

**MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
D'INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE**

**Soutenu publiquement le 28 mai 2014
Par Mlle. Solène GATAULT**

**Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990
tient lieu de**

THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**Implication des polynucléaires éosinophiles
dans l'immunité anti-tumorale**

Membres du jury :

Président : Professeur DECAUDIN Bertrand, PU-PH, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Lille

Assesseur(s) : Professeur CAPRON Monique, PU-PH, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Lille
Professeur CHILLON Jean-Marc, PU-PH, UFR de Pharmacie, Amiens
Docteur COTTEAU-LEROY Angélique, PH, CHRU, Lille
Professeur SENDID Boualem, PU-PH, Faculté de Médecine Henri-Warembourg, Lille

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Monique Capron,

Merci de m'avoir accueillie au sein de votre équipe depuis maintenant quatre ans. Je vous suis très reconnaissante du temps que vous me consacrez, de votre franchise, de votre partage et de votre soutien. Vos conseils m'ont toujours permis d'avancer. J'apprends énormément à vos côtés.

Aux membres du jury,

Merci à Messieurs les Professeurs Bertrand Décaudin, Jean-Marc Chillon et Boualem Sendid et à Madame le Docteur Angélique Cotteau-Leroy d'avoir accepté de juger ce travail et d'ainsi me faire partager votre savoir.

A toute l'équipe du « 5^{ème} centre »

Marie, Sylvie, Virginie et Aurore : Merci pour votre écoute, vos conseils et votre bonne humeur.

Bénédicte, Didier : Merci pour votre écoute et votre soutien.

Merci de votre amitié, ces quatre années n'auraient pas été les mêmes sans vous !

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à ce travail



Université Lille 2
Droit et Santé

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.



**Faculté des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques de Lille**



**Université Lille 2
Droit et Santé**

Université Lille 2 – Droit et Santé

Président : Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Vice- présidents : Professeur Alain DUROCHER
Professeur Régis BORDET
Professeur Murielle GARCIN
Professeur Frédéric LOBEZ
Professeur Monique CAPRON
Professeur Eric BOULANGER
Madame Stéphanie DAMAREY
Monsieur Pierre RAVAUX
Monsieur Larbi AIT-HENNANI
Monsieur Edouard DANJOU

Directeur Général des Services : Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen : Professeur Luc DUBREUIL
Vice-Doyen, 1^{er} assesseur : Professeur Damien CUNY
Assesseurs : Mme Nadine ROGER
Professeur Philippe CHAVATTE
Chef des services administratifs : Monsieur André GENY

Liste des Professeurs des Universités :

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BAILLEUL	François	Pharmacognosie
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mlle	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle

M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mlle	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique

M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)
----	--------	-------	------------------------------

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
M.	BRUNET	Claude	Pharmacologie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
M.	BEGHYN	Terence	Chimie Thérapeutique 3
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARATO	Pascal	Chimie Thérapeutique 2
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire

Mlle	CHABÉ	Magali	Parasitologie
Mlle	CHARTON	Julie	Chimie Organique
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie
Mlle	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Melle	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mlle	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mlle	LEONHARD	Julie	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	LORIN-LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
M.	MOUTON	Nicolas	Physique
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Melle	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
M.	SERGHERAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mlle	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
Mme	THUILLIER	Pascale	Hématologie
Mme	VANHOUTTE	Geneviève	Biochimie
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	ABADIE	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

SOMMAIRE

I-	INTRODUCTION	10
II-	LE POLYNUCLEAIRE EOSINOPHILE.....	11
II.1.	PRESENTATION.....	11
II.1.1.	Ontogénie	11
II.1.2.	Morphologie	13
II.1.3.	Recrutement des éosinophiles.....	14
II.1.3.1.	<i>Localisation</i>	14
II.1.3.2.	<i>Molécules d'adhérence</i>	15
II.1.3.3.	<i>Récepteurs aux chimiokines</i>	15
II.1.3.4.	<i>Recrutement en condition homéostasique</i>	17
II.1.3.5.	<i>Recrutement en conditions inflammatoires</i>	17
II.2.	LES FONCTIONS DES EOSINOPHILES.....	18
II.2.1.	Rôle dans l'immunité innée	18
II.2.1.1.	<i>Récepteurs membranaires</i>	19
II.2.1.2.	<i>Les « traps »</i>	20
II.2.2.	Rôle dans l'immunité adaptative	20
II.2.3.	Fonctions cytotoxiques.....	20
II.2.3.1.	<i>Protéines cationiques</i>	21
II.2.3.1.1.	<i>Présentation</i>	21
II.2.3.1.2.	<i>Mécanismes de dégranulation</i>	23
II.2.3.2.	<i>Les espèces réactives de l'oxygène</i>	24
II.2.3.3.	<i>Cytotoxicité dépendante des anticorps</i>	25
II.2.4.	Fonctions immunorégulatrices	25
II.2.4.1.	<i>Récepteurs et sécrétion de cytokines</i>	25
II.2.4.1.1.	<i>Récepteurs</i>	25
II.2.4.1.2.	<i>Sécrétion</i>	25
II.2.4.2.	<i>Polarisation de la réponse immune</i>	26
II.2.4.3.	<i>Modulation de la fonction des leucocytes</i>	26
II.2.5.	Fonctions de réparation et de remodelage tissulaire.....	27

II.3. ROLE DES EOSINOPHILES EN PATHOLOGIE.....	28
II.3.1. Syndromes Hyper-Eosinophiles	29
II.3.2. Asthme	30
II.3.3. Tumeurs	31
III- L'IMMUNITE ANTI-TUMORALE	31
III.1. HISTORIQUE.....	31
III.2. ARGUMENTS EPIDEMIOLOGIQUES, CLINIQUES ET EXPERIMENTAUX...	32
III.3. EFFECTEURS IMMUNOLOGIQUES.....	32
III.3.1. Cellules de l'immunité adaptative	33
III.3.1.1. Les lymphocytes T	33
III.3.1.2. Les lymphocytes B et anticorps	34
III.3.2. Cellules de l'immunité innée.....	34
III.3.2.1. Les cellules natural killer (NK).....	34
III.3.2.2. Les macrophages	34
III.3.2.3. Autres cellules.....	35
IV- IMPLICATION DES EOSINOPHILES DANS L'IMMUNITE ANTI-TUMORALE.....	36
IV.1. CONSEQUENCES ANATOMO-PATHOLOGIQUES DES TATE.....	36
IV.1.1. Définition	36
IV.1.2. Valeur pronostique favorable	37
IV.1.2.1. Tumeurs du tube digestif.....	37
IV.1.2.1.1. Carcinome du colon	37
IV.1.2.1.2. Autres localisations	38
IV.1.2.2. Autres Cancers	38
IV.1.3. Valeur pronostique défavorable	39
IV.2. RECRUTEMENT DES EOSINOPHILES AUX SITES TUMORAUX	40
IV.2.1. Rôle des chimiokines	40
IV.2.2. DAMPs et alarmines	41

IV.3. PROPRIETES TUMORICIDES DES EOSINOPHILES	42
IV.3.1. L'immunothérapie.....	42
IV.3.1.1. L'interleukine-2.....	42
IV.3.1.2. L'interleukine-4.....	43
IV.3.1.3. L'interleukine-25.....	43
IV.3.2. Données <i>in vivo</i>	44
IV.3.3. Données <i>in vitro</i>	45
IV.3.3.1. Mise en évidence de nouveaux récepteurs.....	45
IV.3.3.2. Activité cytotoxique des éosinophiles.....	46
IV.4. ALLERGO-ONCOLOGIE	47
IV.4.1. Relation Allergie et cancer	47
IV.4.2. Polymorphisme génétique de l'ECP	48
IV.4.3. Utilisation des IgE dans l'immunothérapie des cancers	49
 V- CONCLUSION ET PERSPECTIVES	 50

LISTE DES ABREVIATIONS

ADCC: Antibody Dependent Cell mediated Cytotoxicity
ADN: Acide Désoxyribo-Nucléique
ARN: Acide Ribo-Nucléique
ATP : Adénosine Tri-Phosphate
CD : Cluster de Différenciation
CMH : Complexe Majeur d’Histocompatibilité
DAMP: Damage Associated Molecular Pattern
ECP: Eosinophil Cationic Protein
EDN: Eosinophil Derived Neurotoxin
EPO: Eosinophil Peroxidase
GM-CSF: Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
ICAM-1: Intracellular Cell Adhesion Molecule – 1
IFN: Interféron
Ig: Immunoglobuline
IL-: Interleukine
LPS : Lipo-Poly-Saccharide
MBP: Major Basic Protein
PAMP: Pathogen Associated Molecular Pattern
PAR: Protease Activated Receptor
pI: Point Isoélectrique
RNase: Ribonucléase
ROS: Reactive Oxygen Species
SNAP: Soluble N-éthylmaleimide-sensitive-factor Attachment Protein
SNARE: SNAP Receptor
TATE: Tumor Associated Tissue Eosinophilia
TCR: T cell Receptor
TGF: Tumor Growth Factor
TLR: Toll Like Receptor
TNF: Tumor Necrosis Factor
TSLP: Thymic Stromal Lymphopoietine
VAMP: Vesicle Associated Membrane Protein

I- Introduction

L'immunité anti-tumorale, et particulièrement l'immunosurveillance, implique à la fois des réponses immunitaires innées et adaptatives provenant du microenvironnement tumoral et péri-tumoral. Ces réponses font intervenir un grand nombre de types cellulaires qui peuvent reconnaître des ligands de stress ou des antigènes exprimés par les cellules cancéreuses. Bien que la majorité des études se soient focalisées sur les lymphocytes et les cellules 'natural killer', de nouveaux types cellulaires ayant une activité anti-tumorale ont émergés. C'est notamment le cas des polynucléaires éosinophiles.

Les éosinophiles ont longtemps été associés seulement aux maladies parasitaires et allergiques. Ils sont aujourd'hui considérés comme des leucocytes multifonctionnels qui participent aux réponses innées et adaptatives par l'expression de très nombreux récepteurs et libération de médiateurs. Ces cellules sont observées dans l'infiltrat péri-tumoral de nombreuses tumeurs, que ce soit des cancers solides ou hématologiques. Cette infiltration, appelée TATE pour 'Tumor-Associated Tissue Eosinophilia', est, en général, associée à un pronostic favorable. Bien que les mécanismes ne soient pas encore totalement connus, leur potentiel cytotoxique vis-à-vis des tumeurs a été mis en évidence *in vitro* et dans des modèles expérimentaux. De même, des médiateurs et récepteurs, communs avec les lymphocytes et connus pour être impliqués dans les réponses anti-tumorales, ont été mis en évidence sur les éosinophiles.

Dans cette thèse, nous détaillerons les singularités et les propriétés fonctionnelles des éosinophiles, puis, nous nous intéresserons plus particulièrement à leur implication dans l'immunité anti-tumorale en résumant les connaissances actuelles sur les données épidémiologiques, leur recrutement et les mécanismes impliqués dans ce contexte pathologique.

II- Le polynucléaire éosinophile

II.1. Présentation

Les polynucléaires éosinophiles furent identifiés pour la première fois en 1879 par Paul Ehrlich qui développa une technique de coloration des cellules sanguines par l'éosine. Ce colorant, capable de se lier aux granules des éosinophiles, permet leur identification par une coloration rose-orangé. Dans cette partie, nous aborderons, dans un premier temps, le développement de ces cellules. Nous nous intéresserons ensuite à leur morphologie tout à fait particulière, ainsi qu'à leur distribution.

II.1.1. Ontogénie

Comme toutes les cellules sanguines, les éosinophiles sont produits dans la moelle osseuse et proviennent de cellules souches hématopoïétiques (CSH), pluripotentes, exprimant le CD34, et communes à toutes les lignées. Sous l'action de plusieurs facteurs de transcription et de cytokines, les CSH vont se différencier en progéniteurs myéloïdes communs (PMC) pluripotents, puis en précurseurs éosinophiles qui poursuivent leur maturation via l'IL-5, l'IL-3 et le GM-CSF (1,2). Au niveau phénotypique, ce précurseur éosinophile se caractérise donc par l'expression de la chaîne alpha du récepteur à l'IL-5 (IL-5R α), de l'IL-3R α et du GM-CSF-R α .

Plusieurs facteurs de transcription, faisant partie de trois familles différentes, jouent un rôle majeur dans le développement de la lignée éosinophile : C/EBP α et ϵ (CCAAT/enhancer-binding protein family), PU.1 (E-Twenty-Six (ETS) family) et GATA-1 (famille des facteurs à doigt de zinc). Ces facteurs de transcription régulent également les autres lignées hématopoïétiques (3). En effet, la différenciation des macrophages et des polynucléaires neutrophiles est régulée précocement par les facteurs de transcription de la famille des C/EBP et de PU.1. Au contraire, la différenciation des érythrocytes et des mégacaryocytes est régulée par les facteurs GATA et FOG-1 (friend of GATA protein 1) (1). Habituellement, ces facteurs s'antagonisent mutuellement, cependant, les éosinophiles brisent ces règles puisque ces cellules co-expriment ces différents facteurs de transcription (Fig. 1.). L'étude de

gènes a permis de montrer que l'engagement dans la lignée éosinophile représente une délicate balance dans le seuil d'expression de ces facteurs, et qu'une perturbation minimale de cet équilibre peut faire basculer les cellules vers la lignée érythroïde ou myéloïde (4).

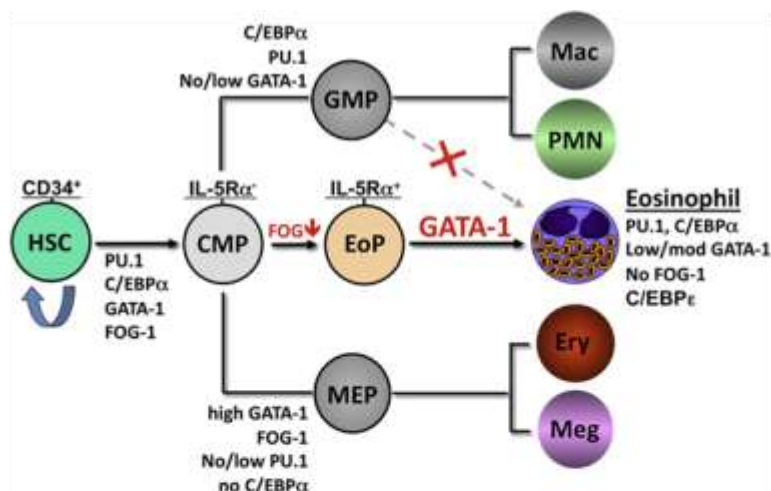


Figure 1 : Effets combinatoires des facteurs de transcription impliqués dans l'engagement et dans la différenciation terminale de la lignée éosinophile. HSC : cellule souche hématopoïétique; CMP: progéniteur myéloïde commun; GMP: progéniteur macrophage/granulocyte; EoP: progéniteur éosinophile; MEP: progéniteur érythrocyte/mégacaryocyte; Mac: macrophage; PMN: leucocyte polymynucléaire; Ery: érythrocyte; Meg: Mégacaryocyte

Figure tirée de Ackerman SJ, Du J. *Transcriptional Regulation of Eosinophil Lineage Commitment and Differentiation*. 76-89. In Lee JJ, Rosenberg HF. *Eosinophils in Health and Disease*. Elsevier. 2013

Une autre variable à prendre en compte est la cinétique d'expression de ces facteurs de transcription. En effet, l'engagement vers les précurseurs éosinophiles nécessite l'expression coordonnée de C/EBPα et de PU-1, un taux modéré de GATA-1 et l'absence de FOG (4). Aux stades plus matures, c'est-à-dire à la transition entre promyélocytes et myélocytes, à la différenciation terminale et à la maturation fonctionnelle, la régulation se fait par les isoformes activateurs et inhibiteurs de C/EBPε, également de façon temps-dépendante (5,6).

Concernant les cytokines, l'IL-5, relativement spécifique des éosinophiles par l'expression sélective de la chaîne α de son récepteur, est une cytokine clé dans l'expansion de ces cellules et dans leur survie tissulaire. Des souris transgéniques sur-exprimant l'IL-5 présentent une éosinophilie massive (7). Cependant, un taux normal d'éosinophile est retrouvé chez les souris déficientes pour l'IL-5 bien qu'elles ne développent pas d'éosinophilie après infection par des helminthes ou après

stimulation allergénique (8). De plus, Mori et *al.* ont différencié *in vitro* des éosinophiles matures à partir de progéniteurs de la moelle osseuse en absence d'IL-5 (9). Ces observations suggèrent que la signalisation IL-5/IL-5R α ne jouerait pas un rôle essentiel dans l'engagement dans la lignée éosinophile mais plutôt donnerait un signal permissif pour leur différenciation.

II.1.2. Morphologie

Les polynucléaires éosinophiles sont facilement différenciables des autres leucocytes. Ils mesurent 8 à 12 μ m et ont, chez l'Homme, un noyau bilobé et de nombreuses granulations roses-orangées volumineuses et homogènes, observables après coloration classique au May Grünwald Giemsa (MGG) (Fig. 2A.). Toutefois, dans certaines conditions et selon l'état de maturation et d'activation, des éosinophiles hypodenses, très peu granuleux et vacuolés peuvent être observés. La reconnaissance est alors moins aisée. L'observation d'une réaction enzymatique spécifique à la peroxydase (résistante au cyanure), conduisant à un précipité foncé, est alors utilisée pour identifier et déterminer l'état de maturation des éosinophiles. La microscopie électronique a, quant à elle, permis de visualiser leurs granules spécifiques. Ces granules, dits secondaires, sont bi-compartmentés. Ils comportent un noyau cristalloïde, aussi appelé « core », et une matrice qui apparaît moins dense aux électrons. Ces éléments ultrastructuraux sont une véritable signature des éosinophiles, et sont peut-être encore plus spécifiques que le marquage à l'éosine (10).

