

# Las células dendríticas de la piel: de Paul Langerhans al concepto de los inmunocitos viajeros

Félix Jacobo Tapia<sup>a</sup>, Zelandia Fermín<sup>a</sup> y José A. Corado<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Instituto de Biomedicina. Universidad Central de Venezuela. <sup>b</sup>Departamento de Ciencias Fisiológicas. Universidad de Carabobo. Valencia. Venezuela.

Paul Langerhans, siendo estudiante de medicina, identificó las células dendríticas de la piel y los islotes del páncreas endocrino, estructuras que recibieron su nombre como carta de presentación de uno de los investigadores más prominentes del siglo XIX<sup>1,2</sup>. No fue hasta mediados de los años sesenta en que las células de Langerhans o células dendríticas de la piel fueron reconocidas como inmunocitos por los trabajos pioneros de Campo-Aasen y Pearse (figs. 1 y 2)<sup>3</sup>.

Desde entonces estas células han recibido la atención correspondiente gracias a su participación cardinal en los inicios de la respuesta inmunitaria frente a agentes vivos o sustancias químicas.

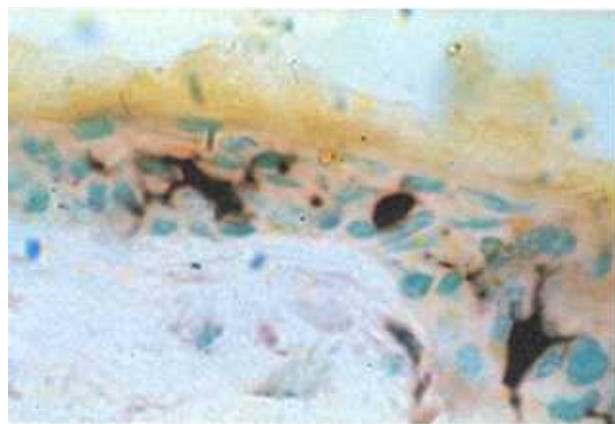
## BIOLOGÍA DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS

### Origen de las células dendríticas

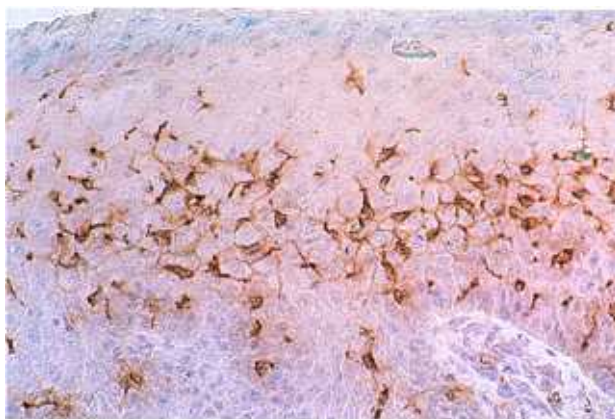
Las investigaciones señalan dos vías ontogénicas para las células dendríticas: aquellas que provienen de células precursoras mieloides y las que derivan de células precursoras linfoides. Los precursores hematopoyéticos mieloides dan origen a granulocitos, monocitos, células de Langerhans epidérmicas y a las células dendríticas de los órganos linfoides secundarios<sup>4-10</sup>. Estudios recientes han demostrado que el cultivo de células madres CD34<sup>+</sup> en presencia del factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) genera dos tipos de células precursoras específicas de linaje: células CLA<sup>+</sup>/CD1a<sup>+</sup> que derivan en células de Langerhans y células CLA/CD14<sup>+</sup> que resultan en células dendríticas intersticiales como los

Correspondencia: Dr. F.J. Tapia.  
Laboratorio de Biología Molecular. Instituto de Biomedicina.  
Apartado 4043. Caracas 1010A. Venezuela.  
Correo electrónico: ftapia@telcel.net.ve

*Piel* 2000; 15: 419-427.



**Figura 1.** Células de Langerhans humanas identificadas por la producción de la enzima  $\alpha$ -naftil acetato característica del linaje monocito-macrófago. Donada por Imelda Campo-Aasen.



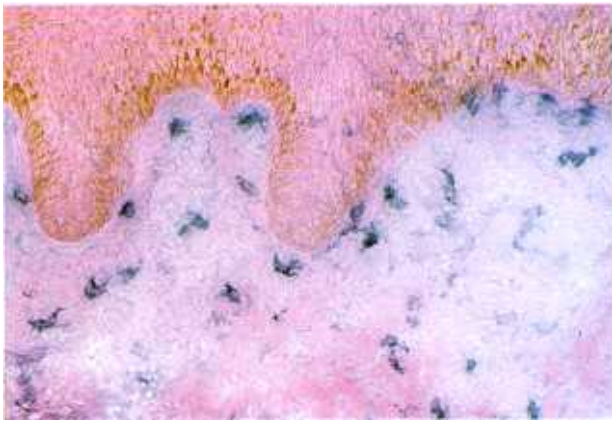
**Figura 2.** Células de Langerhans que expresan CD1a en la epidermis de una lesión de leishmaniasis tegumentaria localizada. Avidina-biotina-inmunoperoxidasa.

dendrocitos dérmicos<sup>11</sup>. El antígeno asociado a linfocitos T cutáneos (CLA) es una molécula de anidamiento específico de la piel cuyo ligando natural es la E-selectina presente en las células endoteliales vasculares activadas de la piel<sup>12</sup>.

La adición del factor transformador de crecimiento beta (TGF- $\beta$ ) favorece la obtención de células de Langerhans a partir de células CD34<sup>+</sup><sup>13</sup>. Además, esta posibilidad se evidenció en ratones *knock out*, para el gen que codifica al TGF- $\beta$ 1, los cuales carecen de células dendríticas en la epidermis pero no en el resto de los tejidos linfoides<sup>14</sup>.

### Las células dendríticas de la piel

**Células de Langerhans o células dendríticas epidérmicas.** Las células de Langerhans llegan a la piel por vía sanguínea. En la epidermis, al igual que otros epitelios, ejercen su función de inmunovigilancia, y cuando se activan por un desafío antigénico migran hacia los órganos linfoides secundarios para desplegar su función inmunoestimuladora, como célula presentadora de antígeno (CPA) profesional, iniciando la respuesta de linfocitos T<sup>10,15</sup>.



**Figura 3.** Dendrocitos dérmicos que expresan FcεRI en la dermis de una lesión de leishmaniasis tegumentaria difusa. Avidina-biotina-inmunoperoxidasa.

En condiciones normales, las células de Langerhans epidérmicas se caracterizan por una tasa de recambio relativamente baja. Sin embargo, en respuesta a una irrupción de la barrera epitelial se produce un rápido reclutamiento celular desde la circulación sanguínea<sup>16</sup>. Los mecanismos de migración en condiciones normales son similares a los que promueven el reclutamiento de células dendríticas activadas<sup>17</sup>.

Los epitelios, por ser sitios de inmunorregulación, son capaces de producir un sinnúmero de citocinas. La epidermis sana produce en forma constitutiva algunas citocinas como interleucina 1 (IL-1), IL-7 y TGF-β, lo cual aumenta a plétora de citocinas cuando ocurre una alteración de la barrera epidérmica (tabla I). Esta activación epidérmica induce a los queratinocitos a participar como células inmunocompetentes, los cuales junto a las células dendríticas proveen mediadores y señales de la respuesta inmunitaria o inflamatoria. Las citocinas epidérmicas actúan sobre los procesos de diferenciación y migración de las células dendríticas. Por ejemplo, IL-1, TNF-α y GM-CSF participan en la diferenciación funcional de las célu-

las dendríticas, y en sinergia con otras citocinas mediante la sobrerregulación de moléculas de coestimulación<sup>18</sup>. Por su parte, la IL-12 induce la expresión de CD80 y potencia la actividad inmunoestimuladora de las células dendríticas<sup>19</sup>. Otros mediadores, como la IL-10 producida por los queratinocitos, inhiben la expresión de moléculas coestimuladoras y la capacidad presentadora de antígenos de las células de Langerhans<sup>20,21</sup>.

