

Características e implicaciones terapéuticas de las células dendríticas

A Rivas-Caicedo, E García-Zepeda**

RESUMEN. La capacidad de las células dendríticas (CDs) para entrar a los ganglios linfáticos, encontrarse con los linfocitos T y presentarles antígenos para conducirlos a un estado de activación o tolerancia, hace que estas células presentadoras de antígeno (APC por sus siglas en inglés) sean las directoras de la respuesta inmune. El fenotipo y la función de las CDs varía ampliamente; y así como intervienen en la selección tímica, participan también en la secreción de citocinas específicas en el sitio de inflamación. La plasticidad que poseen estas células ha hecho difícil su clasificación, sin embargo, se han determinado marcadores que permiten identificar parcialmente los diferentes grupos de CDs, haciendo posible establecer algunas de sus características como APC, evidenciar sus capacidades de migración y analizar su papel como activadoras o inductoras de tolerancia de los linfocitos T. Las investigaciones realizadas en esta área han permitido vislumbrar a las CDs como una excelente herramienta en terapias contra el cáncer o en tratamientos para disminuir el rechazo de trasplantes. Dichos estudios se encuentran encaminados a explotar al máximo las funciones de las CDs en la clínica, quedando un amplio campo por explorar.

Palabras clave: Células dendríticas, quimiocinas, inmunoterapia, linfocitos T, tolerancia.

ABSTRACT. Dendritic cells are professional antigen presenting cells (APC) with a unique ability to activate naive T cells. Bone marrow Dendritic Cells precursors (immature Dendritic cells) traffic from blood to different tissues where they capture antigen very efficiently. These immature Dendritic cells (iDCs) do not exhibit considerable APC's activity; only after antigen contact, the maturation process takes place. During this process, an increase of MHC-II molecules as well as co-stimulatory molecules, such as CD80, CD86 and CD40 and cytokine secretion, allows them to become potent APC's. Additionally, a change in their chemokine receptor expression is also important for migration from peripheral tissues, via afferent lymphatic, to regional lymph nodes, where the T lymphocyte activation process takes place. A Dendritic cell classification has been difficult due to their plasticity; however a number of specific markers have been described. This review is focused on to describe the functional characteristics of DCs, both during homeostasis and inflammation, as well as to analyze their characteristics as T cell activators and inducers of tolerance. Altogether, these capabilities recognize them as a potential therapeutic tool in cancer and Graft-Host Disease.

Key words: Dendritic cells, chemokines, immunotherapy, T lymphocytes, tolerance.

Introducción

Las CDs son APCs que se ubican prácticamente en todos los tejidos, incluyendo tejido linfoide, piel y mucosas donde forman una gran barrera contra la entrada de agentes extraños. Son capaces de migrar a ganglios linfáticos y ubicarse en zonas donde se facilita el encuentro con los linfocitos T (LT) siendo las APC más eficientes para presentar antígenos a LT vírgenes, lo cual les permite dirigir la respuesta inmune hacia activación o tolerancia. En la periferia, las CDs capturan antígenos tanto propios como extraños eficientemente, pero no tienen capacidad presentadora; estas células dendríticas, denominadas CDs inmaduras, reconocen señales de peligro que pueden

* Departamento de Inmunología. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.

Dirección para correspondencia:
Dr. Eduardo A. García-Zepeda
Departamento de Inmunología,
Instituto de Investigaciones Biomédicas,
Universidad Nacional Autónoma de México
CU 04510, México, D.F.

Recibido: 4 de agosto del 2009

Aceptado con modificaciones: 5 de septiembre del 2009

ser tanto patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) como lipopolisacáridos (LPS), así como otros estímulos inflamatorios como el $\text{TNF}\alpha$ y el lígando de CD40. Este reconocimiento conduce al proceso de maduración de la CD, el cual consiste entre otros aspectos en el aumento en la superficie celular de moléculas coestimuladoras como CD80, CD40 y CD86, así como de MHCII; la maduración de las CDs les permite presentar el antígeno en un contexto que induzca la activación de LT.

Teniendo en cuenta su ubicación, fenotipo y funciones, las CDs se agrupan en diferentes poblaciones. Sumado a esto, existen precursores presentes en sangre que pueden migrar hacia los tejidos durante procesos inflamatorios y diferenciarse hacia CDs. Además, las CDs son células que cuentan con gran plasticidad para cambiar su patrón de secreción de citocinas, dependiendo del ambiente en el que se encuentran.¹

