie. Par exemple, il a été montré que l'activation de CD30 ou de CD137, *in vitro*, induit rapidement l'apoptose des éosinophiles placés en culture (8, 28, 29).

Récepteurs couplés aux protéines G – AMP/GMPc

In vitro, il a été montré qu'une augmentation de la concentration intracellulaire en AMPc inhibe l'apoptose spontanée des éosinophiles placés en culture, empêche l'action pro-apoptotique de Fas mais inhibe l'action anti-apoptotique de l'IL-5/GM-CSF. Il a également été montré que, dans les éosinophiles, une élévation du taux d'AMPc

active la voie de signalisation anti-apoptotique PI3-K-PKB/Akt et active la protéine kinase A (PKA). Dans d'autres types cellulaires, il a été montré que PKA inhibe la voie de signalisation Ras-Raf-1-MEK ce qui pourrait expliquer l'effet inhibiteur d'une augmentation du taux d'AMPc sur la survie induite par IL-5/GM-CSF (figure 1) (7, 8, 30).

Les principaux récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) dont l'activation par des ligands spécifiques et/ou par des agonistes pharmacologiques induit une élévation du taux d'AMPc (2) et un effet sur la vie des éosinophiles sont présentés dans le tableau 1. S'y retrouvent notamment les récepteurs β_2 -adrénergiques, les récepteurs aux leucotriènes, aux prostaglandines, et à certaines chimiokines telle que l'éotaxine.

Les dérivés de l'acide arachidonique, comme les leucotriènes (LTs) et les prostaglandines (PGs), sont d'importants médiateurs de l'inflammation pulmonaire. L'effet des LTs sur la survie des éosinophiles est sujet à controverse. Il a été montré que les LTB₄, LTC₄ et LTD₄ prolongent, ou non, la durée de vie des éosinophiles placés en culture et que l'inhibition pharmacologique de leur synthèse inhibe l'action du GM-CSF (31, 32). Cependant, *in vivo*, l'inhalation de LTB₄ a montré une augmentation de l'éosinophilie pulmonaire (2).

Les PGs sont des médiateurs importants de l'inflammation et de l'éosinophilie. Bien que les récepteurs des PGs appartiennent à la famille des RCPG, certaines PGs telles que les métabolites de la PGD₂, ont une préférence pour des cibles intra-cellulaires comme par exemple les facteurs de transcription *peroxisome-proliferator-activated receptor* (PPARs) ou les protéines inhibitrices du facteur de transcription NF- κ B. *In vitro*, il a été montré que la PGE₂ retarde la survie des éosinophiles placés en culture via le récepteur aux prostanoïdes E-2 (EP₂) et l'élévation consécutive du taux d'AMPc. Cependant, *ex vivo*, il a été montré que les concentrations en PGE₂ sont diminuées dans des biopsies nasales de patients atteints de rhinosinusites chroniques avec ou sans polypes nasaux et que le taux de PGE₂ dans des échantillons de sputum provenant de patients asthmatiques est inversement corrélé à l'éosinophilie (8). Le rôle de la PGD₂ sur l'apoptose des éosinophiles est plus controversé. En effet, Gervais *et al.* (33) ont montré un faible effet anti-apoptotique de la PGD₂ via son interaction avec le récepteur aux prostanoïdes D (DP) couplé aux protéines G. Au contraire, Ward *et al.* (34) ont montré une nette diminution de la survie des éosinophiles placés en culture suite à un traitement avec la PGD₂ et ses métabolites (PGJ₂, Δ 12 PGJ₂ et 15dPGJ₂) via notamment l'activation des caspases-3.

Molécules de surface et d'adhésion

Le récepteur aux régions constantes des immunoglobulines G (IgG) de type II (FC γ RII/CD32) joue un rôle pivot dans la régulation de la vie de l'éosinophile. En effet, il a été montré que lorsque les IgG sont sous formes solubles, le signal transduit est un signal de survie via la production autocrine de GM-CSF. Par contre, si les IgG sont immobilisées à la surface d'un agent pathogène, le signal transmis est un signal de dégranulation cytotoxique et de mort en dépit de la présence d'IL-5 (35).