Igualmente, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), además de irrigar a las células de Langerhans epidérmicas, es capaz de inhibir su capacidad presentadora de antígenos<sup>22,23</sup>.

**Dendrocitos dérmicos.** En las áreas perivasculares de la dermis superior, Headington describió un grupo de células con morfología dendrítica a las cuales denominó dendrocitos dérmicos<sup>24</sup>. Estas células, de diferente linaje de las células de Langerhans, expresan CD45, CD11b, CD11c, CD36, FcεRI, MHC-II y factor XIIIa (fig. 3). La expresión del factor XIIIa es fundamental en la identificación de este grupo celular.

Al igual que las células de Langerhans, los dendrocitos dérmicos son células dendríticas de origen mieloide y poseen semejantes propiedades migratorias e inmunoestimuladoras<sup>25,26</sup>.

### EL SISTEMA INMUNITARIO CUTÁNEO

Los acontecimientos más importantes de la defensa inmunológica ocurren en la red periférica constituida por los tegumentos y los órganos linfoides secundarios. La importancia inmunológica de estos tegumentos es conferida por la participación de las células epiteliales como células inmunocompetentes y por las células dendríticas, protagonistas esenciales de las fases inmunoestimuladora y efectora de la respuesta inmunológica.

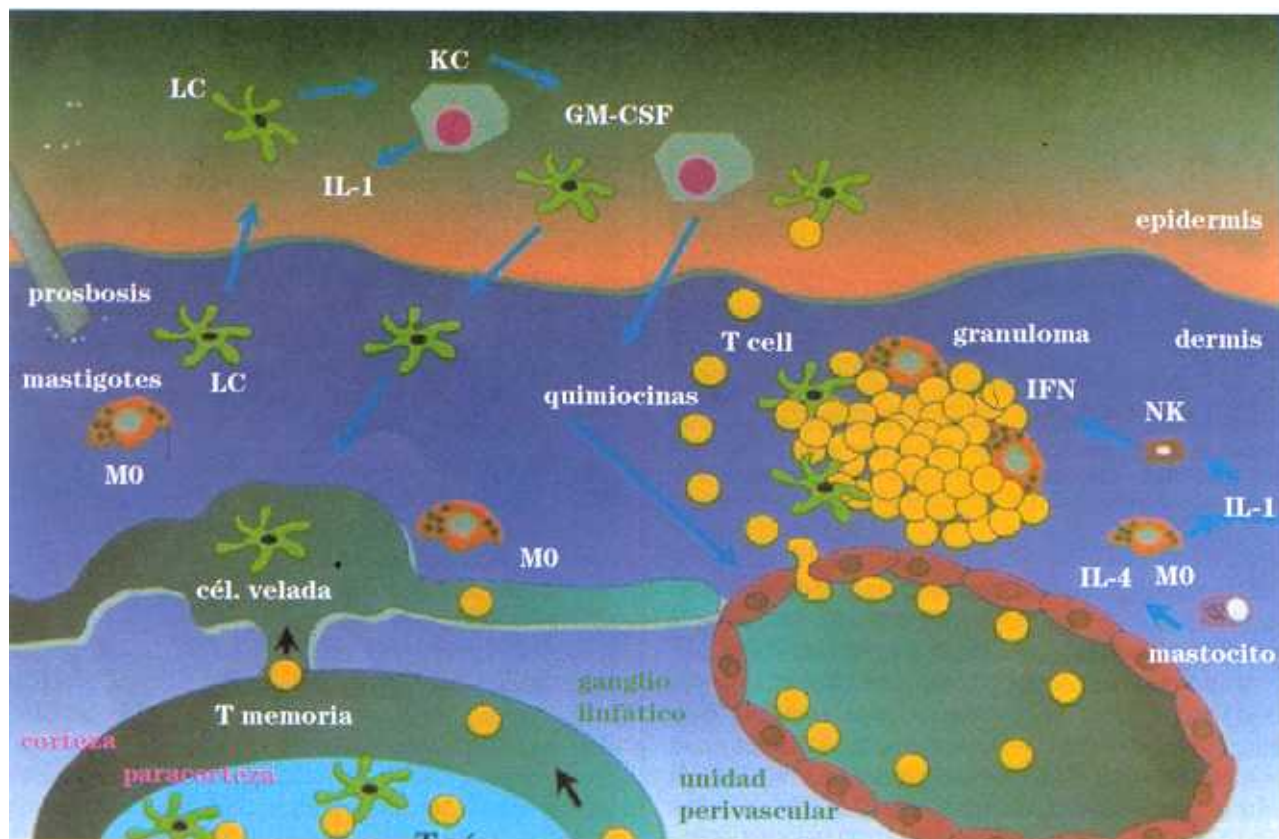
En la piel el microambiente de defensa periférica recibe el nombre de sistema inmunitario cutáneo (SIC)<sup>27,28</sup>. El SIC incluye inmunocitos como células de Langerhans, queratinocitos, dendrocitos dérmicos y linfocitos T cuta-

**TABLA I. Citocinas producidas por las células epidérmicas**

CITOCINA	ABREVIATURA	CÉLULA DENDRÍTICA	QUERATINOCITO
Interleucina-1 alfa*	IL-1α	-	+
Interleucina-1 beta*	IL-1β	+	-
Interleucina-6	IL-6	+	+
Interleucina-7*	IL-7	-	+
Interleucina-8	IL-8	-	+
Interleucina-10	IL-10	-	+
Interleucina-12	IL-12	+	+
Interleucina-15	IL-15	+	+
Interleucina-18	IL-18	+	+
Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos	GM-CSF	-	+
Factor de necrosis tumoral	TNF-α	-	+
Proteína inflamatoria de macrófagos 1 alfa	MIP-1α	+	-
Proteína inflamatoria de macrófagos 1 gamma	MIP-γ	+	-
Proteína inflamatoria de macrófagos 2	MIP-2	+	+
Interferón gamma	IFN-γ	-	+
Factor transformador de crecimiento beta*	TGF-B	+	
Factor de crecimiento derivado de plaquetas	PDGF	+	
Factor básico de crecimiento fibroblástico	BFGF	+	

\*Citocina producida en forma constitutiva.





**Figura 4.** Regulación inmunitaria en la piel. La irrupción de la barrera epitelial por el antígeno (Ag) activa los queratinocitos (QC) y las células de Langerhans (CL). Por acción de citocinas, las células dendríticas migran al ganglio linfático circunvecino, donde estimulan a linfocitos T vírgenes y los transforman en linfocitos T memoria efectora. Estos últimos son extravasados con ayuda de quimiocinas y en el epitelio reciben señales accesorias para generar la respuesta inflamatoria. Células de la inmunidad natural colaboran en la activación celular durante la captura del Ag y formación de la respuesta inflamatoria.

neoespecíficos, la unidad perivascular dérmica, ganglios linfáticos circunvecinos, factores solubles como citocinas y quimiocinas, y los componentes de la matriz extracelular. La unidad perivascular dérmica incluye al endotelio vascular alto, mastocitos, dendrocitos dérmicos, pericitos y linfocitos T<sup>29</sup>. Las células de Langerhans son las CPA profesionales de la epidermis. Por su parte, los queratinocitos actúan como células inmunocompetentes al recibir un estímulo antigénico<sup>30,31</sup>.