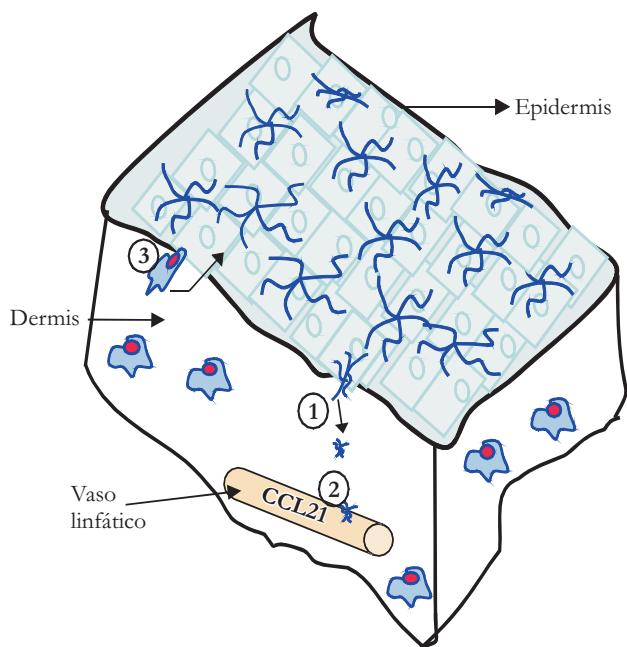
Origen de las células dendríticas

Las CDs se originan de precursores que se encuentran en médula ósea, los cuales poseen además la capacidad de diferenciarse a monocitos. También existe en médula ósea una pequeña población de precursores con capacidad exclusiva de dar origen a CDs.² Las CDs $\text{CD8}\alpha^+$ y las $\text{CD8}\alpha^-$ pueden originarse tanto de precursores mieloídes (CMP) como linfoides (CLP).³⁻⁵ Así mismo, existen precursores directos de CDs en sangre (CD11c^+ , MHCII) que no son capaces de diferenciarse hacia otros tipos celulares como monocitos, LT, linfocitos B o granulocitos ni *in vivo* o *in vitro*.⁶ Las células de Langerhans (CL) son CDs de origen mieloide ubicadas en piel. Fenotípicamente expresan en su superficie CD207 (Langerina), MHCII y CD24a. En estado de reposo, estas células migran a ganglios linfáticos a una tasa baja pero constante con el fin de mantener la tolerancia⁷⁻⁹ (Figura 1a). En ratones parabióticos, se observa que las CL no se mezclan en un periodo de al menos 6 meses.¹⁰ Por el contrario, cuando se induce inflamación o trauma en la piel las CL pasan de un estado de quiescencia a uno de total movilidad y migran de la epidermis en cuestión de horas^{8,11} (Figura 1b). Las CDs de bazo y ganglios linfáticos, aunque *in vitro* proliferan se asumían como células terminales.¹² Sin embargo, re-

cientemente se encontró que en estos dos órganos linfoides, las CDs se dividen, aunque de manera limitada. Sumado a esto, mediante experimentos de parabiosis se estableció que finalmente son reemplazadas en un periodo de 10-14 días por precursores que vienen de sangre (y a su vez de médula ósea), los cuales constantemente están ingresando a los órganos linfoides periféricos, llegando a establecer un equilibrio en el recambio de CDs (entre sangre y ganglios) importante para mantener la homeostasis. Las CDs hijas dentro del bazo retienen el complejo péptido-MHC de las células progenitoras, prolongando así de manera relevante el periodo de presentación antigenica.¹⁰

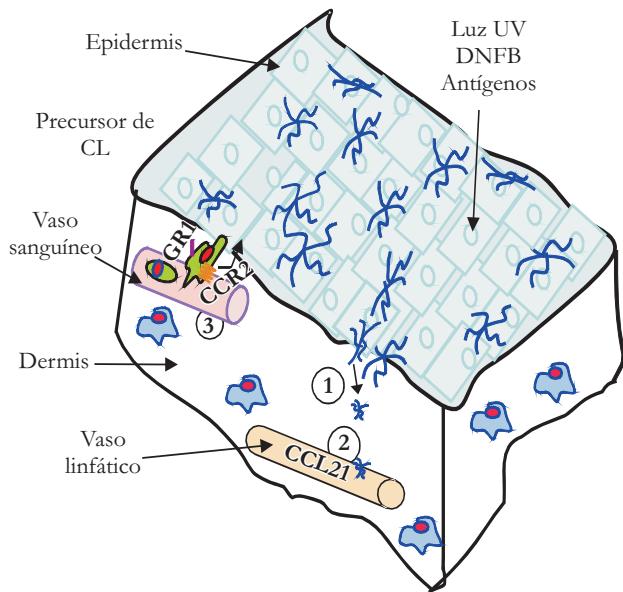
Migración de células dendríticas

Las CDs pueden estar como residentes en los tejidos o estar migrando desde la periferia hacia los ganglios linfáticos, lugar donde entran a través de linfáticos



1. Las CL salen de la epidermis hacia la dermis en un proceso que no depende de CCR7.
2. Luego, en un proceso dependiente de la interacción CCR7-CCL21 entran a los vasos linfáticos para migrar hasta los ganglios linfáticos.⁹
3. Precursores presentes en dermis son los encargados de renovar la población de LC.⁸

Figura 1a. Migración de células de Langerhans en condiciones de reposo. En condiciones de reposo una CL puede tardar en salir de la epidermis más de 18 meses.^{7,8}



1. Despues de censar o captar un antígeno, las CL salen de la epidermis hacia la dermis en un proceso que no depende de CCR7. 2. Luego, en un proceso dependiente de la interacción CCR7-CCL21 entran a los vasos linfáticos para migrar hasta los ganglios linfáticos.⁹ 3. Precursores GR1⁺CCR2⁺ presentes en sangre son los encargados de renovar la población de LC.^{7,8}

