

L'appareil respiratoire

I- Généralités

L'appareil respiratoire est constitué d'un ensemble d'organes permettant les échanges gazeux entre un organisme et son environnement. Chez l'Homme, l'air est conditionné et conduit tout au long de « l'arbre trachéo-bronchique », division successive des voies aériennes en structures de plus en plus petites (**Figure 1**). Le passage de l'air se fait d'abord dans les voies aériennes supérieures : fosses nasales, cavité oro-pharyngée puis larynx et trachée. L'air inspiré y est alors réchauffé et humidifié, afin de permettre la dissolution des gaz pour les échanges ultérieurs avec le compartiment sanguin. Il y est également purifié de particules potentiellement dangereuses telles que des poussières ou microorganismes pathogènes.

La qualité de l'air inspiré continue d'être optimisée (humidification, épuration) *via* sa conduction dans les voies aériennes inférieures. Ces dernières sont constituées des bronches et, au sein des poumons, des bronchioles puis enfin des alvéoles où le dioxygène (O_2) diffuse dans le sang et où le dioxyde de carbone (CO_2) sanguin est relargué : c'est l'hématose.

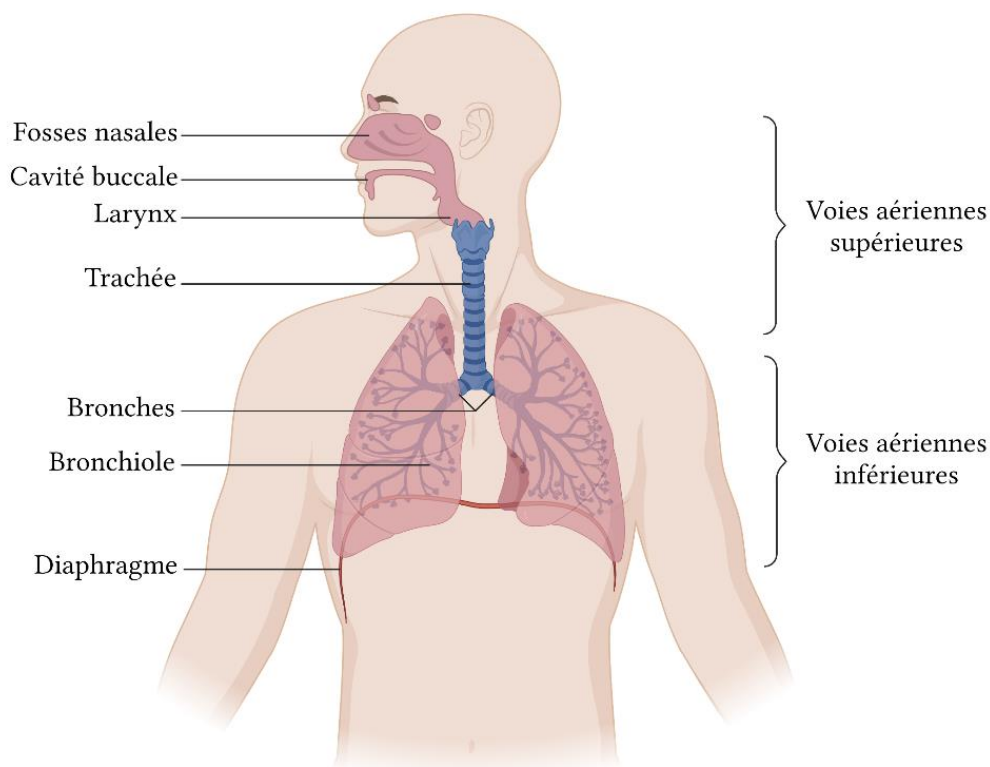


Figure 1. Le système respiratoire humain.

II- Épithélium des voies aériennes

Un épithélium est un tissu recouvrant toute partie de l'organisme se trouvant au contact du milieu extérieur. Ainsi, il peut recouvrir la peau, mais également toute cavité interne de l'organisme telles que le système digestif, urinaire, reproducteur ou encore respiratoire. Ce type de tissu est formé d'une ou plusieurs couches de cellules juxtaposées et jointives, permettant une étanchéité entre le milieu extérieur et le tissu sous-jacent. L'épithélium est ainsi souvent assimilé à une véritable barrière physique contre le passage d'éléments pathogènes ou non¹.