### Procesos de regulación inmunitaria en la piel

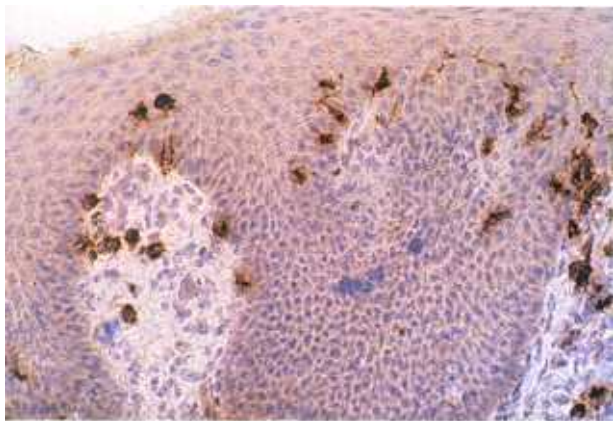
Los procesos de inmunorregulación en la piel pueden dividirse en las siguientes fases: desafío/activación, captura de antígeno/procesamiento, migración, inmunestimulación/fase efectora, reclutamiento, retención/proliferación y supresión (fig. 4)<sup>32,33</sup>.

**Desafío/activación.** Una vez que sucede un desafío antigénico en la piel, la barrera epitelial se activa y ésta a su vez activa al endotelio vascular mediante la producción de citocinas, neuropéptidos y otros mediadores.

La agresión antigénica puede provenir del ambiente externo o interno de la piel, pudiendo ser el primero un agente patógeno, hipoxia, sustancia química o radiación ultravioleta<sup>35,36</sup>, y el segundo una célula dañada o tumoral capaz de enviar señales de peligro al sistema inmu-

nológico<sup>37</sup>. Por su parte, el endotelio vascular se activa expresando en su superficie moléculas de adhesión capaces de frenar a leucocitos polimorfonucleares y otros leucocitos protagonistas de la primera línea de defensa inmunológica.

**Captura/procesamiento de antígenos.** Las células dendríticas participan en la inmunidad natural al reconocer y destruir sustancias nocivas en forma no específica. Al igual que los macrófagos, las células dendríticas fagocitan partículas o glucoconjugados solubles capturados por el receptor de manosa, el cual es una lectina tipo C con promiscua afinidad hacia hidratos de carbono. Las partículas son endocitadas en vesículas recubiertas y transportadas a los lisosomas donde son digeridas. En ratones, el anticuerpo NLDC-145 permitió identificar a un segundo receptor recolector, homólogo al receptor de manosa, denominado DEC-205<sup>38,39</sup>. Además de la captura y destrucción de agentes nocivos por estos receptores, se ha podido demostrar que antígenos capturados por los receptores de manosa y DEC-205 pueden ser presentados eficientemente por las células dendríticas<sup>40</sup>. Las células dendríticas también reconocen y fagocitan lipopolisacáridos a través de receptores de LPS. En condiciones normales, las células dendríticas en la epidermis expresan FcγRII (CD32), FcεRI, C3bi



**Figura 5.** Células dendríticas activadas, caracterizadas por la expresión de CD83 en la epidermis de una lesión de leishmaniasis tegumentaria localizada. Avidina-biotina-inmunoperoxidasa.

(CD11b-CD18), CD11c y antígenos clase II del complejo principal de histocompatibilidad (MHC-II), las cuales le proveen capacidad para capturar y procesar antígenos<sup>41</sup>.

Al activarse las células dendríticas epidérmicas por contacto directo con el antígeno, o indirectamente al recibir señales no específicas (citocinas, quimiocinas, componentes del complemento y productos de la matriz extracelular)<sup>42</sup> por la sola irrupción de la barrera epitelial por el antígeno, se aumenta la capacidad para capturar antígenos de las células dendríticas (fig. 5). Este efecto es transitorio y permite restringir la toma de antígeno al sitio y momento de entrada del agente invasor. Al mismo tiempo, células dendríticas activadas se dirigen a los ganglios linfáticos circunvecinos, sobrerregulando señales de activación que permitirán la estimulación de los linfocitos T vírgenes<sup>43,44</sup>.

**Migración.** La migración de las células dendríticas se realiza a través del endotelio vascular. Ésta se desencadena por la captura del antígeno y es modulada por diversas citocinas y quimiocinas liberadas en la piel y en los ganglios linfáticos<sup>32</sup>. Las células dendríticas epidérmicas y los queratinocitos producen citocinas como IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF, INF- $\alpha$  y TNF- $\beta$ . La IL-1 es liberada por los queratinocitos y las células de Langerhans y actúa en forma autocrina y paracrina, induciendo la expresión de receptores para IL-1 por estas mismas células<sup>45</sup>. La IL-1 $\alpha$  estimula al queratinocito a producir IL-1 $\alpha$  y TGF- $\alpha$ , promoviendo este último su migración<sup>46</sup>. Además, los queratinocitos activados producen GM-CSF, el cual promueve la expresión de receptores del GM-CSF en las células epidérmicas. El TNF- $\alpha$  y el GM-CSF inducen a las células de Langerhans a migrar a los ganglios linfáticos circunvecinos.

Uno de los primeros acontecimientos en la migración de las células de Langerhans es la inhibición de la molécula de adhesión E-cadherina por parte de los queratinocitos y las mismas células de Langerhans<sup>47</sup>. En condiciones normales, la E-cadherina, mediante una interacción homofílica, mantiene el contacto entre estos dos grupos celulares, y de ellas con la matriz extracelular. El TNF- $\alpha$

y la IL-1 $\beta$  son capaces de inhibir la expresión de E-cadherina por las células dendríticas y así facilitar su migración desde la epidermis<sup>48</sup>.

La direccionalidad de la migración de las células de Langerhans activadas, y liberadas de la relación simbiótica con los queratinocitos, puede ser regulada por componentes de la matriz extracelular<sup>49</sup>. En su viaje hacia los ganglios linfáticos y mientras atraviesan la membrana basal, las células dendríticas se relacionan primero con laminina y colágeno tipo IV de la membrana basal, y luego con colágeno tipo I de la dermis superior y fibronectina de los linfáticos aferentes<sup>50,51</sup>. La expresión de las  $\beta$ 1-integrinas,  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 y  $\alpha$ 6 $\beta$ 1, por las células de Langerhans les permite adherirse a fibronectina y laminina, respectivamente<sup>52</sup>. Staquet et al<sup>49</sup> observaron en un modelo *in vitro* que las células de Langerhans sólo se adhieren a los componentes de la matriz extracelular dérmica después del contacto con los componentes de la membrana basal (laminina y colágeno tipo IV), mientras que un contacto inicial con el colágeno tipo I dérmico reduce su capacidad de unión a la laminina. Estos resultados sugieren que las células dendríticas, al interactuar con la dermis, no pueden regresar a la epidermis. Estudios recientes demuestran que las células de Langerhans activadas producen metaloproteasas para facilitar su travesía a través de la membrana basal. Estas investigaciones demostraron que inhibidores y anticuerpos dirigidos a estas metaloproteasas previenen la migración de las células de Langerhans epidérmicas<sup>53,54</sup>.

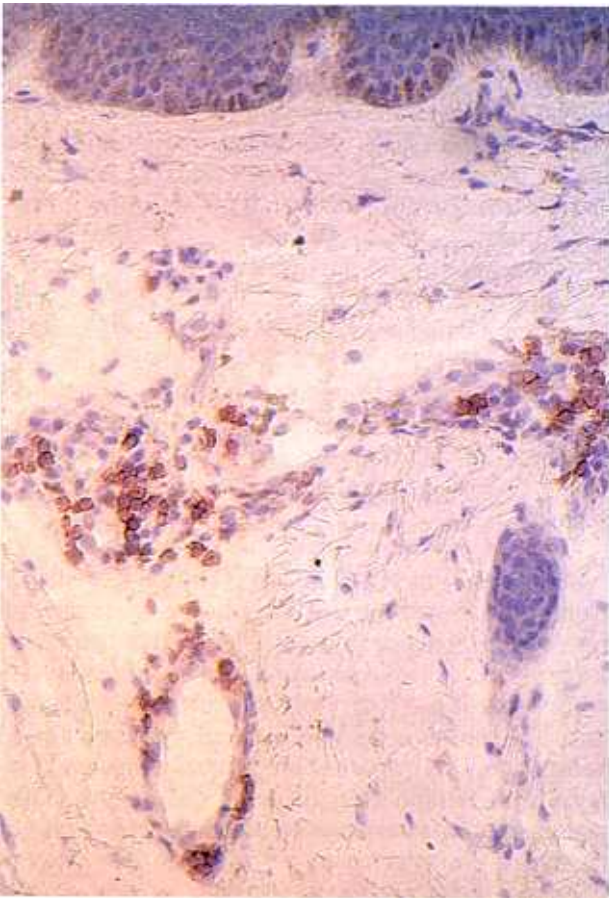
La CC quimiocina de tejido linfoide secundario (SLC) y su receptor CCR7 participan en la migración de las células dendríticas desde la periferia hacia los ganglios linfáticos<sup>55</sup>.