Figura 1b. Migración de células de Langerhans en estado de activación. En estado de activación una CL sale de la epidermis en cuestión de horas.¹¹

afferentes, a excepción de las CD plasmacitoides (pCD), las cuales ingresan por vénulas del endotelio alto (HEVs). La mayoría de experimentos de migración de CDs se han realizado utilizando modelos de células CL. Las CDs inmaduras poseen una gama de receptores de quimiocinas que les permiten llegar a los sitios de inflamación como CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CXCR1, CXCR2, CXCR4 y CCR6. Además, las CDs pueden secretar varias quimiocinas como CCL3, CCL4, CCL5 y CCL19, entre otras.¹³

Al madurar, las CL aumentan la expresión de CCR7 y CXCR4 en su superficie celular, lo cual es importante para llegar a ganglios linfáticos. Los ligandos para CCR7, CCL19 y CCL21 se expresan en órganos linfoides secundarios y en timo. CCL21 es codificado por dos genes, lo cual resulta en la traducción de dos proteínas: CCL21-Leu que es producida por endotelio linfático y CCL21-Ser, que es producida por células de estroma de las áreas T y en las HEVs de órganos linfoides secundarios. Así, las

CDs llegan a ganglios linfáticos a través de la interacción CCR7- CCL21-Leu. Congruente con estos datos, en el ratón *plt/plt*, el cual únicamente posee CCL21-Leu, la llegada de CDs a ganglios linfáticos se encuentra afectada de manera negativa. De igual manera, el ratón *CCR7^{-/-}* tiene del 1-10% del número normal de CDs en estos órganos linfoides.^{9,14} Sin embargo, el hecho de que el ratón *plt/plt*, que no tiene CCL19 ni CCL21-ser, presente una retrasada, pero fuerte y prolongada respuesta de hipersensibilidad por contacto, demuestra que en este caso la llegada de células al ganglio linfático y las interacciones CD-LT no dependen ni de CCL19 ni de CCL21.¹⁵

Aunque se conoce que moléculas de adhesión como ICAM-1, implicada en la entrada de CL a ganglios linfáticos¹⁶ y JAM-A, involucrada en retener a las CL en epidermis,¹⁷ ambas juegan papeles importantes en la migración de células dendríticas a través de vasos; aún se desconoce si las CDs se aproximan a los vasos linfáticos por quimiotaxis y luego ingresan a través de uniones estrechas entre células endoteliales adyacentes, o si existen interacciones entre moléculas de células del endotelio y de las CDs.

Varias moléculas inducen migración de CDs a ganglios linfáticos. Entre éstas, la histamina y los leucotrienos aumentan el flujo linfático. Por otra parte, la prostaglandina E2 (PGE2) es capaz de aumentar la expresión de CCR7 cuando células dendríticas derivadas de monocitos (CDDM) son inducidas a madurar con CD40L, y de incrementar la migración de CDs hacia ganglios linfáticos. Aunque las CL del ratón deficiente en el receptor para PGE2 presentan disminución en su capacidad de migración, otros tipos de CDs no requieren de esta molécula para responder a CCR7.¹⁸ La activación a través de CCR7 también se encuentra mediada por los leucotrienos, lo cual ha sido demostrado utilizando el ratón deficiente para la proteína transportadora de leucotrienos 4 (LTC4), MPR1. Las CL de este ratón son retenidas en la epidermis y llegan en un menor porcentaje a los ganglios linfáticos después de ser estimuladas.¹⁹ Por otra parte, para la salida de CDs de la epidermis es importante la acción de metaloproteasas (MMP). Así, en experimentos de cultivo de piel, el utilizar inhibidores para estas enzimas conduce a la retención de CL. Resultados similares se observan al realizar los ensayos con piel proveniente del ratón *MMP9^{-/-}*; esta

MMP se expresa en CDs de piel.²⁰ Moléculas como CD47 son además esenciales para la llegada de CDs tanto a ganglios linfáticos como a bazo, órgano al cual ingresan a través de vérulas, es decir, por vía sanguínea, no linfática.²¹

Al igual que las CL, las CDs derivadas de monocitos que migran hacia ganglios linfáticos requieren de CCR7 para realizar este proceso; sin embargo, el receptor CCR8 también es importante para la migración de estas células a estos órganos linfoides secundarios.²² Así mismo, la interacción CXCR4-CXCL12 es necesaria para la migración de CDs de piel a ganglios linfáticos. Este receptor, incrementa tras estímulos de maduración y su ligando único se ha visto expresado en vasos linfáticos de piel. La importancia de esta interacción se refleja en el menor número de CDs que llegan a ganglios linfáticos después de un estímulo en ratones que han sido tratados con un antagonista para CXCR4 y en una disminución en su respuesta de hipersensibilidad por contacto.²³