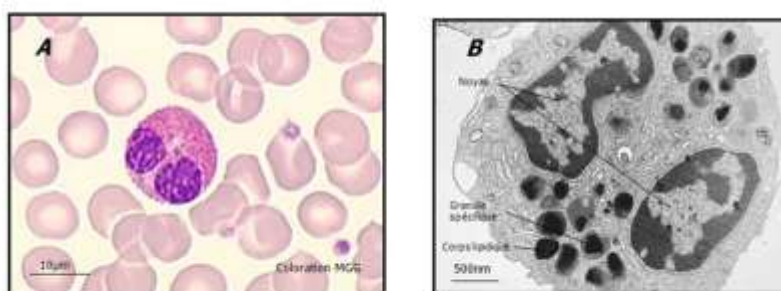


Figure 2: Morphologie de l'éosinophile mature après coloration au MGG (A) et microscopie électronique (B)

Figure tirée de Prin L, Gatault S, Lefevre G, Kahn JE. Le polynucléaire éosinophile: nouveautés en physiologie et implications diagnostiques. *Revue Francophone des laboratoires*. 2014 May; 462: 69-81

Les éosinophiles humains matures possèdent quatre types distincts de granules (Fig 2B.) :

- **Les granules primaires**, ronds et denses en microscopie électronique, sont formés à un stade précoce de la différenciation dans la moelle osseuse. Ces granules, contenant la lysophospholipase, ne comportent pas de noyau cristalloïde mais peuvent se condenser pour former des cristaux de Charcot-Leyden.
- **Les granules secondaires** spécifiques permettent le stockage et la sécrétion d'un grand nombre de protéines préformées dont les protéines cationiques des éosinophiles, la MBP (Major Basic Protein), contenue dans le « core » de ces granules, l'EPO (Eosinophil Peroxydase), l'ECP (Eosinophil Cationic Protein) et l'EDN (Eosinophil Derived Neurotoxin), contenues dans la matrice.
- **Les petites granules** sont invisibles en microscopie optique, ils dérivent de l'appareil de Golgi et contiennent des complexes enzymatiques incluant l'aryl sulfatase et la phosphatase acide.
- **Les corps lipidiques**, petites vésicules, sont le site de biosynthèse des médiateurs lipidiques inflammatoires comme les prostaglandines et les leucotriènes.

II.1.3. Recrutement des éosinophiles

II.1.3.1. Localisation

Chez un individu sain, les éosinophiles ne représentent qu'entre 1 et 3% des leucocytes. Après leur maturation dans la moelle osseuse, ils atteignent la circulation sanguine où ils ne restent qu'entre 13 et 18 heures avant de migrer vers les tissus. Cela explique les difficultés d'obtention et de purification d'éosinophiles de sujets sains. A la différence du sang, leur demi-vie dans les tissus est longue puisqu'ils peuvent y survivre pendant plusieurs semaines (11). Leur localisation tissulaire est très variée. En effet, à l'état physiologique, on les retrouve au sein des organes lymphatiques et hématopoïétiques, et principalement au niveau des tissus à l'interface avec l'environnement tels que le tractus gastro-intestinal, respiratoire, urogénital ou encore la peau. Ces tissus constituent des endroits de renouvellement tissulaire important. Il pourrait alors exister un lien entre la présence d'éosinophiles et

le remodelage tissulaire homéostasique et/ou la réparation dans les tissus lésés, par exemple au niveau des tumeurs.

En cas de réaction inflammatoire, les éosinophiles sont redistribués et quittent leurs sites primaires pour atteindre les foyers inflammatoires et les organes lymphoïdes proximaux. Par exemple, dans le tractus gastro-intestinal, les éosinophiles résident dans la lamina propria en condition d'homéostasie. Lors d'une situation inflammatoire, ils migrent et sont retrouvés au niveau des plaques de Peyer (12).

II.1.3.2. Molécules d'adhérence

La migration tissulaire nécessite une étape de roulement sur les cellules endothéliales suivie d'une adhérence permettant la transmigration. Deux types de molécules d'adhérence sont nécessaires à ce passage tissulaire: les sélectines et les intégrines.

Les intégrines sont nécessaires au roulement. Les éosinophiles expriment constitutivement la L-selectine qui interagit avec le CD34 et MAdCAM-1 exprimés par l'endothélium. Ils expriment également le CD162 (P-selectin glycoprotein ligand-1 ou PSGL-1) ainsi que le CD15s (sialyl-Lewis^x) qui permettent l'interaction avec la P-selectine et la E-selectine de l'endothélium (3) (Fig. 3).

Les intégrines sont des molécules hétérodimériques constituées d'une chaîne α et d'une chaîne β . L'avidité de la liaison entre l'intégrine et son ligand est plus importante que celle de la liaison sélectine-ligand, elle permet donc le renforcement de l'adhérence des éosinophiles à l'endothélium. Ceux-ci expriment les intégrines $\beta 1$, $\beta 2$ et $\beta 7$ ($\alpha 4\beta 1$ (VLA-4 ; CD49d), $\alpha 6\beta 1$ (VLA-6 ; CD49f), $\alpha M\beta 2$ (MAC-1 ; CD11b/CD18), $\alpha L\beta 2$ (LFA-1 ; CD11a/CD18), $\alpha X\beta 2$, $\alpha D\beta 2$ et $\alpha 4\beta 7$), qui ont pour ligands VCAM-1, ICAM-1, -2, -3, MAdCAM-1 et le fibrinogène (3).

II.1.3.3. Récepteurs aux chimiokines

Les intégrines seules ne suffisent pas au recrutement tissulaire des éosinophiles. Ainsi, après la diapédèse trans-endothéliale, ils sont dirigés par des molécules chimiotactiques jusqu'au site d'intérêt. Les chimiokines sont produites par

différentes cellules et organes et, en se fixant sur leurs récepteurs, contribuent au tropisme tissulaire des éosinophiles. Ces récepteurs appartiennent à la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G (Fig 3.). Les principaux présents sur les éosinophiles sont le CCR1 (ayant pour ligand RANTES/CCL5, MIP-1 α /CCL3 et le MCP-3/CCL7), le CCR2 (se liant à MPC-1/CCL2), le CCR3 (se fixant à MCP-4/CCL13, RANTES et l'éotaxine/CCL11) et le CXCR3 qui répond à l'IP-10/CXCL10 (3).

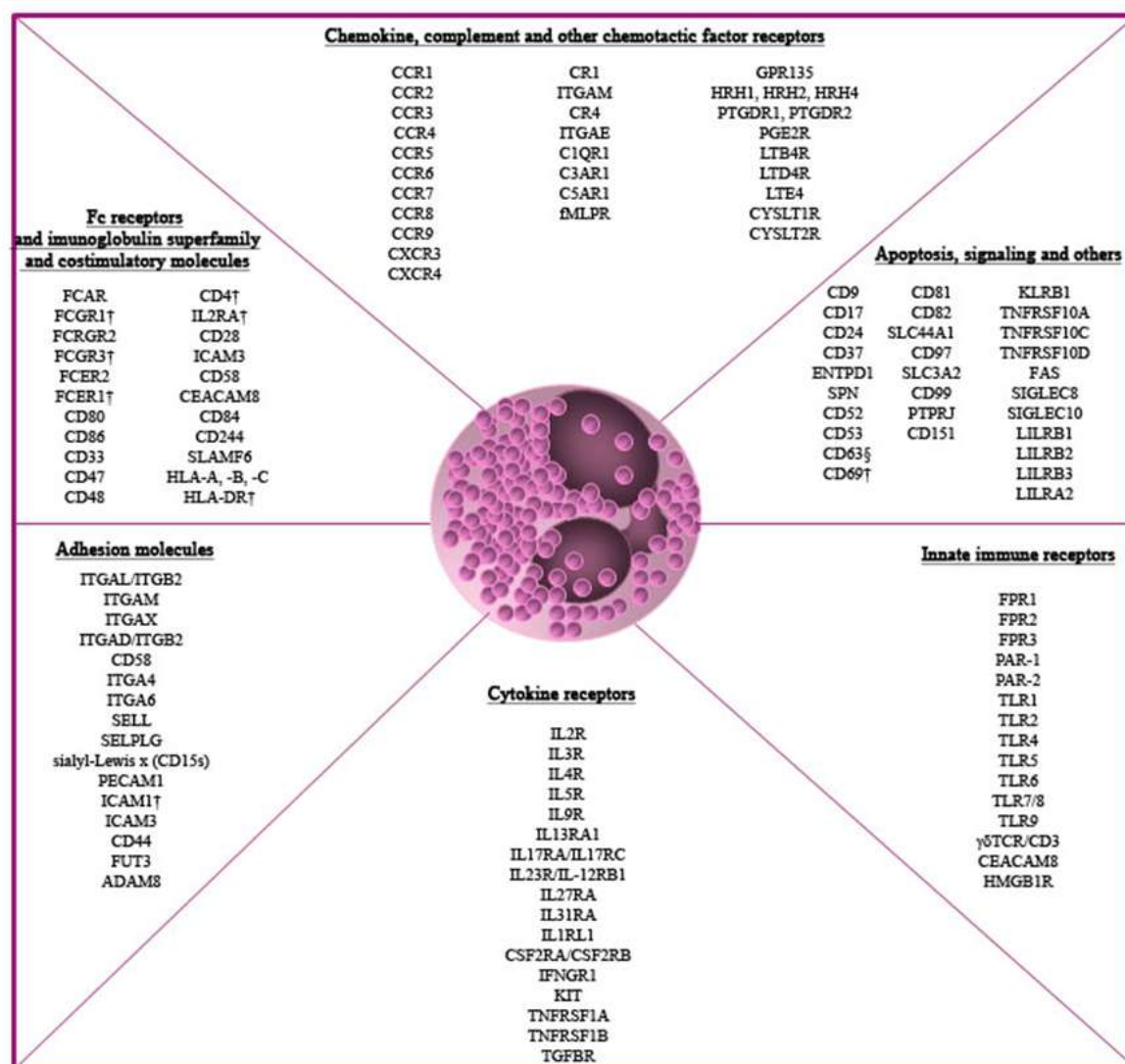


Figure 3: Molécules de surface exprimées par l'éosinophile.

Figure tirée de Driss V, Legrand F, Capron M. Eosinophil receptor profile. 30-38. In Lee JJ, Rosenberg HF. Eosinophils in Health and Disease. Elsevier. 2013

II.1.3.4. Recrutement en condition homéostasique

A l'état physiologique, après maturation dans la moelle osseuse et un bref passage dans la circulation générale, les éosinophiles sont donc recrutés au niveau de nombreux tissus : tractus gastro-intestinal, thymus, glandes mammaires et utérus. Les éosinophiles retrouvés au niveau du tractus gastro-intestinal forme la population en éosinophiles la plus importante (13). Ce recrutement en condition homéostasique est notamment régulé par l'éotaxine-1 (ou CCL11), chimiokine produite par les cellules épithéliales mais également les mastocytes, les macrophages alvéolaires, les cellules endothéliales, les fibres musculaires lisses bronchiques et les éosinophiles eux-mêmes. L'éotaxine, constitutivement exprimée par les organes cités précédemment, agit sur les éosinophiles par son récepteur spécifique, le CCR3 qui est exprimé sur ces cellules. Il est cependant intéressant à noter que l'éotaxine n'est pas le seul ligand de ce récepteur. Il peut également interagir avec, par exemple, RANTES, MCP-2, MCP-3, l'éotaxine-2. Cependant, il semblerait bien que ce soit la liaison CCL11/CCR3 qui soit responsable de la régulation de la localisation des éosinophiles en condition homéostasique (14).

II.1.3.5. Recrutement en conditions inflammatoires

Au cours des réactions inflammatoires, de nombreux facteurs chimioattractants pour les éosinophiles sont libérés. Ce recrutement se fait sous la dépendance de chimiokines mais également de cytokines, de médiateurs lipidiques et de facteurs du complément. En effet, les éosinophiles expriment des récepteurs pour des facteurs d'attraction non spécifiques comme le PAF (Platelet activating factor), les anaphylatoxines, les alarmines, les leucotriènes et l'histamine (13). La spécificité de ce recrutement se fait par la combinaison des médiateurs libérés par le microenvironnement, des molécules d'adhérence des endothéliums et des récepteurs présents sur les éosinophiles. Par exemple, durant l'inflammation intestinale, l'expression de l'éotaxine est augmentée (14). De même, l'accumulation des éosinophiles vers l'intestin grêle, en condition inflammatoire, est sous la dépendance de la liaison entre MAdCAM-1 et $\alpha 4\beta 7$ tandis que leur recrutement au niveau du colon est régulé par la liaison $\beta 2$ /ICAM-1 (15).

II.2. Les fonctions des éosinophiles

Les éosinophiles ont longtemps été considérés comme étant seulement des cellules effectrices terminales dans les pathologies allergiques ou les infections parasitaires à helminthes. Cependant, il est maintenant admis que ce sont des cellules multifonctionnelles qui participent à l'initiation et la propagation des réponses inflammatoires, à la régulation des réponses immunitaires ainsi qu'à l'homéostasie tissulaire (16). Ces nombreuses fonctions sont possibles par l'intégration de nombreux stimuli, les éosinophiles ayant à leur surface une multitude de récepteurs, de l'immunité innée ou adaptative (Fig. 3). Cette stimulation conduit à la libération, rapide et sélective, d'une grande variété de cytokines et médiateurs (Fig.4).

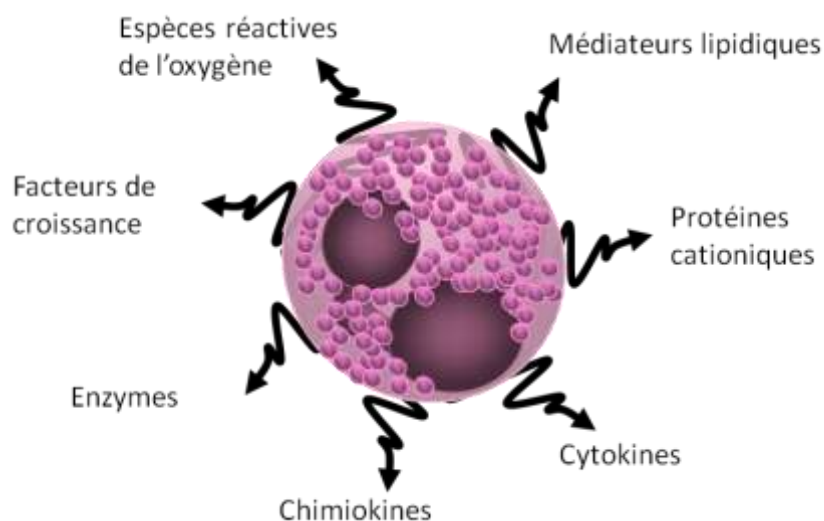


Figure 4: Médiateurs libérés par l'éosinophile

II.2.1. Rôle dans l'immunité innée

D'un point de vue phylogénétique, des cellules possédant des granules éosinophiliques « Eosinophil Granule Cells » ont été retrouvées chez des organismes évoluant depuis plus de 500 millions d'années. Cela suggère que ces cellules pouvaient participer à des processus fondamentaux de défense innée bien avant l'apparition des processus de réarrangements des gènes nécessaires à la réponse immunitaire adaptative.

II.2.1.1. Récepteurs membranaires

Plusieurs récepteurs permettent aux éosinophiles d'être stimulés directement par des composés environnementaux, par des motifs moléculaires de pathogènes (PAMPs – Pathogen Associated Microbia Pattern) ou encore par des facteurs endogènes (DAMPs – Damage Associated Molecular Pattern ou alarmine) libérés par les cellules nécrotiques ou stressées (17). Les PAMPs et DAMPs peuvent être reconnus par les TLR dont plusieurs ont été mis en évidence sur les éosinophiles (TLR-1, -2, -4, -5, -6, -7, -9) (18). Cependant, leurs ligands et leurs fonctions restent encore imprécis (19). Nagase et *al.* ont montré que parmi les différents ligands des TLR, seul un ligand du TLR-7 (R-848) est capable d'activer les éosinophiles humains et de déclencher la production d'ions superoxydes (20). Cependant, une autre étude suggère que les éosinophiles pourraient être activés de manière différentielle selon le ligand, aboutissant à l'augmentation de l'expression de certaines molécules d'adhérence (ICAM-1 et CD18) et/ou à la libération de cytokines/chimiokines, superoxydes, protéines granulaires (18). De plus, il a été démontré une interaction directe entre TLR2, présent sur les éosinophiles, et *Mycobacterium bovis* - BCG entraînant la production d'espèces réactives à l'oxygène (ROS), d'EPO et d'alpha-defensines (21).

Certaines protéases issues d'allergènes tels que les acariens (22), les champignons du genre *Alternaria* (23) ou les pollens sont également capables d'activer directement les éosinophiles par clivage de la partie N-terminale des PAR-1 et -2, entraînant la libération de radicaux libres et de leucotriènes (24).

Les éosinophiles possèdent également des récepteurs pour le complément (CR1 et CR3) dont l'activation provoque leur dégranulation (25). De même, des molécules endogènes, libérées par les tissus stressés ou abimés, sont capables d'activer les éosinophiles entraînant leur dégranulation; c'est notamment le cas lors des situations tumorales (16). Par exemple, les éosinophiles répondent à une stimulation par de l'ATP, de l'acide urique, des alarmines telles que la High Mobility Group Box (HMGB)-1 ou l'IL-33.