La proportion de chaque type cellulaire et la configuration de l'épithélium varie tout au long du tractus respiratoire (**Figure 2**). De manière simplifiée, un épithélium pluri-stratifié, squameux et kératinisé recouvre les fosses nasales. De la trachée aux bronches, l'épithélium est dit pseudo-stratifié : la totalité des cellules repose sur la lame basale mais ne sont pas toutes au contact de la lumière. Dans cette portion des voies aériennes, l'épithélium est principalement constitué de cellules ciliées, de cellules caliciformes et de cellules basales. Au niveau des bronchioles proximales, on observe au sein de l'épithélium pseudo-stratifié l'apparition des cellules club tandis que les cellules basales se raréfient. Pour finir, les bronchioles distales sont couvertes d'un épithélium cuboïde simple composé de cellules club.

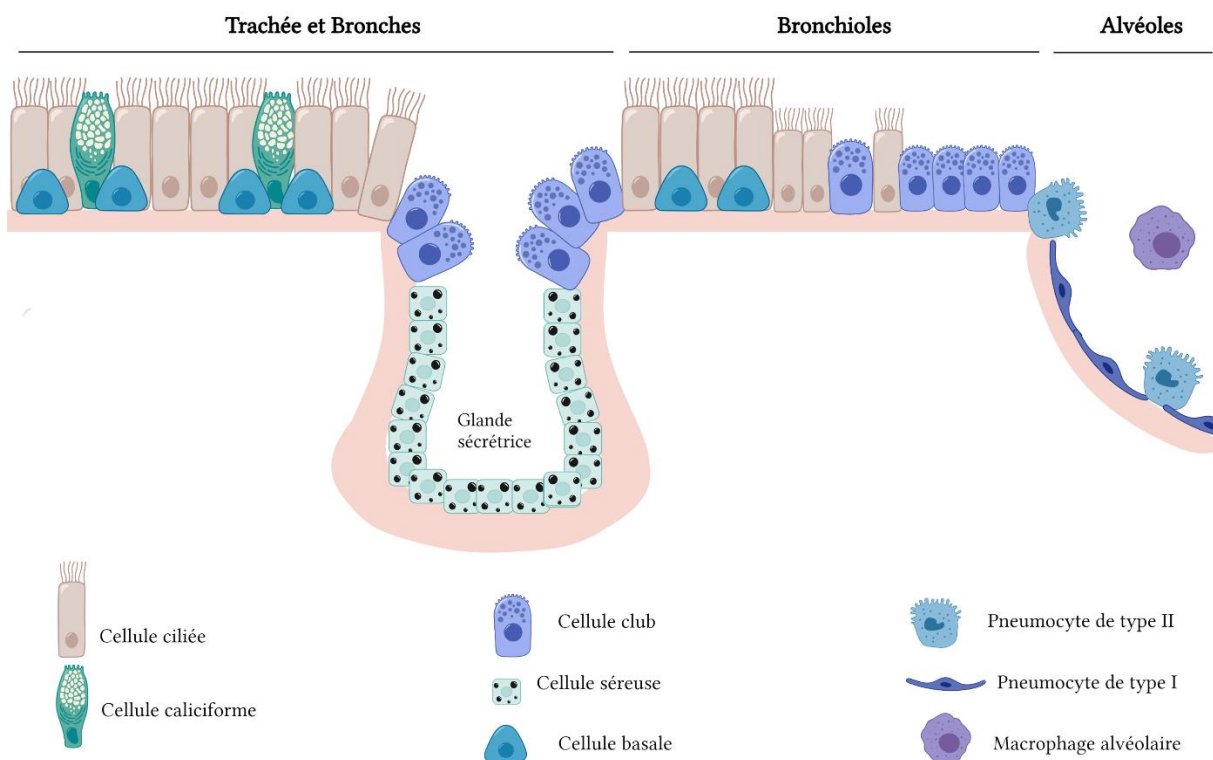


Figure 2. Les différents types cellulaires présents de la trachée aux alvéoles. Adapté de Antunes *et al.*, 2013². Par simplification et manque de données dans la littérature, les ionocytes, cellules M, à touffe, *hillock* et PNEC ne figurent pas sur ce schéma.

