

# Caleidoscopio

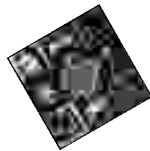
*Italiano*



**Renato Enzo Rossi**  
**Giorgio Monasterolo**

## **Cellule dendritiche**

### **Ruolo nelle malattie allergiche**



**141**

Direttore Responsabile  
**Sergio Rassu**

---

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401  
Stampato a Genova 2000



# Caleidoscopio

*Italiano*

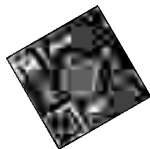


**Renato Enzo Rossi**  
**Giorgio Monasterolo<sup>1</sup>**

Unità di Allergologia  
<sup>1</sup>Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia  
Ospedale S.S. Trinità  
Fossano (CN)

## **Cellule dendritiche**

### **Ruolo nelle malattie allergiche**



**141**

Direttore Responsabile  
**Sergio Rassu**

---

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401  
Stampato a Genova 2000

## ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

**INFORMAZIONI GENERALI.** *Caleidoscopio* pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'*International Committee of Medical Journal Editors*. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

**TESTO.** La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte. Si prega di dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

**FRONTESPIZIO.** Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

**BIBLIOGRAFIA.** Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'*Index Medicus* e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. *J. Nucl. Med. Allied. Sci* 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2 Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): *The Endocrine Hypothalamus*. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi. La Redazione è collegata on-line con le più importanti Banche Dati (Medline, Cancerlit, AIDS etc) e fornisce ogni eventuale assistenza agli Autori.

**TABELLE E FIGURE.** Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse.

Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

**UNITÀ DI MISURA.** Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'*International system of units (SI)*.

**ABBREVIAZIONI.** Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

**PRESENTAZIONE DELLA MONOGRAFIA.** Riporre le fotografie in busta separata, una copia del testo e dei grafici archiviati su un dischetto da 3.5 pollici preferibilmente Macintosh.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spediti al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede tutti i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera, così come previsti dagli artt. 12 e segg. capo III sez. I L. 22/4/1941 N. 633, alla Rivista *Caleidoscopio* rinunciando agli stessi diritti d'autore (ed acconsentendone il trasferimento ex art. 132 L. 633/41).

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al Direttore Responsabile al seguente indirizzo:

**Dott. Sergio Rassa  
Via Pietro Nenni, 6  
07100 Sassari**

# Caleidoscopio

## Editoriale

**L**e cellule dendritiche devono il loro nome alla capacità di emettere e retrarre numerosi e sottili processi citoplasmatici che ricordano i dendriti dei neuroni (con cui vennero inizialmente confuse) come bene viene illustrato nella prima figura di questa monografia. Queste cellule fanno parte del grande sistema monocitico-macrofagico dotato della capacità di presentare l'antigene ai linfociti in modo tale che questo possa essere riconosciuto e quindi indurre una risposta immune con la proliferazione e la differenziazione di linfociti T *naive* in cellule attivate. Con il termine di cellule presentanti l'antigeni (APC) vengono quindi individuate un gruppo di cellule diverse tra loro ma che hanno questa peculiare capacità funzionale.

Si riteneva che queste cellule si trovassero nei follicoli dei linfonodi (cellule follicolari dendritiche) e nell'area paracorticale del linfonodo (cellule dendritiche interdigitate). In realtà la loro presenza è stata dimostrata anche in altri tessuti ed in particolare nei tessuti in contatto con l'ambiente esterno quali cute e mucose. Specificamente, queste cellule sono state dimostrate nell'epitelio tracheo-bronchiale e nei setti interalveolari e nel tessuto connettivo peribronchiale e peribronchiolare dove arrivano provenienti dai vasi.

L'aumento del numero di queste cellule nel tratto bronchiale, osservato nei soggetti atopici rispetto ai soggetti normali di controllo, ha indotto a pensare che queste cellule possano giocare un ruolo importante nelle malattie allergiche anche perché un tale riscontro è stato registrato a livello della cute ed è stata ancora osservata una riduzione di queste cellule, sino alla loro normalizzazione, dopo trattamento dei soggetti asmatici con corticosteroidi. Infine sulle cellule dendritiche presenti a livello polmonare, alcuni ricercatori hanno dimostrato la presenza del recettore ad alta affinità per le IgE. Gli sviluppi di queste conoscenze potrebbero portare in futuro ad un ruolo cruciale di queste cellule con la possibilità di utilizzarle per indurre una tolleranza allergene-specifica.

Questa monografia, oltre ad analizzare gli aspetti più generali, fornisce quanto di più aggiornato riguardo alla ontogenesi ed ai precursori, alla caratterizzazione fenotipica, alla distribuzione di queste cellule nell'organismo per arrivare, infine, al loro ruolo nelle malattie allergiche ed alle possibili implicazioni terapeutiche future. Una ricchissima ed aggiornata bibliografia completa questo lavoro che è unico.

Con questa monografia portiamo avanti il filo del discorso iniziato con gli autori qualche anno fa, quando pubblicammo la prima monografia dedicata ai basofili, seguita da quella dedicata agli eosinofili, ed adesso queste piccole ed affascinanti cellule vengono illuminate dalla luce della conoscenza attuale.

Autori noti quindi, di cui mi fa piacere sottolineare l'impegno per l'aggiornamento, questa continua tensione che permette di distinguere tutti coloro che operano nel campo della Sanità in due grossi gruppi, quelli che si aggiornano e quelli che pensano di aver già investito a sufficienza. I giaguari, impegnati in una continua corsa ed i dinosauri destinati alla morte intellettuale e culturale.

Il dottor Renato Enzo Rossi, laureato in Medicina e Chirurgia presso l'Università di Genova, ha conseguito la specializzazione in Allergologia ed Immunologia Clinica, nel 1982, frequentando la prestigiosa Scuola di Firenze. Ha quindi svolto attività di ricerca presso la Cattedra di Immunologia dell'Università di Genova e presso l'Istituto Nazionale per la ricerca sul cancro di Genova. Membro dell'European Academy of Allergology and Clinical Immunology, attualmente presta la Sua opera come specialista presso l'Unità di Immunoallergologia dell'Ospedale Santissima Annunziata di Savigliano (CN). E' autore di numerosi lavori originali, alcuni dei quali pubblicati su riviste internazionali.

Il dottor Giorgio Monasterolo dopo la laurea in Medicina e Chirurgia presso l'Università di Torino, ha conseguito le specializzazioni in Medico Settore Laboratorista ed in Patologia Generale presso la stessa Università ed in Ematologia (Clinica e Laboratorio) presso l'Università di Pavia. Primario del Laboratorio di Analisi dell'Ospedale di Fossano, è attualmente primario del Laboratorio Analisi, presso la Fondazione Salvatore Maugeri, Clinica del Lavoro e della Riabilitazione (Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico), di Pavia. Egli è inoltre docente di Patologia Speciale Clinica presso la Scuola di specializzazione in Patologia Clinica dell'Università di Torino.

**Sergio Rassu**

## Introduzione

L'evoluzione ha fornito all'uomo due distinti, e altamente sofisticati, meccanismi di difesa immunitaria nei confronti degli agenti patogeni ambientali: 1) il sistema dell'immunità innata, deputato a reagire rapidamente (da pochi minuti a poche ore) in modo piuttosto semplice, nei confronti degli attacchi patogeni; 2) il sistema dell'immunità acquisita, caratterizzato da un tipo di risposta difensiva altamente specifica, che si conforma alle strutture estranee all'organismo (not-self). Questo sistema è in grado anche di attuare uno stato di tolleranza nei confronti delle strutture proprie (self).

I meccanismi che sono alla base dell'immunità acquisita implicano diverse fasi di riconoscimento e reazioni nelle quali vengono impegnati molti tipi di cellule. Tra le cellule in grado di presentare l'antigene, le cellule dendritiche esplicano una funzione cardine nel fornire informazioni sugli agenti patogeni invasivi ad altri partners cellulari (cellule effettrici) del sistema immunitario.

Dopo essere state trascurate per anni, alle cellule dendritiche è stato riconosciuto un ruolo centrale nel complesso macchinario che costituisce la risposta immunitaria adattiva. Pertanto, accrescere le conoscenze sulle cellule dendritiche nelle diverse condizioni fisiopatologiche, può rappresentare un passo cruciale nello sviluppo di strategie di trattamento per molte entità patologiche (131).

Il primo elemento cellulare appartenente al sistema dendritico è stato descritto più di 100 anni fa da Paul Langerhans (1868). Esso venne ritenuto in origine un elemento nervoso a sede cutanea, e più tardi, un melanocita immaturo. Solo all'inizio degli anni '60 Birbeck (21) descrisse le granulazioni tipiche (granuli di Birbeck) a forma di racchetta da tennis, provvisti di una lamella centrale striata.

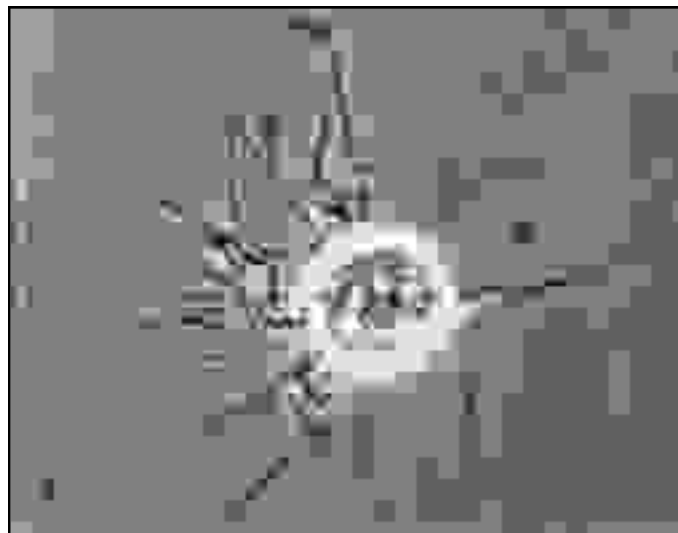
I granuli di Birbeck si trovano esclusivamente nelle cellule di Langerhans umane e di altri mammiferi, ma non in altre cellule dendritiche.

La prima segnalazione sull'esistenza delle cellule dendritiche venne fatta da Ralph Steinman e da Zanvil Cohn, nel 1974 (214).

Dal punto di vista morfologico, le cellule dendritiche sono caratterizzate da numerosi e sottili processi citoplasmatici, che conferiscono loro un aspetto a vela. Esse appaiono come cellule metabolicamente attive con mitocondri dispersi, apparato di Golgi riconoscibile, alcuni lisosomi, fogoliosomi e goccioline lipidiche, e un reticolo endoplasmatico ben sviluppato. Le cellule dendritiche sono provviste di grandi nuclei, con numerose dentature e con eterocromatina generalmente depositata a livello della membrana nucleare (156).