Récemment, il a été mis en évidence dans notre laboratoire à la surface des éosinophiles humains la présence d'un récepteur initialement exprimé exclusivement par les lymphocytes : le complexe CD3/TCR $\gamma\delta$ (26). La présence de ce récepteur fait

un véritable lien entre immunité innée et adaptative puisqu'il est capable de se lier à des ligands de l'immunité innée tels que les phosphoantigènes produits par de nombreux pathogènes ou cellules cancéreuses.

II.2.1.2. Les « traps »

Un autre mécanisme existant chez les éosinophiles et renforçant leur rôle dans l'immunité innée est la libération extrêmement rapide (en moins d'une seconde) de filaments d'ADN. Il est, dans son principe, similaire aux pièges extracellulaires présents sur les neutrophiles, monocytes et mastocytes mais de structure différente (27). Ainsi, ces filaments, appelés EETs (Eosinophils Extracellular Traps), sont constitués d'ADN mitochondrial et de protéines granulaires (ECP, MBP) et forment, une fois libérés dans le milieu extracellulaire, des réseaux entrelacés capables de piéger et de tuer des bactéries et des champignons (28). Les stimuli conduisant à la libération de ces EETs sont le LPS, l'éotaxine, le facteur du complément C5a (28), certaines alarmines comme la TSLP (29), ou encore les cristaux d'acide urique (30).

II.2.2. Rôle dans l'immunité adaptative

Les éosinophiles peuvent être activés par des anticorps qui se lient à leurs récepteurs des fragments Fc des immunoglobulines IgA, IgE et IgG qu'ils possèdent à leur surface (Fc α R, Fc γ RII, Fc ϵ RI et Fc ϵ RII) (16,31). Ces récepteurs permettent l'endocytose, l'activation des cellules et leur dégranulation.

Les éosinophiles expriment aussi des molécules du CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité), telles que le HLA-DR, ainsi que différentes molécules de co-stimulation (CD86, CD40, CD40L, CD28, CD25, CD4), leur conférant le rôle de cellules présentatrices d'antigène et leur permettant ainsi de dialoguer avec les lymphocytes T et B (32).

II.2.3. Fonctions cytotoxiques

La cytotoxicité des éosinophiles est, après stimulation, en grande partie attribuable à leurs protéines cationiques libérées en grande quantité et extrêmement

rapidement puisqu'elles sont stockées dans les granules. Il est à noter que ces cellules exercent leur activité cytotoxique également via la libération d'autres médiateurs pré- et néoformés.

II.2.3.1. Protéines cationiques

II.2.3.1.1. Présentation

La présence des protéines basiques dans les granules des éosinophiles est une caractéristique qui les distingue des autres granulocytes. Les protéines MBP, ECP, EDN et EPO jouent un rôle à la fois dans la défense de l'hôte mais également dans la pathogénèse de certaines maladies (Table 1.).

- **La MBP** représente à elle seule 50% des protéines granulaires. Il en existe deux isoformes, la MBP-1 et la MBP-2. Bien que la MBP-2 semble avoir les mêmes propriétés fonctionnelles que la MBP-1 ($pI > 11$), elle est beaucoup moins basique ($pI = 8.7$) et active que cette dernière. Cependant, elle est aussi plus spécifique puisque la MBP-1 a également été mis en évidence, en quantité moindre, dans les basophiles (33). L'activité cytotoxique de la MBP s'exerce par sa capacité à perturber l'équilibre électrostatique de la bicouche phospholipidique de la membrane des cellules cibles en augmentant sa perméabilité. Cette protéine possède donc une activité helminthotoxique, bactéricide et potentiellement tumoricide (16). Outre son activité cytotoxique, la MBP est capable d'activer les plaquettes, les neutrophiles, les basophiles et les éosinophiles eux-mêmes (34,35). Elle est aussi susceptible d'accroître la réactivité des muscles lisses bronchiques en agissant comme antagoniste de récepteurs muscariniques M2 (36). Enfin, en induisant la transcription de facteurs de croissance ou d'éléments de la matrice extracellulaire, la MBP joue également un rôle dans le remodelage et la fibrose (37).
- **L'ECP**, ou RNase 3, possède une très forte activité ARNase et a donc la capacité d'hydrolyser l'ARN polymérique. En général, cette activité enzymatique est nécessaire à ses propriétés antivirales et neurotoxiques mais pas à ses activités antibactériennes ou antihelminthiques (38). Celles-ci sont dues à son effet déstabilisant sur les lipides membranaires. L'ECP n'est pas internalisée et son effet commence tout d'abord par une simple liaison à la membrane plasmique,

puis à une agrégation conduisant à l'altération de l'intégrité de cette dernière (39). L'activité cytotoxique de l'ECP est influencée par plusieurs paramètres : son génotype et son degré de glycosylation. En effet, plusieurs polymorphismes ont été identifiés sur le gène codant pour l'ECP (40,41), reliés à sa fonction ou à son contenu cellulaire. De plus, cette protéine est produite sous plusieurs formes glycosylées (42).

- **L'EDN**, ou RNase 2 ou EPX (Eosinophil Protein X), possède une activité ribonucléase cent fois supérieure à celle de l'ECP, ce qui lui confère une activité neurotoxique, mais également, antivirale très importante. Par contre, son potentiel cytotoxique, *in vitro*, envers les bactéries et les helminthes est moindre comparé à l'ECP (16). L'EDN n'est pas uniquement produite par les éosinophiles mais aussi par les macrophages activés par du TNF et du LPS (43). Actuellement, l'EDN est considérée, non plus comme une neurotoxine, mais comme une alarmine (44), au même titre que les défensines, les cathélicidines ou la HMGB1. Ces médiateurs, hautement immunostimulants, sont considérés comme des signaux de danger chargés d'alerter le système immunitaire en cas de dommages cellulaires et d'infections. En effet, l'EDN attire et active les cellules dendritiques via le TLR2 et augmente ainsi la réponse immune, principalement de type 2 (44).
- **L'EPO**, de la famille des haloperoxydases, est la protéine cationique la plus spécifique des éosinophiles. Elle conduit, en présence de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , à la production d'halogénures et de bromures toxiques, lui permettant d'avoir un effet bactéricide, antihelminthique, antifongique et tumoricide (16). L'EPO permet également la maturation des autres protéines cationiques par nitration des résidus tyrosine présents dans leurs structures. Celle-ci est indépendante d'un contexte inflammatoire. Le potentiel cytotoxique des protéines cationiques serait donc dépendant d'une modification post-transcriptionnelle médiée par l'EPO (45).

Protéine	Activité anti-infectieuse	Activité cytotoxique (lignées cellulaires)	Autres effets
MBP	<u>Parasites</u> : <i>S. mansoni</i> <i>T. cruzi</i> <i>T. spiralis</i> <u>Bactéries</u> : <i>S. aureus</i> <i>E. Coli</i>	Epithélium bronchique Epithélium nasal Carcinome du colon (T84) Leucémie myéloïde (HL60 – K562)	Agoniste plaquettaire Antagoniste des récepteurs muscariniques M2 Libération d'histamine Favorisation de la fibrose
ECP	<u>Parasites</u> : <i>S. mansoni</i> <i>T. spiralis</i> <i>B. pahangi</i> <i>B. malayi</i> <i>T. cruzi</i> <u>Bactéries</u> : <i>E. Coli</i> <i>S. aureus</i> <u>Virus</u> : RSV	Carcinome du poumon (H69) Leucémie myéloïde (HL60 – K562) Carcinome de la peau (A431) Carcinome du sein (MDA-MD-453) Adénocarcinome de l'utérus (HeLa) Carcinome du colon (Colo-205)	Neurotoxine Libération d'histamine Neutralisation de l'héparine
EDN	<u>Parasites</u> : <i>T. spiralis</i> <i>B. pahangi</i> <i>B. malayi</i> <u>Bactéries</u> : <i>E. coli</i> <u>Virus</u> : RSV, VHB, VIH Virus parainfluenza	Sarcome de Kaposi (KS Y-1) Carcinome du colon (Colon-205)	Neurotoxine Alarmine
EPO	<u>Parasites</u> : <i>S. mansoni</i> <i>T. cruzi</i> <i>B. malayi</i> <u>Bactéries</u> : <i>E. Coli</i> <i>M. tuberculosis</i> <u>Virus</u> : RSV ; rhinovirus	Carcinome du poumon (A549) Epithélium respiratoire	Libération d'histamine

Table 1 : Rôle des protéines cationiques de l'éosinophile

Table adaptée de Malik A, Batra JK, Crit Rev Microbiol, 2012

II.2.3.1.2. Mécanismes de dégranulation

Trois mécanismes conduisant à la libération des protéines contenues dans les granules secondaires des éosinophiles ont été décrits (10).

- **L'exocytose** est possible par fusion directe de la membrane des granules avec la membrane plasmique, libérant la totalité du contenu granulaire. Cette exocytose peut être simple, fusion d'une seule granule, ou composée, fusion préalable de plusieurs granules entre eux avant libération dans le milieu extracellulaire. Ce mécanisme de dégranulation conduit à la modification morphologique de ces éosinophiles activés, qui sont alors appelés 'hypodenses' car extrêmement vacuolés et de densité moindre. La régulation de cette exocytose est possible grâce à la formation de complexes protéiques composés de v-SNARES

(récepteur SNAP présent sur la vésicule de sécrétion), et de t-SNARES (protéines exprimées sur la membrane de l'organe cible). Ainsi, les éosinophiles expriment VAMP-2 et VAMP-7 sur la membrane de la vésicule sécrétoire, et SNAP-23 et la syntaxin-4, au niveau de la membrane plasmique.

- **La cytolyse** conduit à l'expulsion dans le milieu extracellulaire de l'ensemble des granules, appelés 'cell-free granules' puis de leur contenu. Cette libération peut être due à la lyse de l'éosinophile mais également à une cytolyse non apoptotique, dont les mécanismes ne sont pas encore connus.
- **La « piecemeal degranulation »** est le mécanisme de dégranulation le plus fréquemment observé chez l'éosinophile. Elle permet la libération sélective de ses protéines par bourgeonnement de petites vésicules à partir des vésicules secondaires. En effet, les éosinophiles sont doués d'une plasticité fonctionnelle. Par exemple, la stimulation par des complexes IgG entraîne la libération sélective d'ECP et d'EDN, celle par des complexes IgE conduit au relargage d'EPO et d'EDN alors que les complexes IgA induisent la libération des trois protéines matricielles (46). Cette dégranulation ne change pas la morphologie des éosinophiles. Cependant, en microscopie électronique, on peut observer des granules secondaires à moitié vidés. Le transport des protéines vers la membrane peut être assuré par la formation de petites vésicules rondes classiques. En réponse à certaines cytokines, comme l'IFN γ , les éosinophiles développent aussi des structures vésico-tubulaires, appelées vésicules sombrero 'EoSV', qui restent viables et qui permettent une réponse très rapide lors d'une stimulation ultérieure.

Evidemment, la libération sélective des médiateurs selon les stimuli s'applique également aux autres médiateurs de l'éosinophile tels que les cytokines permettant l'orientation des réponses immunes vers un profil Th1, Th2 ou Th17 (10).

II.2.3.2. Les espèces réactives de l'oxygène

Les éosinophiles peuvent répondre, après activation, par une libération précoce d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ceux-ci sont formés par la réduction de l'oxygène par la NADPH oxydase. L'ion superoxyde est ensuite transformé, par la superoxyde dismutase, en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) qui, en

présence de brome et sous l'action de l'EPO, peut être transformé en oxygène singulet. Ces ROS confère à l'éosinophile un rôle cytotoxique et pro-inflammatoire (21,47).

II.2.3.3. Cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC)

Il est reconnu que les éosinophiles sont capables de tuer *in vitro* les larves de *Schistosoma mansoni* via un mécanisme ADCC dépendant principalement de l'IgE qui entraîne leur dégranulation (48,49). Les autres classes d'anticorps IgA et IgG participent également à l'ADCC ainsi que les molécules du complément (50). L'ADCC est plutôt reconnue dans l'immunité antiparasitaire, cependant elle pourrait également être impliquée dans l'immunité anti-tumorale, les cellules cancéreuses exprimant des antigènes spécifiques reconnus par des anticorps.

II.2.4. Fonctions immunorégulatrices

II.2.4.1. Récepteurs et sécrétion de cytokines

II.2.4.1.1. Récepteurs

L'éosinophile est susceptible de fixer de nombreuses cytokines. Ainsi, les récepteurs pour l'IL-2, -3, -4, -5, -9, -10, -12, -13, -17, -18, -23, -25, -27, -31, -33 sont présents à leur surface. De même, ils expriment également les récepteurs du GM-CSF, du TNF, l'IFN γ et du TGF β (50) (fig 3.).

II.2.4.1.2. Sécrétion

Si les éosinophiles sont capables de répondre à la stimulation par de nombreuses cytokines, ils sont capables d'en sécréter encore un plus grand nombre (50). Les éosinophiles ont une activité transcriptionnelle très faible comparée aux autres cellules du système immunitaire comme les lymphocytes. La plupart des cytokines sont stockées dans leurs granules et/ou leurs vésicules, permettant leur libération rapide après activation. Par exemple, l'IL-13 se retrouve dans le core des granules (51) alors que l'IL-16 et le TNF sont localisés dans la matrice de celles-ci (52).

II.2.4.2. Polarisation de la réponse immune

Les éosinophiles sont capables de libérer sélectivement les cytokines de type Th1 (IL-1 β , IL-2, IL-12, IFN γ), Th2 (IL-4, IL-5), Th17 (IL-17, IL-23) ou immunorégulatrices (IL-10) en fonction de l'environnement (53). En effet, une activation des éosinophiles par des IgE ou des IgA conduit à la libération de cytokines de type Th2, la stimulation par du CD28 amène quant à elle au relargage des cytokines de type Th1, IL-2 et IFN γ (53). Cette capacité de libération spécifique leur confère la propriété de polariser la réponse immune vers un type ou un autre. A l'instar des macrophages (54), une hypothèse formulée afin d'expliquer ce phénomène était la présence de plusieurs sous-populations d'éosinophiles qui libèreraient des cytokines soit de type 1 soit de type 2. Cependant, des expériences de double marquage ont montré que toutes ces cytokines coexistaient dans les éosinophiles (55). Il semble donc que ce soit plutôt les stimuli et récepteurs qui soient responsables de ce processus, bien que les mécanismes moléculaires n'aient pas encore été identifiés.

II.2.4.3. Modulation de la fonction des leucocytes

Les éosinophiles sont capables d'exercer, via la production de leurs nombreux médiateurs, une activation des autres leucocytes (Fig 5.).

- **Lymphocytes T** : les éosinophiles sont des cellules présentatrices d'antigène qui peuvent exprimer des molécules du CMH de classe II et des molécules de co-stimulation. Cela leur permet de dialoguer avec les lymphocytes T et d'ainsi stimuler leur prolifération et leur production de cytokines selon le type d'antigène présenté (56). En réponse à un allergène, les éosinophiles, en agissant avec les cellules dendritiques, régulent le recrutement des lymphocytes Th2 par la libération des chimiokines CCL17 et CCL22 (57).
- **Lymphocytes B** : les éosinophiles stimulent les lymphocytes B pour la production d'IgM. Ils permettent également d'augmenter la survie des plasmocytes (56,58).
- **Cellules dendritiques** : ils induisent à la fois la maturation et l'activation de ces cellules, notamment via l'EDN (44).

- **Neutrophiles** : ces cellules sont activées par la MBP qui entraîne la libération d'IL-8 et de ROS (59).
- **Macrophages** : les éosinophiles maintiennent les macrophages alternativement activés dans le tissu adipeux par la production d'IL-4 et d'IL-13 (60).
- **Mastocytes** : l'ECP, la MBP et l'EPO conduisent à la libération d'histamine par les mastocytes. La prolongation de leur survie est due au NGF (Nerve Growth Factor) produit par les éosinophiles (59).

