

Biologie cellulaire du mélanocyte humain normal

La mise au point de la culture *ex vivo* des mélanocytes a permis de réaliser depuis dix ans d'importants progrès dans la connaissance de la physiologie de ces cellules. La réponse mélanogénique aux ultraviolets est maximale en présence de kératinocytes qui pourraient agir sur les mélanocytes par un mécanisme paracrine mettant en jeu le FGF basique. L'interaction entre les kératinocytes et les mélanocytes au sein de l'unité de mélanisation épidermique est également essentielle pour contrôler le rapport numérique entre ces deux types de cellules ainsi que la morphologie et l'activité mélanocytaires. Le rôle exact sur ce système des mélanotropines, d'origine hypophysaire ou kératinocytaire, reste mal connu chez les mammifères. Les mélanocytes, en coopération avec les kératinocytes et les cellules de Langerhans, semblent également impliqués dans les phénomènes d'immunosurveillance cutanée. Ces mécanismes pourraient être perturbés dans certaines maladies auto-immunes et en défaut dans les mélanomes malins.

Jean-Marie Naeyaert
Jean-Philippe Lacour

ADRESSE

J.-M. Naeyaert : *agrégé de l'enseignement supérieur*, Service de dermatologie, hôpital universitaire de Gand, De Pintelaan 185, B-9000 Gand, Belgique. J.-Ph. Lacour : *praticien hospitalier*, service de dermatologie, hôpital Pasteur, BP n° 69, 06002 Nice Cedex 1, France.

Les mélanocytes sont des cellules épidermiques dérivées de la crête neurale capables de synthétiser des pigments, les mélanines, au sein d'organites spécialisés, les mélanosomes. Cette synthèse, suivie du transfert des mélanines aux kératinocytes, est responsable de phénomènes biologiques exposés aux yeux de tous : la coloration de la peau et le phénomène de bronzage. Si l'aspect biochimique de la synthèse des mélanines a été relativement bien étudié dès les années 1960, la biologie cellulaire du système pigmentaire est longtemps restée inexplorée. La culture sélective des mélanocytes humains normaux *in vitro* a marqué une nouvelle ère dans le domaine de la biologie mélanocytaire. L'avènement de cette technique, au début

des années 1980, a rapidement été suivi de celui des techniques de biologie moléculaire permettant de commencer à clarifier la physiologie cellulaire complexe de ces cellules pigmentaires. Les connaissances acquises jusqu'à présent sont encore fragmentaires et sont comparables à un *puzzle* dont certaines pièces seulement commencent à s'articuler. Ainsi, si le mélanocyte isolé en culture est capable de répondre directement aux ultraviolets, la physiologie du mélanocyte est en fait modulée par son environnement cutané : kératinocytes, cellules de Langerhans, ou même matrice extracellulaire. Le rôle d'autres modulateurs reste encore incertain, qu'il s'agisse des mélanotropines ou du NGF (*nerve growth factor*). Le rôle du mélanocyte ne se limite d'ailleurs probablement pas à

RÉFÉRENCES

1. Eisinger M, Marko O. Selective proliferation of normal human melanocytes *in vitro* in the presence of phorbol ester and cholera toxin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982 ; 79 : 2018-22.
 2. Tsuji T, Karasek M. A procedure for the isolation of primary cultures of melanocytes from newborn and adult human skin. *J Invest Dermatol* 1983 ; 81 : 179-80.
 3. Wilkins L, Gilchrist BA, Szabo G, et al. The stimulation of normal human melanocyte proliferation *in vitro* by melanocyte growth factor from bovine brain. *J Cell Physiol* 1985 ; 122 : 350-61.
 4. Gilchrist BA, Friedmann PS. A culture system for the study of human melanocyte physiology. In : Jimbow K, ed. *Structure and Function of Melanin*, vol. 4. Sapporo : Fujishoin Co. Ltd, 1987 ; 1-13.
 5. Halaban R, Ghosh S, Baird A. bFGF is the putative natural growth factor for human melanocytes. *In Vitro Cell Dev* 1987 ; 23 : 47-52.
 6. Gordon PR, Mansur C, Gilchrist BA. Regulation of human melanocyte growth, dendricity and melanization by keratinocyte derived factors. *J Invest Dermatol* 1989 ; 92 : 565-72.
 7. Medrano EE, Nordlund JJ. Successful culture of adult human melanocytes obtained from normal and vitiligo donors. *J Invest Dermatol* 1990 ; 95 : 441-5.
 8. Pittelkow MR, Shipley GD. Serum free culture of normal human melanocytes : growth kinetics and growth kinetics and growth factor requirements. *J Cell Physiol* 1990 ; 140 : 565-76.
 9. Naeyaert JM, Eller M, Gordon PR, Park HY, Gilchrist BA. Pigment content of cultured human melanocytes does not correlate with tyrosinase message level. *Br J Dermatol* 1991 ; 125 : 297-303.
 10. Friedmann PS, Gilchrist BA. Ultraviolet radiation directly induces pigment production by cultured human melanocytes. *J Cell Physiol* 1987 ; 133 : 88-94.
 11. Libow LF, Scheide S, De Leo VA. Ultraviolet radiation acts as an independent mitogen for normal human melanocytes in culture. *Pigment Cell Res* 1988 ; 1 : 397-401.
- la synthèse des mélanines puisqu'il participe vraisemblablement à la réaction immunitaire et inflammatoire épidermique.
- ### Prolifération mélanocytaire *in vitro*
- La possibilité de cultiver le mélanocyte humain normal est une acquisition récente. Bien que de premiers essais laborieux aient été réalisés dès 1960, l'étape marquante est due à Eisinger et Marko, en 1982 [1]. La difficulté de cultiver les mélanocytes vient de ce que ces cellules ne représentent que 2 à 4 % de la population cellulaire épidermique et qu'elles ont une activité mitotique très basse comparativement aux deux autres types cellulaires principaux de la peau, les kératinocytes et les fibroblastes. La culture mélanocytaire ne devient possible que si l'on peut éviter la contamination des cultures par ces deux types cellulaires. Eisinger et Marko [1] ont pu venir à bout de ce problème en utilisant du TPA (phorbol 12-myristate-13-acétate), promoteur tumoral, de la toxine cholérique (TC) et du sérum de veau fœtal (SVF) dans leur milieu de culture. Ils attribuent leur succès à la toxicité sélective du TPA pour les kératinocytes, ainsi qu'aux effets mitogéniques du TPA et de la TC sur les mélanocytes. La contamination inévitable par les fibroblastes dermiques à de plus hautes concentrations sériques a été résolue en ajoutant de la généticine, un antibiotique toxique pour les cellules à prolifération rapide.
- Tsuji et Karasek ont également décrit une méthode de culture primaire de mélanocytes humains. Leur milieu de croissance contenait 10 % de sérum de veau nouveau-né, deux agents augmentant la concentration intracellulaire de l'AMP cyclique (AMPc) (TC et isobutyl-méthylxanthine [IBMX]) et du 5-fluoro-uracile, toxique pour les kératinocytes [2].
- D'autres méthodes de culture utilisant des composés toxiques permettant d'éliminer sélectivement les kératinocytes et les fibroblastes, ont été décrites, mais le système d'Eisinger avec quelques variantes mineures est devenu le plus populaire. Dans ce système, deux types de composés sont essentiels : le TPA augmente la prolifération et l'attachement mélanocytaire, mais a également une influence marquée sur la morphologie de ces cellules ; le deuxième composé a un effet stimulateur des systèmes dépendant de l'AMPc : il peut s'agir de TC, d'IBMX, ou de dibutyryl AMPc (dbAMPc). Le TPA agit par le biais de la protéine kinase C (PKC) probablement par une activation transitoire, suivie secondairement d'une inhibition.
- Certains chercheurs, et nous sommes parmi ceux-là, furent plutôt réticents à l'utilisation de cellules stimulées par le TPA comme modèle *in vitro* pour l'étude de la physiologie mélanocytaire. Un milieu de culture réellement sélectif doit fournir aux mélanocytes les *stimuli* de croissance nécessaires sans stimuler les autres cellules contaminantes. Ce problème a été résolu par le groupe de Gilchrist à Boston. Leur méthode était fondée sur le fait que les kératinocytes sont beaucoup plus dépendants du substrat que les mélanocytes pour leur attachement, et sur la présence d'un ou plusieurs facteurs de croissance puissants dans un extrait d'hypothalamus bovin [3, 4]. Dans les premières expériences, une densité d'ensemencement basse était nécessaire pour éviter l'attachement des kératinocytes et la croissance des mélanocytes restait plutôt faible. Dans les expériences suivantes, l'extrait hypothalamique bovin fut dialysé, éliminant ainsi un facteur de croissance kératinocytaire de bas poids moléculaire. Dans ce système, une suspension de cellules épidermiques est ensemencée sur une boîte de culture en plastique dans un milieu (M-199) contenant 10 ng/ml d'EGF (*epidermal growth factor*), 10^{-9} M de triiodothyronine, 10 µg/ml de transferrine, 10 µg/ml d'insuline, 10^{-9} M de TC et l'extrait hypothalamique bovin dialysé (*figure 1*). Pour promouvoir l'attachement des mélanocytes, du sérum de veau fœtal (SVF) est ajouté à la concentration de 2 % au moment de l'ensemencement pour 48 heures seulement, puis à chaque passage cellulaire. Si la concentration de SVF est supérieure, ou bien s'il est laissé plus longtemps dans le milieu de culture, la contamination fibroblastique est inévitable. Avec ce système de culture, il est possible d'obtenir jusqu'à 14 double-