L'épithélium des voies aériennes est ainsi composé d'une grande variété de cellules, récemment décrite en détails par Davis et Wypych ³, comprenant les cellules basales, les cellules club, les cellules ciliées, les cellules caliciformes mais aussi les cellules neuroendocrines, les cellules à touffe, les ionocytes, les cellules micropliées ou encore les cellules en collines (**Figures 2 et 3**). Il s'agit ici d'une liste non exhaustive, car de très nombreux types cellulaires pulmonaires commencent tout juste à être découverts par séquençage des ARNm en cellule unique (*scRNA seq*). Travaglini *et al.*, ont par exemple identifié, en 2020, 58 populations cellulaires dans le poumon humain, dont 14 inconnues jusqu'à lors ⁴.

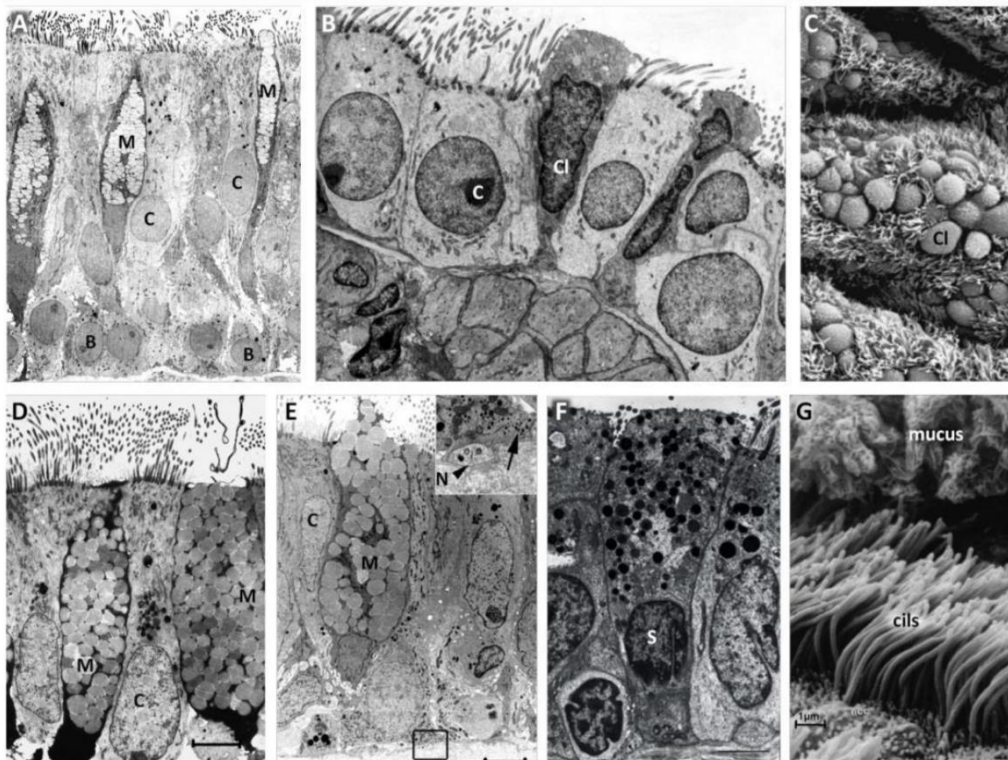


Figure 3. Microphotographies des différents types cellulaires épithéliaux des voies aériennes obtenues par microscopie électronique à transmission ou à balayage pour les images C et G : cellules ciliées (C), basales (B), à mucus (M), séreuses (S), club (Cl) et neuroendocrines (N) - Combinaison de microphotographies extraites de la thèse de Dre. Pauline Bardin (2019 | <http://www.theses.fr/2019SORUS046>); extraites de Bérubé *et al.*, 2010⁵; Gibson, 2002⁶; Jeffery and Li⁷, 1997; Moran, 1988⁸; Ross, 2006⁹).