Captura y presentación de antígeno

Estas APC están dotadas de facultades que les permiten hacer un muestreo de su entorno continuamente en búsqueda de antígenos. Por ejemplo en el intestino, las CDs expresan proteínas de uniones estrechas con las cuales establecen interacciones con las células epiteliales, abriendose espacio hacia el lumen intestinal para muestrearlo sin dañar la integridad del tejido.²⁴ Por otra parte, en las zonas T de los ganglios linfáticos, las CDs residentes son capaces de atrapar antígenos solubles que ingresan vía aferentes linfáticos antes de que las CDs que han atrapado el antígeno en periferia lleguen al ganglio linfático.²⁵ Las CDs pueden tomar antígenos por varios mecanismos como macropinocitosis, endocitosis mediada por receptores FC, receptores de complemento y el receptor de manosa; también pueden fagocitar partículas de látex y células muertas por medio de los receptores scavenger $\alpha v\beta 5$ y CD36. Sumado a esto, las CDs maduras pueden secretar exosomas cargados con complejos MHC-peptido, los cuales pueden ser capturados por otras CDs receptoras, y presentados para inducir la activación de LT. Estas vesículas se encuentran además cargadas con moléculas de adhesión como CD11a e ICAM-1 entre otras, las cuales

se encuentran involucradas en la captura de los exosomas por las CDs receptoras y en la activación de los LT.²⁶

Las CDs pueden capturar tanto microorganismos como células apoptóticas; por lo tanto, para evitar procesos de autoinmunidad, deben ser capaces de discernir entre estos antígenos. Para este fin existen mecanismos dependientes de la señalización a través de los receptores tipo Toll (TLRs) que permiten seleccionar antígenos. Así, al cargar CDs con células apoptóticas y microorganismos, estos antígenos son segregados en compartimentos diferentes y únicamente se expresan en superficie moléculas de MHCII asociadas a los antígenos microbianos. Por otra parte, únicamente células apoptóticas que contienen LPS son capaces de generar maduración completa de las CDs. Además, la señalización a través de estos receptores incrementa la capacidad coestimuladora y presentadora de las CDs debido a que aumenta su habilidad para secretar citocinas y quimiocinas.²⁷ Sumado a esto, CDs activadas a través de TLR3 pueden activar células NK y NKT.²⁸

Los LT colaboradores son capaces de «educar»²⁹ a las CDs al aumentar la capacidad de estas últimas para producir IL-12 por medio de la interacción entre CD40-CD40L o la secreción de IFN γ . Por otra parte, CCL19 secretada por CDs aumenta la capacidad de LT vírgenes para escanear CDs maduras en busca de antígeno;³⁰ y quimiocinas de la familia CC que se encuentran en el sitio de interacción LT-CD ayudan al reclutamiento de CDs inmaduras y a la formación de agregados. Estas quimiocinas pueden provocar la disolución de los podosomas, lo cual está ligado a la adquisición de la forma migratoria de las CDs.³¹

Tolerancia

Las CDs están implicadas en la inducción de tolerancia de LT, ya sea por muerte, anergia o generación de células T reguladoras. En el timo, las CDs participan en la selección negativa de los LT. En periferia la inducción de tolerancia es importante para la eliminación de clonas de LT autorreactivos que han escapado de la selección negativa del timo. Este proceso es llevado a cabo por CDs deficientes en generar la «señal 2» ya que se encuentran en un estado «parcialmen-

te maduro». De esta manera, se ha evidenciado *in vivo* que las CL que migran a ganglios linfáticos en condiciones de reposo, presentan niveles elevados de MHC-II en superficie y bajos niveles de moléculas coestimuladoras,³² lo cual las hace buenas candidatas para inducir tolerancia.

Por otra parte, las CDs, principalmente las CD8 α^+ de bazo, están encargadas de la captura de células muertas.³³ Las células propias que han sufrido apoptosis son una constante fuente de antígeno para las CDs en condiciones de reposo, por lo cual es necesario generar tolerancia hacia estos antígenos. Uno de los mecanismos consiste en que únicamente se induce una alta expresión de MHCII cuando las CDs además de capturar células apoptóticas captan microorganismos, o cuando son estimuladas con LPS al mismo tiempo.²⁷ Esto indica que los TLRs de las CDs conducen a la célula a completar su proceso de maduración, lo cual les permitirá generar activación de LT; por el contrario, la ausencia de señal a través de estos receptores indica a la CD que la presentación antigénica debe dirigir a los LT a un fenotipo tolerante.

Hay evidencias que indican que las pCD tienen un papel relevante en la inducción de tolerancia. Estas células recién aisladas tienen poca capacidad endocítica en comparación con las CDs maduras (mCDs) y expresan bajos niveles tanto de MHC-II como de moléculas coestimuladoras en superficie. Sin embargo, al ser activadas *in vitro* con CpG, son capaces de inducir respuesta TH1 en linfocitos T vírgenes; no obstante, son menos eficientes que las mCDs. Por otra parte, LT CD4 $^+$ estimulados con IL10 e IFN α , citocinas altamente producidas por las pDC, adquieren un fenotipo regulador que media sus funciones vía IL10 y TGF β . Estas células son capaces de suprimir la proliferación de otros linfocitos frente a antígenos alógenos.³⁴ Además, las pCD aisladas de bazo inducen un estado no anárquico en los LT que ni se polarizan ni proliferan, a pesar de la adición exógena de IL2 en un modelo TCR transgénico. De manera importante, estos LT son capaces de inhibir la proliferación de LT específicos para antígeno.³⁵