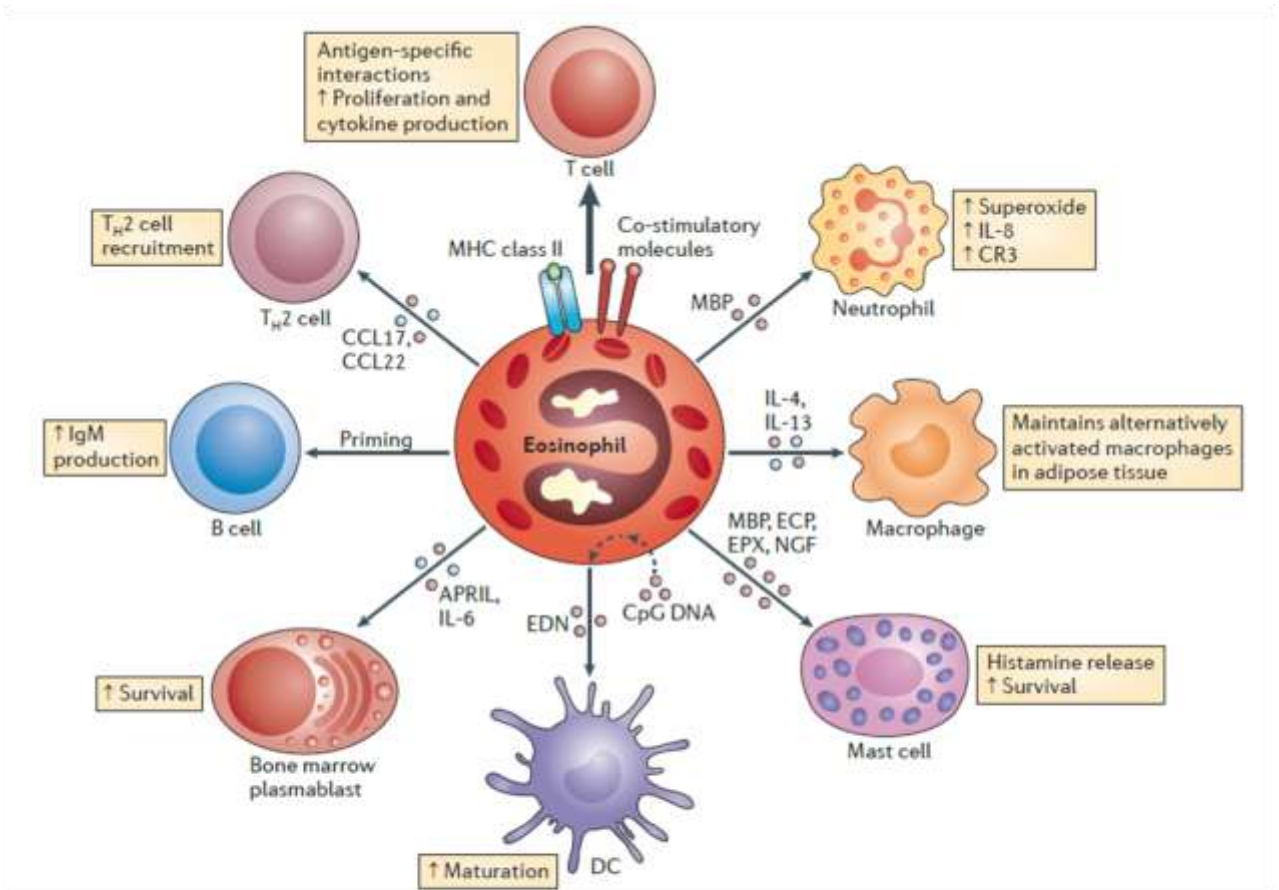


Figure 5: Modulation des fonctions des leucocytes par les éosinophiles

Figure tirée de Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS, Nat Rev Immunol, 2013

II.2.5. Fonctions de réparation et de remodelage tissulaire

Une récente hypothèse défend le fait que l'accumulation des éosinophiles au niveau des tissus participerait plus à une stratégie visant à maintenir l'homéostasie tissulaire plutôt qu'à une dérégulation immunitaire. Ce concept est appelé « LIAR hypothesis » pour 'Local Immunity And/or Remodeling/Repair' (61). Les éosinophiles

sont capables d'interagir avec les cellules épithéliales, endothéliales ou fibroblastes par la libération de leurs cytokines mais également de facteurs de croissance (SCF, NGF, VEGF, PDGF, TGF- α et $-\beta$) (50).

Le recrutement des éosinophiles périphériques a lieu en réponse à la libération d'un ou plusieurs médiateurs de l'inflammation (comme les DAMPs ou les alarmines) par des cellules mortes localement. Avec un contexte favorable, comme la présence d'IL-5 et de GM-CSF provenant de l'épithélium, les éosinophiles peuvent s'accumuler à l'état non activé. Le microenvironnement immunitaire tissulaire dirige ensuite les fonctions des éosinophiles conduisant soit à l'exacerbation de la réponse immune locale, soit à sa suppression ou bien encore, cas le plus fréquent, à ne pas ou peu la modifier. Dans tous les cas, en retour, les éosinophiles modulent le remodelage ou la réparation tissulaire. Il est important de noter que cette fonction des éosinophiles a lieu à l'état physiologique, dans le tractus digestif par exemple, mais également en condition pathologique, dans l'asthme, les infections parasitaires ou encore les situations tumorales (61).

II.3. Rôle des éosinophiles en pathologie

Une hyperéosinophilie (HE) se définit comme une augmentation du taux d'éosinophiles circulants supérieur à $0.5 \times 10^9/L$ et peut avoir plusieurs origines. En raison de leur fréquence, les causes allergiques, médicamenteuses ou parasitaires sont tout d'abord évoquées. Nous avons vu précédemment que les éosinophiles sont des cellules multifonctionnelles, à l'interface entre l'immunité innée et adaptative par l'expression de médiateurs et récepteurs très variés, ils jouent donc un rôle majeur dans le développement ou le contrôle de nombreuses pathologies (Table 2) (59,62). Les paragraphes suivants ne constituent pas une liste exhaustive de toutes les pathologies dans lesquelles les éosinophiles sont impliqués mais plutôt des exemples pour lesquels les rôles des éosinophiles sont soit délétères, soit bénéfiques.

Pathologies	Effets des éosinophiles
Cancer	<ul style="list-style-type: none"> - Indicateurs de risque - Recrutement et polarisation des lymphocytes T - Cytotoxicité - Remodelage tissulaire
Maladies démyélinisantes <ul style="list-style-type: none"> - Sclérose en plaque - Névrite optique 	<ul style="list-style-type: none"> - Polarisation des lymphocytes T - Survie des nerfs - Survie des plasmocytes
Rejet de greffe	<ul style="list-style-type: none"> - Indicateurs de risque - Recrutement et polarisation des lymphocytes T - Cytotoxicité - Remodelage tissulaire
Maladies métaboliques <ul style="list-style-type: none"> - Diabète de type 2 - Athérosclérose 	<ul style="list-style-type: none"> - Dépôt de graisse - Recrutement et polarisation des macrophages M2 - Fibrose et remodelage tissulaire - Prolifération des muscles lisses - Remodelage vasculaire
Maladies inflammatoires de l'intestin <ul style="list-style-type: none"> - Maladie de Crohn - Rectocolite hémorragique 	<ul style="list-style-type: none"> - Recrutement et polarisation des lymphocytes T - Fibrose et remodelage tissulaire - Hyperplasie des muscles lisses - Hyperplasie et dommage des cellules épithéliales - Remodelage vasculaire
Maladies pulmonaires <ul style="list-style-type: none"> - Asthme - Hypertension pulmonaire - Fibrose pulmonaire 	<ul style="list-style-type: none"> - Recrutement et polarisation des lymphocytes T - Fibrose et remodelage tissulaire - Hyperplasie des muscles lisses - Hyperplasie et dommage des cellules épithéliales - Remodelage vasculaire
Allergie / Dermatite de contact	<ul style="list-style-type: none"> - Croissance et survie neuronale - Fibrose - Modulation de la réponse immunitaire

Table 2 : Rôle des éosinophiles en pathologie

Table adaptée de Jacobsen EA, Helmers RA, Lee JJ, Lee NA. Blood, 2012.

II.3.1. Syndromes Hyper-Eosinophiles

Devant toute HE massive ($> 1,5 \times 10^9/L$) chronique, supérieure à 6 mois, et inexplicée en dépit d'une enquête étiologique bien menée, on se doit d'évoquer le Syndrome Hyper-Eosinophilique ou SHE. Ces SHE sont cliniquement extrêmement hétérogènes. Bien qu'ils puissent être asymptomatiques, les principales manifestations cliniques sont pulmonaires, cutanées, digestives, neurologiques et cardiaques. Leur classification est en perpétuelle renouvellement, la dernière datant

de 2014 (63), on peut cependant les classer schématiquement en trois situations distinctes :

- **Le SHE myéloprolifératif (SHE-M).** Au niveau physiopathologique, une délétion à l'origine du gène de fusion FIP1L1-PDGFR α (F/P) est identifiée chez certains patients atteints de SHE-M. Ce gène code pour une protéine tyrosine kinase ayant une activité constitutive. Chez ces patients, le traitement par un inhibiteur de protéine kinase, l'imatinib mesylate (Glyvec[®]), conduit à une rémission clinique, hématologique et même moléculaire pour certains (64). Ce traitement est également efficace sur des patients ne présentant pas ce gène, suggérant l'existence d'autres anomalies moléculaires sur des tyrosines kinases.
- **Le SHE lymphoïde (SHE-L)** est dû à une prolifération clonale de lymphocytes à phénotype aberrant (CD3⁻CD4⁺), producteur d'IL-5, d'IL-4 et d'IL-13. L'origine de ces dérèglements n'est pas connue et le traitement consiste en une corticothérapie ou à l'administration de mepolizumab. (63)
- **Le SHE idiopathique.** Certains SHE ne s'intègrent ni dans le variant myéloïde, ni dans le variant lymphoïde. Le traitement de première ligne, s'il est symptomatique, est l'administration de corticoïdes.

II.3.2. Asthme

Les éosinophiles exercent un rôle délétère en causant de nombreux dommages tissulaires dans des pathologies comme l'asthme et l'allergie. L'asthme est une maladie inflammatoire chronique des poumons qui se caractérise par une hyperréactivité bronchique, une éosinophilie associée à une réponse de type Th2 et la synthèse d'IgE. L'accumulation des éosinophiles au niveau des poumons est une conséquence importante de l'asthme. La libération, par ces cellules, de médiateurs lipidiques (leucotriènes, prostaglandines, thromboxane), de MBP et de ROS entraîne une bronchoconstriction, une hypersécrétion de mucus et une lyse des cellules mucosales (65). Ainsi, les éosinophiles et les molécules qui régulent leur développement et leur recrutement semblent être des cibles de choix dans le traitement de l'asthme. Dans ce contexte, des essais cliniques ont été réalisés sur l'utilisation de deux anticorps monoclonaux anti-IL-5, le mepolizumab et le reslizumab. Bien que ces deux anticorps thérapeutiques réduisent le nombre des

éosinophiles sanguins et pulmonaires, aucun bénéfice clinique n'a pu être objectivé (66,67). L'asthme est une pathologie très hétérogène, et, à la suite de ces résultats, la notion de sous-type selon le phénotype inflammatoire a été introduit (asthme neutrophilique, éosinophilique, mixte). Ainsi, il a récemment été démontré une amélioration du contrôle de l'asthme par les anti-IL-5 chez les sujets souffrant d'un asthme éosinophilique résistant aux corticoïdes (68,69).

II.3.3. Tumeurs

La participation des éosinophiles à l'immunité anti-tumorale sera plus particulièrement décrite dans le paragraphe IV de cette thèse. En effet, il est à noter que plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence une corrélation inverse entre les antécédents d'allergie et l'apparition de nombreux types de cancer. Les éosinophiles sont présents dans l'infiltrat de nombreux types de tumeurs et cette infiltration est, en général, associée avec une valeur pronostique positive. De plus, la découverte récente de récepteurs et médiateurs chez les PNEos humains, partagés avec les lymphocytes T et connus pour être impliqués dans l'immunité anti-tumorale, suggèrent que les PNEos pourraient jouer un rôle dans la défense anti-tumorale. Cette hypothèse a été soutenue, dans des modèles expérimentaux et chez l'homme (70).

III- L'immunité anti-tumorale

III.1. Historique

La découverte de l'immunité anti-tumorale prend naissance au XIX^{ème} siècle, lorsque William B. Coley, constate une corrélation entre la régression de sarcomes osseux et la survenue de surinfection post-opératoire. Cette constatation a été à l'origine de l'hypothèse selon laquelle un dysfonctionnement du système immunitaire pouvait accompagner le processus de cancérisation. On doit à Paul Ehrlich, qui a découvert les éosinophiles, d'être l'un des premiers à émettre la théorie d'immunosurveillance, théorie reprise par Burnet et Thomas, à partir des années 70, alors définit en ces termes : « surveillance permanente de l'organisme par le

système immunitaire pour reconnaître et détruire toutes les cellules anormales ». Actuellement, le concept de 'cancer immunoediting' (ou théorie des 3E) a prolongé cette hypothèse (71). Il caractérise l'interaction entre cellules tumorales et cellules immunitaires en trois phases:

- **Phase d'élimination** continue de cellules cancéreuses au fur et à mesure de leur apparition par le système immunitaire.
- **Phase d'équilibre** pendant laquelle les cellules cancéreuses ne sont plus éradiquées mais sous contrôle.
- **Phase d'échappement** des cellules cancéreuses au contrôle immunologique. Cette phase est la seule à être cliniquement visible.

III.2. Arguments épidémiologiques, cliniques et expérimentaux

Les arguments en faveur d'un rôle du système immunitaire dans la surveillance et le contrôle de la prolifération des tumeurs sont nombreux. Tout d'abord, les cancers sont plus fréquents chez les personnes âgées, le très jeune enfant ou le sujet immunodéprimé, c'est en particulier le cas pour les tumeurs associées à des virus observés chez des patients traités par des immunosuppresseurs. De nombreuses études ont établi une corrélation positive entre le statut immunodéprimé du patient et l'augmentation du risque de développer un cancer (72). De même, beaucoup de données ont été apportées grâce à l'utilisation de souris immunodéficientes plus susceptibles de développer des tumeurs (induites chimiquement ou spontanées) (71). On peut également souligner la découverte, au cours d'autopsie, de tumeurs cliniquement silencieuses, ou encore l'observation de régressions spontanées de tumeurs, confirmée par des données anatomo-pathologiques (73). Un autre argument est le fait que lors d'une allogreffe de moelle osseuse, le risque de rechute est plus faible si le greffon n'est pas déplété en lymphocyte T.

III.3. Effecteurs immunologiques

Une cellule tumorale présente une croissance infinie, un arrêt de différenciation, une perte d'inhibition de contact et l'acquisition d'un phénotype invasif. Le développement d'un cancer dépend bien sûr de ces propriétés mais également du

microenvironnement tumoral qui est caractérisé par des facteurs libérés par la tumeur mais aussi par les autres cellules proches, dont les leucocytes (Fig. 6). L'infiltration de ces cellules peut être associée à un pronostic favorable ou défavorable.

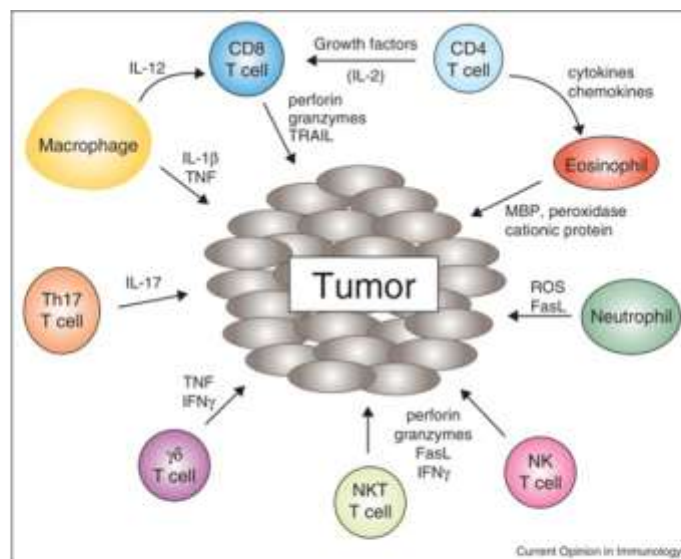


Figure 6: Leucocytes impliqués dans l'immunité anti-tumorale

Figure tirée de Darcy PK, Neeson P, Yong CS, Kershaw MH. Manipulating immune cells for adoptive immunotherapy of cancer. *Curr Opin Immunol.* 2014

III.3.1. Cellules de l'immunité adaptative

A la différence de l'immunité innée, l'immunité adaptative nécessite une phase d'apprentissage et est spécifique d'un antigène. La découverte des antigènes des tumeurs a constitué une étape essentielle dans l'immunologie anti-tumorale (74). Ces antigènes, spécifiques ou non des tumeurs sont reconnus par les lymphocytes B et T.

III.3.1.1. Les lymphocytes T

L'infiltration de ces lymphocytes est généralement corrélée à un bon pronostic (75). Ces cellules, et notamment les lymphocytes T CD8⁺, sont certainement les cellules les plus étudiées dans ce contexte. Les lymphocytes T sont différenciés en lymphocytes CD8⁺ cytotoxiques et CD4⁺ après interaction avec les cellules présentatrices d'antigène. Les lymphocytes CD8⁺ sont capables de détruire

directement la cellule cible tumorale, si celle-ci exprime les molécules du CMH de classe I, par la libération de nombreux médiateurs (par exemple, les perforines et les granzymes). Quant aux lymphocytes CD4⁺, ils exercent leur fonction anti-tumorale grâce au relargage de cytokines : la plupart des études se sont focalisées sur les lymphocytes de type Th1 car libérant des molécules anti-tumorales connues telles que l'IFN γ , le TNF ou l'IL-2, cependant, d'autres données montrent qu'une réponse Th2 pourrait aussi jouer un rôle dans l'immunité anti-tumorale (76,77).

III.3.1.2. Les lymphocytes B et anticorps

Le rôle de la réponse humorale contre les tumeurs n'est pas encore clairement établi. L'interaction, au niveau des ganglions lymphatiques, entre des cellules présentatrices d'antigène (présentant des antigènes tumoraux) et des lymphocytes B aboutissent à la prolifération et à l'expansion clonale de ces derniers en plasmocytes qui vont sécréter des immunoglobulines (78). Une fois ces anticorps fixés sur les cellules tumorales, ils peuvent activer les autres types cellulaires par un mécanisme de cytotoxicité dépendant des anticorps.

III.3.2. Cellules de l'immunité innée

III.3.2.1. Les cellules natural killer (NK)

Comme les lymphocytes, une accumulation de cellules NK au sein des tumeurs est associée à un pronostic favorable (79). Les cellules NK sont complémentaires des lymphocytes T cytotoxiques puisqu'elles sont activées par des mécanismes à l'exact opposé l'un de l'autre. En effet, alors que l'activité des lymphocytes nécessite la présence du CMH-I à la surface des cellules tumorales, c'est son absence qui prive la cellule NK de signaux inhibiteurs, entraînant la libération des médiateurs cytotoxiques et ainsi la destruction de la cellule cible (80).

III.3.2.2. Les macrophages

Les macrophages infiltrant la tumeur sont une des populations leucocytaires les plus nombreuses. Leur fonction pro- ou anti-tumorale n'est pas encore

complètement comprise. En effet, il existe deux sous-type de macrophages, les M1 (dits classiques) et les M2 (dits alternativement activés), qui diffèrent en termes d'expression de récepteurs, de fonctions effectrices et de libération de médiateurs (81). Selon leur polarisation, ils pourraient agir à l'opposé sur la cancérogénèse, et sur la progression tumorale (viabilité cellulaire, angiogenèse, fibrose et développement de métastases); cette polarisation étant médiée par le microenvironnement tumoral (82).