a. Les cellules basales

Les cellules basales sont de forme cuboïde, fixées à la membrane basale ¹⁰ (**Figures 2 et 3**). Ces cellules représentent environ 5 à 30 % des cellules épithéliales des voies aériennes chez l'homme, en fonction de leur emplacement le long du tractus respiratoire ¹¹. Les cellules basales sont des acteurs clés de l'homéostasie respiratoire et de la régénération épithéliale ¹². En effet, les cellules basales sont les principales cellules souches des voies respiratoires. Elles ont

la capacité de s'auto-renouveler lors d'une lésion ainsi que de se différencier en cellules caliciformes, cellules ciliées, cellules à touffe, cellules neuroendocrines pulmonaires (PNEC, pour *pulmonary neuroendocrine cells*) ou encore en ionocytes pulmonaires ^{11–14}. De nombreuses études ont suggéré qu'au moins deux sous-populations distinctes sur le plan transcriptionnel sont présentes parmi les cellules basales des voies respiratoires humaines ^{4,10} et murines ¹⁵. Une des deux sous-populations serait composée de cellules souches, tandis que la seconde serait composée de cellules progénitrices permettant la différenciation luminale ¹⁶.

b. Les cellules club

Précédemment connues sous le nom de cellules de Clara, ces cellules en forme de dôme (**Figures 2 et 3**) sont les cellules épithéliales majoritairement retrouvées au niveau des bronchioles ¹⁷. Les cellules club, ainsi que leurs produits sécrétés, jouent un rôle important dans le maintien de l'homéostasie pulmonaire. Comme les cellules basales, elles peuvent agir comme des cellules souches, c'est-à-dire contribuer à la réparation de l'épithélium ¹⁸ et donner naissance à des cellules ciliées et à des cellules caliciformes. Les cellules club ont également la capacité de se dédifférencier en cellules basales lorsque survient, par exemple, une lésion ou une perte de cellules basales ^{19,20}. Les cellules club ont également un rôle de cellules sécrétrices, participant à la production du liquide de surface des voies respiratoires ^{21–23}.

c. Les cellules ciliées

Les cellules ciliées, de forme cylindrique (**Figures 2 et 3**), sont présentes tout du long des voies respiratoires. Au moins deux sous-ensembles distincts sur le plan transcriptionnel ont été identifiés par *scRNAseq* entre les parties proximales et distales du tractus respiratoire ⁴. Les cellules ciliées proviennent de la différenciation de cellules club ou des cellules caliciformes ²⁴. Elles jouent un rôle central dans l'homéostasie des voies respiratoires. En effet, les cellules ciliées permettent l'élimination par expectoration des micro-organismes pathogènes, de particules inhalées ainsi que d'autres débris piégés dans le mucus, grâce au battement rythmique et asynchrone des cils présents au pôle apical. Ce processus est communément appelé clairance mucociliaire ²⁵, et est altéré dans le cas de pathologies pulmonaires telles que la mucoviscidose.

d. Les cellules caliciformes

Les cellules caliciformes (ou *goblet cells*), ainsi nommées de par leur aspect (**Figures 2 et 3**), sont les principales cellules productrices de mucus des voies respiratoires. Elles permettent ainsi, de concert avec les cellules ciliées, de faciliter l'efficacité de la clairance mucociliaire. Le mucus est composé d'électrolytes, de métabolites, fluides, produits antimicrobiens

et de mucines associées aux cellules, sécrétées ou gélifiantes, telles que MUC5AC et MUC5B²⁶. Comme les cellules ciliées, les cellules caliciformes sont dérivées des cellules club. La lignée des cellules caliciformes a récemment été divisée en deux sous-ensembles fonctionnellement différents : d'une part, les cellules gobelet-1 produisent principalement du mucus ; d'autre part, les cellules gobelet-2 sécrètent des orthologues de la protéine 16 du granule de zymogène, une protéine capable de se lier aux bactéries Gram-positives et de les agréger^{13,27}.