ments de population post-primaires, avec une moyenne de deux doublements par semaine. L'addition de TPA à ce milieu de culture ne stimule pas la croissance cellulaire, mais induit une dendricité marquée dans les 24 heures [4].

Un progrès majeur vint du groupe de Halaban de l'université Yale. Ce groupe a montré que le bFGF (*basic fibroblast growth factor*) était un facteur de croissance naturel pour les mélanocytes et un facteur de croissance autocrine possible pour les cellules de mélanomes [5]. Le bFGF a été isolé de nombreux tissus et cellules, en particulier de l'hypophyse de bœuf, des fibroblastes dermiques, du placenta et, fait important, des kératinocytes. Une identité entre le facteur de croissance mélanocytaire de l'extrait hypothalamique bovin et le bFGF a d'abord été suspectée, mais des travaux récents semblent montrer qu'ils pourraient être différents et qu'il pourrait y avoir d'autres mitogènes mélanocytaires encore non identifiés dans les extraits de cerveau [6, 7].

Pittelkow et Shipley ont été les premiers à décrire l'utilisation d'un milieu défini sans sérum pour la culture de mélanocytes humains [8].

Leur milieu de croissance est du MCDB 153 contenant de l'extrait hypothalamique de bœuf, de l'insuline, de l'éthanolamine, de la phosphoéthanolamine, de l'hydrocortisone et du TPA, à une concentration calcique de 0,1 mM. L'extrait hypothalamique peut être remplacé par le bFGF. Ce système permet d'obtenir 35 doublements de population cumulatifs, aussi bien pour des mélanocytes de nouveau-nés que pour des mélanocytes adultes.

Dans le but d'obtenir de grandes quantités de mélanocytes humains normaux sans utiliser de TPA, nous avons récemment rapporté l'utilisation d'un milieu additionné d'hormones, à basse concentration calcique (0,03 mM). Dans ce système, le contenu en mélanines et la morphologie cellulaire restent identiques à ce qui est observé dans le système originel utilisant une concentration calcique de 1,8 mM [9]. Enfin, l'obtention de grandes quantités de mélanocytes peut également faire appel à l'utilisation de microbilles recouvertes de collagène I.

Gilchrest a rapporté que les mélanocytes cultivés dans un milieu contenant des hormones gardaient les caractéristiques génétiques des sujets

donneurs. Il a également été montré que les mélanocytes issus de prépuces de nouveau-nés de race noire poussent plus vite et ont une durée de vie *in vitro* supérieure à ceux issus de sujets de race blanche. En général, les mélanocytes issus de sujets noirs sont plus grands et plus dendritiques, et, sur le plan ultrastructural, contiennent davantage de mélanosomes mûrs.

Il est également bien connu que les mélanocytes issus de prépuces de nouveau-nés poussent plus vite et ont une durée de vie *in vitro* supérieure à celle des cellules issues de peau adulte.

A l'heure actuelle, à la lumière des travaux précédemment cités, les mitogènes mélanocytaires peuvent être classés en trois groupes principaux : (1) les phorbol-esters (TPA) agissant par le biais de la PKC ; (2) les activateurs des systèmes dépendant de l'AMPc : TC, IBMX, dbcAMP, et peut-être leucotriène C4 (LTC-4) ; (3) les facteurs de croissance protéiques comme le bFGF.

Réponse mélanocytaire aux ultraviolets

In vivo, l'exposition aux rayonnements ultraviolets (UV) entraîne une augmentation modérée du nombre de mélanocytes, une stimulation de la production de mélanine et de sa délivrance aux kératinocytes, ainsi qu'une augmentation de la dendricité mélanocytaire. Les études de la réponse mélanocytaire aux UV conduites *in vivo*, chez l'animal ou chez l'homme, ne permettent pas de savoir si les mélanocytes répondent directement aux UV ou, indirectement, en réponse à des médiateurs relargués par d'autres populations cellulaires. La technique de culture mélanocytaire permet d'analyser de façon sélective la réponse mélanocytaire aux UV.

Les mélanocytes répondent directement aux UV

Friedman et Gilchrest ont montré que l'exposition répétée de cultures pures de mélanocytes à des doses physiologiques d'UVB (0,4 à 2,4 mJ/cm²) entraîne une augmentation du contenu mélanocytaire en



Figure 1. **Aspect d'une culture post-primaire de mélanocytes humains normaux issus de prépuces de nouveau-nés selon la technique de Gilchrest (milieu supplémenté en hormones).** Les mélanocytes sont ici confluents. Noter leur aspect bi- ou tripolaire. Noter également la variabilité du contenu en mélanine selon les cellules.