III.3.2.3. Autres cellules

Evidemment de nombreux autres types cellulaires sont impliqués dans l'immunité anti-tumorale avec des effets différents selon le contexte clinique. Les lymphocytes T NK (NKT) et les lymphocytes $\gamma\delta$, considérés comme des lymphocytes non conventionnels, jouent un rôle important. Les premiers se caractérisent par l'expression des récepteurs de surface des cellules NK et par un répertoire restreint à la reconnaissance de lipides et glycolipides présentés par le CD1d (molécule apparentée au CMH-I). Ils agissent par la libération d'IFN γ et d'IL-4 ainsi que par la production de médiateurs cytotoxiques (perforines, granzymes) (83). Les seconds reconnaissent les phosphoantigènes exprimés par les cellules tumorales et sont capables de lyse cellulaire par l'expression de récepteurs tel que le NKG2D et par l'expression d'IFN γ et de TNF (83).

Les polynucléaires neutrophiles, quant à eux, pourraient jouer un rôle direct dans la mort de cellules cancéreuses en utilisant des mécanismes tels que la liaison Fas/Fas-Ligand ou la libération de ROS (83). En ce qui concerne les mastocytes, leur rôle est plus controversé. Bien que leur infiltration soit de bon pronostic dans quelques types de tumeurs, cancer du sein hormono-dépendant ou de la prostate, ils sont plus généralement associés à un pronostic défavorable en terme de survie et de récurrence (84). Leur action bénéfique pourrait s'exercer par un mécanisme d'ADCC via la reconnaissance d'IgE fixées sur les cellules tumorales.

IV- Implication des éosinophiles dans l'immunité anti-tumorale

IV.1. Conséquences anatomo-pathologiques des TATE

IV.1.1. Définition

Les polynucléaires éosinophiles sont observés au niveau des infiltrats péri-tumoraux de nombreux types de cancers, que ce soit des cancers hématologiques ou solides (85). Cette infiltration est appelée TATE pour "Tumor-Associated Tissue Eosinophilia", terme utilisé pour la première fois en 1981 (86). Bien que la relation entre cette éosinophilie tissulaire et le devenir clinique des patients ne soit pas encore réellement comprise, plusieurs études se sont intéressées à décrire la valeur pronostique de cette TATE, dans le but de démontrer, au moins indirectement, le rôle potentiel pro- ou anti-tumoral des éosinophiles. En effet, une augmentation du nombre des éosinophiles, tissulaires ou sanguins peut être associée à une valeur pronostique soit favorable soit défavorable. Plusieurs raisons, qu'elles soient « naturelles » (facteurs de pronostic dépendants de la pathologie) ou expérimentales (choix de la méthode d'analyse), peuvent expliquer cette dichotomie :

- 1) Le potentiel pro- ou anti-tumoral des éosinophiles semble dépendre du type tumoral ainsi que du stade de développement de la tumeur.
- 2) La méthode de comptage de ces cellules n'est pas standardisée et peut donc varier d'une étude à l'autre. Classiquement, les TATEs sont subdivisées en trois groupes : faibles, moyennes ou fortes selon le nombre d'éosinophiles comptés à fort grossissement (x400). Les critères de Lowe considèrent les limites à <10, entre 10 et 100, et >100 nombres d'éosinophiles par sections HPF (High Power Field) comptés dans au moins dix champs (87). Une autre méthode consiste à déterminer la force d'infiltration, c'est la méthode de densité (88,89) : toutes les biopsies sont étudiées dans leur globalité (tumeur et stroma). Le nombre total d'éosinophiles est ensuite divisé par l'aire totale de l'échantillon, donnant un nombre d'éosinophiles / mm³.
- 3) Le manque du pouvoir statistique de ces données par les faibles effectifs étudiés dans certaines études.

Dans cette partie, nous nous attacherons à tenter de décrire ces différentes études épidémiologiques s'intéressant à la valeur pronostique de la présence d'une TATE.

IV.1.2. Valeur pronostique favorable

IV.1.2.1. Tumeurs du tube digestif

IV.1.2.1.1. Carcinome du colon

Le type de cancer pour lequel la valeur pronostique d'une éosinophilie tissulaire a été le plus étudiée est le cancer du colon. En effet, dès 1983, Pretlow et *al.* ont étudié l'influence d'une infiltration d'éosinophiles sur le pronostic et le développement de métastases chez des patients atteints de carcinome de colon (90). Dans cette étude, les sujets qui présentent une forte infiltration d'éosinophiles ont une diminution significative de l'incidence de métastase (23.5% vs 62.0%). Par conséquent, ces patients ont également un meilleur pronostic. En ce qui concerne les groupes sans métastase, dix-huit mois après résection tumorale, tous les patients ayant un nombre élevé d'éosinophiles au niveau du stroma tumoral, survivent contre seulement 73.7% des patients de l'autre groupe (90). Ces résultats, bien qu'intéressants, étaient préliminaires, du au petit nombre de sujets (n=24) et à la courte période de suivi. Néanmoins, ces données ont été, par la suite, confirmées par d'autres études.

Dans une étude incluant 126 sujets, après une période de suivi de cinq années, les patients ayant un nombre élevé d'éosinophiles au sein de la tumeur, ont un meilleur pronostic que ceux ayant un taux plus faible (91). De plus, cette influence bénéfique est indépendante des autres facteurs classiques de pronostic, comme le stade tumoral selon la classification de Duke, l'âge des patients, le grade histologique, la vascularisation et l'invasion vasculaire. Cette valeur pronostique favorable d'une TATE indépendante du stade de Duke a également été faite par Nielsen et *al.* sur une cohorte de 584 patients avec la même période de suivi (92). Dans cette étude, les auteurs ont stratifié l'infiltration en quatre grades (<30 ; 30-54 ; 55-90 ; >90). Il apparaît que le taux de survie augmente significativement avec la quantité d'éosinophiles au sein de la tumeur.

Il est à noter qu'une étude multicentrique, portant sur plus de 10 000 sujets, s'est également intéressée à la relation entre le nombre d'éosinophiles circulants et l'incidence du cancer du colon. Les auteurs ont montré une corrélation inverse entre le taux d'éosinophiles et l'apparition de ce cancer (93).

IV.1.2.1.2. Autres localisations

La valeur pronostique de la présence d'une TATE a également été étudiée pour les tumeurs des autres éléments du tube digestif. Dans le cas du carcinome de l'œsophage sans invasion vasculaire, métastase ganglionnaire ou récurrence clinique, un nombre plus important d'éosinophiles associés à la tumeur sont retrouvés (94), suggérant une possible corrélation entre la TATE et un comportement moins agressif de la tumeur. Au niveau gastrique, dans une étude statistique multivariée, un taux élevé d'éosinophiles est associé à une réduction du risque de décès de plus de 50% (95). Enfin, un nombre élevé d'éosinophiles est significativement associé à un taux de survie plus important et à une diminution de l'apparition de métastases chez les patients souffrant d'un cancer rectal (96).

IV.1.2.2. Autres Cancers

Les mêmes conclusions ont également été proposées dans le cas de carcinomes oraux de cellules squameuses. En effet, parmi 125 patients atteints de ce cancer, la présence d'une TATE importante est associée à un pronostic favorable et le rôle de ces éosinophiles tissulaires est indépendant des autres facteurs pronostiques comme l'âge, le sexe, la consommation d'alcool ou de tabac, le site tumoral, le stade clinique et l'embolisation vasculaire (88).

Dans le carcinome du nasopharynx, le taux de survie est meilleur lorsque l'infiltration tissulaire des éosinophiles est importante, bien que cette différence ne soit pas statistiquement significative (97). Cependant, cette différence devient significative dans le sous-groupe de patients de mauvais pronostic, défini par l'expression de "l'Epidermal Growth Factor Receptor" (EGFR) sur les cellules tumorales (97).

En ce qui concerne le cancer du pénis, la présence d'une TATE n'a pas d'influence sur la survie des patients ayant un cancer de stade I et II (classification TNM). Cependant, pour les stades avancés de la pathologie (III et IV), la survie tend à être meilleure chez le groupe présentant des éosinophiles au niveau du stroma que les patients n'en ayant pas (60% vs 0% à 5 ans) (98). Une augmentation des éosinophiles tissulaires a également été associée à un bon pronostic dans le carcinome du pharynx, l'adénocarcinome pulmonaire ou encore le cancer de la vessie (78).

Enfin, bien que des infiltrats éosinophiliques aient été détectés au niveau des tissus d'une grande majorité de tumeurs, aucun n'a pu être observé dans le cancer de la prostate. Cependant, des cristaux d'éosinophiles ont été détectés au niveau des tissus de la prostate, et cette présence est inversement corrélée avec le score histologique de Gleason (99).

IV.1.3.Valeur pronostique défavorable

Toutes les données précédentes montrent que les TATEs sont plutôt associées à une réponse anti-tumorale bénéfique, particulièrement dans le cas des tumeurs solides. A l'inverse, la présence d'une TATE apparaît être associée à un pronostic défavorable dans la maladie de Hodgkin. Bien que plusieurs études aient rapporté la relation entre la présence d'une TATE et le pronostic de la maladie de Hodgkin, l'approche la plus complète a été publiée par von Wasielewski et *al.* et porte sur 1511 biopsies de lymphome de Hodgkin (100). L'éosinophilie tissulaire, observée dans 38% des cas, diffère selon le type histologique de ce lymphome: 0% pour la forme à prédominance lymphocytaire, 40% à 55% dans la forme scléro-nodulaire, 43% pour la forme à cellularité mixte, et 54% pour la forme sans lymphocyte. Dans cette étude, une analyse multivariée montre que la présence d'une TATE est le facteur de pronostic défavorable le plus important pour la survie dans la forme scléro-nodulaire du lymphome de Hodgkin. Au contraire, aucun effet significatif lié à l'éosinophilie sur la survie n'a été démontrée dans le type cellulaire mixte (100).

Cette pathologie est considérée comme un type particulier d'un lymphome B caractérisé par la prolifération de cellules de Reed-Sternberg au sein d'un tissu

lymphoïde d'architecture réactionnelle particulière. Le phénotype de ces cellules est caractérisé par l'expression du CD30 à leur membrane. L'interaction entre le CD30-ligand, sécrété notamment par les éosinophiles, et le CD30, présent sur les cellules de Reed-Sternberg, est connue pour induire des signaux anti-apoptotique et de prolifération (101). Cependant, cela n'explique pas la différence de la signification clinique entre l'éosinophilie et les catégories histologiques. Bien qu'un polymorphisme allélique de l'ECP ait été associé au sous-type de sclérose nodulaire (102,103), les mécanismes reliant un effet négatif de la présence d'une TATE dans le sous-type scléro-nodulaire de la maladie de Hodgkin ne sont pas encore élucidés.

IV.2. Recrutement des éosinophiles aux sites tumoraux

Les mécanismes qui contrôlent le recrutement des éosinophiles jusqu'aux sites tumoraux ne sont pas encore clairement établis. Comme nous avons pu le voir précédemment, ces cellules expriment de nombreux récepteurs aux chimiokines à leur surface (cf. § II.1.3.3 p.15), plusieurs médiateurs chimiotactiques pourraient donc être impliqués dans cette migration.

IV.2.1. Rôle des chimiokines

Tout d'abord, certaines cellules tumorales ont été identifiées comme étant une source importante d'IL-5 et/ou d'IL-3, facteurs qui agissent sur la différenciation médullaire et la migration des éosinophiles. C'est notamment le cas des cancers de la glande thyroïde (104), du foie (105) et de la vessie (106).

Une autre chimiokine, sélective des éosinophiles, pourrait également participer à leur recrutement : l'éotaxine (CCL11). Chez l'Homme, une des premières études à démontrer une corrélation entre le recrutement des éosinophiles et l'expression tissulaire d'éotaxine a été faite dans la maladie de Hodgkin (107). Au contraire, aucune corrélation significative n'a pu être établie entre la présence de TATE et les taux d'IP-10 (CXCL10), de RANTES ou de MIP-1 α . Les cellules tumorales ne sont pas la seule source d'éotaxine. En effet, dans le carcinome des cellules squameuses de la cavité orale, la principale source d'éotaxine sont les éosinophiles eux-mêmes (108), montrant une voie autocrine et/ou paracrine pour une accumulation locale de

ces cellules. Il pourrait être également envisageable que cette chimiokine contribue plus à la maintenance de l'éosinophile tissulaire dans ces pathologies que dans l'initiation de cette migration.

Thielen et *al.* ont étudié l'interaction entre les différentes chimiokines et la TATE dans 50 cas de lymphomes T périphériques (109). Ils ont démontré une corrélation significative entre la présence d'éosinophiles intra-tumoraux et l'expression d'IL-5 et de TARC (CCL17), mais pas entre la TATE et RANTES et l'éotaxine. Ainsi, la libération de chimioattractants pour les éosinophiles pourrait être spécifique au type tumoral.

IV.2.2. DAMPs et alarmines

Les recherches sur la localisation des éosinophiles au sein même des tumeurs pourraient également aider à comprendre leur recrutement. Ces cellules peuvent prendre part à l'immunité innée dans les réponses anti-tumorales, notamment en reconnaissant les DAMPs (cristaux d'acide urique, ATP...), qui sont typiquement libérés après la nécrose tumorale. Ainsi, les cellules cancéreuses en apoptose induisent la migration des éosinophiles *in vitro* et *in vivo* (17,110). Cormier et *al.* ont démontré que l'infiltration des tumeurs par les éosinophiles est un phénomène précoce, persistant et spatialement restreint (110). Après injection sous-cutanée de cellules de mélanome à des souris, une éosinophilie apparaît au niveau des régions nécrotiques et de la capsule (zone fibreuse acellulaire) comparée aux zones des cellules tumorales viables. L'évaluation quantitative du recrutement des éosinophiles a montré que cette infiltration tissulaire est médiée par des facteurs (tels que les DAMPs) libérés directement par les tissus nécrotiques tumoraux (111). Toutes ces données suggèrent que les DAMPs ou les alarmines contribuent à l'immunité anti-tumorale notamment par le recrutement et l'activation des polynucléaires éosinophiles au sein des tumeurs. Une de ces molécules est la HMGB1 (High Mobility Group Box 1). Il y a plusieurs raisons de s'y intéresser. Premièrement, la HMGB1 est libérée seulement par les cellules nécrotiques et pas par les cellules en apoptose (112). Ensuite, Lofti et *al.* ont mis en évidence que les éosinophiles expriment le RAGE (Receptor for Advanced Glycation End products), un des premiers récepteurs définis pour la HMGB1. Cette alarmine est chimioattractante et

induit leur dégranulation (113). L'IL-33 (une autre alarmine) pourrait également agir dans ce contexte. En effet, le taux d'IL-33 sérique est augmenté dans le cancer de l'estomac (114), et cette cytokine est connue pour recruter les éosinophiles *in vivo* (115).

Considérées dans leur ensemble, toutes ces études montrent que les facteurs chimioattractants influençant la migration des éosinophiles dans le cadre du développement tumoral apparaissent dépendre du type de cancer ainsi que du stade de la pathologie.

IV.3. Propriétés tumoricides des éosinophiles

Bien que les TATEs soient souvent associées à une valeur pronostique favorable, le rôle exact des éosinophiles dans la réponse anti-tumorale est encore très mal connu. Les éosinophiles sont des leucocytes multifonctionnels capables de cytotoxicité et impliqués dans les processus inflammatoires, le remodelage tissulaire et la modulation des immunités innées et adaptatives. Le fait qu'ils soient retrouvés activés (car dégranulés) directement en contact avec les cellules cancéreuses (116), suggère que leur potentiel de cytotoxicité pourrait engendrer une réduction de la croissance tumorale. Les approches d'immunothérapie, les études *in vivo* et *in vitro* suggèrent que les éosinophiles puissent être impliqués dans l'immunité anti-tumorale.

IV.3.1. L'immunothérapie

L'éosinophilie est fréquemment observée durant les protocoles d'immunothérapie, particulièrement ceux utilisant l'IL-2 (117,118) et l'IL-4 (119,120). Cependant, l'impact de cette infiltration sur l'efficacité thérapeutique reste peu clair.

IV.3.1.1. L'interleukine-2

L'immunothérapie par l'IL-2 est utilisée pour traiter certains types de cancers, comme les mélanomes et les carcinomes rénaux. L'efficacité thérapeutique de l'administration systémique d'IL-2 est associée à la présence d'éosinophiles

dégranulés au sein de la tumeur, suggérant que ceux-ci pourraient être des cellules effectrices de cette réponse (117,118). Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer cette association. Tout d'abord, les éosinophiles peuvent induire directement la lyse tumorale par des mécanismes d'immunité innée. Cela a été mis en évidence par Huland et *al.* qui ont montré que les éosinophiles libèrent le contenu de leurs granules sur les cellules de cancer de la vessie après traitement par l'IL-2. L'activation de ces éosinophiles pourrait également avoir lieu par un mécanisme dépendant des anticorps (121), tout comme par leur capacité à moduler le microenvironnement tumoral grâce à leurs propriétés immuno-régulatrices. Cependant, malgré leurs propriétés anti-tumorales, la valeur pronostique d'une éosinophilie tissulaire observée chez les patients traités par de l'IL-2 n'a pas encore été suffisamment étudiée.

IV.3.1.2. L'interleukine-4

Concernant l'immunothérapie par l'IL-4, les études faites sur les modèles murins ont suggéré un lien entre les éosinophiles et la réponse thérapeutique anti-tumorale (120). Les phases 1 d'essais cliniques ont démontré que l'administration d'IL-4 aux patients atteints de cancers solides induit la dégranulation des éosinophiles de façon dose-dépendante, basée sur des taux augmentés de MBP dans le sérum et les urines (119).