Le cellule dendritiche sono cellule specializzate nella presentazione dell'antigene, con la peculiare capacità di promuovere risposte immunitarie efficaci. Questa attività conferisce loro una importanza speciale in molte malattie umane a patogenesi immunologica.

Le cellule dendritiche vengono classificate in base alla funzione e alla localizzazione in: cellule dendritiche del sangue (35), dei tessuti, che includono le cellule Langerhans cutanee (29), delle vie respiratorie (63, 147, 64, 205) della mucosa del tratto digestivo (14, 164, 241); cellule indeterminate nel derma, della lamina propria della mucosa (65) e della sottomucosa (206, 205); cellule a vela dei linfatici afferenti (11); cellule interdigitate dei linfonodi regionali (11) e delle strutture linfoidi attorno alle mucose (65, 89); cellule interstiziali di organi come rene, intestino, polmone, tiroide (202).



**Cellula dendritica umana isolata dal timo, al microscopio in contrasto di fase.**



## Ontogenesi

Fin dalla prima dimostrazione sull'origine midollare delle cellule dendritiche (113), sono stati fatti tentativi per identificare i loro precursori e i precursori delle cellule di Langerhans, nel midollo osseo e nel sangue. A tal fine, negli anni passati, sono state seguite due strategie principali. La prima, descritta da Caux (35) nel '92, prevede un sistema in grado di generare cellule dendritiche simili alle cellule di Langerhans CD1a<sup>+</sup>, a partire da cellule staminali CD34<sup>+</sup>, in presenza di granulocyte/macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) e tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ).

La generazione di cellule dendritiche da cellule di Langerhans venne perfezionata in esperimenti successivi aggiungendo stem cell factor (SCF) e/o FLT-3 ligando, che portavano a una maggiore produzione di cellule CD1a<sup>+</sup>, a tipica struttura dendritica, e forte espressione di antigeni di istocompatibilità di classe II, CD4, CD40, CD54, CD58, CD80, CD83 e CD56, e presenza di granuli di Birbeck nel 10-20% delle cellule (159).

Fatto importante, queste cellule avevano una grande capacità di stimolare la proliferazione di cellule T vergini e di presentare antigeni solubili a cloni di linfociti CD4<sup>+</sup>.

In altri studi, Sallusto e Lanzavecchia (189), coltivando monociti in presenza di GM-CSF e IL-4, hanno generato in vitro cellule dendritiche CD1a<sup>+</sup> corrispondenti, dal punto di vista fenotipico a cellule dendritiche interstiziali. Monociti CD14<sup>+</sup> si differenziano in cellule dendritiche CD1a<sup>+</sup> mancanti di granuli di Birbeck ed esprimono CD11b, CD68 e il fattore XIIIa della coagulazione. Tipicamente, dopo 7 giorni di coltura con GM-CSF e IL-4, i monociti danno origine a cellule dendritiche immature che necessitano di una ulteriore stimolazione con il ligando di CD40 (CD40L), endotossina, o TNF- $\alpha$ , per raggiungere il pieno stadio maturativo e diventare cellule dendritiche altamente stimolatorie.

## Eterogeneità delle cellule dendritiche

Le cellule dendritiche sono caratterizzate dalla mancanza di marcatori specifici di appartenenza come CD3, CD19, CD16, CD14 che le distinguono da T e B linfociti, cellule NK e monociti. Nonostante la loro notevole importanza nel sistema immunitario vengono considerate orfane dal punto di vista ontogenetico per la loro incerta appartenenza a una particolare linea ematopoietica (166).

Attualmente nell'ambito del sistema cellulare dendritico è possibile documentare una considerevole eterogeneità fenotipica e funzionale (160, 225, 124, 223).

Le diversità funzionali tra i diversi tipi di cellule dendritiche riflettono differenze nello stato di maturazione e di attivazione. Per esempio, nelle colture in vitro, le cellule dendritiche possono acquisire le caratteristiche fenotipiche, morfologiche e funzionali di cellule linfoidi (185). D'altra parte, e in maniera non mutualmente esclusiva, esiste una chiara documentazione dell'esistenza di linee ematopoietiche distinte di cellule dendritiche.

Un certo numero di markers di superficie sono comuni a linfociti e cellule dendritiche (CD1, CD4, CD8, CD2 e BP-1) (246, 209, 225). Ciò attesta l'esistenza di precursori comuni a livello timico. A tale proposito le cellule dendritiche possono originare da un progenitore clonogenico linfoide comune CD34<sup>+</sup> Lin<sup>-</sup> CD10<sup>+</sup>.

I timociti che esprimono CD34 con bassi livelli di CD38 sono precursori di T-linfociti, cellule NK e cellule dendritiche (118, 135).

Anche i monociti sono in grado di generare cellule dendritiche in presenza di granulocyte – monocyte – colony stimulating factor (GM-CSF) e interleuchina-4 (IL-4) (269).

Dal punto di vista morfologico fenotipico e funzionale (166), esistono molte somiglianze tra i monociti/macrofagi e le cellule dendritiche.

In particolare, le cellule dendritiche epatiche sono in grado di fagocitare particelle (136); inoltre, le cellule dendritiche cutanee esprimono un certo numero di marcatori comuni con i macrofagi (recettori per Fc, ATPasi, esterasi non specifiche). Inoltre, GM-CSF e IL-3 sono essenziali per la crescita sia di monociti sia di cellule dendritiche (101, 37).

Da sottolineare il fatto che le cellule dendritiche di derivazione monocitaria non rappresentano una popolazione cellulare stabile, a causa della transitorietà del fenotipo.

Nonostante le affinità, cellule dendritiche e monociti possono anche svilupparsi in maniera indipendente in condizioni di crescita cellulare di tipo mieloide (219, 263).

Come segnalato in precedenza, la produzione di cellule dendritiche può avvenire da cellule CD34<sup>+</sup> di sangue cordale in risposta a GM-CSF e TNF- $\alpha$  (35). Cellule CD34<sup>+</sup> di sangue cordale possono differenziarsi in cellule CD14<sup>+</sup> CD1<sup>+</sup> per poi differenziarsi in cellule dendritiche provviste di caratteristiche stimolatorie tipiche dei linfociti T e markers delle cellule di Langerhans.

In alternativa, cellule CD34<sup>+</sup> di provenienza cordale possono differenziarsi attraverso una via di sviluppo intermedia che passa per una cellula

CD14<sup>+</sup> CD1<sup>-</sup>, con bipotenzialità in senso dendritico e monocitario in grado di generare cellule dendritiche capaci di processare l'antigene e attivare i linfociti B vergini (37).

L'origine delle cellule progenitrici che rispondono a GM-CSF e TNF- non è stata ancora accertata. Sono particolarmente ricche di precursori dendritici le cellule del sangue CD34<sup>+</sup>CLA<sup>+</sup> (222).

Nel midollo osseo fetale, le cellule CD34<sup>+</sup> esprimono livelli bassi o nulli della catena del recettore per l'IL-3, in presenza di GM-CSF e TNF- producono cellule dendritiche provviste di granuli di Birbeck (162).

In contrasto, cellule fetali midollari che esprimono CD34 e alti livelli di catena del recettore per l'IL-3, sottoposte a GM-CSF e TNF- generano cellule dendritiche prive di granuli di Birbeck (162).

Le cellule dendritiche con alti livelli di catena del recettore per IL-3 si localizzano negli organi linfoidi periferici secondari. Questi rilievi sembrano indicare che esisterebbe una linea di cellule dendritiche distinta dalle cellule di Langerhans. A conferma di ciò, è stato dimostrato che ceppi di topi mutanti per TGF- mancano di cellule di Langerhans ma hanno cellule dendritiche linfonodali (24).

Non è al momento ancora chiaro in che modo i cosiddetti progenitori mieloidi e linfoidi siano in relazione tra loro. Gli effetti diversi prodotti da citochine come GM-CSF o il ligando per Flt-3, possono fornire indicazioni su quali siano le condizioni e i requisiti necessari per la crescita e la differenziazione dei diversi tipi di cellule dendritiche (190, 134, 246).

## **Mutazioni focalizzate con effetti sulla specificità su linee cellulari ematopoietiche**

Come in altri sistemi biologici di sviluppo, l'ematopoiesi rappresenta un terreno fertile per lo studio degli eventi trascrizionali che controllano il destino cellulare. I regolatori che dominano l'ematopoiesi sono rappresentati da proteine leganti il DNA come GATA-2, tal-1/scl, AML-1 e PEBP2/CBF (231, 168, 157).

Mutazioni focalizzate nel topo sono in grado di abrogare la funzione di particolari geni e conseguentemente di sovvertire profondamente la formazione di cellule del sangue. Presumibilmente, questo tipo di proteine sono necessarie per lo sviluppo di cellule staminali e di cellule progenitrici multipotenti. In maniera più specifica, alcuni fattori di trascrizione sembrano essere critici solo per la produzione di una determinata linea cellulare. Tra questi fattori GATA-1 e Rbtn2, sono determinanti per lo sviluppo eritroide;

c/EBP è indispensabile per la formazione dei granulociti; PU.1 per lo sviluppo mieloide e linfoide (163, 227). La produzione dei linfociti B dipende da fattori genici di trascrizione come sox4, E2A, EBF, o Pax5 (10, 134, 266, 191, 129).

Id1, regolatore in negativo dei fattori di trascrizione bH-L-H (basic helix-loop-helix), come E2A, blocca specificamente lo sviluppo dei B linfociti (221). GATA3 è indispensabile per la formazione dei linfociti T e TCF-1 (HMG-box protein) è necessario per la trasformazione di linfociti T immaturi a singola positività in linfociti T a doppia positività (242).

E' possibile che le proteine bH-L-H determinino il destino dei progenitori comuni di linfociti T e cellule NK, dal momento che una maggiore espressione del regolatore negativo Id3 blocca la differenziazione dei linfociti T ma risparmia la produzione di cellule NK a livello timico (90).

Regolatori importanti nella formazione e nel mantenimento di linee linfoidi sono rappresentati dalle proteine codificate dalla famiglia del gene Icaro. La famiglia del gene Icaro, che codifica una serie di proteine con siti di legame potenziali per il DNA di geni T- e B associati, abbondantemente espressa su tessuti linfoidi, è necessaria per lo sviluppo di tutte le classi di linfociti (72). Lo stesso Icaro è un gene soppressore tumorale nei linfociti T e controlla in maniera differenziata lo sviluppo dei linfociti fetali e adulti (247). A dimostrazione del fatto che intercorrono stretti rapporti tra linfociti e cellule dendritiche in corso di sviluppo, è stato evidenziato che Icaro è in grado di controllare la produzione delle cellule dendritiche. Sono stati prodotti dati sperimentali in tal senso in cellule linfoidi e cellule dendritiche murine con mutazioni di Icaro in senso dominante negativo (DN-/-mice) (257).