L'étude d'éosinophiles isolés à partir de lavage broncho-alvéolaire de patients atteints d'asthme et de pneumonie à éosinophiles a montré une augmentation de l'expression de CD69 à leur surface. L'utilisation d'anticorps agonistes anti-CD69 induit l'apoptose des éosinophiles après traitement au GM-CSF et à l'IL-13. Il a été montré que l'activation de CD69 inhibe l'augmentation de l'expression de Bcl-2 par le GM-CSF et active les caspases-8 et -3. *Ex vivo*, plusieurs auteurs ont suggéré que CD69 pourrait jouer un rôle important dans le processus de résolution de l'inflammation notamment en accélérant l'élimination des éosinophiles. CD69 peut être considéré comme cible thérapeutique potentielle dans le traitement contre l'éosinophilie (2).

Nouvellement identifiée, la protéine Siglec-8 est exprimée presque exclusivement à la surface des éosinophiles ; son rôle est encore actuellement inconnu et les seuls ligands connus sont des dérivés d'acides sialiques. Nutku *et al.* (36) ont montré, *in vitro*, que la stimulation d'éosinophiles avec un anticorps spécifique dirigé contre Siglec-8, induit rapidement leur apoptose via l'activation des caspases-3 ; cet effet est indépendant de Fas et ne peut pas être contrecarré par un traitement avec IL-5/GM-CSF. Au contraire, des éosinophiles prétraités avec ces cytokines sont plus sensibles au signal de mort induit par la stimulation de Siglec-8 (36). De par son expression strictement limitée aux éosinophiles, Siglec-8 pourrait constituer une cible thérapeutique de choix.

Les formes réactives de l'oxygène

La capacité à produire des formes réactives de l'oxygène (FRO) hautement cytotoxiques est une des principales caractéristiques pro-inflammatoires des granulocytes. Il a été montré que l'un de ces composés, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est pro-apoptotique et empêche l'effet anti-apoptotique de l'IL-5. Les effets de l'H₂O₂ peuvent être inhibés par plusieurs produits anti-oxydants (catalase, glutathion, L-cycloséride, ...)(8).

Un autre type de FRO généré par les éosinophiles est le monoxyde d'azote (NO). Le rôle du NO dans l'apoptose de l'éosinophile reste controversé et peu étudié. Il a été montré d'une part, que le traitement d'éosinophiles avec des inhibiteurs pharmacologiques de l'enzyme NO synthase (NOS) n'induit aucun effet sur la survie des éosinophiles.

D'autre part, il a été montré que le NO exerce des effets antagonistes sur la survie des éosinophiles. En effet, il a été montré que le NO court-circuite la voie pro-apoptotique induite par Fas, via l'augmentation des taux intracellulaires en GMP/AMPc mais empêche l'action anti-apoptotique de l'IL-5, et ce, non pas en inhibant l'activation de STAT-5, mais en agissant plus en aval, au niveau des caspases effectrices (5, 6). *Ex vivo*, il a été montré que, comparativement à des éosinophiles sanguins de sujets sains, les éosinophiles isolés du sang de patients asthmatiques ont une concentration cellulaire en NO endogène augmentée. Maa *et al.* (37) ont montré que l'inhibition de la production de NO dans des éosinophiles isolés de sang de patients asthmatiques et placés en culture, augmente l'expression de Bcl-2, via l'augmentation de l'activité des protéines p38-MAPK et ERK-1/2. Tout ces résultats suggèrent que l'effet du NO change en fonction de l'évolution de l'inflammation (6, 7, 8).

Induction thérapeutique de l'apoptose des éosinophiles

Les Glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes (GC) sont actuellement les composés pharmacologiques les plus utilisés pour réduire tant la réponse immune que le processus inflammatoire associé à l'éosinophilie. Cependant, les mécanismes exacts par lesquels agissent ces molécules restent encore peu étudiés. Il a été montré que l'administration de GC à des patients souffrant d'éosinophilie réduit significativement le taux d'éosinophiles circulants. Cette réduction semble être due, du moins en partie, à l'accélération de la mort des éosinophiles par les GC. Plusieurs modes d'actions des GC sur l'apoptose des éosinophiles ont été mis en évidence. Premièrement, il a été montré que les GC suppriment la production de cytokines anti-apoptotiques, comme l'IL-5, par les LTh₂ via l'inhibition de l'activité du facteur de transcription NF-κB. Deuxièmement, il a été montré que les GC peuvent empêcher la transmission du signal de survie induit par ces cytokines à la surface des éosinophiles. Il a été montré que certains GC ont un effet synergique avec l'activation de Fas. Enfin, il a été suggéré que les GC peuvent induire d'eux-mêmes la mort des éosinophiles en agissant directement sur les FRO, la mitochondrie et les caspases (7, 8, 38).