RÉFÉRENCES

12. Halaban R, Langdon R, Birchall N, Cuono C, Baird A, Scott G, Moellmann G, McGuire J. Basic fibroblast growth factor from human keratinocytes is a natural mitogen for melanocytes. *J Cell Biol* 1988 ; 107 : 1611-9.
 13. Kao Ch, Yu HS. Comparison of the effect of 8-methoxypsoralen (8-MOP) plus UVA (PUVA) on human melanocytes in vitiligo vulgaris and *in vitro*. *J Invest Dermatol* 1992 ; 98 : 734-40.
 14. Gordon PR, Chilchrest BA. Human melanogenesis is stimulated by diacylglycerol. *J Invest Dermatol* 1989 ; 93 : 700-2.
 15. Friedmann PS, Wren FE, Matthews JNS. Ultraviolet stimulated melanogenesis by human melanocytes is augmented by diacylglycerol but not TPA. *J Cell Physiol* 1990 ; 142 : 334-41.
 16. Abdel-Malek ZA, Ross R, Trinkle L, Swope V, Pike JW, Nordlund JJ. Hormonal effects of vitamin D3 on epidermal melanocytes. *J Cell Physiol* 1988 ; 136 : 273-80.
 17. Ranson M, Posen S, Mason R. Human melanocytes as a target tissue for hormones : *in vitro* studies with 1alpha-25, dihydroxyvitamin D3, alpha melanocyte stimulating hormone, and beta estradiol. *J Invest Dermatol* 1988 ; 91 : 593-8.
 18. Mansur C, Gordon PR, Ray S, Holick MF, Gilchrest BA. Vitamin D, its precursor and metabolites do not affect melanization of cultured human melanocytes. *J Invest Dermatol* 1988 ; 91 : 16-21.
 19. Scott G, Stoler M, Halaban R. Localization of basic fibroblast growth factor mRNA in melanocytic lesions by *in situ* hybridization. *J Invest Dermatol* 1991 ; 96 : 318-22.
 20. Morelli JG, Hake SS, Murphy RC, et al. Leukotriene B4-induced human melanocyte pigmentation and leukotriene C4-induced human melanocyte growth are inhibited by different isoquinoline sulfonamides. *J Invest Dermatol* 1992 ; 98 : 55-8.
 21. Morelli JG, Kincannon J, Yohn JJ, et al. Leukotriene C4 and TGF-alpha are stimulators of human melanocyte migration *in vitro*. *J Invest Dermatol* 1992 ; 98 : 290-5.
 22. De Luca M, Franzi AT, Dianna F, Zicca A, Albanese E, Bondanza S, Cancedda R. Coculture of human keratinocytes and melanocytes : differentiated melanocytes are physiologically organized in the basal layer of the cultured epithelium. *Eur J Cell Biol* 1988 ; 46 : 176-80.
- mélanine (2 à 3 fois) et une inhibition de la prolifération mélanocytaire dépendante de la dose [10]. D'autres auteurs ont constaté au contraire une stimulation de la prolifération mélanocytaire, mais seulement à des doses d'UV trop faibles pour stimuler la mélanogénèse [11]. Les mélanocytes en culture isolée sont donc capables de répondre directement à la stimulation UV, mais de façon incomplète. Dans le but de voir si la stimulation de la mélanogénèse par les UV pouvait être sous influence kératinocytaire, nous avons irradié des kératinocytes et étudié l'action de milieux conditionnés par ces kératinocytes sur des mélanocytes en culture. Ces études suggèrent que la réponse mélanocytaire aux UV n'est pas sous l'influence de facteurs solubles d'origine kératinocytaire, et qu'un contact étroit entre mélanocytes et kératinocytes est nécessaire à la réponse mélanocytaire complète aux UV. D'autres expériences utilisant des extraits kératinocytaires totaux suggèrent que le bFGF pourrait être l'un de ces médiateurs paracrines modulés par les UV [12]. Enfin, dans un système de peau reconstituée, il a été montré que les UVB et les UVA en présence de psoralènes sont capables de stimuler la croissance mélanocytaire. En culture isolée, les mélanocytes répondent à l'irradiation UVA avec ou sans psoralènes par une diminution de prolifération mais aussi par une stimulation de l'activité tyrosinase [13]. Certains psoralènes (5-MOP) sont également capables de stimuler la mélanogénèse en l'absence de toute irradiation ultraviolette.

Messagers intracellulaires et stimulus UV

Le messager entre l'irradiation UV, stimulus physique, et la réponse biologique mélanocytaire est encore inconnu. La théorie la plus communément admise fait intervenir l'AMPc. En effet, l'IBMX, élévateur du taux d'AMPc intracellulaire, entraîne une stimulation de la mélanogénèse en culture. D'autres puissants inducteurs de l'AMPc (forskoline, α MSH) sont également capables de stimuler l'activité mélanogénique de cellules de mélanomes en culture. Toutefois, l'effet stimulant de

l' α MSH ou d'analogues de l'AMPc n'a jamais pu être reproduit sur le mélanocyte humain normal en culture. De plus, l'irradiation UV ne s'accompagne pas d'augmentation du taux d'AMPc intra-mélanocytaire. Cette théorie de la médiation de la réponse mélanocytaire aux UV par la voie de l'AMPc s'oppose à la théorie plus récente de la mise en jeu de la voie de la PKC. En effet, les UV, en modifiant les composants phospholipidiques de la membrane cellulaire, pourraient activer la phospholipase C, libérant du diacylglycérol (DAG) de la membrane qui pourrait alors activer à son tour la PKC et la voie des inositol-phosphates. Gordon a montré qu'un analogue soluble du DAG est capable de stimuler la production de mélanine par des mélanocytes en culture [14]. Le DAG peut également augmenter la réponse mélanogénique induite par les UV [15]. Enfin, l'expression de l'isoforme b de la PKC est corrélée au contenu pigmentaire des mélanocytes humains et de cellules de mélanome. Ces résultats conduisent à des controverses au sujet du mécanisme de transduction du signal mélanogénique. Il est toutefois possible que les deux messagers puissent être activés par des stimuli différents, ou même qu'un troisième messager soit impliqué. Enfin, il faut garder à l'esprit que ces résultats ont été obtenus dans des systèmes de culture où ces messagers sont perpétuellement activés (PKC par le TPA, AMPc par la toxine cholérique ou l'IBMX).

Mélanocytes, UV et vitamine D

Sous l'influence des rayonnements UV, les kératinocytes sont capables de convertir la provitamine D₃ (7-déhydrocholestérol) en 1,25 (OH)₂ D₃, forme hormonale active de la vitamine D. Le rôle de cette hormone dans la réponse mélanocytaire aux UV a été étudié par plusieurs équipes. Malgré la démonstration de la présence de récepteurs de la 1,25 (OH)₂ D₃ sur les mélanocytes humains normaux [16], son rôle reste encore incertain : alors qu'une stimulation de l'activité tyrosinase a été observée par certains [17], d'autres

auteurs n'observent au contraire aucun effet sur la mélanogenèse [18].

Interactions mélanocytes-kératinocytes

Dans l'épiderme, le mélanocyte appartient à l'unité de mélanisation épidermique, définie comme une unité anatomique et fonctionnelle tridimensionnelle, au sein de laquelle un mélanocyte est en rapport avec environ 36 kératinocytes voisins. Le mélanocyte synthétise la mélanine et la transfère aux kératinocytes de l'unité de mélanisation épidermique par l'intermédiaire des dendrites. Les échanges entre ces deux populations cellulaires ne se limitent cependant pas à la simple délivrance de pigment aux kératinocytes. Le kératinocyte joue certainement un rôle *in vivo* dans la survie et la prolifération mélanocytaire, la régulation de la mélanogenèse, la modulation de sa morphologie, en particulier sa dendricité et l'organisation tissulaire de l'unité de mélanisation épidermique. Un certain nombre de données ont récemment été obtenues sur ces facteurs d'origine kératinocytaire à action mélanotrophique.

Kératinocytes et prolifération mélanocytaire

Les premières études *in vitro* du mélanocyte ont été réalisées sur des cocultures entre mélanocytes et kératinocytes, car les cellules pigmentaires ne survivaient pas en l'absence de kératinocytes dans des milieux de culture non spécialisés. Cet effet de support de survie mélanocytaire est également manifeste lors de l'initiation de cultures pures de mélanocytes : les premières étapes sont une véritable coculture, les mélanocytes se groupant autour des amas kératinocytaires avec lesquels ils établissent des contacts par le biais de leurs dendrites. Ce n'est qu'après un certain temps de culture que les conditions de sélectivité entraînent la disparition des kératinocytes. Ces observations faites en laboratoire font donc penser que le kératinocyte a un rôle important sur la survie et la prolifération mélanocytaires.