Stanno emergendo dati circa un possibile ruolo del gene Icaro nella cellula staminale ematopoietica multipotente. Il ritrovamento di mRNA in cellule midollari umane CD34<sup>+</sup> Lin<sup>-</sup>CD45RA<sup>-</sup>Thy-1<sup>+</sup> (149), rende verosimile l'ipotesi di un ruolo di Icaro nello stadio iniziale della differenziazione ematopoietica.

Mentre il gene Icaro può controllare lo sviluppo di progenitori distinti delle cellule dendritiche e dei linfociti, sembra più probabile che un precursore comune possa essere il bersaglio dell'azione di Icaro nel determinare il destino di specificazione, proliferazione o sopravvivenza delle cellule. A prova di ciò, mRNA del gene Icaro è stato trovato nel progenitore midollare bipotenziale (linfoide e dendritico) CD34<sup>+</sup> Lin<sup>-</sup>CD10<sup>+</sup> (1988); mRNA del gene Icaro è stato trovato anche in timociti umani e in cellule dendritiche umane mature. E' probabile dunque che esso giochi un ruolo nello sviluppo dei sistemi linfoide e dendritico (247).

I markers indicati in tabella 1 indicano i diversi stadi maturativi delle cellule progenitrici e forniscono uno schema che può essere utilizzato nello studio del fenotipo e della funzione cellulare.

Cellula	Markers	Proprietà biologiche	Linee di differenziazione
Pool di cellule staminali	CD34+	Ripopolamento midollare	
	Thy-1+		
	CD38 <sup>lo</sup>	Ripopolamento timico	
	HLADR <sup>lo-1</sup>		
Pool cellulare multipotente	CD45RA <sup>-</sup>	Cellule che originano culture cellulari a lungo termine	
	CD10 <sup>-</sup>		
	CD19 <sup>-</sup>		
	CD2 <sup>-</sup>		
Lineage-restricted pool	CD71 <sup>lo</sup>	Attività clonogenica	
	C-kit <sup>+lo</sup>		
	CD34+	ripopolazione timica	E, G, M, L, DC
	Thy-1 <sup>-</sup>		
Progenitore Correlato alla Linea linfoide	CD38+	Attività clonogenica	
	HLADR+		
	CD45RA <sup>-</sup>		
	CD10 <sup>-</sup>		
Lineage-restricted pool	CD19 <sup>-</sup>		
	CD2 <sup>-</sup>		
	CD34+	Ripopolamento timico	G, M, L, DC
	Thy-1 <sup>-</sup>		
Progenitore Correlato alla Linea linfoide	CD38+	CFU-GM	
	HLADR+		
	CD45RA <sup>-</sup>	Progenitore cellulare Linfoide commissionato	
	CD10 <sup>-</sup>		
Progenitore Correlato alla Linea linfoide	CD19 <sup>-</sup>		
	CD2 <sup>-</sup>		
	CD34+	Ripopolazione timica	L, DC
	Thy-1 <sup>-</sup>		
Progenitore Correlato alla Linea linfoide	CD38+	Progenitore linfoide commissionato	
	HLADR+		
	CD45RA <sup>-</sup>	Progenitore dendritico correlato alle cellule linfoidi	
	CD10 <sup>-</sup>		
Progenitore Correlato alla Linea linfoide	CD19 <sup>-</sup>		
	CD2 <sup>-</sup>		
	IL-7R +		
	c-Kit <sup>lo/-</sup>		
Progenitore Correlato alla Linea linfoide	Tdt <sup>+lo</sup>		

E= cellule eritroidi, G=granulociti, M=monociti, L=linfociti (T,B,N) , DC=cellule dendritiche.  
(Da Galy A, Georgepoulos K, Wu L; 1998, modificata).

**Tabella 1. Markers dei progenitori midollari e delle cellule staminali umane.**

## Caratterizzazione fenotipica delle cellule dendritiche

Il fenotipo delle cellule dendritiche umane dipende dall'origine cellulare, dai mezzi usati per la purificazione, e dallo stato di attivazione. Alcuni marcatori di superficie bene caratterizzati, selettivi per alcune popolazioni di cellule dendritiche, risultano utili se impiegati in combinazione con molecole più largamente espresse, come gli antigeni HLA-DR.

Membri della famiglia delle molecole CD1, che hanno somiglianze strutturali con le molecole di classe I del Complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) vengono espressi dai timociti corticali e in maniera differenziata dalle cellule dendritiche. Le cellule dendritiche, inoltre, esprimono CD14 e quantità variabili di CD1c (49).

Le cellule dendritiche dermiche o migranti esprimono CD1b (179). CD14, CD1b, CD1c sono probabilmente espressi dalle cellule dendritiche interdificate delle aree T degli organi linfoidi.

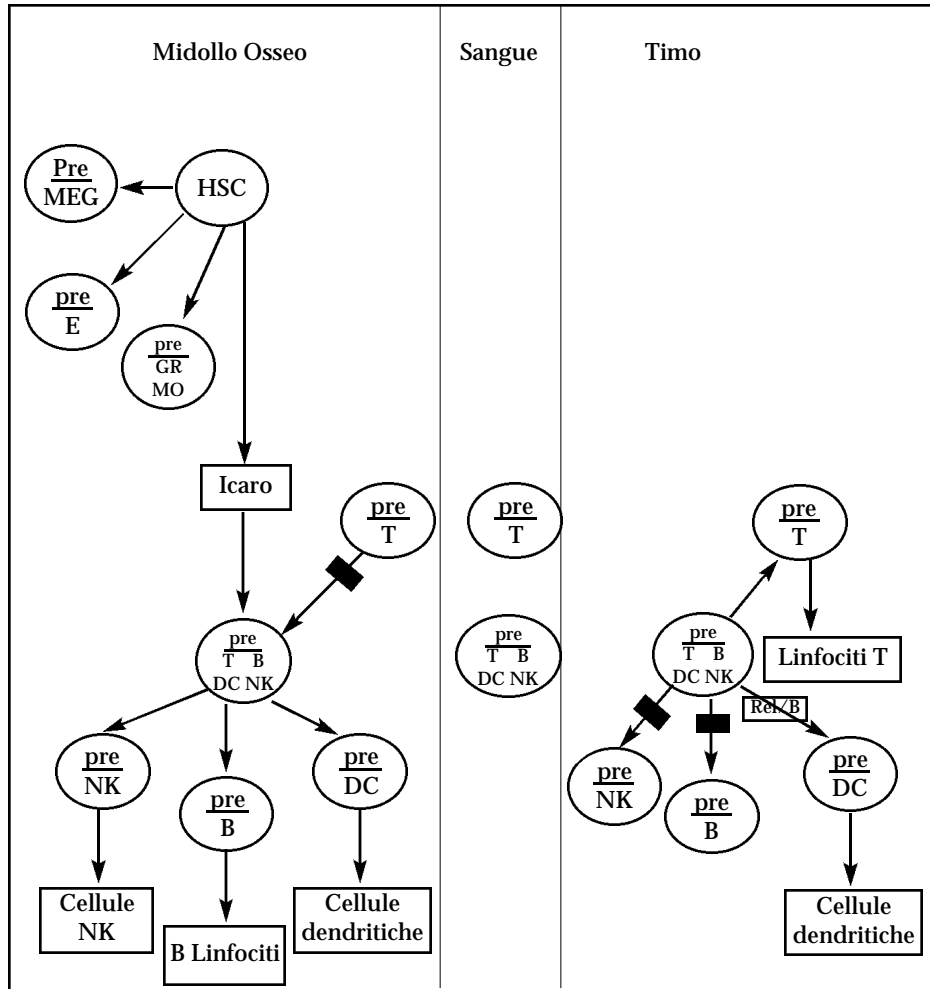
Le cellule dendritiche ematiche e tonsillari non esprimono CD10. Sia l'assenza che l'espressione di CD1c è stata segnalata su cellule dendritiche ematiche, anche se è controversa (54, 260, 141). Una sottopopolazione di cellule dendritiche fresche attivate, ma non le cellule dendritiche tonsillari, esprime CD11c (229, 160).

Gli anticorpi nonoclonali CMRF-4, CMRF-56 e CD83, riconoscono antigeni primariamente espressi su cellule dendritiche umane attivate o coltivate (266, 267). L'anticorpo monoclonale CMRF-44 si lega a un antigene ad alta densità espresso su cellule dendritiche ematiche coltivate, su cellule dendritiche fresche e su cellule di Langerhans isolate (61, 95) e identifica un altro marker differenziativo di attivazione.

Un altro utile marcatore è costituito da un neoepitopo di CD9, descritto sulle cellule dendritiche del sangue, che è riconosciuto dall'anticorpo monoclonale X-11 (258). Un altro marcatore è riconosciuto dal monoclonale Lag sulle cellule di Langerhans (222).

In comune con altri leucociti, le cellule dendritiche esprimono isoforme di CD45 (83, 170, 172). Altri antigeni relativi alla linea di appartenenza di comune riscontro, sono associati alla migrazione e alla funzione delle cellule dendritiche. Questi marcatori, inutili per la purificazione cellulare, possono agevolarne la caratterizzazione fenotipica (Fig. 2).

In ultima analisi, l'espressione delle molecole di superficie nelle popolazioni dendritiche è un evento molto dinamico. L'esposizione a piccole quantità di sostanze diverse e i tempi di coltura, possono influenzare drammaticamente il fenotipo della popolazione cellulare risultante.



**Figura 2. Modello di differenziazione e commitment delle linee cellulari.** Le frecce continue indicano la differenziazione; le piccole frecce discontinue indicano la migrazione. Icaro e Rel/B indicano il blocco differenziativo che avviene in topi con deficit di questi fattori di trascrizione. Abbreviazioni: B, linfociti B; DC, cellule dendritiche; E., eritrociti; GR, granulociti; HSC, cellule ematopoietiche staminali; MEG, megacariociti; MO, monociti; NK, linfocita natural killer; T, linfociti T. (Da Ardavin C. *Immunology Today*, 1997; modificata).

## Precursori midollari

Una sottopopolazione di cellule midollari CD34<sup>+</sup> sono immunostimolatorie e rappresentano i precursori delle cellule dendritiche (55). Queste cellule conservano apparentemente la capacità di differenziarsi sia in linee linfoidi che in linee mieloidi, sono CD14<sup>-</sup>, ma in vitro possono diventare CD14<sup>+</sup>. È stato individuato un precursore cellulare CD34<sup>+</sup> alternativo in grado di differenziarsi, attraverso una linea di sviluppo indipendente, in cellule dendritiche associate all'epitelio Lag<sup>+</sup> e CD1a<sup>+</sup> (219, 222).