Thérapies anti-IL-5

Depuis que le rôle crucial de l'IL-5 dans les processus de différenciation, d'activation et de survie des éosinophiles est connu, plusieurs approches thérapeutiques tentant d'empêcher l'effet de cette cytokine ont été testées avec succès. Des traitements avec des GC, la cyclosporine A ou avec des anticorps anti-CD4 ont montré une réduction significative du nombre d'éosinophiles consécutive à une réduction du nombre de lymphocytes T, principaux producteurs d'IL-5. De même, il a été montré qu'un traitement avec de l'IL-10 inhibe dans ces lymphocytes l'expression du gène codant pour l'IL-5, provoquant ainsi une réduction de l'éosinophilie. Enfin, il a été montré qu'un traitement conjoint IFN-α/GC réduit le nombre d'éosinophiles (7, 8, 38).

Plus spécifiquement, d'autres équipes ont diminué l'inflammation éosinophilique en ciblant directement l'IL-5 soit en empêchant son action avec un traitement avec des anticorps anti-IL-5, soit en inhibant son expression protéique en utilisant des séquences nucléotidiques antisens. Actuellement, il a été montré que certains composés pharmacologiques ont une action sur la mort des éosinophiles via la voie de signalisation induite par l'IL-5 et ont un effet bénéfique dans le traitement de l'asthme : (i) certains antibiotiques macrolides, érythromycine et clarithromycine, (ii) le trinalast, un composé anti-allergique, (iii) le thiomalate d'or et de sodium, un agent immuno-modulateur. Il a également été rapporté que la lidocaïne et ses analogues suppriment l'action de l'IL-5 sur la survie des éosinophiles. Cette inhibition n'est pas due au rôle inhibiteur des canaux membranaires transporteurs de sodium de la lidocaïne. Par contre, l'inhibition des canaux membranaires transporteurs des ions potassium par traitement avec le glyburide, a été rapporté pour réduire l'action anti-apoptotique de l'IL-5. Cet effet peut être empêché par des concentrations élevées en IL-3 et en GM-CSF (7, 8, 37).

Les récepteurs β₂-adrénergiques

Les éosinophiles expriment le récepteur β₂-adrénergique à leur surface (2). Les agonistes des récepteurs β₂-adrénergiques (albuterol, fenoterol, salmeterol, ...) sont actuellement les plus puissants bronchodilatateurs connus et sont largement utilisés pour soulager le patient lors d'exacerbations asthmatiques. *In vitro*, il a été montré que l'activation des récepteurs β₂-adrénergiques par les agonistes isoproterenol et formoterol augmente le taux d'AMPc et prolonge la survie des éosinophiles. Cet effet peut expliquer l'aggravation de l'inflammation asthmatique observée après un traitement aux agonistes des récepteurs β₂-adrénergiques seuls, et est vraisemblablement impliqué dans la mortalité augmentée des patients utilisant ces composés en excès sans combinaison avec un traitement aux GC. En effet, il a été montré, *in vitro*, que le traitement d'éosinophiles avec de l'isoproterenol ou de l'albuterol inverse l'effet anti-apoptotique du GC, dexamethasone (7, 8, 38).

Antagonistes des récepteurs aux Leucotriènes

Des antagonistes des récepteurs aux LTs sont actuellement utilisés pour lutter contre l'éosinophilie, notamment dans l'asthme. L'utilisation du probilukast a montré un effet pro-apoptotique sur les éosinophiles et supprime l'effet anti-apoptotique du GM-CSF. Par contre, il a été montré que l'action d'un autre antagoniste des récepteurs aux leucotriènes, le montelukast, ne jouait aucun rôle sur la survie des éosinophiles. Une étude clinique a montré par l'analyse de sputum de patients asthmatiques traités ou pas avec du montelukast, que la proportion en éosinophiles morphologiquement apoptotiques est supérieure dans le groupe de patients traités avec du montelukast (7, 8, 38).