**Inmunoestimulación/fase efectora.** Las células dendríticas activadas se acumulan en la zona de linfocitos T o paracorteza del ganglio linfático y participan en la presentación de antígenos a linfocitos T vírgenes circulantes, transformándolos en linfocitos T memoria<sup>56,57</sup>. Estos linfocitos T memoria efectoros, sensibilizados con un antígeno de procedencia cutánea, expresan en su superficie la molécula de anidamiento CLA, la cual es un ligando natural para la E-selectina expresada por las células endoteliales activadas (fig. 6)<sup>12</sup>.

La reproducción *in vitro* del microambiente de citocinas de los ganglios linfáticos demuestra que las células dendríticas disminuyen la expresión de FcR2 y Fc $\epsilon$ R1 entre otras, y aumentan y regulan la expresión de MHC-I, MHC-II, CD24, CD25, CD40, CD54, CD58, CD80, CD83 y CD86; además, producen IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-12, moléculas y citocinas esenciales en la inducción de respuestas vigorosas de linfocitos T<sup>10</sup>.

En el ganglio linfático las células dendríticas, en su función como CPA profesionales, proveen tres señales a los linfocitos T vírgenes<sup>58,59</sup>. Estas señales, inicialmente, son gestadas en la piel después del desafío antigénico. La señal 1 depende del reconocimiento específico de un péptido derivado del antígeno unido a moléculas del complejo principal de histocompatibilidad, y estimula



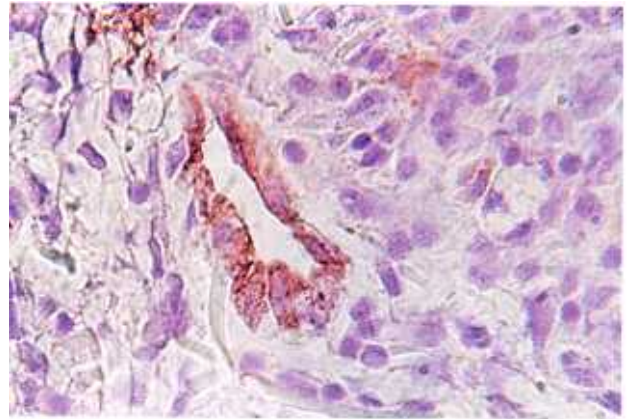


**Figura 6.** Linfocitos T que expresan la molécula de anidación cutánea CLA en piel lesionada de alopecia areata. Nótese la extravasación celular en el endotelio vascular, los linfocitos CLA<sup>+</sup> en el infiltrado. Avidina-biotina-inmunoperoxidasa.

los linfocitos T. La señal 2 es de coestimulación e involucra pares de moléculas de adhesión celular (CD80/CD28, CD86/CD28, ICAM-1/LFA-1, CD40/CD40L, etc.). La señal 3 es de direccionalidad e incluye mediadores que determinan el tipo de respuesta linfocitaria (citocinas Th1, Th2 o Th3; componentes de la matriz extracelular, etc.). Los linfocitos Th1 secretan IL-2, TNF- $\beta$  e IFN- $\gamma$ , y median respuestas de inmunidad celular tales como hipersensibilidad tardía y activación macrófagica; los linfocitos Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, y contribuyen en la producción de anticuerpos para la inmunidad humoral<sup>60-63</sup>. La señal 1 informa sobre la naturaleza molecular del antígeno, la señal 2 sobre el potencial proliferativo, y la señal 3 sobre el curso de la respuesta inmunitaria<sup>58,59</sup>.

Una citocina crucial en la conversión de linfocitos T vírgenes en Th1 memoria es la IL-12<sup>64</sup>. Recientes estudios señalan que la capacidad de las células dendríticas para inducir respuestas Th1 y Th2 por parte de los linfocitos T vírgenes o quiescentes depende de la cantidad de IL-12 producida<sup>65,66</sup>, la cual puede ser sobreexpresada o inhibida por el contacto con el antígeno o por factores generados por el microambiente tisular<sup>59</sup>.

Los linfocitos T también pueden modular la función de las células dendríticas por medio de moléculas de la fami-



**Figura 7.** Endotelio vascular que expresan E-selectina en una lesión de leishmaniasis cutánea intermedia. Avidina-biotina-inmunoperoxidasa.

lia del TNF, siendo las más estudiadas el CD40L y TRANCE (citocina inducida por activación relacionada con el TNF). Ambas inducen a las células dendríticas a producir citocinas proinflamatorias y otros factores que median el crecimiento y la diferenciación de linfocitos T, y protegen de la apoptosis aumentando la supervivencia de las células dendríticas<sup>67,68</sup>. La propiedad de TRANCE en potenciar la presentación de antígenos por las células dendríticas ha permitido demostrar cómo la longevidad y alta densidad de células dendríticas son fundamentales para definir la vigorosidad de la respuesta linfoproliferativa<sup>69</sup>.

Recientes estudios demuestran que la expresión de MDC (quimiocina derivada del macrófago) por las células de Langerhans promueve una mayor atracción de linfocitos T activados que de linfocitos vírgenes. Estos resultados sugieren que las células dendríticas, en su viaje hacia los ganglios linfáticos, utilizan este mecanismo para promover el contacto con linfocitos T antígeno-específicos<sup>70</sup>. Otra quimiocina, la fractalcina, parece promover la formación de agregados de células dendríticas y linfocitos T<sup>71</sup>.

**Reclutamiento.** La fase de reclutamiento involucra la extravasación de leucocitos, incluyendo a los linfocitos T memoria específicas de piel, a través del endotelio vascular, y la subsiguiente migración de éstas células hacia la epidermis. La extravasación de leucocitos en el sitio donde ocurre la agresión antigénica cutánea es un proceso escalonado que requiere interacciones secuenciales entre los leucocitos y el endotelio, las cuales son dirigidas por una cascada de adhesión<sup>72,73</sup>.

La secuencia de acontecimientos se puede dividir en adhesión primaria (unión y frenado), adhesión firme (activación y fijación) y diapédesis. En la adhesión primaria los leucocitos circulantes son atraídos al endotelio, donde se frenan y unen a la membrana de la célula endotelial por medio de moléculas de adhesión denominadas selectinas (fig. 7)<sup>74</sup>. Las L-selectina y P-selectina actúan en la fase de unión, P-selectina y E-selectina durante el frenado, y la E-selectina y las integrinas ICAM-1 y VCAM-1 durante la adhesión firme. La interacción en-

tre pares de moléculas de adhesión, expresadas en el leucocito y en su contraparte en la célula endotelial, y la participación de citocinas que inmovilizan la membrana endotelial son necesarias para que se consolide la adhesión firme. Entre las moléculas de adhesión asociadas con la adhesión firme están las  $\beta 2$ -integrinas CD11a/CD18 y CD11b/CD18 que interactúan con ICAM-1 y otros ligandos del endotelio, y la  $\beta 1$ -integrina VLA-4 (CD49d/CD29) que se une a VCAM-1 y fibronectina<sup>75,76</sup>. Otras células de la unidad perivascular dérmica, como los mastocitos, pueden contribuir al proceso de extravasación leucocitaria al secretar neuropéptidos y aminas bioactivas que inducen la vasodilatación.