La dérégulation de la production de mucus par les cellules caliciformes est une des caractéristiques de diverses pathologies pulmonaires, dont la mucoviscidose^{26,28}. Par exemple, la surproduction de MUC5AC peut provoquer une hyperréactivité allergique des voies respiratoires²⁹, tandis que l'absence de MUC5B peut entraîner une altération de la clairance muco-ciliaire caractérisée par une inflammation persistante, une infection bactérienne chronique et des schémas respiratoires atypiques³⁰.

e. Les cellules neuroendocrines pulmonaires

Les PNEC sont des cellules résidentes épithéliales innervées très rares (**Figure 3**). Sensibles à l'hypoxie, l'hypercapnie et à la nicotine^{31,32}, elles détectent l'activité des voies respiratoires et sécrètent des neuropeptides permettant entre autres de stimuler les réponses immunitaires³³. Ainsi, elles font le lien entre les systèmes immunitaire et nerveux. Les PNEC auraient également un rôle important dans le développement pulmonaire fœtal³⁴. On estime que ces cellules représentent environ 0,5 % de toutes les cellules épithéliales des voies respiratoires humaines³⁵ et 0,01 % de toutes les cellules du poumon⁴. Les PNEC existent souvent sous forme de cellules isolées, mais peuvent également former des amas appelés corps neuroépithéliaux^{36,37}. Il a récemment été suggéré qu'elles provenaient de cellules à touffe³⁸. Comme pour les cellules basales et les cellules club, les lésions épithéliales peuvent déclencher la reprogrammation d'un sous-ensemble de PNEC et leur faire adopter d'autres statuts cellulaires, agissant ainsi comme des cellules souches et facilitant la réparation des tissus^{39,40}. Une augmentation du nombre de PNEC peut être détectée dans des pathologies pulmonaires comme la mucoviscidose⁴¹.

f. Les cellules à touffe ou tuft cells

Les cellules à touffe auraient des fonctions chimiosensorielles, neuronales et immunologiques⁴². Elles sont retrouvées au niveau des voies respiratoires¹³, mais également dans l'estomac⁴³, les intestins⁴², l'épithélium olfactif⁴⁴, le tube auditif⁴⁵, la conjonctive⁴⁶, le canal biliaire⁴⁷, la vésicule biliaire^{48,49}, l'urètre^{50,51}, et même le thymus⁵², et seraient désignées

par une variété de noms différents en fonction de leur emplacement anatomique. Dans l'intestin humain, il a été démontré que les cellules à touffe résident à proximité des fibres nerveuses ⁵³. Des observations analogues ont été faites dans le canal auditif et la conjonctive ^{45,46,54}, désignant ainsi les cellules à touffe comme des médiateurs potentiels de la communication immuno-neuronale. Néanmoins, une colocalisation similaire dans les voies respiratoires reste à décrire. Des recherches récentes ont révélé l'existence de plusieurs sous-ensembles de cellules à touffe résidant dans les voies respiratoires murines, appelées cellules à touffe immatures, tuft-1 et tuft-2 ¹³. Les cellules tuft-1 provenant de trachée de souris expriment ainsi des gènes liés à la signalisation du goût, tandis que les cellules tuft-2 expriment des gènes associés à la synthèse des leucotriènes et à l'immunomodulation tels que le gène *Alox5ap* ¹³. Ces données suggèrent que les premières ont un rôle chimiosensoriel, tandis que les secondes ont une fonction plus immunologique ¹³. Néanmoins, les preuves de l'implication des cellules à touffe dans les maladies respiratoires sont limitées. Ces cellules expriment des récepteurs TAS2 ⁵⁵, qui permettent l'atténuation de l'inflammation allergique des voies respiratoires ⁵⁶. Des cellules à touffe ont également été retrouvées de manière ectopique dans des voies aériennes murines distales après une infection par le virus de la grippe, contribuant ainsi au remodelage dysplasique ⁵⁷. Les cellules à touffe pourraient également servir de progéniteurs pour les PNEC et les ionocytes pulmonaires ³⁸.

g. Les cellules en collines ou hillock cells

Très peu d'éléments sont à ce jour connus concernant les cellules en collines. Pouvant être confondues avec des axones, elles ont été décrites par Montoro *et al.* comme une variété de cellules club descendant de la lignée des cellules basales et exprimant la kératine 13 ¹³. Ces cellules se trouvent dans des groupes contigus de cellules épithéliales stratifiées, formant des structures « en colline », où elles ont un taux de renouvellement particulièrement élevé et expriment des marqueurs associés à la différenciation de l'épithélium pavimenteux, à l'adhésion cellulaire et à l'immunomodulation ^{13,58}.