Théophylline et inhibiteurs de phosphodiesterase

La théophylline est utilisée depuis longtemps comme broncho-dilatateur dans le traitement de l'asthme bronchique. Inhibiteur de phosphodiesterase (PDE), la théophylline provoque une élévation du taux d'AMPc dans les cellules de l'inflammation dont les éosinophiles. Il a été montré que cette augmentation du taux d'AMPc induit la transcription de gènes et l'expression de protéines anti-apoptotiques via l'activation de la PKA. Cependant, il a été montré que la théophylline joue un rôle anti-inflammatoire, en inhibant la survie induite des éosinophiles par IL-5/GM-CSF. Ces effets anti-inflammatoires n'ont pas été observés en utilisant des analogues de l'AMPc comme le dibutyryl-cAMP ou d'autres composés inhibiteurs de PDE (IBMX, rolipram, XT-611 ou SKF-19514). Ceci suggère que le mode d'action de la théophylline s'exerce non seulement via le taux d'AMPc mais aussi via d'autres voies moléculaires qui restent à découvrir (7, 8, 38).

Les récepteurs à l'histamine (HR)

Les éosinophiles expriment à leurs surfaces les HR de type 1 et 4. Bien que l'histamine ne semble pas jouer de rôle sur la survie des éosinophiles, il a été rapporté que l'oxatomide, un composé antagoniste des HR1, accélère non seulement l'externalisation du sphingolipide phosphatidylsérine et la dégradation de l'ADN via l'activation des caspases-3 mais supprime aussi l'effet anti-apoptotique transduit par l'IL-5. Le cetirizine, un autre antagoniste des HR1, est connu pour inhiber l'action de l'IL-5 mais pas de l'IL-3 ou du GM-CSF. Récemment Kankaanranta *et al.* (8) ont suggéré que d'autres antagonistes du HR1, le diphenhydramine, le chlorypheniramine et le ketotifen accélèrent la mort des éosinophiles. Cependant, les auteurs concluent que ces effets ne sont pas transmis par le HR1 mais par une autre action anti-inflammatoire (7, 8, 38).

Conclusions

L'éosinophile est une cellule complètement différenciée qui, une fois dans la circulation et en l'absence de facteurs favorisant sa survie, meurt par apoptose spontanée en quelques heures. Les mécanismes moléculaires de l'apoptose spontanée impliquent des molécules de l'apoptose telles que les caspases et les protéines Bcl-2. Cependant, les mécanismes exacts restent à découvrir. L'apoptose de l'éosinophile joue un rôle important dans les inflammations liées aux maladies à composantes allergiques telles que l'asthme. En effet, il a été proposé qu'un retard de l'apoptose des éosinophiles soit en partie responsable de l'accumulation excessive de ces cellules dans les tissus enflammés. Bien que les effets anti-apoptotiques sur les éosinophiles des cytokines telles que l'IL-5, -3 et GM-CSF soient bien connus, les processus moléculaires impliqués sont encore loin d'être totalement élucidés. Les GC induisent l'apoptose des éosinophiles et réduisent, par conséquent, l'inflammation allergique. De plus amples investigations sont nécessaires tant pour découvrir de nouveaux facteurs responsables du délai de survie des éosinophiles que pour investiguer et élucider les voies de signalisation induites par ces facteurs.

Afin de lutter plus efficacement et plus sélectivement contre l'éosinophilie, l'apoptose de l'éosinophile peut être considérée comme une cible d'intérêt thérapeutique importante dans le développement de futurs traitements.