Une approche expérimentale de ce rôle a été réalisée par Gordon, de l'équipe de Gilchrist, en étudiant l'effet d'un milieu conditionné par les kératinocytes sur des cultures pures de mélanocytes. Un milieu préalablement conditionné par des kératinocytes est capable de stimuler la croissance, la mélanogenèse et la dendricité mélanocytaire [6]. L'activité mitogène d'un milieu conditionné est environ quatre fois supérieure à celle d'un milieu témoin. Les facteurs kératinocytaires relargués dans le milieu de culture ne sont pas caractérisés, mais il semble ne s'agir ni du bFGF, ni du NGF, ni du TGF α , ni de l'IL-1, ni de la PGE-2 (prostaglandine E2), ni du leucotriène B4, ni de l'AMPc. Des études d'ultrafiltration montrent qu'il existerait dans le milieu conditionné un facteur d'un poids moléculaire supérieur à 10 000 daltons responsable de 50 % de l'activité mitogène et un facteur de bas poids moléculaire (inférieur à 500 daltons) responsable des 50 % restant. C'est dans cette fraction de bas poids moléculaire que l'on retrouve aussi l'activité stimulatrice de la mélanogenèse et de la dendricité.

L'équipe de Halaban est la première à avoir montré que le bFGF (*basic fibroblast growth factor*) est l'un des principaux facteurs de croissance mélanocytaire synthétisés par les kératinocytes. En effet, des extraits de tissus riches en bFGF (cerveau bovin, hypophyse, glande pinéale, placenta) stimulent la croissance de mélanocytes en culture [5]. Cette activité disparaît si ces extraits tissulaires sont préalablement traités par des anticorps anti-bFGF, ou par chromatographie d'affinité à l'héparine (qui retient le bFGF, mais aussi d'autres facteurs de croissance comme l'aFGF (*acidic FGF*), ou l'ECGF (*endothelial cell growth factor*). Enfin, le bFGF pur, mais non l'aFGF ni l'ECGF, a une activité mitogène sur le mélanocyte. Cet effet ne s'observe qu'en présence de facteurs augmentant le taux d'AMPc intracellulaire. Dans un deuxième temps, Halaban a montré que le bFGF est synthétisé par des kératinocytes en culture et que ce bFGF kératinocytaire, produit *in vitro*, a une activité stimulatrice sur l'incorporation de thymidine tritiée par

les mélanocytes [12]. Ces extraits kératinocytaires sont d'autant plus actifs qu'ils proviennent de kératinocytes en prolifération, non différenciés. Ce bFGF n'est pas excrété dans le milieu de culture puisque seuls les extraits kératinocytaires sont actifs, et non pas un milieu conditionné, ce qui souligne l'importance du contact intercellulaire et donc des dendrites mélanocytaires. Ces arguments expérimentaux sont très convaincants, mais il manque encore la preuve, par méthode d'immuno-empainte, de la production *in vitro* de la protéine par les kératinocytes. Certaines observations montrent que le bFGF est bien produit *in vivo* par les kératinocytes et qu'il exerce des effets paracrines sur les mélanocytes. En effet, des extraits épidermiques ou dermiques de peau totale humaine peuvent reproduire les effets mitogènes observés par Halaban avec des extraits de kératinocytes en culture. De plus, la présence d'ARN messager du bFGF a été mise en évidence dans les kératinocytes de l'épiderme humain normal par hybridation *in situ* [19]. Enfin, la présence de récepteurs du bFGF sur les mélanocytes humains normaux n'a toujours pas été démontrée.

D'autres facteurs d'origine kératinocytaire exercent un contrôle paracrine de la prolifération mélanocytaire. Parmi ces facteurs ont été identifiés des cytokines dont nous reparlerons en évoquant les relations mélanocytes-système immunitaire, mais aussi des leucotriènes et l'endothéline-1. La prolifération mélanocytaire est en effet sous l'influence de métabolites de la voie de la 5-lipo-oxygénase de l'acide arachidonique [20, 21]. Le leucotriène C4 (LTC-4) et le LTD-4 stimulent la prolifération des mélanocytes. L'effet du LTC-4 peut être bloqué par le H8, un inhibiteur de kinase de la voie des nucléotides cycliques. L'addition de H7, inhibiteur de la PKC, potentialise le stimulus mitogène du LTC-4. La migration active chimiotactique des mélanocytes est aussi stimulée par le LTC-4. Les leucotriènes pourraient avoir un rôle *in vivo*, puisque le LTC-4 est relargué par les kératinocytes après irradiation ultraviolette. Il est clair que cela pourrait être un début d'explication à l'effica-

RÉFÉRENCES

23. Valyi-Nagy IT, Murphy GF, Mancianti ML, Whitaker D, Herlyn M. Phenotype and interactions of human melanocytes and keratinocytes in an epidermal reconstruction model. *Lab Invest* 1990 ; 62 : 314-24.

24. Haake AR, Scott GA. Physiological distribution and differentiation of melanocytes in human fetal and neonatal skin equivalents. *J Invest Dermatol* 1991 ; 96 : 71-7.

25. De Luca M, D'Anna F, Bondanza S, Franz AT, Cancedda R. Human epithelial cells induce human melanocyte growth *in vitro* but only skin keratinocytes regulate its proper differentiation in the absence of dermis. *J Cell Biol* 1988 ; 107 : 1919-26.

26. Lacour JPh, Gordon PR, Eller M, Bhanwan J, Gilchrist BA. Cytoskeletal events underlying dendrite formation by cultured pigment cells. *J Cell Physiol* 1992 ; 151 : 287-99.

27. Mercer JA, Seperack PK, Strobel MC, Copeland NG, Jenkins NA. Novel myosin heavy chain encoded by murine *dilute* coat colour locus. *Nature* 1991 ; 349 : 709-13.

28. Scott GA, Haake AR. Keratinocytes regulate melanocyte number in human fetal and neonatal skin equivalents. *J Invest Dermatol* 1991 ; 97 : 776-81.

29. Eberle AN. The melanotropins. Chemistry, physiology and mechanisms of action. *Basel : Karger*, 1988.

30. Orlow SJ, Hotchkiss S, Pawelek JM. Internal binding sites for MSH : Analyses in wild-type and variant cloudman melanoma cells. *J Cell Physiol* 1990 ; 142 : 129-36.

31. Halaban R, Pomerantz SH, Marshall S, Lambert DT, Lerner AB. Regulation of tyrosinase in human melanocytes grown in culture. *J Cell Biol* 1983 ; 97 : 480-8.

32. Friedmann PS, Wren FE, Buffey J, McNil S. Alpha MSH causes a small rise of cAMP but has no effect on basal or ultraviolet-stimulated melanogenesis in human melanocytes. *Br J Dermatol* 1990 ; 123 : 145-51.

33. Donatien PD, Hunt G, Taieb A, Lunec J, Thody AJ. Demonstration of specific melanocyte stimulating hormone receptors on human melanocytes grown in a system free of artificial mitogens. *J Invest Dermatol* 1992 ; 98 : 541A.