Las quimiocinas producidas por las células epidérmicas generan un gradiente que promueve la diapédesis. De igual forma, las células endoteliales producen y expresan quimiocinas en la membrana para optimizar la unión a los leucocitos<sup>77,78</sup>. El linfocito extravasado responde al gradiente de quimiocinas migrando a la epidermis. Entre los factores quimiotácticos producidos por la epidermis se han identificado prostaglandina E2, leucotrieno B4, sustancia P e IL-8<sup>32</sup>. Estudios recientes han demostrado que las células dendríticas y sus precursoras CD34<sup>+</sup> pueden responder quimiotácticamente a las C-C quimiocinas: RANTES (factor regulado bajo activación, expresado y secretado por linfocitos T normales), MIP-1 $\alpha$  (proteína inflamatoria de macrófago), MIP-1 $\beta$ , MIP-3 $\beta$ , MCP-1 (proteína quimiotáctica de monocito), MCP-3, SDF-1 (factor derivado de células estromales 1) y MDC<sup>15,79-81</sup>.

En la respuesta inflamatoria, los linfocitos T CLA<sup>+</sup> están íntimamente asociados al endotelio vascular en la dermis superior<sup>72</sup>. En piel normal, el 40% de los linfocitos T intraepidérmicos y perivascuales expresan CLA; sin embargo, esta expresión no se observa en zonas distantes a los vasos sanguíneos, lo cual sugiere la participación de otras moléculas de adhesión en el anidamiento cutáneo de los linfocitos<sup>28</sup>.

**Retención/proliferación.** En la epidermis, las células de Langerhans y los queratinocitos activados proveen adhesión adicional, permitiendo la unión con los leucocitos extravasados. Esta unión es esencial para determinar la especificidad de la localización leucocitaria y el anidamiento necesario para establecer la respuesta inflamatoria<sup>33,82-84</sup>.

En la epidermis, las células de Langerhans y los queratinocitos participan en la generación del proceso inflamatorio expresando MHC-II y moléculas de adhesión (ICAM-1, CD44), ambas necesarias para promover el anidamiento (migración) y el contacto (fase de retención) de las células inflamatorias<sup>30-32,83,84</sup>. Además, se establece un mecanismo control de retroalimentación entre la respuesta epidérmica y los infiltrados dérmicos con la participación de citocinas. Las células de Langerhans y los queratinocitos producen citocinas como IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF- $\alpha$  y TNF- $\beta$ <sup>32</sup>.

El infiltrado dérmico puede tener una configuración microanatómica particular, con linfocitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> y células de Langerhans CD1a<sup>+</sup> distribuidas en la

periferia del infiltrado, y linfocitos T cooperadores CD4<sup>+</sup> y células epitelioides localizadas en el centro. Esta organización ha sido observada en respuestas de hipersensibilidad tardía y granulomas tipo tuberculoide<sup>82,85-88</sup>. En relación con el patrón de citocinas producido, la respuesta inmunitaria puede ser del tipo Th1 o del tipo Th2<sup>59</sup>. Otros fenotipos incluyen a los linfocitos T vírgenes y T memoria, los cuales producen IL-2<sup>59</sup> y los linfocitos Th3 productores de TGF- $\beta$ <sup>62</sup>.

El tipo de respuesta inmunitaria cutánea puede también estar influido por el microambiente de citocinas en la dermis; así, IFN- $\gamma$  e IL-12 inducen respuestas tipo Th1, y la IL-4 promueve respuestas tipo Th2<sup>89</sup>. Además del microambiente de citocinas, la inclinación hacia una respuesta Th1 o Th2 puede depender de la concentración y tipo de antígeno, y quizás del tipo de CPA presente<sup>90</sup>.

**Supresión.** Una vez eliminado el antígeno, la inflamación debe desaparecer por mecanismos de inmunosupresión que implican la generación de vías opuestas a los procesos de inducción. En la piel, el proceso de eliminación de la agresión antigénica comienza con la inhibición de señales accesorias por parte de las células de Langerhans y los queratinocitos, lo cual promueve la eliminación o retorno a la circulación de las células inflamatorias<sup>32</sup>. Estos mecanismos de inmunosupresión son complejos e involucran un escenario de interacciones celulares y actuación de péptidos bioactivos como citocinas y neuropéptidos. Algunos ejemplos de los antes descritos son:

1. Las células dendríticas pueden ser inhibidas o eliminadas por células *natural killer* (NK) o linfocitos T citotóxicos. A su vez, estas últimas también pueden eliminar a las células diana que estimularon el proceso inflamatorio<sup>91</sup>.

2. El neuropéptido CGRP, que irriga las células de Langerhans epidérmicas, modula la función presentadora de antígenos de estas células<sup>22,23</sup>.

3. Las citocinas producidas por los linfocitos T memoria efectores pueden controlar el tipo de respuesta inmunitaria. IFN- $\gamma$  e IL-2 actúan en sinergia induciendo el desarrollo de linfocitos T citotóxicos mientras que la diferenciación y proliferación de los linfocitos B depende más de IL-4, IL-5 e IL-6.

4. Los macrófagos secretan una variedad de metabolitos y enzimas tóxicas de oxígeno y nitrógeno que consumen nutrientes esenciales para el crecimiento linfocitario<sup>92</sup>.

## PERSPECTIVAS

Las células dendríticas, como CPA profesionales de los tegumentos, ejercen una función primordial en el inicio y regulación de la respuesta inmunitaria. Esta cualidad de adyuvantes naturales las identifica como candidatas para la aplicación de esquemas terapéuticos (tabla II). En dermatología, esquemas terapéuticos con utilización de células de Langerhans o los dendrocitos dérmicos prome-

**TABLA II. Estrategias utilizadas en inmunoterapia con células dendríticas**

ESQUEMAS	ANTÍGENO/ADYUVANTE	OBJETIVO
Células pulsadas	Extractos crudos	Neoplasias, infecciones bacterianas y parasitarias <sup>83-86</sup>
Células pulsadas	Péptidos/proteínas	Neoplasias, enfermedades autoinmunes <sup>96-100</sup>
Células pulsadas	Péptidos/proteínas + citocinas	Inmunoestimulación, tolerancia, neoplasias <sup>101-105</sup>
Células pulsadas	Oligonucleótidos inmunoestimuladores	Inmunoestimulación <sup>106</sup>
Células transfectadas genéticamente	ADN, ARN	Neoplasias, tolerancia, infecciones virales, bacterianas y parasitarias <sup>95,107-112</sup>
Células quiméricas	Células tumorales	Neoplasias <sup>113</sup>
Exosomas	Péptidos	Neoplasias <sup>114</sup>

ten el control y solución de numerosas infecciones, neoplasias y enfermedades autoinmunes de la piel. Futuros estudios permitirán profundizar nuestro conocimiento sobre la ontogenia y diversidad celular, mecanismos de captura, procesamiento y presentación de antígenos, vías de señalización intracelular e identificar a las moléculas y genes de utilidad para la manipulación funcional de las células dendríticas.

#### AGRADECIMIENTO

Este trabajo está dedicado a la Dra. Imelda Campo-Aasen, investigadora venezolana pionera en la identificación de la célula de Langerhans como célula inmunitaria. Las ideas presentadas son producto del estímulo y financiamiento de las siguientes instituciones: UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, Comisión Europea Programa INCO, CDCH-Universidad Central de Venezuela y Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) S1-98000041 a F.J.T.; CONICIT Programa Pasantía Posdoctoral N.º 99000924 a Z.F.; Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCHT) de la Universidad de Carabobo a J.A.C.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Langerhans P. Über die Nerven der menschlichen Haut. Virchows Arch Pathol Abat 1868, 44: 325-337.
- Langerhans P. Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der Bauchspeicheldrüse. Inaugural dissertation. Berlin: Gustav Lange, 1869.
- Campo-Aasen I, Pearse AGE. Enzimología de la célula de Langerhans. Med Cut 1996; 106: 888-889.
- Caux C, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D, Banchereau J. GM-CSF and TNF- $\alpha$  cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells. Nature 1992; 360: 258-261.
- Inaba K, Steinman RM, Pack MW, Aya H, Inaba M, Sudo T et al. Identification of proliferating dendritic cell precursors in mouse blood. J Exp Med 1992; 175: 1157-1167.
- Romani N, Gruner S, Brand D, Kämpgen E, Lenz A, Trochenbacher B et al. Proliferating dendritic cell progenitors in human blood. J Exp Med 1994; 180: 83-93.
- Sallusto F, Lanzavacchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin-4 and downregulated by tumor necrosis factor  $\alpha$ . J Exp Med 1994; 179: 1109-1118.