Cuando CTLA-4, expresado constitutivamente en los LT, se une a CD80/CD86 en las CDs, se induce la expresión de IFN γ , el cual de manera autocrina estimula la producción de IDO (2,3 dioxigenasa de indolendiamina) conduciendo a la generación de meta-

bolitos tóxicos que afectan negativamente la proliferación y supervivencia de los LT. De manera similar, cuando pCD reciben señales a través de CD200R, receptor para CD200 (OX-2) pueden producir IDO en un mecanismo dependiente de la estimulación autocrina con IFN α .^{36,37} Así, las pDC son capaces de inducir tolerancia probablemente a través de tres mecanismos: generación de células T reguladoras, anergia y deleción.

Implicaciones terapéuticas

La capacidad única de activar LT vírgenes y de activar LT citotóxicos (LTC) por medio de la presentación cruzada ha hecho que las células dendríticas sean blanco de estudios para crear nuevas técnicas de inmunoterapia contra el cáncer. Los tumores pueden promover, entre otros aspectos, la CDs secreción de TGF- β , lo cual induce la proliferación de células T reguladoras³⁸. Sumado a esto, varios estudios demuestran que en tumores, además de encontrar un ambiente inmunosupresor caracterizado por la presencia de factores como IL10 y TGF-B, la falta de moléculas coestimuladoras en CDs asociadas a cáncer afecta negativamente la respuesta inmune celular contra el tumor;³⁹ sin embargo, estas CDs infiltradas en tumores sí son capaces de madurar *ex vivo*. Así, al cultivar CDs provenientes de un melanoma, éstas aumentan la expresión de moléculas coestimuladoras en superficie, producen IL12 y son capaces de inducir proliferación de LT específicos para OVA,⁴⁰ lo cual indica que sus funciones pueden ser restauradas al cambiar de ambiente. Aprovechando la facilidad para generar CDs *ex vivo*, dos estrategias para utilizar estas células en inmunoterapia han sido ampliamente estudiadas. La primera implica utilizar CDs como adyuvantes de respuesta antitumoral, obteniendo resultados positivos tanto en modelos animales como en pacientes. Factores como el estado de maduración de las CDs, si deben ir o no cargadas con péptido y el origen de este mismo, son objeto de constante estudio. La administración de CDs cargadas con antígenos autólogos del tumor es un protocolo que ha tenido éxito y ha sido aceptado para inmunoterapia en algunos pacientes; sin embargo, debido a que este método requiere la obtención personalizada de vacunas, es necesario buscar nuevas estrategias para la ob-

tención de estas células. Varios estudios se han enfocado a la comparación de fuentes antigenicas para cargar CDs, demostrando, por ejemplo, que no existen diferencias en la activación de los LT inducida por CDs cargadas con RNA proveniente de cáncer renal de donadores, comparado con RNA de una línea celular de este carcinoma.⁴¹ Así mismo, utilizando células muertas de una línea celular de cáncer de colon de rata se demostró que no hay diferencias en la proliferación de los linfocitos T cuando son activados con CDs cargadas con células que han sufrido apoptosis, necrosis o muerte inducida por formación de sincios.⁴²

Inducir la maduración de CDs directamente en el tumor es una estrategia relativamente nueva que puede ser viable y menos dispendiosa que la generación de estas células *ex vivo*. Sumado a esto, acoplar antígenos a moléculas dirigidas exclusivamente a las CDs asegura y maximiza la captura y presentación de estos antígenos. Por ejemplo, antígenos acoplados a anticuerpos contra DC-SING son internalizados eficientemente por las CDs e inducen una buena respuesta de LT.⁴³ De la misma manera, inyectar ratones con antígenos acoplados a anticuerpos contra DEC205 junto con un anticuerpo agonista para CD40, promueve la proliferación tanto de linfocitos CD4⁺ como CD8⁺, induciéndose además un fenotipo de memoria.⁴⁴ En otra estrategia de vacunación, moléculas químéricas compuestas por antígenos y ligandos para TLRs inducen *in vivo* activación de LT citotóxicos, promoviendo la eliminación del tumor.⁴⁵ De esta manera, la administración peritumoral de CpG conduce al retraso en el establecimiento y el crecimiento del melanoma.⁴⁶