34. Gilchrist BA, Albert LS, Karassik RL, et al. Substrate influences human epidermal melanocyte attachment and spreading *in vitro*. *In Vitro Cell Dev Biol* 1985 ; 21 : 114-20.

cité de la PUVA-thérapie* dans le vitiligo, où les mélanocytes folliculaires viennent coloniser l'épiderme interfolliculaire. L'endothéline-1 (ET-1), peptide vaso-constricteur dont l'origine principale est la cellule endothéliale, est synthétisée et sécrétée par les kératinocytes et possède un effet mitogène sur les mélanocytes. De plus, la sécrétion kératinocytaire est augmentée par l'irradiation ultraviolette.

Kératinocytes et morphologie mélanocytaire

Les actions « mélanotrophiques » des kératinocytes ne se limitent pas à un effet mitogène. Les kératinocytes exercent aussi un rôle modulateur sur la morphologie mélanocytaire, en particulier sur la dendricité, et sur l'organisation tissulaire de l'unité de mélanisation épidermique. Les dendrites mélanocytaires sont des prolongements cytoplasmiques présentant des similitudes frappantes avec les neurites (axones ou dendrites) des cellules neuronales, elles aussi dérivées de la crête neurale. Certains facteurs dits « neurotrophiques » — comme le NGF, la laminine ou le bFGF — sont capables d'augmenter la survie neuronale *in vitro* ou de stimuler la croissance des dendrites. De la même façon, les dendrites mélanocytaires sont soumises à l'action de facteurs d'origine kératinocytaire.

• Dans les premiers jours de culture selon la méthode de Gilchrist, les mélanocytes humains normaux issus de nouveau-nés sont très dendritiques. Ils émettent leurs prolongements vers les amas de kératinocytes avec lesquels ils établissent des contacts. Après quelques semaines de culture, lorsque les kératinocytes disparaissent, les mélanocytes changent de morphologie, devenant plutôt biou, tripolaires.

• En co-culture, les mélanocytes sont beaucoup plus dendritiques en présence de kératinocytes qu'en culture isolée [22-24]. En revanche, des cellules épithéliales de muqueuse buccale ne stimulent pas la dendricité mélanocytaire [25].

• Un milieu préalablement conditionné par des kératinocytes stimule considérablement la dendricité

mélanocytaire. Cette activité dendritogène est essentiellement contenue dans la fraction de bas poids moléculaire [6].

Contrairement aux cellules nerveuses, peu d'informations sont données sur la dendricité mélanocytaire : quel est le support anatomique de ces prolongements cytoplasmiques, en particulier quels sont les éléments du cytosquelette impliqués et quelle est la dynamique de formation et d'organisation de ces éléments lors de la croissance dendritique ? Quels sont les facteurs modulateurs de la dendricité mélanocytaire ?

Nous avons montré que des milieux conditionnés par des kératinocytes exercent une importante action dendritogène, quantifiable par analyse d'image, sur les mélanocytes humains normaux et sur les cellules B16 de mélanome malin murin. Les modifications morphologiques accompagnant la croissance dendritique mélanocytaire sont très proches de celles observées lors de la croissance de neurites, avec émission de structures proches des cônes de croissance neuronaux, et réarrangement des microfilaments d'actine et du réseau de microtubules. Les microfilaments d'actine occupent la partie périphérique et l'extrémité distale des dendrites et sont essentiels lors des premières phases d'initiation de la croissance dendritique (figure 2). Les microtubules occupent au contraire la partie centrale des dendrites et paraissent nécessaires à leur stabilisation. La dendritogenèse nécessite une néosynthèse protéique, mais ne s'accompagne pas d'induction des ARNm de la β -actine ou de la β -tubuline [26]. L'établissement et le maintien de la dendricité mélanocytaire sont probablement fondamentaux pour la fonction des cellules pigmentaires. En effet, il a été montré chez la souris que le gène *dilute* code pour un nouveau type de chaîne lourde de la myosine. Des mutations de ce gène sont associées à des troubles pigmentaires et à la présence de mélanocytes adendritiques [27].

Outre ce rôle modulateur de la dendricité mélanocytaire, les kératino-

* PUVA-thérapie : psoralènes + UVA (photochimiothérapie).

cytes exercent également une modulation de l'organisation de l'unité de mélanisation épidermique. En coculture, les kératinocytes sont capables de maintenir un rapport mélanocyte/kératinocyte proche du rapport physiologique. De plus, les mélanocytes s'organisent dans l'assise basale du feuillet épidermique [22, 23]. Cette organisation est sous dépendance kératinocytaire. En effet, en présence de cellules d'épithélium de muqueuse buccale, cette régulation histo-morphologique n'existe pas et les mélanocytes se répartissent dans toutes les couches de l'épithélium cultivé [25]. Ces observations sont également vraies dans des systèmes de peau reconstituée où mélanocytes et kératinocytes sont co-cultivés sur un équivalent dermique, reproduisant un épiderme stratifié. Lorsque les cellules sont issues de nouveau-nés, les mélanocytes se répartissent isolément dans l'assise basale avec un rapport mélanocyte/kératinocyte de 1/31,2. Quand les cellules sont d'origine fœtale, le rapport est de 1/3,3, les mélanocytes sont souvent groupés et observés aussi en position suprabasale [24]. Ces variations sont sous contrôle de facteurs kératinocytaires, dépendant en fait de l'origine fœtale ou néonatale des kératinocytes [28].

Ils jouent certainement un rôle fondamental dans l'organisation de l'unité de mélanisation épidermique au cours de la vie fœtale lorsque les mélanocytes issus de la crête neurale viennent coloniser l'épiderme.

Mélanocytes et MSH (melanocyte stimulating hormone)

Les MSH ou mélanotrophines sont des hormones polypeptidiques dont la production est le résultat du clivage enzymatique de la pro-opiomélanocortine (POMC). Cette molécule de 31 à 36 kDa, synthétisée dans la *pars distalis* et la *pars intermedia* de l'hypophyse, donne naissance à plusieurs polypeptides : l'ACTH (*adrenocorticotropin hormone*), l' α MSH, la β MSH et la γ MSH, la β et γ -LPH (*lipotropic hormone*), les α - β et la γ -endorphines, et le CLIP (*corticotropin-like intermediate lobe peptide*). Tous ces polypeptides possèdent une voie synthétique commune et une homologie de séquence [29].

Action mélanogène des mélanotrophines

Le rôle de l'hypophyse dans le contrôle de la pigmentation cutanée chez l'animal, en particulier chez les amphibiens, a été démontré dès 1912,

mais l'identification des peptides responsables n'a eu lieu que dans les années 1950. L' α MSH et la β MSH à un moindre degré, sont toutes deux capables d'induire des modifications rapides de la pigmentation chez les amphibiens, les poissons et les reptiles par transfert de mélanosomes dans les mélanophores* dermiques. L' α MSH est 10 à 100 fois plus puissante que l'ACTH et 100 à 1 000 fois plus que la β LPH. La γ MSH, le CLIP et la β -endorphine n'ont qu'une action très faible ou nulle. Les effets pigmentaires de l' α MSH ne sont observés chez l'homme qu'à des doses largement supraphysiologiques. Ainsi, l'effet pigmentaire des MSH a été observé chez des volontaires ayant reçu des injections de mélanotropines. En pathologie, les cas d'hypersécrétion d' α MSH sont très rares et s'accompagnent de mélanodermie. A l'état normal, le taux d' α MSH circulant est très faible, si bien que le rôle physiologique des mélanotropines d'origine hypophysaire dans la régulation de la mélanogénèse peut être mis en doute chez l'homme. Il est, en revanche, maintenant admis que la POMC et ses dérivés peptidiques sont également synthétisés par les kératinocytes. Il est donc possible d'envisager un contrôle paracrine de la mélanogénèse par des mélanotropines d'origine kératinocytaire.