- Young JW, Szabolcs P, Moore MAS. Identification of dendritic cell colony-forming units among normal CD34+ bone marrow progenitors that are expanded by c-kit ligand and yield pure dendritic cell colonies in the presence of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and tumor necrosis factor  $\alpha$ . J Exp Med 1995; 182: 1111-1120.
- Caux C, Banchereau J. In vitro regulation of dendritic cell development and function. En: Whetton A, Gordon J, editores. Blood cell biochemistry. Vol. 7: Hematopoietic growth factors and their receptors. Londres: Plenum Press, 1996; 263.
- Steinman RM, Pack M, Inaba K. Dendritic cell in the T-cell areas of lymphoid organs. Immunol Rev 1997; 156: 25-37.
- Caux C, Lebecques S, Liu Y-J, Banchereau J. Development pathways of human myeloid dendritic cells. En: Lotze MT, Thomson AW, editores. Dendritic cells: biology and clinical applications. San Diego: Academic Press, 1999; 65-92.
- Picker LJ, Michie SA, Rott LS, Butcher EC. A unique phenotype of skin-associated lymphocytes in humans. Am J Pathol 1990; 136: 1053-1068.
- Strobl H, Riedl E, Scheinecker C, Bello-Fernández C, Pickl WF, Rappersberger K et al. TGF- $\beta$ 1 promotes *in vitro* development of dendritic cells from CD34+ hemopoietic progenitor. J Immunol 1996; 157: 1499-1507.
- Borkowski TA, Letterio JJ, Farr AG, Udey MC. A role for endogenous transforming growth factor  $\beta$ 1 null mice is devoid of epidermal Langerhans cells. J Exp Med 1996; 184: 2417-2422.
- Maurer D, Stingl G. Dendritic cells in the context of skin immunity. En: Lotze MT, Thomson AW, editores. Dendritic cells: biology and clinical applications. San Diego: Academic Press, 1999; 111-122.
- Krueger GG, Daynes RA, Emam M. Biology of Langerhans cells: selective migration of Langerhans cells into allogeneic and xenogeneic grafts of nude mice. Proc Natl Acad Sci USA 1982; 80: 1650-1654.
- Saitoh A, Yasaka N, Osada A, Nakamura K, Furue M, Tamaki K. Migration of Langerhans cell in an *in vitro* organ culture system: IL-6 and TNF- $\alpha$  are partially responsible for migration into the epidermis. J Dermatol Sci 1999; 19: 166-174.
- Kimber I, Cumberbatch M, Dearman RJ, Knight SC. Langerhans cell migration and cellular interactions. En: Lotze MT, Thomson AW, editores. Dendritic cells: biology and clinical applications. San Diego: Academic Press, 1999; 295-310.
- Kellher P, Knight SC. Interleukin-12 increases CD80 expression and the stimulatory capacity of bone marrow derived dendritic cells. Int Immunol 1998; 10: 749-755.
- Chang C-H, Furue M, Tanaki K. B7.1 expression of Langerhans cells is up-regulated by proinflammatory cytokines and is down-regulated by interferon- $\gamma$  or by interleukin-10. Eur J Immunol 1995; 25: 394-398.
- De Smedt T, Van Mechelen M, De Becker G, Urbain J, Leo O, Moser M. Effect of interleukin-10 on dendritic cell maturation and function. Eur J Immunol 1997; 27: 1229-1235.
- Hosoi J, Murphy GF, Egan CL, Lerner EA, Grabbe S, Asahina A et al. Regulation of Langerhans cell function by nerves containing calcitonin gene-related peptide. Nature 1993; 363: 159-163.
- Torii H, Hosoi J, Asahina A, Granstein RD. Calcitonin gene-related peptide and Langerhans cell function. J Invest Dermatol Symp Proc 1997; 2: 82-86.
- Headington JT. The dermal dendrocyte. Adv Dermatol 1986; 1: 159-171.
- Lenz A, Heine M, Schuler G, Romani N. Human and murine dermis contain dendritic cells. Isolation by means of a novel method and phenotypical and functional characterization. J Clin Invest 1993; 92: 2587-2596.
- Meunier L, González-Ramos A, Cooper KD. Heterogeneous populations of MHC class II+ cells in human dermal suspensions. Identification of a small subset responsible for potent dermal antigen-presenting cell activity with features analogous to Langerhans cells. J Immunol 1993; 151: 4067-4080.
- Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system. Immunol Today 1986; 7: 235-240.
- Bos JD, Kapsenberg ML. The skin immune system: progress in cutaneous biology. Immunol Today 1993; 14: 75-78.
- Sontheimer RD. Perivascular dendritic macrophages as immunobiological constituents of the human dermal microvascular unit. J Invest Dermatol 1989; 93 (Supl 2): 96-101.
- Breathnach SM, Katz SL. Keratinocytes synthesize the antigen in acute cutaneous graft-vs-host disease. J Immunol 1983; 131: 2741-2745.
- Aubock J, Romani N, Hrauber G, Fritsch P. HLA-DR expression on keratinocytes is a common feature of diseased skin. Br J Dermatol 1986; 114: 465-472.
- Nickoloff BJ. Role of interferon- $\gamma$  in cutaneous trafficking of lymphocytes with emphasis on molecular and cellular adhesion events. Arch Dermatol 1988; 24: 1835-1843.
- Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Sánchez MA. Epidermal immune privilege in American cutaneous leishmaniasis. En: Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Sánchez MA, editores. Molecular and immune mechanisms in the pathogenesis of cutaneous leishmaniasis. Austin: RG-Landes, 1996; 57-72.
- Kilgus O, Payer E, Schreiber S, Elbe A, Strohal R, Stingl G. *In vivo* cytokine expression in normal and perturbed skin. Analysis by competitive quantitative polymerase chain reaction. J Invest Dermatol 1993; 100: 674-680.