Bibliographie

1. Louis R, Laurie L, Bron AO et al.- The relationship between airways inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, **161**, 9-16.
2. Giembycz MA, Lindsay MA.- Pharmacology of the eosinophil. *Pharmacol Rev*, 1999, **51**, 213-340.
3. Woolley K, Gibson P, Carte K et al.- Eosinophil apoptosis and the resolution of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996, **154**, 237-243.
4. Sexton DW, Al-Rabia M, Blaylock MG et al.- Phagocytosis of apoptotic eosinophils but not neutrophils by bronchial epithelial cells. *Clin Exp Allergy*, 2004, **34**, 1514-1524.
5. Yuan J, Shaham S, Ledoux S et al.- The *C. elegans* cell death gene ced-3 encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 beta-converting enzyme. *Cell*, 1993, **75**, 641-652.
6. Zhang X, Msc, Moilanen E, Lahti A et al.- Regulation of eosinophil apoptosis by nitric oxide: Role of c-Jun-N-terminal kinase and signal transducer and activator of transcription 5. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, **112**, 93-101.
7. Simon H-U.- Regulation of eosinophil and neutrophil apoptosis - similarities and differences. *Immun Rev*, 2001, **179**, 156-162.
8. Kankaanranta H, Moilanen E, Zhang X.- Pharmacological regulation of human eosinophil apoptosis. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2005, **4**, 433-445.
9. Fiévez L, Seumois G, Lekeux P et al.- L'apoptose des neutrophiles. *Ann Méd Vét*, 2005, **149**, 10-19.
10. Liles WC, Kiener PA, Ledbetter JA et al.- Differential expression of Fas (CD95) and Fas ligand on normal human phagocytes: implications for the regulation of apoptosis in neutrophils. *J Exp Med*, 1996, **184**, 429-440.
11. Ashkenazi A.- Targeting death and decoy receptors of the tumour-necrosis factor superfamily *Nature Rev Cancer*, 2002, **2**, 420-430.
12. 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**, 2239-2247.
13. Bureau F, Vanderplasschen A, Jaspar F et al.- Constitutive nuclear factor-kappa B activity preserves homeostasis of quiescent mature lymphocytes and granulocytes by controlling the expression of distinct Bcl-2 family proteins. *Blood*, 2002, **99**, 3683-3691.
14. Simon H, Alam R.- Regulation of eosinophil apoptosis: transduction of survival and death signals. *Int Arch Allergy Immunol*, 1999, **118**, 7-14.
15. Vassina E, Yousefi S, Simon D et al.- cIAP-2 and survivin contribute to cytokine-mediated delayed eosinophil apoptosis. *Eur J Immunol*, 2006, **36**, 1975-1984.
16. Holgate ST.- The epidemic of allergy and asthma. *Nature*, 1999, **402**, B2-B4.
17. Lampinen M, Carlson M, Hakansson LD et al.- Cytokine-regulated accumulation of eosinophils in inflammatory disease. *Allergy*, 2004, **59**, 793-805.
18. Temple R, Allen E, Fordham J et al.- Microarray analysis of eosinophils reveals a number of candidate survival and apoptosis genes. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2001, **25**, 425-433.
19. Zhang X, Moilanen E, Kankaanranta H.- Enhancement of human eosinophil apoptosis by fluticasone propionate, budesonide, and beclomethasone. *Eur J Pharmacol*, 2000, **406**, 325-332.
20. Jang AS, Choi IS, Lee S et al.- Bcl-2 expression in sputum eosinophils in patients with acute asthma. *Thorax* 2000, **55**, 370-374.
21. Gounni AS, Gregory B, Nutku E et al.- Interleukin-9 enhances interleukin-5 receptor expression, differentiation, and survival of human eosinophils. *Blood*, 2000, **96**, 2163-2171.
22. Gavett SH, O'Hearn DJ, Li X et al.- Interleukin 12 inhibits antigen-induced airway hyperresponsiveness, inflammation, and Th2 cytokine expression in mice. *J Exp Med*, 1995, **182**, 1527-1536.
23. Temkin V, Levi-Schaffer F.- Mechanism of tumour necrosis factor alpha mediated eosinophil survival. *Cytokine*, 2001, **15**, 20-26.
24. Fujihara S, Ward C, Dransfield I et al.- Inhibition of nuclear factor-kappaB activation un-masks the ability of TNF-alpha to induce human eosinophil apoptosis. *Eur J Immunol*, 2002, **32**, 457-466.
25. Daigle I, Simon H-U.- Alternative functions for TRAIL receptors in eosinophils and neutrophils. *Swiss Med Wkly*, 2001, **131**, 231-237.
26. Ohkawara Y, Lim KG, Xing Z et al.- CD40 expression by human peripheral blood eosinophils. *J Clin Invest*, 1996, **97**, 1761-1766.
27. Bureau F, Seumois G, Jaspar F et al.- CD40 engagement enhances eosinophil survival through induction of cellular inhibitor of apoptosis protein 2 expression: Possible involvement in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 2002, **110**, 443-449.
28. Berro AI, Perry GA, Agrawal DK.- Increased expression and activation of CD30 induce apoptosis in human blood eosinophils. *J Immunol*, 2004, **173**, 2174-2183.
29. Simon HU.- Evidence for a pro-apoptotic function of CD137 in granulocytes. *Swiss Med Wkly*, 2001, **131**, 455-458.
30. Chang HS, Jeon KW, Kim YH et al.- Role of cAMP-dependent pathway in eosinophil apoptosis and survival. *Cell Immunol*, 2000, **203**, 29-38.
31. Lee E, Robertson T, Smith J et al.- Leukotriene receptor antagonists and synthesis inhibitors reverse survival in eosinophils of asthmatic individuals. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, **161**, 1881-1886.
32. Murray J, Ward C, O'Flaherty JT et al.- Role of leukotrienes in the regulation of human granulocyte behaviour: dissociation between agonist-induced activation and retardation of apoptosis. *Br J Pharmacol*, 2003, **139**, 388-398.