Un analogue synthétique de l' α MSH, [Nle4D-Phe7]- α MSH, injecté par voie sous-cutanée à des volontaires sains induit une pigmentation cutanée atteignant son maximum une à trois semaines après la fin de l'administration de la mélanotropine. Cette pigmentation est plus nette sur les zones exposées à la lumière. Ce pourrait être une façon d'obtenir un bronzage cutané, sans exposition aux UV potentiellement dangereuse. Cependant, l' α MSH est un modificateur de réponses biologiques ubiquitaires ayant de nombreux effets (neurotransmetteur, modulateur de la réponse immunitaire et inflammatoire, agent pigmentant). Cet intermoduline a donc des effets potentiellement dangereux encore inconnus, ce qui doit rendre prudent dans son

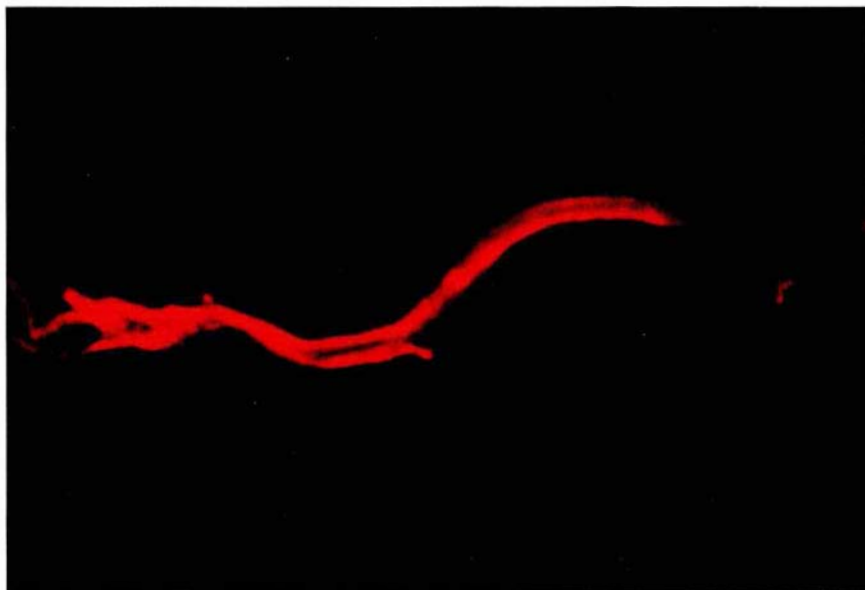


Figure 2. **Dendrite mélanocytaire induite en culture par un milieu conditionné par des kératinocytes.** Marquage des microfilaments d'actine par la rhodamine-phalloïdine. Noter la répartition de l'actine en périphérie de la dendrite. La zone centrale non marquée est occupée par un réseau de microtubules.

* Mélanophores : mélanocytes participant avec d'autres chromatophores à des changements de couleur des vertébrés à sang froid par une aggrégation ou dispersion de mélanosomes.

utilisation comme agent pigmentant dans des essais cliniques humains.

Action des mélanotropines sur les cellules pigmentaires *in vitro*

In vitro, le rôle pigmentogène de la MSH a été démontré sur des cellules S91 de mélanome malin murin et certaines lignées de cellules B16 [30]. Des récepteurs membranaires ont été identifiés sur des cellules B16 et S91 de mélanomes murins, et sur des cellules de mélanome humain. Il s'agit de glycoprotéines de 45 kDa qui pourraient être internalisées [30]. L' α -MSH agirait en augmentant le taux d'AMPc intracellulaire, qui serait secondairement responsable d'une activation de la tyrosinase. Cette théorie, fondée sur des expérimentations réalisées sur des cellules de mélanomes murins, doit toutefois être interprétée avec précaution, puisque l'on sait, d'une part, que l'AMPc n'est probablement pas le seul messager en cause dans l'induction de la mélanogénèse et, d'autre part, que la tyrosinase — bien qu'enzyme clé de la mélanogénèse — n'est probablement pas la seule impliquée dans la production mélanique [9, 31]. De plus, toutes les expériences de stimulation par l' α MSH de mélanocytes humains normaux en culture montrent l'absence

d'effet pigmentogène de cette mélanotropine, bien qu'elle soit capable d'induire une augmentation du taux d'AMPc [32]. Plus récemment, Donatien, avec le groupe de Thody, a pu démontrer la présence de récepteurs de la MSH (environ 500 par cellule) sur des mélanocytes humains en culture dans un milieu de culture sans TPA ni cholératoxine [33]. Le même groupe a montré que la MSH peut influencer l'attachement des mélanocytes humains normaux à la matrice extracellulaire.

Interactions mélanocytes-matrice extracellulaire

In vivo, les mélanocytes sont en contact étroit avec la membrane basale. Il est logique de penser que les mélanocytes ont des récepteurs pour certains composants de la membrane basale. *In vitro*, il a été montré que la morphologie des mélanocytes et leur attachement peuvent être influencés par le recouvrement de la surface des boîtes de culture par différents composants de la matrice extracellulaire [34]. De plus, l'équipe de Gilchrist et nous-même avons pu montrer que, *in vitro*, les mélanocytes peuvent synthétiser au moins certains composants de la membrane basale comme la lamine et la fibronectine (figure 3) [35]. Les cellules de

RÉFÉRENCES

35. Yaar M, Woodley DT, Gilchrist BA. Human nevocellular nevus cells are surrounded by basement membrane components: immunohistologic studies of human nevus cells and melanocytes *in vivo* and *in vitro*. *Lab Invest* 1988 ; 58 : 157-62.
36. Staquet MJ, Levaclot B, Dezutter Dambuyant C, Schmitt D. Expression of extracellular matrix receptors VLA-3 and VLA-6 on normal human melanocytes. *J Invest Dermatol* 1992 ; 98 : 842A.
37. Herlyn M, Thurin J, Balaban G, et al. Characteristics of cultured human melanocytes isolated from different stages of tumor progression. *Cancer Res* 1985 ; 45 : 5670-6.
38. Peacocke M, Yaar M, Mansur CP, et al. Induction of nerve growth factor receptors on cultured human melanocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988 ; 85 : 5282-6.
39. Yaar M, Grossman K, Eller M, et al. Evidence for nerve growth factor-mediated paracrine effects in human epidermis. *J Cell Biol* 1991 ; 115 : 821-8.
40. Ross AH, Grob P, Bothwell M, et al. Characterization of nerve growth factor receptor in neural crest tumors using monoclonal antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984 ; 81 : 6681-5.
41. Yohn JJ, Critelli M, Lyons MB, et al. Modulation of melanocyte intercellular adhesion molecule-1 by immune cytokines. *J Invest Dermatol* 1990 ; 90 : 233-7.
42. Kirnbauer R, Charvat B, Schauer E, et al. Modulation of intercellular adhesion molecule-1 expression on human melanocytes and melanoma cells; evidence for a regulatory role of IL-6, IL-7, TNF-beta and UVB light. *J Invest Dermatol* 1992 ; 98 : 320-6.
43. Swope WB, Abdel-Malek Z, Kassem LM, Nordlund JJ. Interleukins 1 α and 6 and tumor necrosis factor- α are paracrine inhibitors of human melanocyte proliferation and melanogenesis. *J Invest Dermatol* 1991 ; 96 : 180-5.