IV.3.1.3. L'interleukine-25

Plus récemment, il a été démontré que l'IL-25 (ou IL-17E) a aussi une activité anti-tumorale *in vivo*. En effet, l'administration d'IL-25 a montré une efficacité dans des modèles de xénogreffes de cancers humains, tels que le mélanome, le cancer du poumon, sein et colon (122). Ces résultats démontrent que le traitement par l'IL-25 entraîne une éosinophilie, laquelle est corrélée à l'inhibition de la croissance tumorale (122). Cependant, le lien entre l'efficacité thérapeutique et l'éosinophilie est principalement basé sur des analyses de corrélation, et aucune conclusion n'a pu être donnée sur les mécanismes d'action de ces éosinophiles dans la modulation de la croissance tumorale.

IV.3.2. Données *in vivo*

Quelques études, menées chez l'animal, suggèrent un lien entre l'éradication des tumeurs et le recrutement d'éosinophiles. En 1992, Tepper et *al.* montrent que des cellules tumorales murines, modifiées pour produire de l'IL-4 par transfection, ont une tumorigénicité réduite ou absente lorsqu'elles sont réintroduites chez l'animal (120). L'injection de ces cellules induit un infiltrat tumoral composé principalement d'éosinophiles et de macrophages. Le rôle de l'IL-4 dans la cytotoxicité anti-tumorale a clairement été mis en évidence dans ce modèle (120).

Plus tard, dans un modèle de mélanome murin résistant aux lymphocytes T cytotoxiques, la disparition des métastases pulmonaires par les lymphocytes Th2 est sous le contrôle de l'éotaxine et du facteur de transcription STAT6 (Signal Transducer and Activator of Transcription 6). L'éradication de ces métastases est associée à un influx d'éosinophiles dégranulés au sein de la tumeur (76). Bien que l'incubation d'éosinophiles avec une lignée cellulaire de mélanome, les B16, n'entraîne pas de lyse de ces cellules, la cytotoxicité des lysats d'éosinophiles a été démontrée. De plus, un marquage immunohistochimique sur des sections de métastases pulmonaires ont montré la présence de MBP (76). Il apparaît donc que le microenvironnement tumoral peut fournir des signaux de dégranulation aux éosinophiles et de destruction tumorale. Néanmoins, une des limites de ces modèles est l'utilisation de cellules cancéreuses exprimant des cytokines ou de l'ovalbumine pour faciliter le développement d'une réponse Th2.

En utilisant un modèle différent avec des cellules tumorales non modifiées dans des souris de type sauvage, Cormier et *al.* ont étudié la fonction des éosinophiles dans un cadre plus physiologique. Ils montrent que l'infiltration de ces cellules est une réponse précoce et persistante (110).

Dans une autre étude, Simson et *al.* ont étudié le rôle des éosinophiles dans la surveillance tumorale dans plusieurs modèles murins de fibrosarcome génétiquement modifiés. Quand ils utilisent des souris transgéniques pour l'IL-5, qui ont des taux élevés d'éosinophiles, une diminution significative de l'incidence et de la croissance tumorale a été démontrée. Ce résultat est corrélé au taux d'éosinophiles au sein de la tumeur et au niveau du tissu connectif l'entourant (123). Au contraire, une augmentation de l'incidence tumorale et un influx réduit d'éosinophiles a été

observé chez des modèles murins avec des taux faibles d'éosinophiles (CCL11 -/-) ou déficients en éosinophiles (IL-5/CCL11 -/- et Δ dbl GATA) (123).

IV.3.3. Données *in vitro*

Si des expériences *in vivo* suggèrent un rôle des éosinophiles dans l'immunité anti-tumorale, les mécanismes impliqués restent mal compris. De même, ces études restent peu pertinentes du fait de la grande disparité morphologique, phénotypique et activatrice entre les éosinophiles murins et humains (124,125). Ainsi, les études effectuées *in vitro*, sur des prélèvements humains, permettent à la fois de confirmer le rôle cytotoxique anti-tumoral des éosinophiles mais également d'apporter des éléments de réponse quant aux mécanismes impliqués.

IV.3.3.1. Mise en évidence de nouveaux récepteurs

La démonstration récente que les éosinophiles expriment des récepteurs et des médiateurs partagés avec les lymphocytes T cytotoxiques, connus pour être impliqués dans les réponses anti-tumorales, donnent des arguments supplémentaires en faveur du rôle tumoricide des éosinophiles. Munitz et *al.* ont mis en évidence que les éosinophiles expriment un récepteur 2B4 fonctionnel, faisant partie de la super-famille des immunoglobulines, sous-famille du CD2 et qui est également exprimé par les cellules T. L'activation des éosinophiles via le 2B4 entraîne une cytotoxicité vis-à-vis de deux lignées cellulaires tumorales (cellules de mastocytome murin P815 et des lignées cellulaires infectées par l'EBV (Epstein-Barr Virus), 721.221 B) (85). Plus récemment, des études faites dans notre laboratoire, mettent en évidence l'expression d'un autre récepteur, communs avec les lymphocytes T, le complexe CD3/TCR $\gamma\delta$ (26). Les lymphocytes $\gamma\delta$ sont des acteurs centraux dans la défense contre le cancer, et leurs ligands, les phosphoantigènes, sont exprimés par de nombreuses cellules tumorales. L'activation des éosinophiles via ce récepteur entraîne la production d'espèces réactives à l'oxygène (ROS) et la libération des protéines granulaires cytotoxiques, confirmant la fonctionnalité de ce récepteur.

IV.3.3.2. Activité cytotoxique des éosinophiles

Les expérimentations que j'ai pu effectuer, au sein du laboratoire du Professeur Capron, montrent qu'après mise en culture, les éosinophiles humains sont capables d'induire significativement la mort cellulaire de plusieurs lignées cellulaires tumorales humaines avec un effet cytotoxique hétérogène (Fig 7A.). Il est à noter que l'on observe une cytotoxicité plus importante vis-à-vis d'une lignée cellulaire humaine de carcinome du colon, les Colo-205 (26,126).

Lorsque les éosinophiles sont mis en contact avec ces cellules, une augmentation d'environ 15% de l'apoptose des Colo-205 est observée dès 15 minutes de co-incubation (n=12; p<0.05) et de plus de 60% après 6 heures de contact (n=15; p<0.001) (Fig 8B.). Ces données suggèrent que les éosinophiles humains ont des propriétés tumoricides directes.

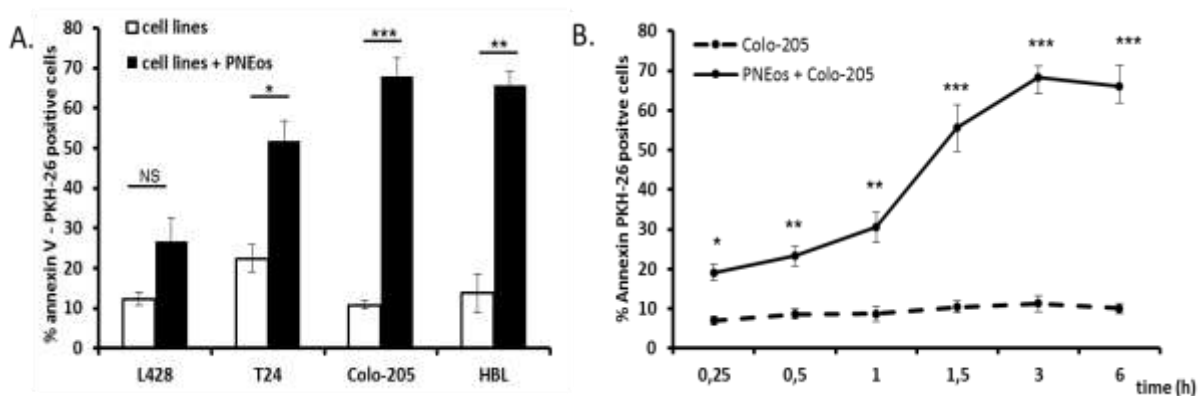


Figure 7: Activité cytotoxique anti-tumorale des éosinophiles.

A. Hétérogénéité fonctionnelle des éosinophiles. Les cellules cancéreuses humaines de la maladie de Hodgkin (L428), de carcinome de la vessie (T24), de carcinome du colon (Colo-205), de mélanome (HBL) sont préalablement marquées par du PKH-26. La mort cellulaire est montrée par marquage Annexine V en cytométrie en flux après 3h de co-incubation avec les éosinophiles. (n= 5-15; *<0.05; **<0.01; ***<0.001).

B. Cytotoxicité temps-dépendante des éosinophiles vis-à-vis des Colo-205. Les éosinophiles induisent l'apoptose des Colo-205 dès 15 minutes de co-incubation (n= 7-17)

Un contact entre ces deux types cellulaires est essentiel pour induire la cytotoxicité, démontré par le rôle des molécules d'adhérence CD11a/CD18 dans ce processus cytolytique (126) et par les études de microscopie électronique (116). Ces études suggèrent l'existence d'un dialogue entre les éosinophiles et les cellules tumorales viables (36). Les médiateurs impliqués dans l'immunité anti-tumorale sont

nombreux et inclus notamment l'ECP, l'EDN, le TNF (Tumor Necrosis Factor) et le granzyme A, produits par les éosinophiles. Ce dernier, qui est classiquement associé aux lymphocytes T cytotoxiques, a été récemment identifié dans les éosinophiles et agit en synergie avec la protéine cationique, ECP (126). Ces résultats *in vitro* suggèrent que, via leurs récepteurs et médiateurs impliqués dans la cytotoxicité tumorale, les éosinophiles participent aux réponses anti-tumorales.

IV.4. Allergo-Oncologie

Le concept « d'Allergo-Oncologie », à la naissance duquel notre laboratoire a été directement associé (127), est basé sur la notion de relation positive entre allergies et cancers. Cette relation a été initialement démontrée par des études épidémiologiques ainsi que par la capacité des IgE à détruire les cellules cancéreuses après reconnaissance des antigènes tumoraux par un mécanisme d'ADCC. Notre laboratoire a démontré que les éosinophiles présentant à leur surface le FcεR1 sont donc capables de fixer des IgE (49). De plus, il est connu que les éosinophiles issus de patients allergiques présentent plus d'IgE de surface (46), ce qui pourrait permettre d'expliquer en partie le potentiel cytotoxique anti-tumoral plus important.

IV.4.1. Relation Allergie et cancer

Le débat s'intéressant à la relation entre l'allergie et le cancer n'est pas nouveau et reste valide. Deux hypothèses générales peuvent être considérées. La première est que l'inflammation allergique augmente l'immunosurveillance tumorale, la rendant plus efficace. La seconde est qu'elle altère le fonctionnement du système immunitaire, promouvant le développement tumoral.

Tout d'abord, les études épidémiologiques ont cherché à démontrer une association entre un contexte d'allergie médiée par les IgE et les cancers. Ces études ont été résumées dans des revues récentes (128,129). Bien que les résultats ne soient pas parfaitement clairs, il y a plusieurs preuves qui suggèrent l'existence d'une relation inverse. Pour l'instant, les expériences faites chez les souris transgéniques pour l'IL-5 démontrent que la TATE est associée à une suppression

des tumeurs, et pas à une augmentation de la vascularité et de la progression tumorale (123). Ces résultats suggèrent que les éosinophiles peuvent exercer leurs fonctions anti-tumorales dans un environnement riche en IL-5, comme c'est le cas dans les allergies. De plus, les études effectuées au sein du laboratoire montrent que les éosinophiles purifiés à partir des donneurs allergiques induisent une apoptose des cellules cancéreuses significativement plus importante que les éosinophiles issus de donneurs non-allergiques (126), suggérant un état de pré-activation des éosinophiles chez les sujets allergiques (Fig 8.).

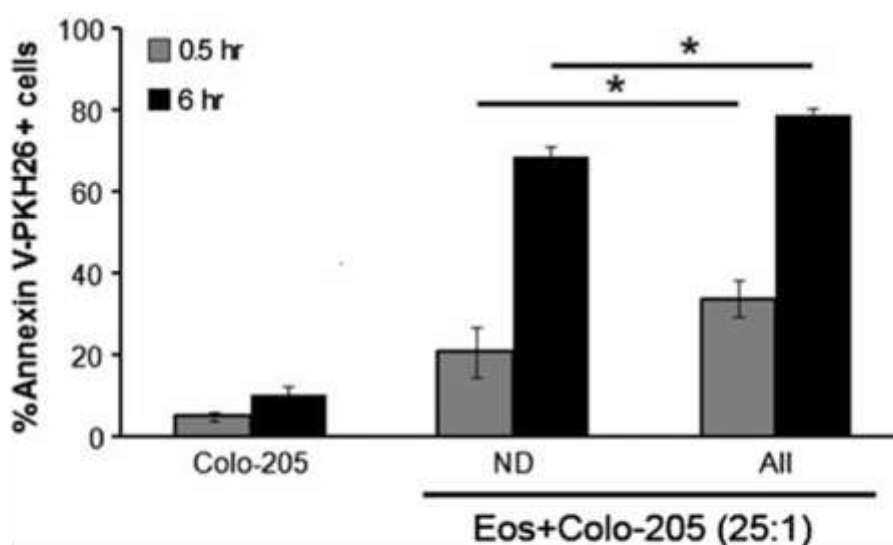


Figure 8: Potentiel cytotoxique des éosinophiles purifiés auprès de 'Normal Donors' (n=4) ou de patients allergiques (n=6) vis-à-vis des Colo-205.

Figure tirée de Gatault S, Legrand F, Delbeke M, Capron M. Cancer Immunol Immunoth, 2012.

IV.4.2. Polymorphisme génétique de l'ECP

En plus des processus impliquant les IgE ou l'IL-5, il doit être noté l'existence d'un polymorphisme génétique dans le gène de l'ECP, conduisant à la production de l'ECPArg97. La présence de cette ECP mutée est associée à l'apparition de symptômes allergiques (40) et la maladie de Hodgkin de type sclérose nodulaire (102). Ces corrélations entre les symptômes allergiques et la fibrose dans le lymphome est en faveur d'une altération biologique de la fonction de l'ECP en fonction du génotype.

IV.4.3. Utilisation des IgE dans l'immunothérapie des cancers

L'hétérogénéité de cytotoxicité des éosinophiles observée chez les sujets allergiques et non allergiques pourrait également suggérer que la réponse au développement tumoral est plus efficace chez les sujets allergiques, avec un potentiel rôle de « senseur » des IgE (127). Comme écrit précédemment, les éosinophiles expriment aussi bien les récepteurs pour les IgE de faible et de forte affinité (FcεRI) (cf. § II.2.2. p20) et des IgE de surface ont pu être détectées sur les éosinophiles des donneurs allergiques (46). Ainsi, un mécanisme de toxicité cellulaire dépendant des anticorps via les IgE pourrait également être impliqué, comme cela se passe vis-à-vis des cibles parasitaires (49).

L'utilisation d'anticorps monoclonaux dans le traitement de cancers est de plus en plus fréquente. Actuellement, seuls les anticorps de la classe des IgG (en général des IgG1) sont utilisés. Cependant, les anticorps de la classe des IgE présentent plusieurs avantages. Tout d'abord l'affinité des IgE pour son récepteur de forte affinité, FcεRI, est de l'ordre de 10^2 à 10^5 fois plus importante que celle des IgG pour leurs récepteurs et leur demi-vie dans les tissus est d'environ deux semaines, contre deux à trois jours pour les IgG. En plus des éosinophiles, les monocytes/macrophages, les mastocytes et les cellules dendritiques expriment également le FcεRI. Il est intéressant de noter que les cellules effectrices des IgE sont des cellules à tropisme tissulaire, connues pour être présentes en quantité importante au sein des tumeurs. Il faut également noter que, contrairement aux IgG, les IgE n'ont pas de récepteur inhibiteur et surtout qu'ils induisent des fonctions effectrices d'ADCC très puissantes.

La longue dissociation entre les IgE et le FcεRI ainsi que leur rétention tissulaire pourraient permettre l'utilisation de doses thérapeutiques plus faibles ou une diminution de la fréquence d'administration (130,131). Les anticorps monoclonaux de type IgE pourraient donc être des classes thérapeutiques très intéressantes dans l'immunothérapie du cancer.

Afin de tester cette hypothèse, deux anticorps monoclonaux de la classe des IgE ont été créés, le premier ciblant EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor), exprimé par des cellules de carcinome du colon ou du naso-pharynx, le second ciblant l'HER2/neu, proto-oncogène surexprimé dans certains cancers du sein et du

colon. Ces deux anticorps ont montré leur efficacité *in vitro et in vivo*, supérieure à celle observée avec les anticorps correspondant de la classe des IgG, le cetuximab et le trastuzumab, ces deux anticorps monoclonaux étant les traitements de référence des cancers exprimant l'EGFR et l'HER2/neu respectivement (132,133).

Ainsi, les éosinophiles sont au centre de ce concept d'allergo-oncologie par le fait que ces cellules soient, dans un contexte et environnement allergique, plus cytotoxique vis-à-vis des cibles tumorales, donnant un début d'explication aux études épidémiologiques reliant allergie et incidence de cancers, et qu'elles soient également les cellules effectrices privilégiées de l'ADCC médiée par les IgE.

V-Conclusion et perspectives

Toutes ces données montrent que les éosinophiles, dont la fonction a longtemps été restreinte à une activité effectrice dans les infections parasitaires ou dans les maladies allergiques, sont en fait capables de jouer également un rôle dans la défense anti-tumorale et l'immunosurveillance, en agissant en synergie avec les autres leucocytes impliqués dans cette réponse.