h. Les cellules micro-pliées ou cellules M

Comme les cellules à touffe, les cellules M sont mieux comprises dans un contexte gastro-intestinal, où leur principale fonction est l'initiation des réponses immunitaires par endocytose et le transport d'antigènes de la lumière intestinale vers les cellules présentatrices d'antigènes résidant dans la lamina propria ⁵⁹. Néanmoins, on peut également trouver des cellules M dans d'autres sites muqueux, tels que les voies respiratoires de l'homme et de la souris, où elles sont structurellement et fonctionnellement similaires à celles de l'intestin ^{60,61}.

Les cellules M des voies respiratoires auraient un rôle assez large dans l'infection bactérienne. En effet, les cellules M sont la cible de *Mycobacterium tuberculosis* (ou bacille de Koch), qui utilise ces cellules afin de faciliter sa propagation ⁶². D'autre part, les cellules M sont également des cellules présentatrices d'antigènes : elles sont capables entre autres d'absorber les antigènes de *Salmonella typhimurium* et de *Streptococcus* ⁶¹.

i. Les cellules séreuses

Les cellules séreuses sont des cellules d'aspect pyramidal (**Figures 2 et 3**), composant les glandes localisées au sein de l'épithélium des voies aériennes, de manière plus distale que les cellules à mucus ^{63,64}. En plus de la sécrétion de fluides et de solutés ⁶⁵, les cellules séreuses sont capables de sécréter des composants antimicrobiens, tels que de la lactoferrine ou des lysozymes ⁶⁶⁻⁶⁹, leur valant le surnom de « neutrophiles immobiles » ⁷⁰.

j. Les pneumocytes

Les échanges gazeux sont favorisés par les différents types cellulaires présents dans les alvéoles et les propriétés physico-chimiques spécifiques de ce micro-environnement (**Figure 4**). En effet, la forme des pneumocytes de type I, cellules très fines *et allongées* occupant près de 96 % de la surface alvéolaire ⁷¹, permet la diffusion des gaz entre les sacs alvéolaires et les capillaires sanguins localisés dans la paroi alvéolaire (<https://medlineplus.gov/ency/anatomyvideos/000059.htm>). Les pneumocytes de type II représentent quant à eux près de 4 % de la surface alvéolaire ⁷¹. De forme cuboïdale, ils sont responsables de la synthèse du surfactant, dont les propriétés tensio-actives sont nécessaires afin d'éviter un collapsus des alvéoles lors de la phase d'expiration. Les pneumocytes de type II présentent des caractéristiques de cellules souches de par leur capacité d'auto-renouvellement ainsi que de transdifférenciation en pneumocytes de type I ⁷².