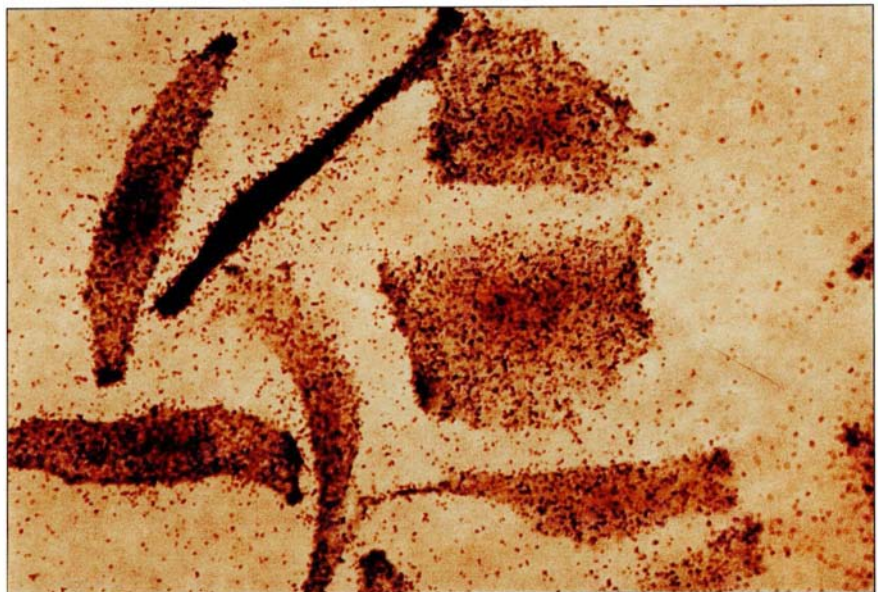


Figure 3. **Hybridation in situ de mélanocytes avec une sonde de la fibronectine.** Les mélanocytes ont été cultivés sur lamelles de verre en milieu additionné d'hormones à basse concentration calcique, fixés, puis soumis à la technique d'hybridation in situ.

naevus mélanocytaire expriment des molécules d'adhérence cellulaire, les cellules de naevus jonctionnel exprimant les intégrines VLA-2 et -3, et les cellules de naevus dermique exprimant VLA-1 et VLA-4. Les mélanocytes humains normaux expriment quant à eux VLA-3 et VLA-6 [36]. Les interactions entre les mélanocytes et la matrice extracellulaire *in vivo* sont en cours d'analyse par des techniques d'hybridation *in situ* et d'immunohistochimie. Cela pourrait conduire à une meilleure compréhension de la transition des tumeurs mélanocytaires bénignes vers les mélanomes malins et de l'histoire naturelle des naevus naevocellulaires.

Les mélanocytes, dérivés de la crête neurale

Le fait que les mélanocytes dérivent, sur le plan embryonnaire, de la crête neurale, et qu'ils aient une ressemblance morphologique marquée avec les cellules nerveuses, a conduit plusieurs investigateurs à étudier l'influence du NGF sur la prolifération, la survie et la différenciation mélanocytaires. Dans un premier temps, Herlyn *et al.* ont montré la présence de récepteurs du NGF sur des mélanocytes humains en culture, des cellules naeviques et des cellules de mélanomes malins par des techniques immunohistochimiques [37]. Leur système de culture est fondé sur l'utilisation de TPA. En revanche, Gilchrest *et al.* n'ont pas mis en évidence de récepteurs du NGF sur les mélanocytes cultivés dans leur système supplémenté en hormones, mais ont pu induire l'expression de ces récepteurs (ARNm et protéine), par l'addition de TPA, par l'irradiation ultraviolette ou par la suppression du sérum dans le milieu de culture [38]. Dans une étude encore plus récente, le même groupe apporte des preuves en faveur du rôle fonctionnel de ce récepteur présent sur les mélanocytes. Le NGF induit la synthèse de l'ARNm du récepteur du NGF et de c-Fos, tout en inhibant la synthèse des ARNm, de c-Myc et de la β -actine [39]. De plus, le NGF semble avoir une action chimiotactique sur les mélanocytes exprimant son récepteur et induit la formation de dendrites. L'ARN codant pour le NGF ayant été mis en évidence dans

des kératinocytes humains en culture, il est possible que le NGF soit un facteur paracrine important *in vivo* dans l'épiderme. En revanche, le NGF ne modifie pas les taux d'ARNm de la tyrosinase, et n'a pas d'effet mitogénique sur les mélanocytes. Tout récemment, il a été montré que les fibroblastes dermiques expriment un facteur neurotrophique, la neurotrophine 3. Le rôle éventuel de ce facteur sur le comportement mélanocytaire est encore inconnu.

In vivo, il a été montré que les mélanocytes épidermiques normaux n'expriment pas le récepteur du NGF [40]. En revanche, le récepteur du NGF est exprimé dans certains naevus congénitaux et dans certains naevus dysplasiques acquis ; il est également exprimé de façon importante dans les mélanomes malins et dans leurs métastases. Il semble exister une relation inverse entre le degré d'innervation et le degré d'expression du récepteur du NGF dans les naevus et les mélanomes malins *in vivo*. En effet, les naevus contiennent beaucoup plus de fibres nerveuses que la peau normale, ce qui n'est pas le cas des mélanomes malins ou de leurs métastases qui expriment fortement le récepteur du NGF. Il pourrait exister une compétition entre les fibres nerveuses et les cellules de mélanome malin pour le NGF dermique. Les récepteurs des cellules de mélanome malin auraient une plus haute affinité que les récepteurs des fibres nerveuses, ce qui expliquerait la pauvreté relative en fibres nerveuses des mélanomes malins. En d'autres termes, le NGF et son récepteur pourraient avoir un rôle important dans le contrôle autocrine de la croissance des cellules de mélanome malin.

Mélanocytes et système immunitaire

Norris *et al.* ont rapporté la présence d'ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) sur les mélanocytes humains en culture. Cette expression serait augmentée sous l'influence du TNF- α , de l'IFN γ (interféron γ) et de l'IL-1 [41]. L'expression est plutôt hétérogène, ce qui pourrait avoir une certaine importance *in vivo*. En effet, l'interaction entre les molécules ICAM-1 et LFA-1 est importante pour la régulation de la cytotoxicité

relayée par les cellules LAK (*lymphokine-activated killer cells*), les lymphocytes cytotoxiques, et la cytotoxicité de type ADCC (*antibody-dependent cytotoxicity*). Le degré d'expression de l'ICAM-1 par les mélanocytes pourrait être important dans des situations cliniques où un mécanisme auto-immun est suspecté, comme dans le vitiligo.

L'expression de l'ICAM-1 sur les cellules de mélanome malin pourrait avoir un rôle important dans l'immunosurveillance du mélanome malin. Il est possible que des cytokines (IL-1 et TNF- α , issus des kératinocytes et des macrophages ; IFN γ , issu des cellules T) puissent induire l'expression d'ICAM-1 et que la co-expression d'ICAM-1 et d'antigènes associés au mélanome soit importante dans la reconnaissance des cellules malignes par les lymphocytes T cytotoxiques, les cellules LAK et l'ADCC. L'expression d'ICAM-1 par les mélanomes malins serait corrélée à un plus grand risque de métastase. Enfin, il a récemment été rapporté que le taux d'ICAM-1 circulante est significativement élevé chez les patients porteurs de mélanomes métastasés. L'ICAM-1 circulante pourrait bloquer les molécules LFA-1 des lymphocytes cytotoxiques, ce qui permettrait aux cellules malignes d'échapper à l'immunosurveillance. Il reste encore à déterminer si le taux d'ICAM-1 sérique a une quelconque valeur pronostique, ou s'il peut être utilisé pour surveiller la réponse thérapeutique de patients porteurs de mélanome malin.