Bien que la relevance *in vivo* de ces nouvelles capacités pour les éosinophiles nécessite d'être démontrée, leur localisation tissulaire, leur recrutement au sein de nombreuses tumeurs ainsi que leur potentiel cytotoxique reconnu, sont autant d'arguments qui supportent le rôle effecteur de ces cellules dans l'immunité anti-tumorale. Des études supplémentaires devront également être faites dans le but de décrypter les interactions moléculaires mises en jeu entre les éosinophiles et les cellules cancéreuses.

De par leur capacité à participer aussi bien aux réponses immunitaires innée qu'adaptative, les éosinophiles pourraient jouer un rôle central dans tous les stades de la pathologie, précoces et plus tardifs. Tout d'abord, ils sont capables d'intégrer les signaux de dangers libérés par les cellules nécrotiques et d'y répondre rapidement et sélectivement. Ils sont ensuite capables de recruter et d'activer les lymphocytes T et B par leur fonction de cellule présentatrices d'antigène et peuvent,

en retour être activés par ceux-ci afin de participer à l'immunité adaptative en polarisant la fonction immunitaire. Enfin ils peuvent également participer à la clairance des débris cellulaires au niveau des tissus lésés. Il en est de même avec l'activation de leur fonction cytotoxique directe, due à leurs grands nombre de médiateurs. Celle-ci peut être induite par les alarmines ou les DAMPs, mais également par un mécanisme d'ADCC.

La détermination des mécanismes impliqués dans un type de cancer donné pourrait conduire à considérer de nouvelles perspectives thérapeutiques, notamment en induisant l'activation des éosinophiles par l'utilisation d'agonistes de leurs récepteurs par exemple. A moins long terme, il serait également envisageable d'utiliser des anticorps monoclonaux de la classe des IgE afin d'activer les cellules ayant leur récepteur de la fraction Fc à leur surface, dont et principalement les éosinophiles.

Les polynucléaires éosinophiles sont donc des cellules tout à fait particulières, par leurs fonctions effectrices et régulatrices dans des situations d'homéostasie et de pathologies. Encore aujourd'hui, la grande majorité des études considère les éosinophiles comme des cellules purement néfastes. Cependant, à la vue des résultats présentés dans cette thèse, il est nécessaire de reconnaître leurs rôles bénéfiques en particulier dans l'immunité anti-tumorale.

Bibliographie

1. Graf T. Differentiation plasticity of hematopoietic cells. *Blood*. 2002 May 1;99(9):3089–101.
2. Rosenbauer F, Tenen DG. Transcription factors in myeloid development: balancing differentiation with transformation. *Nat Rev Immunol*. 2007 Feb;7(2):105–17.
3. Lee JJ, Rosenberg HF. *Eosinophils in Health and Disease*. Elsevier; 2013. 679 p.
4. McNagny K, Graf T. Making Eosinophils Through Subtle Shifts in Transcription Factor Expression. *J Exp Med*. 2002 Jun 3;195(11):F43–F47.
5. Gombart AF, Kwok SH, Anderson KL, Yamaguchi Y, Torbett BE, Koeffler HP. Regulation of neutrophil and eosinophil secondary granule gene expression by transcription factors C/EBP ϵ and PU.1. *Blood*. 2003 Apr 15;101(8):3265–73.
6. Bedi R, Du J, Sharma AK, Gomes I, Ackerman SJ. Human C/EBP- ϵ activator and repressor isoforms differentially reprogram myeloid lineage commitment and differentiation. *Blood*. 2009 Jan 8;113(2):317–27.
7. Dent LA, Strath M, Mellor AL, Sanderson CJ. Eosinophilia in transgenic mice expressing interleukin 5. *J Exp Med*. 1990 Nov 1;172(5):1425–31.
8. Kopf M, Brombacher F, Hodgkin PD, Ramsay AJ, Milbourne EA, Dai WJ, et al. IL-5-deficient mice have a developmental defect in CD5+ B-1 cells and lack eosinophilia but have normal antibody and cytotoxic T cell responses. *Immunity*. 1996 Jan;4(1):15–24.
9. Mori Y, Iwasaki H, Kohno K, Yoshimoto G, Kikushige Y, Okeda A, et al. Identification of the human eosinophil lineage-committed progenitor: revision of phenotypic definition of the human common myeloid progenitor. *J Exp Med*. 2009 Jan 16;206(1):183–93.
10. Melo RCN, Liu L, Xenakis JJ, Spencer LA. Eosinophil-derived cytokines in health and disease: unraveling novel mechanisms of selective secretion. *Allergy*. 2013 Mar 1;68(3):274–84.
11. Rothenberg ME, Owen WF Jr, Silberstein DS, Soberman RJ, Austen KF, Stevens RL. Eosinophils cocultured with endothelial cells have increased survival and functional properties. *Science*. 1987 Aug 7;237(4815):645–7.
12. Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, Rothenberg ME. Peyer's patch eosinophils: identification, characterization, and regulation by mucosal allergen exposure, interleukin-5, and eotaxin. *Blood*. 2000 Aug 15;96(4):1538–44.
13. Rothenberg ME, Hogan SP. The Eosinophil. *Annu Rev Immunol*. 2006;24(1):147–74.
14. Svensson-Frej M. Immunobiology of Intestinal Eosinophils – A Dogma in the Changing? *J Innate Immun*. 2011;3(6):565–76.
15. Forbes E, Hulett M, Ahrens R, Wagner N, Smart V, Matthaei KI, et al. ICAM-1-dependent pathways regulate colonic eosinophilic inflammation. *J Leukoc Biol*. 2006 Aug;80(2):330–41.
16. Kita H. Eosinophils: multifaceted biological properties and roles in health and disease. *Immunol Rev*. 2011 Jul 1;242(1):161–77.

17. Stenfeldt A-L, Wennerås C. Danger signals derived from stressed and necrotic epithelial cells activate human eosinophils. *Immunology*. 2004;112(4):605–14.
18. Wong CK, Cheung PFY, Ip WK, Lam CWK. Intracellular Signaling Mechanisms Regulating Toll-Like Receptor–Mediated Activation of Eosinophils. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2007 Jul;37(1):85–96.
19. Driss V, Legrand F, Loiseau S, Capron M. L'éosinophile□: nouvel acteur de la réponse immunitaire innée□? *médecine/sciences*. 2010 Jun;26(6-7):621–6.
20. Nagase H, Okugawa S, Ota Y, Yamaguchi M, Tomizawa H, Matsushima K, et al. Expression and Function of Toll-Like Receptors in Eosinophils: Activation by Toll-Like Receptor 7 Ligand. *J Immunol*. 2003 Oct 15;171(8):3977–82.
21. Driss V, Legrand F, Hermann E, Loiseau S, Guerardel Y, Kremer L, et al. TLR2-dependent eosinophil interactions with mycobacteria: role of α -defensins. *Blood*. 2009 Apr 2;113(14):3235–44.
22. Wada K, Matsuwaki Y, Yoon J, Benson LM, Checkel JL, Bingemann TA, et al. Inflammatory responses of human eosinophils to cockroach are mediated through protease-dependent pathways. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Jul;126(1):169–172.e2.
23. Matsuwaki Y, Wada K, White TA, Benson LM, Charlesworth MC, Checkel JL, et al. Recognition of Fungal Protease Activities Induces Cellular Activation and Eosinophil-Derived Neurotoxin Release in Human Eosinophils. *J Immunol*. 2009 Nov 15;183(10):6708–16.
24. Bolton SJ, McNulty CA, Thomas RJ, Hewitt CRA, Wardlaw AJ. Expression of and functional responses to protease-activated receptors on human eosinophils. *J Leukoc Biol*. 2003 Jul 1;74(1):60–8.
25. Fischer E, Capron M, Prin L, Kusnierz JP, Kazatchkine MD. Human eosinophils express CR1 and CR3 complement receptors for cleavage fragments of C3. *Cell Immunol*. 1986 Feb;97(2):297–306.
26. Legrand F, Driss V, Woerly G, Loiseau S, Hermann E, Fournié J-J, et al. A Functional $\gamma\delta$ TCR/CD3 Complex Distinct from $\gamma\delta$ T Cells Is Expressed by Human Eosinophils. *PLoS ONE*. 2009 Jun 17;4(6):e5926.
27. Simon D, Simon H-U, Yousefi S. Extracellular DNA traps in allergic, infectious, and autoimmune diseases. *Allergy*. 2013 Apr 1;68(4):409–16.
28. Yousefi S, Gold JA, Andina N, Lee JJ, Kelly AM, Kozlowski E, et al. Catapult-like release of mitochondrial DNA by eosinophils contributes to antibacterial defense. *Nat Med*. 2008 Sep;14(9):949–53.
29. Morshed M, Yousefi S, Stöckle C, Simon H-U, Simon D. Thymic stromal lymphopoietin stimulates the formation of eosinophil extracellular traps. *Allergy*. 2012 Sep 1;67(9):1127–37.
30. Herrmann M. Monosodium urate crystals induce extracellular DNA traps in neutrophils, eosinophils, and basophils but not in mononuclear cells. *Front Inflamm*. 2012;3:277.
31. Truong M-J, Gruart V, Liu F-T, Prin L, Capron A, Capron M. IgE-binding molecules (Mac-2/ ϵ BP) expressed by human eosinophils. Implication in IgE-dependent eosinophil cytotoxicity. *Eur J Immunol*. 1993 Dec 1;23(12):3230–5.

32. Akuthota P, Wang H, Weller PF. Eosinophils as antigen-presenting cells in allergic upper airway disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010 Feb;10(1):14–9.
33. Plager DA, Loegering DA, Checkel JL, Tang J, Kephart GM, Caffes PL, et al. Major Basic Protein Homolog (MBP2): A Specific Human Eosinophil Marker. *J Immunol*. 2006 Nov 15;177(10):7340–5.
34. Thomas LL, Kubo H, Loegering DJ, Spillard K, Weaver AJ, McCormick DJ, et al. Peptide-based analysis of amino acid sequences important to the biological activity of eosinophil granule major basic protein. *Immunol Lett*. 2001 Oct 1;78(3):175–81.
35. Kita H, Abu-Ghazaleh RI, Sur S, Gleich GJ. Eosinophil major basic protein induces degranulation and IL-8 production by human eosinophils. *J Immunol*. 1995 May 1;154(9):4749–58.
36. Jacoby DB, Gleich GJ, Fryer AD. Human eosinophil major basic protein is an endogenous allosteric antagonist at the inhibitory muscarinic M2 receptor. *J Clin Invest*. 1993 Apr 1;91(4):1314–8.
37. Pégorier S, Wagner LA, Gleich GJ, Pretolani M. Eosinophil-Derived Cationic Proteins Activate the Synthesis of Remodeling Factors by Airway Epithelial Cells. *J Immunol*. 2006 Oct 1;177(7):4861–9.
38. Rosenberg HF. RNase A ribonucleases and host defense: an evolving story. *J Leukoc Biol*. 2008 May 1;83(5):1079–87.
39. Navarro S, Aleu J, Jiménez M, Boix E, Cuchillo CM, Nogués MV. The cytotoxicity of eosinophil cationic protein/ribonuclease 3 on eukaryotic cell lines takes place through its aggregation on the cell membrane. *Cell Mol Life Sci*. 2008 Jan 1;65(2):324–37.
40. Jönsson U-B, Byström J, Stålenheim G, Venge P. Polymorphism of the eosinophil cationic protein-gene is related to the expression of allergic symptoms. *Clin Exp Allergy*. 2002;32(7):1092–5.
41. Jönsson U-B, Byström J, Stålenheim G, Venge P. A (G→C) transversion in the 3' UTR of the human ECP (eosinophil cationic protein) gene correlates to the cellular content of ECP. *J Leukoc Biol*. 2006 Apr 1;79(4):846–51.
42. Eriksson J, Woschnagg C, Fernvik E, Venge P. A SELDI-TOF MS study of the genetic and post-translational molecular heterogeneity of eosinophil cationic protein. *J Leukoc Biol*. 2007 Dec 1;82(6):1491–500.
43. Yang D, Chen Q, Rosenberg HF, Rybak SM, Newton DL, Wang ZY, et al. Human Ribonuclease A Superfamily Members, Eosinophil-Derived Neurotoxin and Pancreatic Ribonuclease, Induce Dendritic Cell Maturation and Activation. *J Immunol*. 2004 Nov 15;173(10):6134–42.
44. Yang D, Chen Q, Su SB, Zhang P, Kurosaka K, Caspi RR, et al. Eosinophil-derived neurotoxin acts as an alarmin to activate the TLR2–MyD88 signal pathway in dendritic cells and enhances Th2 immune responses. *J Exp Med*. 2008 Jan 21;205(1):79–90.
45. Ulrich M, Petre A, Youhnovski N, Prömm F, Schirle M, Schumm M, et al. Post-translational Tyrosine Nitration of Eosinophil Granule Toxins Mediated by Eosinophil Peroxidase. *J Biol Chem*. 2008 Oct 17;283(42):28629–40.

46. Tomassini M, Tsicopoulos A, Tai PC, Gruart V, Tonnel AB, Prin L, et al. Release of granule proteins by eosinophils from allergic and nonallergic patients with eosinophilia on immunoglobulin-dependent activation. *J Allergy Clin Immunol*. 1991 Sep;88(3 Pt 1):365–75.
47. Kahn J-E, Dutoit-Lefevre V, Duban-Deweere S, Chafey P, Pottiez G, Lefranc D, et al. Comparative Proteomic Analysis of Blood Eosinophils Reveals Redox Signaling Modifications in Patients with FIP1L1-PDGFR α -Associated Chronic Eosinophilic Leukemia. *J Proteome Res*. 2011 Apr 1;10(4):1468–80.
48. Capron M, Bazin H, Joseph M, Capron A. Evidence for IgE-dependent cytotoxicity by rat eosinophils. *J Immunol*. 1981 May 1;126(5):1764–8.
49. SoussiGounni A, Lamkhioued B, Ochiai K, Tanaka Y, Delaporte E, Capron A, et al. High-affinity IgE receptor on eosinophils is involved in defence against parasites. *Nature*. 1994 Jan 13;367(6459):183–6.
50. Shamri R, Xenakis JJ, Spencer LA. Eosinophils in innate immunity: an evolving story. *Cell Tissue Res*. 2011 Jan 1;343(1):57–83.
51. Woerly G, Lacy P, Younes AB, Roger N, Loiseau S, Moqbel R, et al. Human eosinophils express and release IL-13 following CD28-dependent activation. *J Leukoc Biol*. 2002 Oct 1;72(4):769–79.
52. Lacy P, Levi-Schaffer F, Mahmudi-Azer S, Bablitz B, Hagen SC, Velazquez J, et al. Intracellular Localization of Interleukin-6 in Eosinophils From Atopic Asthmatics and Effects of Interferon γ . *Blood*. 1998 Apr 1;91(7):2508–16.
53. 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 Aug 16;190(4):487–96.
54. Stein M, Keshav S, Harris N, Gordon S. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. *J Exp Med*. 1992 Jul 1;176(1):287–92.
55. Spencer LA, Szela CT, Perez SAC, Kirchhoffer CL, Neves JS, Radke AL, et al. Human eosinophils constitutively express multiple Th1, Th2, and immunoregulatory cytokines that are secreted rapidly and differentially. *J Leukoc Biol*. 2009 Jan 1;85(1):117–23.
56. Wang H-B, Ghiran I, Matthaei K, Weller PF. Airway Eosinophils: Allergic Inflammation Recruited Professional Antigen-Presenting Cells. *J Immunol*. 2007 Dec 1;179(11):7585–92.
57. Jacobsen EA, Zellner KR, Colbert D, Lee NA, Lee JJ. Eosinophils regulate dendritic cells and Th2 pulmonary immune responses following allergen provocation. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2011 Dec 1;187(11):6059–68.
58. Chu VT, Fröhlich A, Steinhauser G, Scheel T, Roch T, Fillatreau S, et al. Eosinophils are required for the maintenance of plasma cells in the bone marrow. *Nat Immunol*. 2011 Feb;12(2):151–9.
59. Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS. Eosinophils: changing perspectives in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2013 Jan;13(1):9–22.
60. Wu D, Molofsky AB, Liang H-E, Ricardo-Gonzalez RR, Jouihan HA, Bando JK, et al. Eosinophils Sustain Adipose Alternatively Activated Macrophages Associated with Glucose Homeostasis. *Science*. 2011 Apr 8;332(6026):243–7.