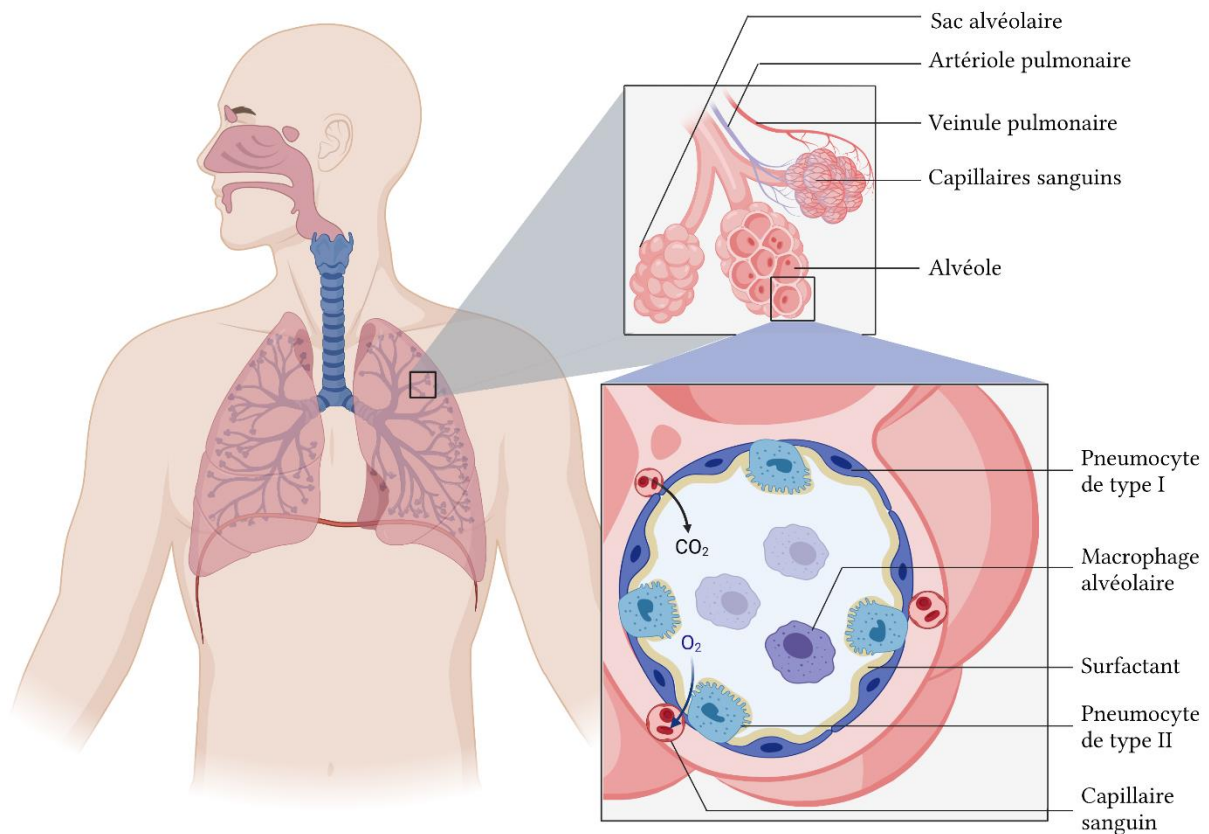


Figure 4. Structure et composition des espaces alvéolaires.

k. Les ionocytes

Le développement de nouvelles technologies a pu permettre l'identification récente d'un nouveau type cellulaire au niveau des voies aériennes : les ionocytes pulmonaires (**Figure 5**). Deux études distinctes ont ainsi identifié ce type cellulaire dans les voies respiratoires des souris (trachée) et des humains (bronches) ^{13,73} par combinaison de scRNAseq et de traçage de lignée cellulaire (*lineage tracing*) *in vivo*. Générés à partir de précurseurs de cellules basales ou de cellules à touffe ³⁸, les ionocytes pulmonaires représentent environ 2 % des cellules épithéliales des voies aériennes humaines et expriment des niveaux élevés du gène responsable de la mucoviscidose, le gène *Cystic fibrosis transmembrane regulator* (CFTR) (**Figure 5**) ^{13,73}. De manière anecdotique, les ionocytes ont été ainsi nommés de par leur similarité avec les cellules éponymes présentes dans la peau de larve de xénope ⁷⁴ et de poisson-zèbre ⁷⁵, qui permettent des efflux chlorure entre le milieu marin et la circulation sanguine. Ainsi, les ionocytes pulmonaires humains, exprimant fortement la protéine CFTR, semblent être une cible intéressante pour de futurs traitements visant à soigner la mucoviscidose. En effet, bien que ne représentant qu'environ 0,5 % des cellules épithéliales des voies respiratoires murines, les ionocytes expriment près de 55 % du total des transcrits *Cftr* détectés dans l'épithélium trachéal

de souris ¹³. L'expression de *CFTR* dans le tissu bronchique humain est régulée par le facteur de transcription FOXI1, autre marqueur important des ionocytes pulmonaires. Les souris déficientes pour *Foxi1* présentent une réduction marquée de l'expression de la protéine CFTR et une perturbation de la physiologie du mucus des voies respiratoires ¹³. Ces données suggèrent ainsi un lien de causalité entre le dérèglement des ionocytes pulmonaires et le développement de la mucoviscidose.