33. Gervais FG, Cruz RPG, Chateauneuf A et al. - Selective modulation of chemokinesis, degranulation, and apoptosis in eosinophils through the PGD2 receptors CRTH2 and DP. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, **108**, 982-988.
34. Ward C, Chilvers ER, Lawson MF et al. - NF-kappa B activation is a critical regulator of human granulocyte apoptosis *in vitro*. *J Biol Chem*, 1999, **274**, 4309-4318.
35. Kim J-T, Schimming AW, Kita H. - Ligation of Fc{gamma}RII (CD32) pivotally regulates survival of human eosinophils. *J Immunol*, 1999, **162**, 4253-4259.
36. Nutku E, Aizawa H, Hudson SA et al. - Ligation of Siglec-8: a selective mechanism for induction of human eosinophil apoptosis. *Blood*, 2003, **101**, 5014-5020.
37. Maa S-H, Wang C-H, Liu C-Y et al. - Endogenous nitric oxide downregulates the Bcl-2 expression of eosinophils through mitogen-activated protein kinase in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2003, **112**, 761-767.
38. Simon HU. - Eosinophil apoptosis - pathophysiologic and therapeutic implications. *Allergy*, 2000, **55**, 910-915.
39. Busse WW, Lemanske RJ. - Asthma. *N Engl J Med*, 2001, **344**, 350-362.

Tableau et figures**Tableau 1. Médiateurs endogènes modulant l'apoptose des éosinophiles**

Médiateur	Expression par les éosinophiles	Autres cellules sources	Expression du récepteur par les éosinophiles	Effet apoptose spontanée	Effet survie (induite par IL-3, IL-5, GM-CSF)
Cytokines					
IL-3	NC, Ex Ind : TNF- α , IFN- γ , IL-13, Adh	LT, Mas, B, M ϕ , M, Fib	C Ind : IL-5, IL-3, GM-CSF	Anti	
IL-4	C Ind : IL-5	LT, Mas, B	C	Pro/Anti ou sans effets	Anti
IL-5	NC, Ex Induct : Adh	LT, Mas, B	C Ind: All, IL-9 Inh: IL-5, IL-3, GM-CSF, TGF- β	Anti	
IL-9	Non décrit	LT, Mas, B	C	Anti	Non décrit
IL-12	NC Ind : IL-4, IL-5, GM-CSF, TNF- α , IFN- α	CD, M ϕ , LB	C, Eos	Pro ou sans effets	Non décrit
IL-13	NC, Ex Ind : GM-CSF, IL-5	LT, NK, Mas, B	C Ind : IFN- γ , TNF- α , TGF- β Inh : IL-13, IL-4	Anti	Non décrit
IL-15	Non décrit	M, M ϕ , LT	Non décrit	Anti	Non décrit
GM-CSF	NC, Ex Ind : All, IL-15, IFN- γ , CD40L, CD9, Adh, TNF- α	Mas, B, M ϕ , Mf, Epi, End, LT	C Inh : GM-CSF	Anti	
IFN-γ	NC	LT, NK	C, Eos	Pro/Anti	Non décrit
Chimiokines					
CCR3 (eotaxine)	C, Ex	Epi, End, Fib, M ϕ	C	Anti	Non décrit
Galectin-9 (ecalectin)	C, Ex, Ind : IL-5	LTh ₂	ND	Pro/Anti	Non décrit
Facteurs de croissance					
TGF-β	NC, Ex Ind : IL-3, IL-5, LTD ₄ , IL-4	LT, Pl, Mas, M ϕ , EC, Fib	D, Ex	Non décrit	Anti
Membres de la famille du TNF-α/NGF					
FasL (CD95)	NC, Ind : IFN- γ , TNF- α	LT, LB, His, N	C Ind : IFN- γ , TNF- α Inh : IL-3, IL-5, GM-CSF	Pro	Anti
TNF-α	NC, Ex	LT, M ϕ , Epi, NK	C, Ex	Pro/Anti	Non décrit
CD137	NC, Ex	Ly, M, N	NC, Ex	Sans effets	Anti
TRAIL	Non décrit	LT, M, CD	C, Ex, Ind : All	Anti	Anti
CD30L	NC, Ex Ind : IL-3, IL-5, GM-CSF	LT, LB, M ϕ	C, Ex	Pro	Non décrit