61. Lee JJ, Jacobsen EA, McGarry MP, Schleimer RP, Lee NA. Eosinophils in health and disease: the LIAR hypothesis. *Clin Exp Allergy*. 2010 Apr 1;40(4):563–75.
62. Jacobsen EA, Helmers RA, Lee JJ, Lee NA. The expanding role(s) of eosinophils in health and disease. *Blood*. 2012 Nov 8;120(19):3882–90.
63. Gotlib J. World Health Organization-defined eosinophilic disorders: 2014 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2014 Mar 1;89(3):325–37.
64. Legrand F, Renneville A, Macintyre E, Mastrilli S, Ackermann F, Cayuela JM, et al. The Spectrum of FIP1L1-PDGFR α -Associated Chronic Eosinophilic Leukemia: New Insights Based on a Survey of 44 Cases. *Medicine (Baltimore)*. 2013 Aug 26;
65. Kay AB. The role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Trends Mol Med*. 2005 Apr;11(4):148–52.
66. Leckie MJ, Brinke A ten, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *The Lancet*. 2000 Dec 30;356(9248):2144–8.
67. Menzies-Gow A, Flood-Page P, Sehmi R, Burman J, Hamid Q, Robinson DS, et al. Anti-IL-5 (mepolizumab) therapy induces bone marrow eosinophil maturational arrest and decreases eosinophil progenitors in the bronchial mucosa of atopic asthmatics. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 Apr;111(4):714–9.
68. Castro M, Mathur S, Hargreave F, Boulet L-P, Xie F, Young J, et al. Reslizumab for Poorly Controlled, Eosinophilic Asthma: A Randomized, Placebo-controlled Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011 Nov 15;184(10):1125–32.
69. Pavord ID, Korn S, Howarth P, Bleecker ER, Buhl R, Keene ON, et al. Mepolizumab for severe eosinophilic asthma (DREAM): a multicentre, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet*. 2012 Aug 24;380(9842):651–9.
70. Gatault S, Legrand F, Delbeke M, Loiseau S, Capron M. Involvement of eosinophils in the anti-tumor response. *Cancer Immunol Immunother*. 2012 Sep 1;61(9):1527–34.
71. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*. 2002 Nov;3(11):991–8.
72. Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, Smyth MJ. New insights into cancer immunoediting and its three component phases — elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol*. 2014 Apr;27:16–25.
73. Jessy T. Immunity over inability: The spontaneous regression of cancer. *J Nat Sci Biol Med*. 2011;2(1):43.
74. Degiovanni G, Hainaut P, Lahaye T, Weynants P, Boon T. Antigens recognized on a melanoma cell line by autologous cytolytic T lymphocytes are also expressed on freshly collected tumor cells. *Eur J Immunol*. 1990 Aug;20(8):1865–8.
75. Bui JD, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance, immunoediting and inflammation: independent or interdependent processes? *Curr Opin Immunol*. 2007 Apr;19(2):203–8.
76. Mattes J, Hulett M, Xie W, Hogan S, Rothenberg ME, Foster P, et al. Immunotherapy of Cytotoxic T Cell-resistant Tumors by T Helper 2 Cells An Eotaxin and STAT6-dependent Process. *J Exp Med*. 2003 Feb 3;197(3):387–93.

77. Ellyard JI, Simson L, Parish CR. Th2-mediated anti-tumour immunity: friend or foe? *Tissue Antigens*. 2007 Jul 1;70(1):1–11.
78. Costello R, O'Callaghan T, Sébahoun G. [Eosinophils and antitumour response]. *Rev Médecine Interne Fondée Par Société Natl Francaise Médecine Interne*. 2005 Jun;26(6):479–84.
79. Waldhauer I, Steinle A. NK cells and cancer immunosurveillance. *Oncogene*. 2008;27(45):5932–43.
80. Narendra BL, Reddy KE, Shantikumar S, Ramakrishna S. Immune system: a double-edged sword in cancer. *Inflamm Res*. 2013 Sep 1;62(9):823–34.
81. Locati M, Mantovani A, Sica A. Chapter Six - Macrophage Activation and Polarization as an Adaptive Component of Innate Immunity. In: Kenneth M. Murphy and Miriam Merad, editor. *Advances in Immunology* [Internet]. Academic Press; 2013
82. Long KB, Beatty GL. Harnessing the antitumor potential of macrophages for cancer immunotherapy. *Oncoimmunology*. 2013 Dec 1;2(12):e26860.
83. Darcy PK, Neeson P, Yong CS, Kershaw MH. Manipulating immune cells for adoptive immunotherapy of cancer. *Curr Opin Immunol*. 2014 Apr;27:46–52.
84. Dalton DK, Noelle RJ. The roles of mast cells in anticancer immunity. *Cancer Immunol Immunother*. 2012 Sep 1;61(9):1511–20.
85. Munitz A, Levi-Schaffer F. Eosinophils: “new” roles for “old” cells. *Allergy*. 2004;59(3):268–75.
86. Lowe D, Jorizzo J, Hutt MS. Tumour-associated eosinophilia: a review. *J Clin Pathol*. 1981 Dec 1;34(12):1343–8.
87. Lowe D, Fletcher CD, Shaw MP, McKee PH. Eosinophil infiltration in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma of the skin. *Histopathology*. 1984 Jul;8(4):619–25.
88. Dorta RG, Landman G, Kowalski LP, Lauris JRP, Latorre MRDO, Oliveira DT. Tumour-associated tissue eosinophilia as a prognostic factor in oral squamous cell carcinomas. *Histopathology*. 2002;41(2):152–7.
89. Alkhabuli JO, High AS. Significance of eosinophil counting in tumor associated tissue eosinophilia (TATE). *Oral Oncol*. 2006 Sep;42(8):849–50.
90. Pretlow TP, Keith EF, Cryar AK, Bartolucci AA, Pitts AM, Pretlow TG, et al. Eosinophil Infiltration of Human Colonic Carcinomas as a Prognostic Indicator. *Cancer Res*. 1983 Jun 1;43(6):2997–3000.
91. Fernández-Aceñero MJ, Galindo-Gallego M, Sanz J, Aljama A. Prognostic influence of tumor-associated eosinophilic infiltrate in colorectal carcinoma. *Cancer*. 2000;88(7):1544–8.
92. Nielsen HJ, Hansen U, Christensen IJ, Reimert CM, Brünner N, Moesgaard F. Independent prognostic value of eosinophil and mast cell infiltration in colorectal cancer tissue. *J Pathol*. 1999;189(4):487–95.
93. Prizment AE, Anderson KE, Visvanathan K, Folsom AR. Inverse Association of Eosinophil Count with Colorectal Cancer Incidence: Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011 Sep 1;20(9):1861–4.

94. Ishibashi S, Ohashi Y, Suzuki T, Miyazaki S, Moriya T, Satomi S, et al. Tumor-associated Tissue Eosinophilia in Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res.* 2006 Mar 1;26(2B):1419–24.
95. Cuschieri A, Talbot IC, Weeden S. Influence of pathological tumour variables on long-term survival in resectable gastric cancer. *Br J Cancer.* 2002 Mar 8;86(5):674–9.
96. Nagtegaal ID, Marijnen CA, Kranenbarg EK, Mulder-Stapel A, Hermans J, van de Velde CJ, et al. Local and distant recurrences in rectal cancer patients are predicted by the nonspecific immune response; specific immune response has only a systemic effect--a histopathological and immunohistochemical study. *BMC Cancer.* 2001;1:7.
97. Fujii M, Yamashita T, Ishiguro R, Tashiro M, Kameyama K. Significance of epidermal growth factor receptor and tumor associated tissue eosinophilia in the prognosis of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Auris Nasus Larynx.* 2002 Apr 1;29(2):175–81.
98. Ono Y, Ozawa M, Tamura Y, Suzuki T, Suzuki K, Kurokawa K, et al. Tumor-associated tissue eosinophilia of penile cancer. *Int J Urol.* 2002;9(2):82–7.
99. Luna-Moré S, Florez P, Ayala A, Diaz F, Santos A. Neutral and Acid Mucins and Eosinophil and Argyrophil Crystalloids in Carcinoma and Atypical Adenomatous Hyperplasia of the Prostate. *Pathol - Res Pract.* 1997;193(4):291–8.
100. Wasielewski R von, Seth S, Franklin J, Fischer R, Hübner K, Hansmann ML, et al. Tissue eosinophilia correlates strongly with poor prognosis in nodular sclerosing Hodgkin's disease, allowing for known prognostic factors. *Blood.* 2000 Feb 15;95(4):1207–13.
101. Aldinucci D, Gloghini A, Pinto A, De Filippi R, Carbone A. The classical Hodgkin's lymphoma microenvironment and its role in promoting tumour growth and immune escape. *J Pathol.* 2010;221(3):248–63.
102. Molin D. Bystander cells and prognosis in Hodgkin lymphoma. Review based on a doctoral thesis. *Ups J Med Sci.* 2004;109(3):179–228.
103. Glimelius I, Rubin J, Rostgaard K, Amini R-M, Simonsson M, Sorensen KM, et al. Predictors of histology, tissue eosinophilia and mast cell infiltration in Hodgkin's Lymphoma – a population-based study. *Eur J Haematol.* 2011;87(3):208–16.
104. Geisinger KR, Steffee CH, McGee RS, Woodruff RD, Buss DH. The cytomorphologic features of sclerosing mucoepidermoid carcinoma of the thyroid gland with eosinophilia. *Am J Clin Pathol.* 1998 Mar;109(3):294–301.
105. Fridlender ZG, Simon H-U, Shalit M. Metastatic carcinoma presenting with concomitant eosinophilia and thromboembolism. *Am J Med Sci.* 2003 Aug;326(2):98–101.
106. Dibbert B, Daigle I, Braun D, Schranz C, Weber M, Blaser K, et al. Role for Bcl-xL in delayed eosinophil apoptosis mediated by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interleukin-5. *Blood.* 1998 Aug 1;92(3):778–83.
107. Teruya-Feldstein J, Jaffe ES, Burd PR, Kingma DW, Setsuda JE, Tosato G. Differential Chemokine Expression in Tissues Involved by Hodgkin's Disease: Direct Correlation of Eotaxin Expression and Tissue Eosinophilia Presented in part at the 39th Annual Meeting of the American Society of Hematology, held in San Diego, CA, December 5-9, 1997. *Blood.* 1999 Apr 15;93(8):2463–70.

108. Lorena S, Oliveira D, Dorta R, Landman G, Kowalski L. Eotaxin expression in oral squamous cell carcinomas with and without tumour associated tissue eosinophilia. *Oral Dis.* 2003;9(6):279–83.
109. Thielen C, Radermacher V, Trimeche M, Roufousse F, Goldman M, Boniver J, et al. TARC and IL-5 expression correlates with tissue eosinophilia in peripheral T-cell lymphomas. *Leuk Res.* 2008 Sep;32(9):1431–8.
110. Cormier SA, Taranova AG, Bedient C, Nguyen T, Protheroe C, Pero R, et al. Pivotal Advance: Eosinophil infiltration of solid tumors is an early and persistent inflammatory host response. *J Leukoc Biol.* 2006 Jun 1;79(6):1131–9.
111. Lotfi R, Lee JJ, Lotze MT. Eosinophilic granulocytes and damage-associated molecular pattern molecules (DAMPs): role in the inflammatory response within tumors. *J Immunother Hagerstown Md* 1997. 2007 Jan;30(1):16–28.
112. Ito N, DeMarco RA, Mailliard RB, Han J, Rabinowich H, Kalinski P, et al. Cytolytic cells induce HMGB1 release from melanoma cell lines. *J Leukoc Biol.* 2007 Jan 1;81(1):75–83.
113. Lotfi R, Herzog GI, DeMarco RA, Beer-Stolz D, Lee JJ, Rubartelli A, et al. Eosinophils Oxidize Damage-Associated Molecular Pattern Molecules Derived from Stressed Cells. *J Immunol.* 2009 Oct 15;183(8):5023–31.
114. Sun P, Ben Q, Tu S, Dong W, Qi X, Wu Y. Serum Interleukin-33 Levels in Patients with Gastric Cancer. *Dig Dis Sci.* 2011 Dec 1;56(12):3596–601.
115. Iikutani M, Yanagibashi T, Ogasawara M, Tsuneyama K, Yamamoto S, Hattori Y, et al. Identification of Innate IL-5–Producing Cells and Their Role in Lung Eosinophil Regulation and Antitumor Immunity. *J Immunol.* 2012 Jan 15;188(2):703–13.
116. Caruso RA, Parisi A, Quattrocchi E, Scardigno M, Branca G, Parisi C, et al. Ultrastructural Descriptions of Heterotypic Aggregation between Eosinophils and Tumor Cells in Human Gastric Carcinomas. *Ultrastruct Pathol.* 2011 Aug;35(4):145–9.
117. Huland E, Huland H. Tumor-associated eosinophilia in interleukin-2-treated patients: evidence of toxic eosinophil degranulation on bladder cancer cells. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1992 Jun 1;118(6):463–7.
118. Simon H-U, Plötz S, Simon D, Seitzer U, Braathen LR, Menz G, et al. Interleukin-2 primes eosinophil degranulation in hypereosinophilia and Wells' syndrome. *Eur J Immunol.* 2003;33(4):834–9.
119. Sosman JA, Bartemes K, Offord KP, Kita H, Fisher SG, Kefer C, et al. Evidence for eosinophil activation in cancer patients receiving recombinant interleukin-4: effects of interleukin-4 alone and following interleukin-2 administration. *Clin Cancer Res.* 1995 Aug 1;1(8):805–12.
120. Tepper RI, Coffman RL, Leder P. An eosinophil-dependent mechanism for the antitumor effect of interleukin-4. *Science.* 1992 Jul 24;257(5069):548–51.
121. Rivoltini L, Viggiano V, Spinazzè S, Santoro A, Colombo MP, Takatsu K, et al. In vitro anti-tumor activity of eosinophils from cancer patients treated with subcutaneous administration of interleukin 2. Role of interleukin 5. *Int J Cancer J Int Cancer.* 1993 Apr 22;54(1):8–15.
122. Benatar T, Cao MY, Lee Y, Lightfoot J, Feng N, Gu X, et al. IL-17E, a proinflammatory cytokine, has antitumor efficacy against several tumor types in vivo. *Cancer Immunol Immunother.* 2010 Jun 1;59(6):805–17.

123. Simson L, Ellyard JI, Dent LA, Matthaai KI, Rothenberg ME, Foster PS, et al. Regulation of Carcinogenesis by IL-5 and CCL11: A Potential Role for Eosinophils in Tumor Immune Surveillance. *J Immunol*. 2007 Apr 1;178(7):4222–9.
124. Decot V, Woerly G, Loyens M, Loiseau S, Quatannens B, Capron M, et al. Heterogeneity of Expression of IgA Receptors by Human, Mouse, and Rat Eosinophils. *J Immunol*. 2005 Jan 15;174(2):628–35.
125. Lee JJ, Jacobsen EA, Ochkur SI, McGarry MP, Condjella RM, Doyle AD, et al. Human versus mouse eosinophils: “That which we call an eosinophil, by any other name would stain as red.” *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Sep;130(3):572–84.
126. Legrand F, Driss V, Delbeke M, Loiseau S, Hermann E, Dombrowicz D, et al. Human Eosinophils Exert TNF- α and Granzyme A-Mediated Tumoricidal Activity toward Colon Carcinoma Cells. *J Immunol*. 2010 Dec 15;185(12):7443–51.
127. Jensen-Jarolim E, Achatz G, Turner MC, Karagiannis S, Legrand F, Capron M, et al. AllergoOncology: the role of IgE-mediated allergy in cancer. *Allergy*. 2008;63(10):1255–66.
128. Wang H, Diepgen TL. Is atopy a protective or a risk factor for cancer? A review of epidemiological studies. *Allergy*. 2005;60(9):1098–111.
129. Turner MC. Epidemiology: allergy history, IgE, and cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2012 Sep 1;61(9):1493–510.
130. Karagiannis SN, Josephs DH, Karagiannis P, Gilbert AE, Saul L, Rudman SM, et al. Recombinant IgE antibodies for passive immunotherapy of solid tumours: from concept towards clinical application. *Cancer Immunol Immunother*. 2012 Sep 1;61(9):1547–64.
131. Singer J, Jensen-Jarolim E. IgE-based immunotherapy of cancer: challenges and chances. *Allergy*. 2014 Feb 1;69(2):137–49.
132. Spillner E, Plum M, Blank S, Mieke M, Singer J, Braren I. Recombinant IgE antibody engineering to target EGFR. *Cancer Immunol Immunother*. 2012 Sep 1;61(9):1565–73.
133. Daniels TR, Leuchter RK, Quintero R, Helguera G, Rodríguez JA, Martínez-Maza O, et al. Targeting HER2/neu with a fully human IgE to harness the allergic reaction against cancer cells. *Cancer Immunol Immunother Cll*. 2012 Jul;61(7):991–1003.

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)
Année Universitaire 2013/2014

Nom : GATAULT
Prénom : Solène

Titre du mémoire / thèse : Implication des polynucléaires éosinophiles dans l'immunité anti-tumorale

Mots-clés : Eosinophile, Immunité anti-tumorale, Cytotoxicité, Cancer, Allergo-Oncologie.

Résumé : Les éosinophiles ont longtemps été associés seulement aux maladies parasitaires et allergiques. Ils sont aujourd'hui considérés comme des leucocytes multifonctionnels qui participent aux réponses immunitaires innée et adaptative par l'expression de très nombreux récepteurs et la libération de médiateurs. Ils peuvent ainsi avoir un rôle bénéfique dans de nombreuses situations pathologiques, notamment cancéreuses en participant à l'immunité anti-tumorale. Les éosinophiles sont observés dans l'infiltrat péri-tumoral de nombreuses tumeurs, que ce soit des cancers solides ou hématologiques. Cette infiltration, appelée TATE pour 'Tumor-Associated Tissue Eosinophilia', est, en général associée à un pronostic favorable. Bien que les mécanismes ne soient pas encore totalement connus, leur potentiel cytotoxique vis-à-vis des tumeurs a été mis en évidence dans différents modèles expérimentaux. *In vitro*, les éosinophiles humains exercent une activité cytotoxique vis-à-vis de plusieurs lignées cellulaires cancéreuses. De même, des médiateurs et récepteurs, communs avec les lymphocytes et connus pour être impliqués dans les réponses anti-tumorales, ont été mis en évidence sur les éosinophiles, tels que le TCR $\gamma\delta$ ou le granzyme A. Dans cette thèse, les connaissances actuelles sur l'épidémiologie, le recrutement et les mécanismes impliqués dans la réponse des polynucléaires éosinophiles vis-à-vis des tumeurs seront analysés.

Membres du jury :

Président : Professeur DECAUDIN Bertrand, PU-PH, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Lille

Assesseur(s) : Professeur CAPRON Monique, PU-PH, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Lille
Professeur CHILLON Jean-Marc, PU-PH, UFR de Pharmacie, Amiens
Docteur COTTEAU-LEROY Angélique, PH, CHRU de Lille
Professeur SENDID Boualem, PU-PH, Faculté de Médecine Henri-Warembourg, Lille