## Cellule dendritiche del sangue

Le cellule dendritiche ematiche fresche esprimono alti livelli di molecole del MHC, CD45RA e bassi livelli di CD11c (84).

Esprimono anche una varietà di molecole di adesione, alcune molecole costimolatorie (144, 143, 67, 87), e alcuni recettori per il frammento Fc (60, 49). Le cellule dendritiche fresche esprimono l'epitopo cross-reagente DC-24 definito da un anticorpo monoclonale IgM CD24, ma non esprimono CD24 (250).

La popolazione di precursori di cellule dendritiche CD13<sup>+</sup>, CD33<sup>+</sup>, CD14<sup>dim</sup> isolata direttamente da cellule mononucleate del sangue periferico si differenzia, dopo coltura, in elementi cellulari provvisti di processi dendritici, ed un fenotipo più maturo, capaci di indurre risposte nei linfociti in Mixed Leukocyte Reaction (MLR) o verso antigeni solubili (228, 229).

Una popolazione cellulare CD2<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+++</sup>, lin<sup>-</sup> del sangue periferico è in grado di processare e presentare l'antigene ai linfociti T (225).

L'espressione di CD2 sulle cellule dendritiche ematiche fresche è rapidamente persa in coltura. Le cellule dendritiche poste in coltura sono caratterizzate da un citoplasma prominente con alcuni processi dendritici. Dal punto di vista fenotipico presentano una espressione di antigeni di superficie associati all'attivazione cellulare (CMRF 44, CMRF-56, CD83, CD33, CD13, l'epitopo di CD-24) (61, 229, 250).



## Cellule dendritiche derivate da tessuti non linfoidi

Le cellule dendritiche associate ai tessuti, dove avviene il primo incontro con l'antigene o con segnali "pericolosi", assolvono una funzione di sorveglianza immunologica.

Le cellule dendritiche derivate da tessuti non linfoidi possono essere distinte, per il fenotipo, in due popolazioni: le cellule dendritiche epiteliali di superficie e le cellule dendritiche non epiteliali. Le cellule del primo tipo sono rappresentate da cellule di Langerhans, da cellule del tubo digerente e del tratto urogenitale, e da alcune cellule dell'albero respiratorio.

Le cellule di Langerhans vengono identificate come cellule a localizzazione epidermica con molecole di classe II<sup>+++</sup>, CD1a<sup>+++</sup>, CD14<sup>-</sup>, e presenza di granuli di Birbeck (102, 186). In situ, alcune cellule esprimono livelli bassi dei markers, CMRF-44, CD83, CD40 e CD86, ma non CD80. Le cellule di Langerhans isolate esprimono più alti livelli di questi antigeni, che testimoniano una maggiore espressione degli stessi marcatori durante la fase di isolamento cellulare (142). È stata individuata inoltre, una espressione selettiva di certe 1- integrine.

Rare cellule dendritiche CD1a<sup>++</sup> vengono identificate nell'epitelio del tubo digerente e in maggior quantità, nella lamina propria. Recentemente cellule CD1a<sup>+</sup> sono state identificate nel rene, nell'uretere e nella vescica (230). Le mucose respiratorie ospitano una notevole proporzione di cellule dendritiche a livello della membrana basale (145, 146). Il fenotipo di queste cellule riflette l'influenza di fattori dell'infiammazione e di altri mediatori di attivazione delle cellule dendritiche.

Tra le popolazioni di cellule dendritiche non epiteliali sono comprese le cellule dendritiche dermiche (49) e le cellule dendritiche di cuore, rene, polmone e fegato (8, 85).

Le cellule dendritiche dermiche contengono vari granuli di Birbeck e sono molecole di classe II<sup>+</sup>, CD1a<sup>+</sup>, CD36<sup>+</sup>, Lag<sup>-</sup> (184). La colorazione per il fattore XIIIa identifica una cellula dermica a morfologia dendritica (42). Una ulteriore analisi fenotipica di queste popolazioni si rende necessaria per poter distinguere queste cellule dendritiche dalle cellule del Langerhans CD1a<sup>+++</sup>. In situ, solo una sottopopolazione di cellule dendritiche dermiche esprime CMRF-44 e CD83 (142), ma questi antigeni vengono rapidamente soppraregolati nelle cellule isolate (172, 255).

Le cellule dendritiche derivate dai tessuti linfoidi formano una popolazione eterogenea costituita da cellule attivate e non attivate o forse, di derivazione da diversi stipi cellulari. Nell'uomo, le cellule dendritiche lin<sup>-</sup> associate alle aree T delle tonsille sono CD13<sup>-</sup>, CD33<sup>-</sup>, CMRF-44<sup>-</sup> e CD83<sup>-</sup>. In queste aree una certa proporzione di cellule dendritiche con antigeni di classe II è attivata ed esprime CMRF-44, CD83, CD11b e molecole costimatorie (84).

Una popolazione di cellule dendritiche tonsillari a derivazione linfoide CMRF-44<sup>-</sup>, assomigliano dal punto di vista fenotipico, ai linfociti T plasmocitoidi CD4<sup>+</sup> CD11c descritti da Groundard (78).

Probabilmente queste cellule appartengono alla stessa popolazione cellulare HLA-DR<sup>+</sup>, lin<sup>-</sup>, IL-3<sup>high</sup> descritta da Olwens (162) che rappresentano una linea dendritica distinta dalla linea differenziativa delle cellule del Langerhans. Allo stato attuale non è possibile distinguere funzionalmente cellule dendritiche di derivazione linfoide CMRF-44<sup>+</sup> da quelle CMRF-44<sup>-</sup>.

Una terza popolazione, che si trova in prevalenza nei centri germinativi, può essere distinta dalle cellule follicolari dendritiche per l'assenza di CD21 ma per l'espressione di CD4, CD11b, CD13, CD33 e CD45 (78).

## Cellule dendritiche timiche

Le cellule dendritiche del timo hanno un ruolo biologico che si differenzia da quello posseduto da altre cellule dendritiche localizzate in altri tessuti (4). La funzione prominente del sistema dendritico periferico consiste nel raccogliere e presentare antigeni estranei ai linfociti T maturi, che daranno inizio alle risposte immunitarie.

La funzione delle cellule dendritiche timiche consiste invece, nel presentare auto-antigeni a linfociti T in fase di sviluppo e di promuovere processi di apoptosi. In altre parole, queste ultime mediano la selezione negativa che porta alla tolleranza immunologica nei confronti di antigeni propri.

Questo punto di vista ultrasemplificato, non prende in considerazione la morte su larga scala dei linfociti T per apoptosi, associata alle risposte immunitarie periferiche e non considera altresì il fenomeno di tolleranza dei linfociti T a livello periferico. Tuttavia, il concetto precedentemente esposto è valido per porre la questione se le cellule dendritiche timiche siano fondamentalmente differenti da quelle di altri tessuti.

Precedenti studi (137, 226, 215) suggerivano come fosse lo stadio di sviluppo dei linfociti T, e non già il tipo di cellula in grado di presentare l'antigene a determinare l'esito dell'interazione linfocita T-cellula dendritica. Tuttavia, è possibile che le cellule dendritiche timiche possiedano meccanismi addizionali, non ancora noti, in grado di promuovere una selezione negativa, che fa seguito a una selezione positiva, e che interessa i timociti semimaturi localizzati nella zona midollare.

Il paradigma del percorso vitale delle cellule dendritiche si articola in diversi momenti: una fase di sentinella nei tessuti periferici non linfoidi, dove gli antigeni sono fagocitati e processati; una fase di maturazione e migrazione, quando la captazione dell'antigene diminuisce e la funzione co-

stimolatoria aumenta, ed infine, una fase che avviene a livello linfendale caratterizzata dalla presentazione dell'antigene e dalla attivazione dei linfociti T. Rimane da stabilire se questo modello possa essere applicato alle cellule dendritiche localizzate nel timo, dove l'entrata di cellule presentanti l'antigene migratorie provenienti dal sangue, sia in grado di cancellare dal repertorio dei linfociti T, la possibile risposta verso antigeni estranei all'organismo raccolti nell'ambiente periferico. Esistono evidenze di un legame tra linfociti T e cellule dendritiche nello sviluppo da uno stesso precursore cellulare intratimico; rimane ancora senza risposta la domanda: quale precursore?

Nel timo, le cellule dendritiche sono localizzate nella zona midollare e nella giunzione cortico-midollare, dove sono in stretto contatto con le linee linfocitarie T. A somiglianza delle cellule dendritiche del topo, quelle umane isolate dal timo, sono in grado di presentare efficientemente l'antigene e di dare il via alla proliferazione dei linfociti T (80, 209, 252).

Le cellule dendritiche timiche umane esprimono alti livelli di antigeni di istocompatibilità di classe I e II e sono CD45RA<sup>+</sup>, ICAM-1<sup>+</sup>, LFA-1<sup>+</sup>, B7<sup>+</sup>. Queste cellule sono negative per molti markers macrofagici e linfoidi, essendo CD1<sup>+</sup>2<sup>+</sup>7<sup>+</sup>14<sup>+</sup>16<sup>+</sup>56<sup>+</sup>34<sup>+</sup> e CD11b<sup>-</sup>, e in parte, CD11c<sup>+</sup> (117). Inoltre, la maggior parte delle cellule dendritiche isolate fresche, sono fortemente positive per CD4 (209, 252). La presenza di CD4 sulle cellule dendritiche può avere delle implicazioni patogenetiche in corso di infezione da HIV-1 (33).

Mentre le cellule dendritiche del topo esprimono alti livelli di CD8 e bassi livelli di CD4, le cellule dendritiche timiche umane hanno livelli di espressione opposti.

La ricerca dei precursori commissionati o parzialmente commissionati di cellule dendritiche o di linfociti T nel timo embrionale o infantile umano, è complicata dalla probabile presenza di una cellula staminale multipotente capace di generare tutte le linee ematopoietiche (200).

E' possibile che cellule dendritiche umane vengano generate in coltura a partenza da precursori cellulari precoci isolati dal timo. Marquez e coll. hanno dimostrato che colture di timociti CD34<sup>+</sup> CD44<sup>int</sup> prelevati dal timo umano dopo la nascita, sottoposti all'azione di IL-7, portavano allo sviluppo parallelo di due linee: una di cellule linfoidi - T, l'altra di monociti più cellule dendritiche. Queste due linee progredivano attraverso uno stadio intermedio caratterizzato dai markers CD1<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>, ed erano separabili in base all'espressione di CD44. CD44 aumentava in corso di sviluppo della linea monocitaria dendritica, ma diminuiva in corso di sviluppo della linea linfoide. Questo rilievo, sebbene suggerisca l'esistenza un precursore iniziale comune T/cellula dendritica, lascia intuire la possibilità che esistano due progenitori separati fin dall'inizio (177, 178).