35. Enk AH, Angeloni VL, Udey MC, Katz SI. Early molecular events in the induction phase of contact sensitivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 89: 1398-1402.
36. Luger TA, T. Effect of UV light on cytokines and neuroendocrine hormones. En: Krutmann J, Elmets CA, editores *Photoimmunology. Part 1*. Oxford: Blackwell Science, 1995; 55-76.
37. Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 991-1045.
38. Lraal G, BreeI M, Janse M, Bruin G. Langerhans cells, veiled cells, interdigitating cells in the mouse recognized by a monoclonal antibody. *J Exp Med* 1986; 163: 981-997.
39. Sallusto F, Cella M, Danieli C, Lanzavecchia A. Dendritic cells use macrophocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: downregulation by cytokines and bacterial products. *J Exp Med* 1995; 182: 389-400.
40. Jiang W, Swiggard WJ, Heufler C, Peng M, Mirza A, Steinman RM et al. The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial cells is involved in antigen processing. *Nature* 1995; 375: 151-155.
41. Romani N, Koide S, Crowley M, Witmer-Pack M, Livingstone AM, Tatham CG. Presentation of exogenous protein antigens by dendritic cells to T cells clones. Intact protein is presented best by immature, epidermal Langerhans cells. *J Exp Med* 1989; 169: 1169-1178.
42. Ibrahim MAA, Chain BM, Katz DR. The injured cell: the role of the dendritic cell system as a sentinel receptor pathway. *Immunol Today* 1995; 16: 181-186.
43. Cella M, Sallusto F, Lanzavecchia A. Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 10-16.
44. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-252.
45. Kämpgen E, Romani N, Koch F et al. Cytokine receptors on epidermal Langerhans cells. En: Moll H, editor. *The immune functions of epidermal Langerhans cells*. Austin: RG Landes, 1995; 37-56.
46. Chen JD, Kim JP, Zhang K, Sarret Y, Wynn KC, Kramer RH et al. Epidermal growth factor (EGF) promotes human keratinocyte locomotion on collagen by increasing the alpha 2 integrin subunit. *Exp Cell Res* 1993; 209: 216-223.
47. Cumberbatch M, Darman RJ, Kimber I. Adhesion molecule expression by epidermal Langerhans cells and lymph node dendritic cells: a comparison. *Arch Dermatol Res* 1996; 288: 739-744.
48. Schwarzenberger K, Udey MC. Contact allergens and epidermal proinflammatory cytokines modulate Langerhans cell E-cadherin expression *in situ*. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 553-558.
49. Staquet MJ, Kobayashi Y, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D. role of specific successive contacts between extracellular matrix proteins and epidermal Langerhans cells in the control of their directed migration. *Eur J Cell Biol* 1995; 66: 342-348.
50. Vitellaro-Zucarella L, Gabelli R, Dal Pozzo Ross V. Immunocytochemical localization of collagen type I, III, IV, and fibronectin in the human dermis. *Cell Tissue Res* 1992; 268: 505-511.
51. Lubach D, Nissen S, Marghescu S. Localization of fibronectin in the initial lymphatics and blood vessels of normal human skin: an immuno-electron microscopy investigation. *J Dermatol Sci* 1992; 4: 63-68.
52. Le Varlet B, Staquet MJ, Dezutter-Dambuyant C, Delorme P, Schmitt D. *In vitro* adhesion of human epidermal Langerhans cells to laminin and fibronectin occurs through beta 1 integrin receptors. *J Leukoc Biol* 1992; 51: 415-420.
53. Lebre MC, Kalinski P, Das PK, Everts V. Inhibition of contact sensitizer-induced migration of human Langerhans cells by matrix metalloproteinase inhibitors. *Arch Dermatol Res* 1999; 291: 477-482.
54. Kobayashi Y, Matsumoto M, Kotani M, Makino T. Possible involvement of matrix metalloproteinase-9 in Langerhans cell migration and maturation. *J Immunol* 1999; 163: 5989-5993.
55. Saeki H, Moore AM, Brown MJ, Hwang ST. Cutting edge: secondary lymphoid-tissue chemokine (SLC) and CC chemokine receptor 7 (CCR7) participate in the emigration pathway of mature dendritic cells from the skin to regional lymph nodes. *J Immunol* 1999; 162: 2472-2475.
56. Macatonia SE, Knight SC, Edwards AJ et al. Localization of antigen on lymph node dendritic cells after exposure to the contact sensitizer fluorescein isothiocyanate. Functional and morphological studies. *J Exp Med* 1987; 166: 1654-1667.
57. Van Wilsem EJG, Brevé J, Kleijmeer M, Kraal G. Antigen-bearing Langerhans cells in skin draining lymph nodes: Phenotype and kinetics of migration. *J Invest Dermatol* 1994; 103: 217-220.
58. Steinman RM, Inaba K, Schuler G. Introduction: cutaneous dendritic cells: distinctive antigen-presenting cells for experimental models and disease states. En: Moll H, editor. *The immune functions of epidermal Langerhans cells*. Austin: RG Landes, 1995, 1-19.
59. Kalinski P, Hilkens CMU, Wierenga EA, Kapsenberg ML. T cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol Today* 1999; 20: 561-567.
60. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two Types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-2357.
61. Mosmann TR, Moore KW. The role of IL-10 in crossregulation of TH1 and TH2 responses. En: Ash C, Gallagher RB, editores. *Immunoparasitology today*. Cambridge: Elsevier Trends Journal, 1991; 49-53.
62. Mosmann TR, Schumacher JH, Street NF, Budd R, O'Garra A, Fong TA et al. Diversity of cytokine synthesis and function of mouse CD4+ T cells. *Immunol Rev* 1991; 123: 209-229.
63. Mosmann TR. Cytokines and immune regulation. En: Rich RR, editor. *Clinical immunology. Principles and practice*. Vol 1. St. Louis; Mosby, 1996; 217-230.
64. Trinchieri G. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate reactivity and antigen-specific adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* 1995; 13: 251-276.
65. Hilkens CMU, Kalinski P, De Boer M, Kapsenberg ML. Human dendritic cells require exogenous interleukin-12-inducing factors to direct the development of naive T-helper cells toward the Th1 phenotype. *Blood* 1997; 90: 1920-1926.
66. Sniijders A, Kalinski P, Hilkens CMU, Kapsenberg ML. High-level IL-12 production by human dendritic cells requires two signals. *Int Immunol* 1998; 10: 1593-1598.
67. Heufler C, Koch F, Stanzl U, Topar G, Wysocka M, Trinchieri G et al. Interleukin-12 is produced by dendritic cells and mediates T helper 1 development as well as interferon-gamma production by T helper 1 cells. *Eur J Immunol* 1996; 26: 659-668.
68. Josien R, Wong BR, Li HL, Steinman RM, Choi Y. TRANCE, a TNF family member, is differentially expressed on T cell subsets and induces cytokine production in dendritic cells. *J Immunol* 1999; 162: 2562-2568.
69. Josien BR, Li HL, Ingulli E, Sarma S, R Eong B, Vologodskaja M et al. TRANCE, a tumor necrosis factor family member, enhances the longevity and adjuvant properties of dendritic cells *in vivo*. *J Exp Med* 2000; 191: 495-502.
70. Tang HL, Cyster JG. Chemokine up-regulation and activated T cell attraction by maturing dendritic cells. *Science* 1999; 30: 819-822.
71. Papadopoulos EJ, Sasseti C, Saeki H, Yamada N, Kawamura T, Fitzhugh DJ et al. Tractalkine, a CX3C chemokine, is expressed by dendritic cells and is up-regulated upon dendritic cell maturation. *Eur J Immunol* 1999; 29: 2551-2559.
72. Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* 1991; 677: 1033-1036.
73. Picker LJ. Mechanisms of lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol* 1992; 4: 227-286.
74. Dailey MO. The selectin family of cell-adhesion molecules. En: Shimizu Y, editor. *Lymphocyte Adhesion Molecules*. Austin: RG Landes, 1993; 75-104.
75. Dustin ML, Singer KH, Tuck DT, Springer TA. Adhesion of T lymphoblasts to epidermal keratinocytes is regulated by interferon gamma and is mediated by intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1). *J Exp Med* 1988; 167: 1323-1340.
76. Elices MJ, Osborn L, Takada Y, Crouse C, Luhowskyj S, Hemler ME et al. VCAM-1 on activated endothelium interacts with the leukocyte integrin VLA-4 at a site distinct from the VLA-4/fibronectin binding site. *Cell* 1990; 60: 577-584.
77. Middleton J, Neil S, Wintle J, Clark-Lewis I, Moore H, Lam C et al. Transcytosis and surface presentation of IL-8 by venular endothelial cells. *Cell* 1997; 91: 385-395.
78. Williams IR, Rich BE, Kupper TS. Cytokines and chemokines. En: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI et al, editores. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine* (5.ª ed.). Nueva York: McGraw-Hill, 1999; 384-399.
79. Sozzani S, Sallusto F, Luini W, Zhou D, Pietmonti L, Allavena P et al. Migration on dendritic cells in response to formyl peptides. C5a and a distinct set of chemokines. *J Immunol* 1995; 155: 3292-3296.
80. Xu LL, Warren MK, Rose WL, Gong WH, Wang JM. Human monocyte chemotactic protein and other C-C chemokines bind and induce directional migration of dendritic cells *in vitro*. *J Leukocyte Biol* 1996; 60: 365-371.
81. Godiska R, Chanry D, Raport CJ, Sozzani S, Allavena P, Leviten D et al. Human macrophage-derived chemokine (MDC), a novel chemoattractant for monocytes, monocyte-derived dendritic cells, and natural killer cells. *J Exp Med* 1997; 185: 1595-1604.
82. Picker LJ. Control of lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol* 1994; 6: 394-406.
83. Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Sánchez MA, Fernández CT, Rondón AJ, Convit J. Adhesion molecules in lesions of American cutaneous leishmaniasis. *Exp Dermatol* 1994; 3: 17-22.
84. Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Sánchez MA. Inadequate epidermal homing leads to tissue damage in human cutaneous leishmaniasis. *Immunol Today* 1994; 15: 160-165.
85. Modlin RL, Hofman FM, Taylor CR, Rea TH. T lymphocyte subsets in the skin lesions of patients with leprosy. *J Am Acad Dermatol* 1983; 8: 182-189.
86. Modlin RL, Tapia FJ, Bloom BR, Gallinoto ME, Castés M, Rondón AJ et al. *In situ* characterization of the cellular immune response in American cutaneous leishmaniasis. *Clin Exp Immunol* 1985; 60: 241-248.
87. Gross A, Weiss E, Tapia FJ, Aranzazu N, Gallinoto ME, Convit J. Leukocyte subsets in the granulomatous response produced after inoculation with *Mycobacterium leprae*-BCG in lepromatous patients. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 60: 608-612.