Por otra parte, el rechazo de un trasplante se da debido a que los LT del organismo receptor montan una fuerte respuesta contra los antígenos alógenos del donador; por el contrario, cuando el trasplante es aceptado los LT se muestran tolerantes a estos antígenos. La segunda estrategia de inmunoterapia ha-

ciendo uso de CDs consiste en valerse de la capacidad de estas células para generar LT tolerantes, lo cual disminuiría la incidencia de rechazo injerto-contrahuésped. Uno de los grupos implicados en este proceso son las pCD. En humano, estas células inducen anergia de LT CD4⁺, los cuales se vuelven deficientes en la producción de IL2 aunque producen IFN γ e IL10 después de ser estimulados.⁴⁷ Por otra parte, se ha observado que la falta de reconstitución de pCD incrementa el riesgo de muerte causado por el rechazo de trasplante de médula ósea, y que precursores de pDC facilitan la aceptación del trasplante y disminuyen el riesgo a GVHD.⁴⁸ En otros estudios se ha evidenciado que las pDC son las responsables de la generación de células CCR4⁺CD4⁺ CD25⁺Foxp3⁺, fenotipo de las células T reguladoras capaces de conducir a la tolerancia de un trasplante vascular cardiaco prolongando el tiempo de sobrevida en ratones.⁴⁹

El uso de CDs en inmunoterapia no se limita a cáncer y trasplantes. Por ejemplo, se sabe que una de las características de la «inmunoparálisis» después de sufrir sepsis es que las CDs se encuentran alteradas negativamente en cuanto a función y número. De esta manera, en un modelo murino de sepsis, el ratón es susceptible a infecciones por *A. fumigatus* (hongo que en condiciones normales es no patogénico) en pulmón en la fase postséptica y el inyectar CDs maduras derivadas de médula ósea restaura la inmunidad protectora contra este hongo.⁵⁰

Restablecer las funciones y/o el número de CDs en tumores u otro tipo de padecimientos son estrategias que buscan combatir estas enfermedades. De la misma manera, el papel de las pDC induciendo tolerancia es prometedor para diezmar el riesgo de rechazo a trasplantes; sin embargo, refinar los conocimientos acerca de los mecanismos que conducen a la tolerancia en lugar de inmunidad, así como reforzar los estudios que de vías de inoculación y activación de CD, pueden brindar mejores herramientas para la utilización de estas células en inmunoterapia.

Bibliografía

1. Shortman K, Naik SH. Steady-state and inflammatory dendritic-cell development. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 19-30.
2. Liu K, Victoria G, Schwickert T, Guermonprez P, Meredith M, Yao K, Chu F, Randolph G, Rudensky A, Nussen- zweig. *In vivo* analysis of dendritic cells development and homeostasis. *Science* 2009; 324: 392-397.
3. Merad M, Fong L, Bogenberger J, Engleman E. Differentiation of myeloid dendritic cells into CD8alpha-positive dendritic cells *in vivo*. *Blood* 2000; 96: 1865-1872.