Le attuali conoscenze indicano che esiste un legame tra lo sviluppo di linee T e sviluppo dendritico sia nel timo umano che nel topo, a partenza da

un precursore primordiale comune. Tuttavia, questo precursore timico può essere multipotente, o almeno in grado di generare monociti e macrofagi, così come linfociti T e cellule dendritiche (177).

## **Ruolo delle cellule dendritiche timiche nella selezione negativa**

La selezione negativa è un processo attraverso il quale viene indotta una tolleranza nei linfociti T, che comporta la delezione o l'inattivazione funzionale dei cloni linfocitari T, i cui T cell receptors (TCRs) partecipano alla interazione ad alta affinità tra TCR – peptide – MHC (4). I peptidi che mediano la selezione negativa possono derivare da antigeni self o non self di origine intra o extracellulare, come le molecole del MHC, antigeni minori di istocompatibilità, proteine circolanti, proteine virali, antigeni batterici o virali.

Sebbene le cellule epiteliali timiche possano determinare una delezione clonale-T in alcuni sistemi sperimentali, evidenze su larga scala (218) indicano che sono le cellule dendritiche svolgono un ruolo cruciale nella selezione negativa dei linfociti T. La selezione negativa potenziale delle cellule dendritiche dipende dalla loro capacità di internalizzare, processare e presentare l'antigene (80). In contrasto, il fatto che le cellule epiteliali a distribuzione corticale sono relativamente inefficienti nell'internalizzare le proteine esogene e nell'attivare cloni linfocitari T, in presenza di antigeni specifici (226) (che è probabilmente dovuta alla loro incapacità di fornire segnali costimolatori), costituisce un notevole ostacolo alla loro capacità di indurre tolleranza (26).

La tolleranza nei confronti di un antigene definito dipende dalla sua disponibilità e concentrazione all'interno del microambiente timico. In tal modo, la natura e la concentrazione dell'antigene può avere importanti conseguenze sui linfociti che saranno cancellati.

Concentrazioni limitate di antigene richiedono modalità di processazione altamente efficienti e/o segnali costimolatori, mentre alte concentrazioni di antigene possono non avere questi requisiti. Di notevole interesse il fatto che gli antigeni solubili circolanti hanno un più facile accesso alla zona midollare che alla corteccia (125, 213). Ciò suggerisce che la selezione negativa di cloni T, con restrizione per antigeni di classe II, specifici per antigeni esogeni, che richiedono internalizzazione e degradazione endosomiale, avviene principalmente nella zona midollare e nella giunzione cortico-midollare, come dimostrato in topi transgenici per TCR con specificità per il componente C5 del complemento (264).

Nonostante esista un'ampia mole di letteratura sulla selezione negativa dei linfociti T, rimangono ancora senza risposta alcune domande concernenti: la naturale occorrenza di antigeni in grado di operare selezioni negative; i tempi di delezione clonale; il ruolo differenziale svolto da popolazioni separate di cellule presentanti l'antigene; e i meccanismi molecolari coinvolti.

Potenzialmente, i timociti corticali autoreattivi a doppia positività provvisti di TCR ad alta affinità per i complessi peptide - MHC, vengono eliminati clonalmente quando il corrispondente antigene è disponibile nella corteccia per essere efficientemente processato e presentato dalle cellule epiteliali corticali.

E' stato suggerito che le cellule epiteliali presentanti l'antigene inducono preferenzialmente la delezione clonale di timociti, con restrizione per antigeni di classe I del MHC che riconoscono peptidi endogeni (212).

Inoltre, timociti a doppia positività con restrizione per gli antigeni di classe II specifici per gli antigeni esogeni, possono essere selezionati negativamente quando gli stessi antigeni sono presenti a livello corticale ad alte concentrazioni (4).

Timociti a singola/doppia positività che hanno evitato la delezione iniziale, potrebbero essere selezionati negativamente ad un più tardivo checkpoint quando i loro TCR ristretti per gli antigeni di classe I e II riconoscano i loro peptidi antigenici specifici presentati dalle cellule dendritiche timiche.

La capacità di internalizzare l'antigene, il potenziale di processazione, così come la capacità costimolatoria delle cellule dendritiche timiche, permettono la selezione negativa di cloni di linfociti T specifici per antigeni verso i quali la tolleranza dei linfociti T non può essere indotta dalle cellule epiteliali corticali (4).

Le molecole espresse dalle cellule dendritiche timiche, alle quali è riconosciuto un ruolo essenziale nell'attivazione periferica, nella costimolazione e nell'apoptosi dei linfociti T, sono scarsamente conosciute per ciò che riguarda l'induzione della tolleranza.

L'interazione tra CD40-CD40L gioca un ruolo essenziale nella selezione negativa quando un antigene o un superantigene sono di origine endogena, ma non quando vengono somministrati per via esogena a concentrazioni sopra-fisiologiche. CD40-CD40L medierebbero la sopraregolazione di molecole costimolatorie sulle cellule che presentano l'antigene. Le molecole costimolatorie così indotte, sono necessarie per i segnali dei timociti operanti durante la selezione negativa, quando un antigene è disponibile in condizioni fisiologiche (66).

Recentemente, è stato segnalato che CD30, membro della superfamiglia dei recettori del tumor necrosis factor (TNF), partecipa alla selezione negativa. Un recente studio condotto su topi con deficit di ZAP-70, ha dimostrato il coinvolgimento della protein-tirosin-chinasi ZAP-70 nell'apoptosi indotta attraverso CD3, nella delezione clonale di timociti transgenici con TCR specifico per l'ovalbumina (4).

## Fenotipi funzionali delle cellule dendritiche

Diverse molecole utili per la tipizzazione fenotipica e per la purificazione di popolazioni cellulari dendritiche, possiedono funzioni ancora sconosciute. Le cellule dendritiche possono essere fenotipizzate utilizzando molecole che hanno funzioni specifiche come la cattura, la processazione e la presentazione dell'antigene. I recettori coinvolti nella cattura dell'antigene, in base alle loro modalità d'azione, vengono distinti in: i) recettori che riconoscono un determinato pattern (come i recettori per il mannosio nel topo, DEC-205) con il relativo omologo nell'uomo (112, 103); ii) recettori per il complemento e per il frammento Fc delle immunoglobuline.

Sulle cellule dendritiche sono stati descritti bassi livelli di CD11b (229), e CD11c (199), quest'ultimo identificato anche su cellule del Langerhans. Le cellule dendritiche dermiche e una sottopopolazione di cellule del Langerhans esprimono CD88 (recettore di C5a) (148). Le cellule dendritiche non esprimono recettori per CD21 (CR2) e CD35 (CR1) (86). La protezione dagli effetti litici del complemento sulle cellule dendritiche è mediata da CD55, CD59 e CD46 (83). In cellule dendritiche esposte a citochine viene espresso CD46 (77).

I recettori per Fc consentono la cattura specifica di antigeni opsonizzati da parte di varie cellule. Sia CD32 che CD64 ma non CD16 sono espressi da cellule dendritiche fresche, in una fase precoce della differenziazione. Questi due recettori per Fc abilitano le cellule dendritiche alla fagocitosi (59, 60).

Le cellule dendritiche umane esprimono CD32, CD64 e due recettori ad alta e bassa affinità per le IgE (20). Tuttavia, il complesso Fc RI è sprovvisto, sulle cellule dendritiche, della catena richiesta per svolgere la propria attività (138).

L'antigene CMRF-35 è una molecola che presenta considerevoli somiglianze con il recettore Fc delle IgA e IgM polimeriche, anche se lo specifico ligando per CMRF-35 non è stato ancora identificato.

Questo antigene è espresso sotto forme diverse, sulle cellule dendritiche ematiche, tonsillari e sulle cellule di Langerhans (82-84).

Il fenotipo delle cellule dendritiche che migrano attraverso i tessuti prima dell'interazione con i linfociti T è in relazione con l'espressione di molecole di adesione e con i recettori per le chemochine.

Le cellule dendritiche esprimono una notevole varietà di molecole di adesione. I ligandi per CD11a (LFA-1), CD54 (ICAM-1), CD50 (ICAM-2) e CD102 (ICAM-3), sono tutti espressi sulle cellule dendritiche ma presentano una regolazione differenziata. CD54 è espresso a bassa densità sulle cellule dendritiche del sangue e sulle cellule di Langerhans, ma è rapidamente soppraregolato dall'attivazione (217), mentre CD50 è espresso ad alta densità, dimostrando cambiamenti minimi dei livelli di espressione con l'attivazione (87).

CD102 viene espresso con una densità maggiore sulle cellule dendritiche e rappresenta il ligando di CD11a coinvolto nell'adesione precoce tra linfociti T e cellule dendritiche (217).

Anche le cellule di Langerhans esprimono alti livelli di CD102 (265).

La E-caderina svolge un ruolo nella migrazione ed espressa dalla cellule del Langerhans (22) e dalle cellule dendritiche del sangue. La presenza di E-caderina sulle cellule dendritiche è importante nell'adesione alle cellule squamose epiteliali.

Sebbene le selettine debbano essere ancora documentate sulle cellule dendritiche, le cellule del Langerhans esprimono il ligando per le E-selettine o l'antigene cutaneo associato ai linfociti (CLA) (121) coinvolto nell'interazione cellulare durante il transito cellulare.

L'interazione tra cellule dendritiche e tessuto connettivo può essere stabilizzata dalle isoforme della molecola CD44, espressa ad alta densità dalle cellule dendritiche (171).

Altre molecole in grado di partecipare agli eventi di adesione cellulare documentate sulle cellule dendritiche includono: CD138; la molecola endoteliale endoglina (CD105); la neuropilina (CD147) (83). In aggiunta, alcune sottopopolazioni di cellule dendritiche esprimono CD106 (V-CAM) (158), mentre CD31 (PECAM-1) è espresso su cellule dendritiche del sangue e della tonsilla (81).