88. Martínez-Arends A, Tapia FJ, Cáceres-Dittmar G, Mosca W, Valecillos L, Convit J. Immunocytochemical characterization of immune cells in lesions of American cutaneous leishmaniasis using novell T cell markers. *Acta Trop* 1991; 49: 271-280.
89. Garside P, Mowat AMCI. Polarization of Th-cell responses: a phylogenetic consequence of nonspecific immune defence? *Immunol Today* 1997; 16: 220-223.
90. Constant S, Pfeiffer C, Woodard A, Pasqualini T, Bottomly K. Extent of T cell receptor ligation can determine the functional differentiation of naive CD4+ T cells. *J Exp Med* 1995; 182: 1591-1596.
91. Ottenhoff TH, Mutis T. Specific killing of cytotoxic T cells and antigen-presenting cells by CD4+ cytotoxic T cell clones. *J Exp Med* 1990; 171: 2011-2024.
92. Austin JM, Wood KJ. Principles of cellular and molecular immunology. Oxford: Oxford University Press, 1993.
93. Melcher A, Todryk S, Bateman A, Chong H, Lemoine NR, Vile RG. Adoptive transfer of immature dendritic cells with autologous or allogeneic tumor cells generates systemic antitumor immunity. *Cancer Res* 1999; 59: 2802-2805.
94. Nestle FO, Alijagic S, Gilliet M, Sun Y, Grabbe S, Dummer R et al. Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nature Med* 1998; 4: 328-332.
95. Ashley DM, Faiola B, Nair S, Hale LP, Bigner DD, Gilboa E. Bone marrow-generated dendritic cells pulsed with tumor extracts or tumor RNA induce anti-tumor immunity against central nervous system tumors. *J Exp Med* 1997; 186: 1177-11882.
96. Osterroth F, Garbe A, Fisch P, Veelken H. Stimulation of cytotoxic T cells against idiotype immunoglobulin of malignant lymphoma with protein-pulsed or idiotype-transduced dendritic cells. *Blood* 2000; 95: 1342-1349.
97. Reichardt VL, Okada CY, Liso A, Benike CJ, Stockerl-Goldstein KE, Engleman EG et al. Idiotype vaccination using dendritic cells after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma. A feasibility study. *Blood* 1999; 93: 2411-2419.
98. Zitvogel L, Mayordomo JI, Tjandrawan T, DeLeo AB, Clarke MR, Lotze MT et al. Therapy of murine tumors with tumor peptide-pulsed dendritic cells dependence on T cells, B7 costimulation and T helper cell 1-associated cytokines. *J Exp Med* 1996; 183: 87-97.
99. Flamand V, Sornasse T, Thielemans K, Demanet C, Bakkus M, Bazin H et al. Murine dendritic cells pulsed *in vitro* with tumor antigen induce tumor resistance *in vivo*. *Eur J Immunol* 1994; 24: 605-610.
100. Mayordomo JI, Zorina T, Storkus WJ, Zitvogel L, Celluzzi C, Falo LD et al. Bone marrow-derived dendritic cell pulsed with synthetic tumour peptides elicit protective and therapeutic antitumor immunity. *Nature Med* 1995; 1: 1297-1302.
101. Pulendran B, Smith JL, Jenkins M, Schoenborn M, Maraskovsky E, Maliszewski CR. Prevention of peripheral tolerance by a dendritic cell growth factor: Flt3 ligand as an adjuvant. *J Exp Med* 1998; 188: 2075-2082.
102. Esche C, Subbotin VM, Hunter O, Peron JM, Maliszewski C, Lotze MT et al. Differential regulation of epidermal and dermal dendritic cells by IL-12 and Flt3 ligand. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 1028-1032.
103. Lotze MT, Shurin M, Esche C, Tahara H, Storkus W, Kirkwood JM et al. Interleukin-2: developing additional cytokine gene therapies using fibroblasts or dendritic cells to enhance tumor immunity. *Cancer J Sci Am* 2000; 6 (Supl 1): 61-66.
104. Shimizu K, Fields RC, Redman BG, Giedlin M, Mule JJ. Potentiation of immunologic responsiveness to dendritic cell-based tumor vaccines by recombinant interleukin-2. *Cancer J Sci Am* 2000; 6 (Supl 1): 67-75.
105. Brugger W, Brossart P, Scheding S, Stuhler G, Heinrich K, Reichart V et al. Approaches to dendritic cell-based immunotherapy after peripheral blood stem cell transplantation. *Ann NY Acad Sci* 1999; 872: 363-371.
106. Hartmann G, Weiner GJ, Krieg AM. CpG DNA: a potent signal for growth, activation and maturation of human dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 9305-9310.
107. Miller PW, Sharma S, Stolina M, Butterfield LH, Luo J, Lin Y et al. Intratumoral administration of adenoviral interleukin-7 gene-modified dendritic cells augments specific antitumor immunity and achieves tumor eradication. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 53-65.
108. Ozawa H, Ding W, Torii H, Hosoi J, Seiffert K, Campton K et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene transfer to dendritic cells or epidermal cells augments their antigen-presenting function including induction of anti-tumor immunity. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 999-1005.
109. Ahuja SS, Reddick RL, Sato N, Montalbo E, Kostecki V, Zhao W et al. Dendritic cell (DC)-based anti-infective strategies: DCs engineered to secrete IL-12 are a potent vaccine in a murine model of an intracellular infection. *J Immunol* 1999; 163: 3890-3897.
110. Ahuja SS, Mummidi S, Malech HL, Ahuja SK. Human dendritic cell-based anti-infective therapy: Engineering DCs to secrete functional INF- $\gamma$  and IL-12. *J Immunol* 1998; 161: 868-876.
111. Cao X, Zhang W, He L, Xie Z, Ma A, Tao Q et al. Lymphotoxin gene-modified bone marrow dendritic cells act as more potent adjuvants for peptide delivery to induce specific antitumor immunity. *J Immunol* 1998; 161: 6238-6244.
112. Wei Y, Li J, Chen WY, Yu X, Sticca RP, Wagner TE. Enhanced transgene expression and effective *in vivo* antitumor immune responses initiated by dendritic progenitors transfected with a nonviral T7 vector expressing a model tumor antigen. *J Immunother* 2000; 23: 75-82.
113. Cao X, Zhang W, Wang J, Zhang M, Huang X, Hamada H et al. Therapy of established tumour with hybrid cellular vaccine generated by using granulocytes-macrophage colony-stimulating factor genetically modified dendritic cells. *Immunology* 1999; 97: 616-625.
114. Zitvogel L, Regnault A, Lozier A, Wolfers J, Flament C, Tenza D et al. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell derived exosomes. *Nat Med* 1998; 4: 594-600.