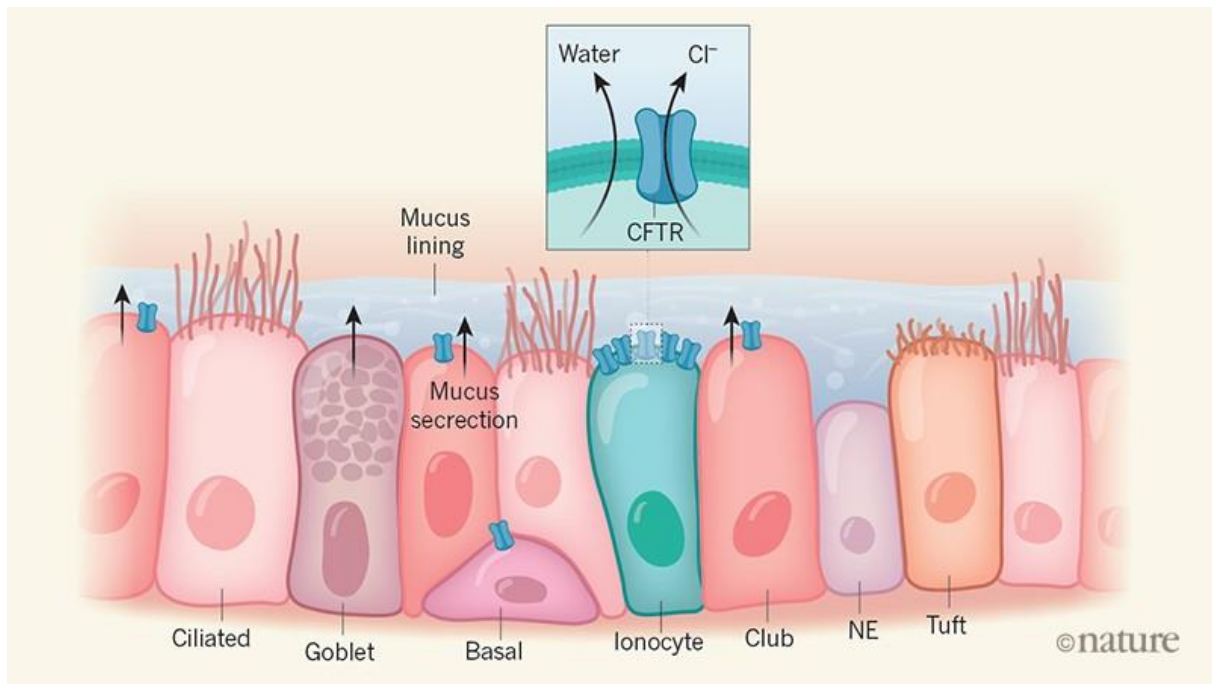


Figure 5. Diversité des types cellulaires présents dans l'épithélium trachéal de souris et expression de la protéine CFTR. Extrait de Travaglini et Krasnow, 2018⁷⁶.

L'élimination des éléments potentiellement pathogènes présents dans l'air inspiré est rendue possible par divers éléments. Tout d'abord, l'étanchéité des épithelia empêche les particules et microorganismes pathogènes d'accéder aux tissus sous-jacents. Ensuite, la production de mucus par les cellules caliciformes, majoritairement présentes au niveau bronchique, permet à la fois de piéger les particules et microorganismes aéroportés mais aussi de limiter leur prolifération grâce aux agents antibactériens présents dans le mucus ⁷⁷. D'autre part, des réflexes nerveux induisent des bronchoconstrictions ou une toux, qui, associés à la clairance mucociliaire, permettent la mise en mouvement et l'élimination du liquide de surface et du mucus contenant particules et microorganismes⁷⁸.

D'autre part, la présence dans le mucus d'acteurs protéiques tels que des lysozymes, de la lactoferrine, des immunoglobulines ou encore des peptides anti-microbiens tels que les défensines, permet de lutter contre divers microorganismes pathogènes⁷⁹⁻⁸³.

L'épithélium bronchique et la clairance mucociliaire jouent ainsi le rôle de première défense de l'appareil respiratoire. Leur intégrité et leur bon fonctionnement sont essentiels pour faire face à des infections bactériennes ou fongiques et conserver une fonction respiratoire normale. Ces paramètres sont modifiés dans certaines pathologies telle que la mucoviscidose, que nous allons étudier dans le cadre de cette étude.