Le cellule dendritiche di derivazione monocitaria differenziate in presenza di GM-CSF e IL-13 esprimono i recettori per le chemochine CCR1, CCR2, CCR5, CXCR1, CXCR2, CXCR4, ma non i recettori CCR3, CCR4 e CXCR3 (211). Le cellule dendritiche del polmone esprimono un recettore per le C-C chemochine MIP-3 (169). Tuttavia l'espressione di recettori per le chemochine non si traduce necessariamente in una risposta funzionale da parte delle cellule dendritiche. Infatti, come dimostrato da Sozzani, (211) le cellule dendritiche sono in grado di legare MCP-1 e l'IL-8 pur in assenza di attività migratoria, mentre altre cellule dendritiche derivate da elementi CD34<sup>+</sup> possono migrare in risposta a MCP-1 (259). La migrazione di cellule dendritiche di derivazione monocitaria è stata documentata in risposta a formilpeptidil, C5a, SDF-1, MCP-3, MCP-4, MIP-1a, MIP-1b, MIP-5, RANTES e fattore attivante piastrinico (PAF) (211).

Un piccolo numero di cellule di Langerhans localizzate a livello della membrana basale dell'epidermide esprime C5a R (CD88), l'espressione del quale è potenziato dall'aggiunta in coltura di GM-CSF. Queste cellule migrano in risposta a C5a (148).

L'adesione tra linfociti T e cellule dendritiche è mediata probabilmente da CD2 (LFA-2), ICAM-3 sui linfociti, e LFA-3 /LFA-1/ICAM-3 sulle cellule dendritiche (171), ed è il risultato dei cambiamenti fenotipici provocati dallo sopraregolazione di molecole costimolatorie e di altre molecole funzionali (47).

Dopo la migrazione delle cellule dendritiche nelle aree T dei tessuti linfoidi, le cellule dendritiche acquisiscono un fenotipo che rispecchia le loro proprietà stimolatorie. CD40, presente a bassi livelli di espressione sulle cellule dendritiche del sangue (143) e sulle cellule di Langerhans (185), è soprarregolato dopo stimolo. Allo stesso modo, CD80 e CD86 non sono espressi nelle cellule dendritiche del sangue a riposo, ma sono rapidamente soprarregolati dopo attivazione (144). Anche CDW150 (SLAM) membro della superfamiglia delle immunoglobuline, è soprarregolato nelle cellule dendritiche del sangue e sembra svolgere un ruolo costimolatorio (90).

Le citochine possono modulare la funzione e il fenotipo delle cellule dendritiche.

L'IL-1 e l'IL-1 inducono l'espressione di CD40 sulle cellule dendritiche del sangue (143). Sia i recettori di tipo I che il tipo II di TNF sono espressi sulle cellule dendritiche del sangue (141), ed anche il recettore per GM-CSF, quest'ultimo espresso anche dalle cellule dendritiche della tonsilla (269, 86).

Recentemente sono state dimostrate sulla superficie delle cellule dendritiche molecole con funzione inibitoria come Fas ligando (223) e recettori per l'IL-10 e TGF- $\beta$ , due citochine che regolano verso il basso la funzione delle cellule dendritiche.

Inoltre, sono stati clonati trascritti di una nuova molecola (IL-T3) (38).

Un ipotetico motivo a funzione inibitoria basato sulla tirosina è stato dimostrato nella regione citoplasmatica di IL-T3. Il fatto che si possa parlare dell'esistenza di un segnale inibitorio è suggerito dal fatto che anticorpi specifici per IL-T3 prevengono la mobilitazione di Ca<sup>2+</sup>.

## Altre molecole delle cellule dendritiche

Le diverse popolazioni di cellule dendritiche possono esprimere piccole quantità di IL-1, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, e linfotossina (269). Le cellule dendritiche attivate producono IL-7 (207), IL-12 (260), IL-6 (111) mentre le cellule dendritiche di derivazione monocitaria esprimono IL-15 (104). Cellule dendritiche CD83<sup>+</sup> purificate dal sangue esprimono mRNA per una varietà di chemochine: Mip-1b, IL-8, e bassi livelli di MCP-1 e RANTES (263). Le cellule dendritiche che si differenziano dai monociti in presenza di IL-3 e GM-CSF producono MCP-1, RANTES e MIP-1, e la chemochina derivata dai macrofagi (MDC) (73). Una seconda chemochina, DC-CK1, sempre espressa da cellule dendritiche di derivazione monocitaria e chemoattrattiva per i linfociti T CD45 RA<sup>+</sup>, è stata documentata, mediante ibridizzazione in situ, nelle aree T delle tonsille (1). L'espressione di DC-CK1 è indotta dall'IL-4 e inibita di GM-CSF.



La maggioranza delle cellule dendritiche del sangue, che derivano dal tessuto linfoide e di derivazione citochinica esprimono una proteina denominata fascina (p 55) di 55 kDa (151).

Una proteina identificata nel citoscheletro delle cellule di Reed-Sternberg, definita restina, è stata trovata nelle cellule dendritiche (17).

Le attività enzimatiche cellulari si sono rivelate degli utili markers fenotipici per distinguere le cellule dendritiche da altre cellule, in particolare da macrofagi / monociti. Questi ultimi possiedono mieloperossidasi e bassi livelli di 5'-nucleotidasi, dipeptidil peptidasi e catepsina B (186, 118, 238) che mancano nelle cellule dendritiche. Le cellule dendritiche esprimono anche bassi livelli, o mostrano una differente distribuzione intracellulare, di altri enzimi come esterasi non specifiche (5), fosfatasi acida o CD68, un marker lisosomiale (86).

I fattori di trascrizione che regolano il fenotipo delle cellule dendritiche possono fornire un ulteriore livello di espressione fenotipica.

Rel-B membro della famiglia dei fattori di trascrizione NF- $\kappa$ B è selettivamente espresso nelle cellule dendritiche di timo, milza e linfonodi del topo (34). E i topi mancanti del gene per Rel-B sono sprovvisti di cellule dendritiche funzionalmente mature (30). Le cellule dendritiche umane del sangue cresciute in presenza di GM-CSF esprimono c-rel, Rel-B, NF- $\kappa$ Bp65 e NF- $\kappa$ B50 (16) ma mancano del fattore di trascrizione SP-1. Rel-B è stato identificato in cellule dendritiche originate da monociti (3) e in cellule dendritiche umane della tonsilla (62).

L'individuazione di ulteriori markers per riconoscere le cellule dendritiche in differenti siti e stadi di maturazione e differenziazione è quanto mai auspicabile. A tale proposito alcuni gruppi hanno dimostrato nuove molecole (membri della famiglia delle disintegrine) (153) potenzialmente utili.

La purificazione di una popolazione omogenea è attualmente piuttosto difficile per la maggior parte delle popolazioni cellulari ad eccezione delle cellule dendritiche attivate del sangue CD83<sup>+</sup>, CMRF-44<sup>+</sup>, HLA classe II<sup>+</sup>, CD14.

La conoscenza dettagliata del fenotipo delle cellule dendritiche rappresenta un elemento cruciale per capirne la biologia e per l'impiego di popolazioni cellulari definite per scopi terapeutici. La caratterizzazione fenotipica può anche essere applicata direttamente a certe potenziali neoplasie che vedono il potenziale coinvolgimento delle cellule dendritiche (Fig. 3). L'origine dalle cellule dendritiche delle cellule maligne nel morbo di Hodgkin, può essere sospettata in una certa proporzione di casi in cui le cellule maligne esprimono marcatori come CD83 (208) e p 55 (151).



## **Ruolo delle cellule dendritiche nella presentazione dell'antigene**

Le cellule dendritiche passano attraverso due stadi di differenziazione (110, 173, 184, 194, 218): cellule dendritiche immature e cellule dendritiche mature.

Le cellule dendritiche immature sono localizzate nei tessuti non linfoidi, dove la loro funzione è quella di catturare l'antigene e successivamente, migrare negli organi linfoidi secondari, dove vanno a stimolare i linfociti T vergini. In un secondo momento raggiungono i linfonodi, dove modificano le loro proprietà e perdono la capacità di captare l'antigene, acquisendo la funzione stimolatrice sui linfociti T.

Un modello in vitro originariamente descritto da Sallusto et al. (189) si è rivelato particolarmente utile nello studio del ciclo vitale delle cellule dendritiche umane.

Coltivando in vitro monociti del sangue periferico in presenza di IL-4 e GM-CSF, è possibile generare una popolazione virtualmente pura di cellule dendritiche immature, caratterizzate da una alta attività endocitotica, ma bassa capacità stimolante sui linfociti T. Questi elementi cellulari immaturi possono essere indotti a maturare rapidamente se vengono stimolati con TNF- $\alpha$ , IL-10, LPS, che provocano una diminuzione dell'attività endocitotica concomitante a un incremento di molecole di adesione e molecole costimolatorie. Le risultanti cellule dendritiche mature possono essere attivate a un livello stimolatorio perfino maggiore se stimolate con CD40L, il quale produce un'ulteriore espressione di molecole costimolatorie, così come la produzione di IL-12, una citochina tipica di una polarizzazione Th1 (41, 91).

Questi risultati indicano l'importanza degli stimoli infiammatori e della funzione helper dei linfociti T, nel processo di attivazione delle cellule presentanti l'antigene, e forniscono un nuovo modello di collaborazione T-T attraverso l'attivazione delle cellule dendritiche.

Le cellule dendritiche immature hanno un'attività endocitotica straordinariamente elevata (189) che consente loro di assumere notevoli volumi di fluidi. Inoltre, le cellule dendritiche possiedono il recettore per il mannosio, molecola che permette una efficiente cattura di antigeni mannosilati e fucosilati. Possiedono anche CD32, che consente la cattura di immunocomplessi.

Quando le cellule dendritiche immature vengono esposte a concentrazioni di tossoide tetanico inferiori a 10-12M, si assiste ad una efficiente cattura e presentazione di questo particolare antigene (56). Le cellule dendritiche mature invece, sebbene siano altamente stimolatorie per i linfociti T allogenici, sono incapaci di catturare e di presentare antigeni solubili. Ciò è dovuto alla rapida regolazione verso il basso, sia dell'attività endocitotica, che delle

biosintesi degli antigeni di classe II del MHC, durante il completamento del ciclo maturativo.

Mentre risulta piuttosto evidente che le cellule dendritiche immature sono particolarmente efficienti nel generare complessi peptide-antigeni di classe II, a partire da antigeni solubili, rimane ancora da stabilire se e come, il processo di maturazione possa contribuire ad incrementare l'efficienza di presentazione dell'antigene. A tale proposito è stato recentemente dimostrato (39) che cellule dendritiche immature sintetizzano alti livelli di antigeni di classe II, che vengono efficientemente caricati con peptidi antigenici e trasportati alla superficie cellulare. I peptidi antigenici possono essere caricati sia insieme ad antigeni di classe II riciclati, sia insieme a antigeni di classe II sintetizzati de novo. Ciò permette un carico efficiente di epitopi distinti dei linfociti T.