4. Manz M, Traver D, Miyamoto T, Weissman I, Akashi K. Dendritic cell potentials of early lymphoid and myeloid progenitors. *Blood* 2001; 97: 3333-3341.
5. Ardavin C. Origin, precursors and differentiation of mouse dendritic cells. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 582-591.
6. Martínez del Hoyo G, Martín P, Vargas HH et al. Characterization of a common precursor population for dendritic cells. *Nature* 2002; 415: 1043-1047.
7. Merad M, Manz MG, Karsunky H, Wagers A, Peters W, Charo I. Langerhans cell renew in the skin throughout life under steady-state conditions. *Nat Immunol* 2002; 3: 1135-1141.
8. Ginhoux F, Tacke F, Angeli V, Bogunovic M, Loubeau M, Dai XM, Stanley ER, Randolph GJ, Merad M. Langerhans cells arise from monocytes *in vivo*. *Nat Immunol* 2006; 7: 265-272.
9. Ohl L, Mohaupt M, Czeloth N, Hintzen G, Kiflaf Z, Zwirner J, Blankenstein T, Henning G, Förster R. CCR7 governs skin dendritic cell migration under inflammatory and steady-state conditions. *Immunity* 2004; 2: 279-288.
10. Liu K, Waskow C, Liu X, Yao K, Hoh J, Nussenzweig M. Origin of dendritic cells in peripheral lymphoid organs of mice. *Nat Immunol* 2007; 8: 578-583.
11. Kissenpennig A, Henri S, Dubois B, Laplace-Builhé C, Perrin P, Romani N, Tripp CH, Douillard P, Leserman L, Kaiserlian D, Saeland S, Davoust J, Malissen B. Dynamics and function of Langerhans cells *in vivo*: dermal dendritic cells colonize lymph node areas distinct from slower migrating Langerhans cells. *Immunity* 2005; 22: 643-654.
12. Kamath AT, Pooley J, O'Keeffe MA, Vremec D, Zhan Y, Lew AM, D'Amico A, Wu L, Tough DF, Shortman K. The development, maturation, and turnover rate of mouse spleen dendritic cell populations. *J Immunol* 2000; 165: 6762-6770.
13. Cavanagh L, Von Andrian U. Travellers in many guises: The origins and destinations of dendritic cells. *Immunol Cell Biol* 2002; 80: 448-462.
14. Martin-Fontech A, Sebastiani S, Höpken UE, Uggioni M, Lipp M, Lanzavecchia A, Sallusto F. Regulation of dendritic cell migration to the draining lymph node: impact on T lymphocyte traffic and priming. *K Exp Med* 2003; 198: 615-621.
15. Mori S, Nakano H, Aritomi K, Wang CR, Gunn MD, Kakiuchi T. Mice lacking expression of the chemokines CCL21-Ser and CCL19 (*plt* mice) demonstrate delayed but enhanced T cell immune responses. *J Exp Med* 2001; 193: 207-217.
16. Xu H, Guan H, Zu G, Bullard D, Hanson J, Slater M, Elmetts CA. The role of ICAM-1 molecule in the migration of Langerhans cells in the skin and regional lymph node. *Eur J Immunology* 2001; 31: 3085-3093.
17. Cera MR, Del Prete A, Vecchi A, Corada M, Martin-Padura I, Motoike T, Tonetti P, Bazzoni G, Vermi W, Gentili F, Bernasconi S, Sato TN, Mantovani A, Dejana E. Increased DC trafficking to lymph nodes and contact hypersensitivity in junctional adhesion molecule-A-deficient mice. *J Clin Invest* 2004; 114: 729-738.
18. Luft T, Jefford M, Luetjens P, Toy T, Hochrein H, Masterman KA, Maliszewski C, Shortman K, Cebon J, Maraskovsky E. Functionally distinct dendritic cell (DC) populations induced by physiologic stimuli: prostaglandin E(2) regulates the migratory capacity of specific DC subsets. *Blood* 2002; 100: 1362-1372.
19. Robbiani D, Finch R, Jäger D, Muller WA, Sartorelli AC, Randolph GJ. The leukotriene C₄ transporter MRP1 regulates CCL19 (MIP-3 α , ELC)-Dependent mobilization of dendritic cells to lymph nodes. *Cell* 2000; 103: 757-768.
20. Ratzinger G, Stoitzner P, Ebner S, Lutz MB, Layton GT, Rainer C, Senior RM, Shipley JM, Fritsch P, Schuler G, Romani N. Matrix metalloproteinases 9 and 2 are necessary for the migration of Langerhans cells and dermal dendritic cells from human and murine skin. *J Immunol* 2002; 268: 4361-4371.
21. Van VQ, Lesage S, Bouguermouh S, Gautier P, Rubio M, Levesque M, Nguyen S, Galibert L, Sarfati M. Expression of the self-marker CD47 on dendritic cells governs their trafficking to secondary lymphoid organs. *EMBO J* 2006; 25: 5560-5568.
22. Qu C, Edwards EW, Tacke F, Angeli V, Llodrá J, Sánchez-Schmitz G, Garin A, Haque NS, Peters W, van Rooijen N, Sánchez-Torres C, Bromberg J, Charo IF, Jung S, Lira SA, Randolph GJ. Role of CCR8 and other chemokine pathways in the migration of monocyte-derived dendritic cells to lymph nodes. *J Exp Med* 2004; 200: 1231-1241.
23. Kabashima K, Shiraishi N, Sugita K, Mori T, Onoue A, Kobayashi M, Sakabe J, Yoshiki R, Tamamura H, Fujii N, Inaba K, Tokura Y. CXCL12-CXCR4 engagement is required for migration of cutaneous dendritic cells. *Am J Pathol* 2007; 171: 1249-1257.
24. Rimoldi M, Rescigno M. Uptake and presentation of orally administered antigens. *Vaccine* 2005; 23: 1793-1796.
25. Sixt M, Kanazawa N, Selg M, Samson T, Roos G, Reinhardt DP, Pabst R, Lutz MB, Sorokin L. The conduit system transports soluble antigens from the afferent lymph to resident dendritic cells in the T cell area of the lymph node. *Immunity* 2005; 22: 19-29.
26. Segura E, Nicco C, Lombard B, Véron P, Raposo G, Batteux F, Amigorena S, Théry C et al. ICAM-1 on exosomes from mature dendritic cells is critical for efficient naïve T-cell priming. *Blood* 2005; 106: 216-223.
27. Blander JM, Medzhitov R. Toll-dependent selection of microbial antigens for presentation by dendritic cells. *Nature* 2006; 440: 808-812.
28. Degli-Esposti MA, Smyth MJ. Close encounters of different kinds: dendritic cells and NK cells take centre stage. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 112-124.
29. Alpan O, Bachelder E, Isil E, Arnheiter H, Matzinger P. 'Educated' dendritic cells act as messengers from memory to naïve T helper cells. *Nat Immunol* 2004; 5: 615-622.
30. Kaiser A, Donnadieu E, Abastado JP, Trautmann A, Nardin A. CC chemokine ligand 19 secreted by mature dendritic cells increases naïve T cell scanning behavior and their response to rare cognate antigen. *J Immunol* 2005; 175: 2349-2356.
31. Nobile C, Lind M, Miro F, Chemin K, Tourret M, Occhipinti G, Dogniaux S, Amigorena S, Hivroz C et al. Cognate CD4+ T cell-dendritic cell interactions induce migration of immature dendritic cell through dissolution of their podosomes. *Blood* 2008; 7: 3579-3590.