La stimulation de l'expression d'ICAM-1 par les cytokines est plus importante pour les mélanocytes que pour les kératinocytes. Cela suggère que les mélanocytes pourraient être le premier site d'attachement des cellules immunitaires effectrices lors des processus inflammatoires. Ainsi, le phénomène d'hypopigmentation post-inflammatoire pourrait être lié à l'augmentation de l'expression d'ICAM-1 sur les mélanocytes épidermiques sous l'influence de cytokines issues de l'infiltrat inflammatoire dermique.

Tout récemment, Kirnbauer *et al.* ont décrit l'induction de l'expression d'ICAM-1 dans les mélanocytes par l'IL-7, le TNF- β et l'IL-6. L'irradiation par les UVB a un effet biphasi-

que. Dans un premier temps, l'effet inducteur de l'expression d'ICAM-1 est inhibé ; cette phase est suivie d'une induction temporaire avec un maximum à 72 heures. Cette phase tardive pourrait être due au relargage de cytokines par les mélanocytes irradiés. *In vivo*, on peut imaginer que les kératinocytes irradiés relarguent des cytokines au sein de l'unité de mélanisation épidermique, stimulant l'expression d'ICAM-1 par les mélanocytes [42].

D'autres constatations montrent que le mélanocyte est au cœur de la réaction immunitaire épidermique. En effet, Swope *et al.* ont montré que l'IL-1 α , l'IL-6 et le TNF- α inhibent la prolifération mélanocytaire et la mélanogénèse [43]. *In vivo*, un contrôle paracrine du mélanocyte pourrait donc être exercé par le biais de la sécrétion de cytokines par les kératinocytes, mais aussi par les cellules de Langerhans. De plus, les mélanocytes sont eux-mêmes capables de synthétiser de l'IL-1 α et IL-1 β . Ils pourraient donc exercer un contrôle autocrine sur la mélanogénèse et leur propre prolifération. Ces constatations laissent aussi supposer que les mélanocytes pourraient eux-mêmes moduler les réactions immunitaires et inflammatoires épidermiques.

Ces notions récentes élargissent le concept d'unité de mélanisation épidermique à une unité anatomique et fonctionnelle, incluant la cellule de Langerhans et dépassant la seule fonction mélanogénique.

Conclusion

Cette dernière décennie a donc permis — en grande partie grâce à l'apport de la culture mélanocytaire — un essor considérable dans le domaine de la biologie cellulaire du mélanocyte humain. Ces découvertes récentes soulignent en particulier l'importance de la régulation paracrine, principalement d'origine kératinocytaire, du mélanocyte, démontrant la réalité et l'importance fonctionnelle de l'unité de mélanisation épidermique. L'élargissement de cette unité fonctionnelle et le rôle probable du mélanocyte dans la réponse immunitaire cutanée sont aussi un acquis très récent. Beaucoup de questions restent cependant encore sans réponse. Existe-t-il des facteurs mélanotropiques d'origine dermique,

et si oui quelle est leur nature ? Quelle est la nature du (ou des) message(s) intracellulaire(s) de la réponse mélanocytaire aux UV ? Quel est le rôle des mélanotropines chez l'homme ? A ces questions fondamentales s'ajoutent aussi les problèmes de la carcinogénèse mélanocytaire, de la pathogénie de certains troubles pigmentaires, héréditaires ou acquis, et de la modulation pharmacologique de la mélanogénèse. Gageons que les dix années à venir apporteront un certain nombre de réponses à ces interrogations ■

TIRÉS A PART

J.-Ph. Lacour.

**Le 18^e symposium européen
« Hormones et régulation cellulaire »
se tiendra du 24 au 27 septembre
1993 au Mont Sainte-Odile (Alsace).**

Cette réunion annuelle, soutenue essentiellement par l'INSERM depuis sa création en 1976, portera désormais le nom de Symposium européen INSERM du Mont-Sainte-Odile.

Comité scientifique : E.M. Chambaz (INSERM U. 244, F.), B.A. Cooke (G.B.), J.E. Dumont (Belgique), B. Groner (Suisse), J. Hanoune (INSERM U. 99, F.), F. Hofmann (Allemagne), R. Irvine (G.B.), L.A. Pinna (Italie).

Comité d'organisation : E.M. Chambaz (Président), B.A. Cooke, J.E. Dumont, R. Irvine.

Thèmes du programme :

- Protéines G trimériques et transduction du signal
- Protéine-tyrosine kinases et signalisation cellulaire
- Lipides à inositol
- Structure et fonction de nouveaux récepteurs membranaires.

Orateurs invités : K.E. Amrein (Suisse), L. Cantley (USA), M. Chabre (F.), E. Clauser (INSERM U.36, F.), L. Cocco (Italie), J. Cooper (USA), S.A. Courtneidge (Allemagne), N. Divecha (G.B.), S. Fischer (INSERM U. 332, F.), P. Gierschik (Allemagne), D. Granner (USA), I. Hiles (G.B.), K.H. Jakobs (Allemagne), G.L. Johnson (USA), P.A. Kelly (INSERM U. 344, F.), H.F. Lodisch (USA), G. Milligan (G.B.), R.P. Millar (Afrique du Sud), L. Naldini (Italie), B. Payrastre (INSERM U. 326, F.), J. Pouyssegur (F.), G. Schultz (Allemagne), L. Stephens (G.B.), G. Vassart (Belgique), G. Waksman (USA), R. Weinberg (USA).

Date limite de soumission des résumés et d'inscription : 15 juin 1993

Information et inscription : E.M. Chambaz, 18^e symposium européen INSERM du Mont Sainte-Odile, INSERM U. 244, DBMS/BRCE, CENG, BP 85 X, 38041 Grenoble Cedex — Tél. : 76.88.47.99
Télécopie : 76.88.51.55.

Summary

Biology of the normal human melanocyte

The past decade has brought a great deal of new knowledge on the biology of normal human melanocytes. The capacity to propagate these normal cells *in vitro* has opened vast opportunities for studying the proliferation and differentiation of melanocytes. At present, different culture systems are being employed, but in general terms the following classification can be made on the known mitogens for normal human melanocytes : (1) phorbol esters (TPA), probably working through a down-regulation of PKC ; (2) cAMP inducers such as cholera-toxin, IBMX, dbcAMP and possibly LTC-4 ; (3) peptide growth factors : bFGF is presumed to be the natural growth factor for melanocytes. The cellular physiology of the interaction between ultraviolet radiation (UVR) and the epidermal melanocyte still has many unknowns. A direct pigmentogenic response of melanocytes to UVB *in vitro* has been demonstrated, but, contrary to the *in vivo* situation, this was accompanied by a dose-dependent inhibition of melanocyte proliferation. UVR probably also works through keratinocytes to stimulate melanogenesis and melanocyte proliferation, and keratinocytic bFGF is a good candidate for being a paracrine factor to melanocytes. The second messengers responsible for transducing the UVR stimulus also are a hot point of investigation, and it seems that both the cAMP and PKC-pathway could be involved. Keratinocytes play an important role in determining melanocyte morphology, and NGF could be an important paracrine factor in this respect. The importance of cytoskeletal rearrangements during dendrite formation seems established. The master role of keratinocytes in determining the melanocyte/keratinocyte ratio in the epidermis has been demonstrated very elegantly using skin equivalent models. Recent evidence seems to indicate that the melanocyte could be of importance in immunological reactions as well.