Sono disponibili evidenze sperimentali indicanti che il TNF- $\alpha$  o LPS inducono un rapido incremento, da 3 a 4 volte, della sintesi degli antigeni di classe II. Questo processo continua per almeno 24-48 ore. L'attività endocitotica, che si mantiene alta nelle prime ore dall'induzione della maturazione, viene progressivamente diminuita. Nelle cellule dendritiche immature le molecole di classe II hanno un'emivita relativamente breve (10 ore) mentre l'emivita arriva a 100 ore nelle cellule dendritiche mature. Questo meccanismo consente di ottimizzare la presentazione di antigeni di derivazione microbica (45): direttamente (per esempio con LPS), o indirettamente, attraverso la produzione di TNF- $\alpha$ .

Stimoli maturativi come LPS o TNF- $\alpha$  sono in grado di indurre nelle cellule dendritiche, alti livelli di sintesi di molecole di classe I, che diversamente da quanto osservato per le molecole di classe II, persistono per diversi giorni. Le molecole di classe I possiedono una maggiore instabilità rispetto alle molecole di classe II, come dimostrato dalla loro emivita relativamente breve. Questa differenza di stabilità tra le due classi di molecole può essere messa in relazione con le differenti funzioni espletate da questi due sistemi di presentazione peptidica.

Nei tessuti periferici le molecole di classe II sono in grado di presentare antigeni che passano transitoriamente nell'ambiente attorno alla sede di presentazione dell'antigene.

In questa sede è importante che le cellule dendritiche compiano il massimo sforzo per caricarsi di peptidi antigenici nell'arco di un breve periodo di esposizione all'antigene in modo tale da trattenerli sotto forma di complessi stabili.

D'altro canto, le molecole di classe I sono in grado di presentare antigeni di sintesi endogena, come avviene nelle infezioni virali, affinché questi complessi possano essere generati continuamente dalle cellule con la finalità di permettere l'espressione del maggior numero di proteine virali possibili, per tutto il tempo che la cellula resta infettata.

In particolare, le cellule dendritiche possono essere attivate da virus influenzale e da RNA a doppia elica. Questa attivazione comporta non soltanto una maggior facilitazione di presentazione antigenica e una migliorata capacità stimolatoria per i linfociti T, ma anche una maggior resistenza all'effetto citopatico del virus, attraverso la produzione di interferon di tipo I e la soprarregolazione di proteina MxA (40). Queste vescicole presentanti l'antigene possono indurre effetti anti-tumorali ristretti per MHC e costituiscono un mezzo di comunicazione tra diverse cellule del sistema immunitario, per il loro contenuto in molecole di classe I e II, e in molecole costimolatorie (273).

Le potenziali implicazioni terapeutiche che potrebbero nascere da una migliore comprensione di questi meccanismi hanno già avuto delle applicazioni pratiche (7066, 5590, 7148). In particolare, linfociti allogenici sono in grado di proliferare in presenza di esosomi derivati da cellule dendritiche.

Il priming dei linfociti T vergini e l'attivazione dei linfociti T effettori e della memoria, avviene in differenti siti anatomici e coinvolge diverse cellule presentanti l'antigene (212, 271). Da un lato, i linfociti T vergini devono possedere particolari requisiti per essere attivati da cellule professionali come le cellule dendritiche, che presentano grandi quantità di antigene ed esprimono un cospicuo numero di molecole costimolatorie. Dall'altro, i linfociti T effettori possono essere facilmente messi in moto da piccole dosi di antigene presentato da diversi tipi di cellule anche non professionali.

In particolari condizioni oltre a dosi elevate di antigene, sono necessarie cellule presentanti l'antigene professionali, e in alcuni casi, l'intervento linfociti T helper per il priming di linfociti CD8 vergini (50).

In altre condizioni, la lisi di cellule bersaglio da parte di linfociti T effettori, può essere determinata dal riconoscimento del complesso formato da antigeni di classe I del MHC e da un singolo peptide su ogni cellula bersaglio (224).

Dagli studi più recenti del gruppo di Lanzavecchia, risulta evidente che l'interazione tra il recettore dei linfociti T (TCR) e il complesso peptide/MHC è un processo estremamente dinamico.

Quando le cellule presentanti l'antigene sottopongono ai linfociti T un particolare antigene si ha un incremento di  $Ca^{2+}$  e fosforilazione tirosinica di varie molecole. Questo evento che dura parecchie ore, può completarsi nell'arco di 1-2 minuti, se i linfociti T vengono dissociati dalle cellule presentanti l'antigene attraverso l'aggiunta in coltura di anticorpi che mascherano gli antigeni di istocompatibilità riconosciuti dal TCR o bloccando il citoscheletro actinico dei linfociti T (236). Questi risultati escludono la possibilità che il segnale sia sostenuto dalla formazione di un complesso stabile, ed indicano che il segnale richiede un ingaggio continuato del TCR con il complesso peptide-MHC.

È stato stimato che circa 100 complessi peptide – MHC presenti su una

cellula presentante l'antigene, sono in grado di attivare o regolare verso il basso l'espressione di circa 20.000 TCR in poche ore. Questa modalità di attivazione sequenziale dipende da una particolare cinetica di interazione TCR – ligando che può essere modulata dal rapporto di corecettori presenti su linfociti CD4/CD8. In particolare, CD28 aumenta l'entità del segnale trasmesso da parte dei TCR attivati, permettendo ai linfociti T di diventare commissionati più rapidamente, e a una soglia inferiore di attivazione del TCR. Le molecole di adesione stabilizzano i legami dei linfociti T con le cellule presentanti l'antigene e permettono di prolungare il segnale per ore. La durata del segnale è il fattore principale nel determinare il destino dei linfociti T: i linfociti T vergini richiedono più di 20 ore mentre le cellule effettrici richiedono circa 1 ora (237). L'attivazione sequenziale del TCR è dipendente dal tipo di cinetica determinata dall'interazione TCR – ligando. Questa cinetica deve essere in grado di garantire un'attivazione efficiente del TCR ingaggiato, e allo stesso tempo deve consentire una dissociazione del ligando, dopo l'attivazione del TCR, al fine di rendere possibile un nuovo ingaggio.

Una cinetica ottimale deve consentire frequenti ingaggi e attivazioni dei TCR. Una cinetica veloce è tipica di un agonista forte, mentre un agonista debole comporta una cinetica più lenta. Secondo Lanzavecchia i linfociti T sembrano “contare” il numero di TCR attivati, dato che essi rispondono solo al disopra di una certa soglia di attivazione (244, 245). Questa soglia può essere sintonizzata dalla costimolazione, e di conseguenza può variare in rapporto alla natura delle cellule presentanti l'antigene. Quando queste ultime esprimono alti livelli di molecole costimolatorie, la soglia di attivazione è piuttosto bassa (anche meno di 1000 TCR coinvolti). Al contrario, la soglia aumenta (più di 8000 TCR), quando le cellule presentanti l'antigene sono sprovviste di molecole costimolatorie. In quest'ultimo caso sono richieste dosi estremamente alte di antigene difficilmente raggiungibili in vivo.

Il concetto di soglia di attivazione sintonizzabile indica che la presentazione dell'antigene da parte di cellule non professionali, non produce attivazione dei linfociti T, ma soltanto attivazione sterile e regolazione verso il basso del TCR (32, 128).

Soglie diverse di ingaggio del TCR producono risposte differenti. Per esempio, la proliferazione e la produzione di citochine richiedono livelli più alti di occupazione del TCR che non la citotossicità, per la quale è necessaria una soglia più bassa (236). Questo spiega perché i linfociti citotossici siano in grado di uccidere cellule bersaglio a basse dosi di antigene, e in assenza di costimolazione.

Le evidenze sperimentali prodotte dal gruppo di Iezzi e Lanzavecchia indicano che i linfociti T effettori possono essere attivati a distanza di un'ora dall'esposizione all'antigene, mentre i linfociti T vergini richiedono una stimolazione continua per almeno 12 ore, che può prolungarsi fino a 30 ore in assenza di costimolazione (128). Infatti, i linfociti T vergini, devono andare incontro a blastizzazione, un processo che richiede energia e tempo.

Questo può spiegare sia la necessità di una lunga persistenza del segnale, sia la necessità di costimolazione per indurre il priming in linfociti T vergini. Pertanto, l'attività costimolatoria mediata da CD28 potrebbe avere il significato di aumentare le quantità di messaggeri secondari prodotti dall'attivazione dei TCRs, o di attivare vie di trasduzione del segnale sinergizzanti parallele (127), che forniscono uno stimolo più rapido ed efficace alle cellule, con un conseguente più rapido commitment.

Un dato di estremo interesse, è rappresentato dal fatto che, una prolungata durata del segnale, essenziale per l'attivazione dei linfociti T vergini, va a detrimento delle funzioni dei linfociti T effettori (128). Infatti, dopo prolungata stimolazione del TCR, i linfociti effettori vanno incontro a morte cellulare. L'apoptosi indotta dall'attivazione è prominente in assenza di costimolazione, ad indicare che la costimolazione ha un effetto protettivo sulla sopravvivenza dei linfociti T, molto probabilmente per la soprarregolazione di meccanismi anti-apoptotici (23). Le cellule dendritiche sono in grado di proteggere i linfociti T dall'apoptosi indotta dall'attivazione, attraverso il legame con CD58 (48).

Alla luce di questi dati sperimentali, si intuisce l'esistenza di due tipi di cellule presentanti l'antigene nelle risposte immunitarie.

La prolungata durata del commitment dei linfociti T vergini richiede la partecipazione di cellule presentanti l'antigene altamente adesive e provviste di molecole costimolatorie. Le molecole di adesione servono a creare coniugati stabili tra linfociti T e cellule presentanti l'antigene e sono essenziali per fornire stimolo continuativo del TCR (9). La mancanza di molecole di adesione sulle cellule presentanti l'antigene non professionali rende abbastanza improbabile il raggiungimento del commitment dei linfociti T vergini. Al contrario, il breve periodo necessario per il commitment dei linfociti T effettori, diminuisce la necessità di adesione e costimolazione da parte di queste cellule, ma garantisce una interazione efficace tra linfociti T effettori e cellule presentanti l'antigene non professionali. In questo caso una prolungata stimolazione antigenica può portare alla morte cellulare sia *in vitro* (46) che *in vivo* (152).

Recentemente Lanzavecchia e i suoi collaboratori hanno identificato due sottopopolazioni di linfociti T con funzioni distinte (187).