32. Lutz MB, Schuler G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends Immunol* 2002; 23: 445-449.
33. Liu K, Iyoda T, Saternus M, Kimura Y, Inaba K, Steinman RM. Immune tolerance after delivery of dying cells to dendritic cells *in situ*. *J Exp Med* 2002; 196: 1091-1097.
34. Levings MK, Sangregorio R, Galbiati F, Squadalone S, de Waal Malefyt R, Roncarolo MG. IFN-alpha and IL-10 induce the differentiation of human type 1 T regulatory cells. *J Immunol* 2001; 166: 5530-5539.
35. Martín P, Del Hoyo GM, Anjuère F, Arias CF, Vargas HH, Fernández-L A, Parrillas V, Ardavín C. Characterization of a new subpopulation of mouse CD8alpha+ B220+ dendritic cells endowed with type 1 interferon production capacity and tolerogenic potential. *Blood* 2002; 100: 383-390.
36. Fallarino F, Asselin-Paturel C, Vacca C, Bianchi R, Gizzi S, Fioretti MC, Trinchieri G, Grohmann U, Puccetti P. Murine plasmacytoid dendritic cells initiate the immunosuppressive pathway of tryptophan catabolism in response to CD200 receptor engagement. *J Immunol* 2004; 173: 3748-3754.
37. Grohmann U, Bianchi R, Orabona C, Fallarino F, Vacca C, Micheletti A, Fioretti MC, Puccetti P. Functional plasticity of dendritic cell subsets as mediated by CD40 versus B7 activation. *J Immunol* 2003; 171: 2581-2587.
38. Ghiringhelli F, Puig PE, Roux S, Parcellier A, Schmitt E, Solary E, Kroemer G, Martin F, Chauffert B, Zitvogel L. Tumor cells convert immature myeloid dendritic cells into TGF-beta-secreting cells inducing CD4+CD25+ regulatory T cell proliferation. *J Exp Med* 2005; 202: 919-929.
39. Idoyaga J, Moreno J, Bonifaz L. Tumor cells prevent mouse dendritic cell maturation induced by TLR ligands. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56: 1237-1250.
40. Preynat-Seauve O, Schuler P, Contassot E, Beermann F, Huard B, French LE. Tumor-infiltrating dendritic cells are potent antigen-presenting cells able to activate T cells and mediate tumor rejection. *J Immunol* 2006; 176: 61-67.
41. Geiger C, Regn S, Weinzierl A, Noessner E, Schendel DJ. A Generic RNA-pulsed dendritic cell vaccine strategy for renal cell carcinoma. *J Transpl Med* 2005; 3: 29-44.
42. Larmonier N, Merino D, Nicolás A, Cathelin D, Besson A, Bateman A, Solary E, Martin F, Katsanis E, Bonnotte B. Apoptotic, necrotic, or fused tumor cells: an equivalent source of antigen for dendritic cell loading. *Apoptosis* 2006; 11: 1513-1524.
43. Tacken PJ, de Vries IJ, Gijzen K, Joosten B, Wu D, Rother RP, Faas SJ, Punt CJ, Torensma R, Adema GJ, Fidgor CG. Effective induction of naive and recall T-cell responses by targeting antigen to human dendritic cells via a humanized anti-DC-SIGN antibody. *Blood* 2005; 106: 1278-1285.
44. Bonifaz LC, Bonnyay DP, Charalambous A, Darguste DI, Fujii S, Soares H, Brimnes MK, Moltedo B, Moran TM, Steinman RM. *In vivo* targeting of antigens to maturing dendritic cells via the DEC-205 receptor improves T cell vaccination. *J Exp Med* 2004; 199: 815-824.
45. Seya T, Akazawa T, Tsujita T, Matsumoto M. Role of Toll-like receptors in adjuvant-augmented immune therapies. *Evid Based Complement Alternat Med* 2006; 3: 31-38.
46. Tormo D, Ferrer A, Bosch P, Gaffal E, Basner-Tschakarjan E, Wenzel J, Tüting T. Therapeutic efficacy of antigen-specific vaccination and Toll-like receptor stimulation against established transplanted and autochthonous melanoma in mice. *Cancer Res* 2006; 66: 5427-5435.
47. Kuwana M, Kaburaki J, Wright TM, Kawakami Y, Ikeda Y. Induction of antigen-specific human CD4+ T cell anergy by peripheral blood DC2 precursors. *Eur J Immunol* 2001; 31: 2547- 2557.
48. Fugier-Vivier I, Rezzoug F, Huang Y, Layman-Grail A, Schanle C, Xu H Chilton PM, Ildstad ST. Plasmacytoid precursor dendritic cells facilitate allogenic hematopoietic stem cell engraftment. *J Exp Med* 2005; 201: 373-383.
49. Ochando JC, Homma C, Yang Y, Hidalgo A, Garin A, Tacke F, Angeli V, Li Y, Boros P, Ding Y, Jessberger R, Trinchieri G, Lira SA, Randolph GJ, Bromberg JS. Alloantigen-presenting plasmacytoid dendritic cells mediate tolerance to vascularized grafts. *Nat Immunol* 2006; 7: 652-662.
50. Wen H, Schaller M, Dou Y, Hogaboam C, Kunkel S. Dendritic cells at the interface of innate and acquired immunity: the role for epigenetic changes. *J Leukoc Biol* 2008; 83: 439-446.