E' noto che i linfociti T transitano verso le aree T degli organi linfoidi secondari alla ricerca di antigene presentato dalle cellule dendritiche (13, 31). Una volta attivati, i linfociti T proliferano attivamente dando origine a cellule effettrici che migrano nelle aree B e nei tessuti infiammati (133, 71, 132, 6). Una frazione di linfociti T "istruiti" persistono in circolo come cellule della memoria in grado di conferire protezione e dare, dopo esposizione secondaria all'antigene, una risposta potenziata e diversificata dal punto di vista qualitativo (2, 53, 271). In base all'espressione di CCR7, un recettore chemochinico che controlla l'homing cellulare negli organi linfoidi secondari e che

si lega a SLC (presente sulle cellule endoteliali), è possibile suddividere i linfociti T della memoria in due sottopopolazioni distinte dal punto di vista funzionale: i linfociti CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup> esprimono recettori (a bassa espressione di CD62L) utili per la migrazione nei tessuti infiammati e provvisti di una funzione effettrice immediata; al contrario, i linfociti della memoria CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>, ad alta espressione di CD62L, mancano di funzioni effettrici immediate, ma sono in grado di stimolare con efficienza le cellule dendritiche. Essi completano successivamente il ciclo differenziativo, dopo stimolo secondario, diventando CCR7<sup>-</sup>.

Nell'ambito dei linfociti CD8 è possibile identificare le stesse sottopopolazioni, con un ulteriore subset CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>. CD62L<sup>-</sup>.

I linfociti CCR7<sup>+</sup> e CCR7<sup>-</sup>, che sono stati denominati rispettivamente della memoria centrale (TCM) e della memoria effettrice (TEM). Si differenziano da linfociti T vergini CDRA<sup>+</sup> e persistono per oltre dieci anni da una vaccinazione.

I linfociti TCM sono sprovvisti di funzioni infiammatorie e citotossiche. I linfociti TEM possiedono funzioni multiple. Sia i linfociti T vergini che i linfociti della memoria CCR7<sup>+</sup> producono solo IL-2. I linfociti della memoria CCR7<sup>-</sup> invece, producono alti livelli di IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$  e moderati livelli di IL-2.

I linfociti T vergini si differenziano prima in linfociti TCM e poi in linfociti TEM, in funzione dell'entità e della durata dello stimolo del T-recettore e della presenza o mancanza di segnali citochinici polarizzanti (188).

## Le cellule dendritiche nelle malattie allergiche

Negli ultimi 25 anni si è guardato con interesse crescente al ruolo svolto dalle cellule dendritiche nelle malattie allergiche. Come riferito in precedenza, il compito principale delle cellule dendritiche è quello di informare il sistema immunitario sull'invasione di proteine estranee all'organismo potenzialmente dannose

## Cellule dendritiche con funzioni polarizzate

Le risposte immunitarie specifiche vengono orchestrate da citochine di tipo 1 e 2 prodotte rispettivamente da linfociti Th1 e Th2 attivati dall'antigene.



Le citochine di tipo 1, IFN  $\gamma$ , IL-2, e TNF  $\alpha$  inducono prevalentemente risposte cellulari caratterizzate da infiammazione locale e attivazione di linfociti T citotossici, che portano all'eliminazione di patogeni intracellulari.

Una delle citochine di tipo 2, l'IL-4, è determinante per la produzione di immunoglobuline da parte dei linfociti B, mentre l'isotipo delle immunoglobuline è determinato dai livelli di coproduzione della citochina di tipo 1, IFN  $\gamma$ . L'IL-5 invece favorisce lo sviluppo e l'attivazione degli eosinofili.

Le infezioni sostenute da batteri intracellulari (es. micobatteri, listeria) o da certi virus (herpes, epatite) vengono contrastate dalle forti risposte polarizzate sostenute da cellule infiammatorie che generano citochine di tipo 1. Le infezioni sostenute dalla maggior parte di batteri extracellulari inducono la partecipazione di linfociti con patterns di produzione citochinica intermedia tra il tipo 1 e il tipo 2 (linfociti Th0) che favoriscono la produzione di IgG opsonizzanti.

L'infestazione da parte di alcuni elminti genera una forte risposta di tipo Th2 caratterizzata da una prevalente produzione di IgE, IgG4, e eosinofili.

Le risposte polarizzate di tipo Th1 e di tipo Th2 sono relativamente stabili a causa, verosimilmente, di un network altamente interattivo di segnali positivi e negativi, e alla perdita di suscettibilità a segnali modulatori.

Sebbene il paradigma Th1/Th2 sia in grado di spiegare l'induzione della maggior parte delle risposte immunitarie, non chiarisce l'induzione di IgA che segue all'interazione tra linfociti B e cellule presentanti l'antigene. Inoltre, oltre ai linfociti Th in grado di stimolare risposte umorali e cellulari, sono stati identificati ulteriori sottopopolazioni di linfociti Th in grado di regolare verso il basso risposte immunitarie, attraverso una forte produzione di IL-10 o TGF- $\beta$  (1-3).

Mentre i linfociti Th1 e Th2 effettori vengono ripolarizzati difficilmente a causa della perdita di recettori rilevanti, i linfociti helper a riposo e vergini sono estremamente sensibili a fattori polarizzanti, molti dei quali sono prodotti dalle cellule dendritiche. Queste ultime forniscono ai linfociti T, non soltanto segnali stimolatori antigene - specifici (segnale 1, legame del T-recettore) e una serie di segnali costimolatori (Segnale 2, legame di CD28, LFA-1 e altri), ma anche altri segnali, che potremmo denominare segnale 3, in grado di orientare la produzione di citochine da parte dei linfociti Th.

In altre parole, le cellule dendritiche forniscono ai linfociti Th vergini tre tipi di segnali: il segnale 1, da informazioni sull'identità dell'invasore; il segnale 2, fornisce informazioni sul potenziale patogenetico dell'antigene; il segnale 3 rappresenta la componente più importante della polarizzazione iniziale dei linfociti Th in senso Th1 o Th2 (109).

Sebbene il segnale polarizzante di tipo 3 sia mediato da molecole differenti, due di esse si sono rilevate particolarmente importanti.

E' noto che variazioni della dose di antigene possono determinare differenti tipi di polarizzazione. Una risposta di tipo Th2 si sviluppa a basse dosi

di antigene; al contrario, forti dosi di antigene favoriscono risposte di tipo Th1. Questo effetto dipendente dalla dose, è dovuto alla differenza dell'entità di legame del TCR, come evidenziato in vitro dagli effetti prodotti dal legame tra T-recettore e antigene, in assenza di cellule presentanti l'antigene. L'effetto dose, è comunque in gran parte annullato dagli effetti di alcune citochine, delle quali l'IL-12 è probabilmente la più importante. L'IL-12 viene prodotta durante la fase di presentazione dell'antigene a seguito del legame tra CD40 e il ligando di CD40 espresso dai linfociti Th.

Cellule presentanti l'antigene produttrici di alti livelli di IL-12 favoriscono l'instaurarsi di risposte polarizzate di tipo 1 (93, 204). D'altra parte, in assenza di IL-12 e in eccesso di PGE2 (94) si sviluppano risposte immunitarie di tipo 2. Molte altre molecole che derivano dalle cellule presentanti l'antigene, come l'IL-18, che sinergizza con IL-12, e i fattori che orientano le risposte di tipo 2 come OX40L e l'IL-4, possono avere un ruolo rilevante nelle reazioni immunitarie (13, 118, 70, 117) (Tabella 2).

Come è possibile allora intervenire su questi mediatori prodotti dalle cellule dendritiche, in modo da orientare il senso del successivo sviluppo delle cellule Th1/Th2? Sono stati identificati diversi composti capaci di modulare la produzione di IL-12 nelle cellule presentanti l'antigene. L'IL-12 è sopra-regolata dall'IFN (11) e sottoregolata da PGE2, IL-10, vit D e corticosteroidi.

Durante la fase di attivazione, le cellule dendritiche immature possono essere condizionate a produrre notevoli quantità di IL-12, a maturazione avvenuta, dopo ingaggio con i linfociti T. L'attivazione di cellule dendritiche di derivazione monocitaria ottenuta mediante citochine o da legame con CD40 porta allo sviluppo di cellule dendritiche mature che producono, sotto stimolo, livelli significativi, se pur moderati, di IL-12 (16).

Tuttavia, la presenza addizionale di IFN o PGE2 (108, 109) durante la fase di attivazione, porta allo sviluppo di cellule dendritiche mature, caratterizzate da livelli elevati di produzione di IL-12 (cellule dendritiche di tipo 1 evocanti risposte di tipo TH1) o allo sviluppo di cellule dendritiche con scarsa produzione di IL-12 (cellule dendritiche di tipo 2 che promuovono risposte di tipo TH2) (201).

Probabilmente nel prossimo futuro, saranno identificate altre molecole con capacità modulatorie simili all'IL-12. In questo caso le cellule dendritiche, in base ai livelli di produzione di IL-12, possono adattare il tipo di risposta immunitaria primaria a diversi tipi di antigene. Inoltre, la capacità delle cellule dendritiche di produrre determinati livelli di IL-12 rimane stabile e non suscettibile di ulteriori modulazioni, a causa della perdita di diversi recettori di superficie.

In modo simile alla PGE2, la presenza di IL-10 durante l'attivazione di cellule dendritiche immature, inibisce fortemente la successiva capacità di produrre IL-12 a maturazione avvenuta. Inoltre, l'IL-10 inibisce la matura-

	iDC	DC1	DC2
Fattore polarizzante	-	IFN-	PGE2
Fenotipo di superficie			
CD83	-	+	+
CD80/86	+	++	++
MHC II	+	++	++
ICAM-1	+	++	++
OX 40L	-	-	+
CD115	+	-	-
MR	+	-	-
Cattura dell'antigene	++	-	-
Risposta a:			
CD40L	++	++	++
Stimoli batterici	++	-	-
Suscettibilità a			
Modulatori di IL-12	++	±	±
Citochine			
IL-12	++	++	±
TNF-	++	++	±
IL-6	+	+	++
Priming dei linfociti T			
Stimolazione	±	++	++
Polarizzazione	-	Th1	Th2
DC= cellule dendritiche immature; DC1= cellule dendritiche di tipo 1; DC2= cellule dendritiche di tipo 2.			

**Tabella 2. Caratteristiche fenotipiche e funzionali di subsets di cellule dendritiche (Da Kalinsky P, *Immunology Today* 1999; 20:12. Modificata).**

zione delle cellule dendritiche che acquisiscono le caratteristiche delle cellule dendritiche di tipo 3. Queste cellule sono incapaci di attivare in modo efficiente i linfociti Th vergini. Le cellule dendritiche provviste di una capacità residua di attivare i linfociti Th vergini, promuovono in prevalenza citochine di tipo 2 (130).

La produzione di IL-10 e altri fattori anti-infiammatori è aumentata in quelle aree tessutali immuno-privilegiate come l'occhio, il cervello, l'utero, dove l'effetto inibitorio dell'IL-10, e quindi l'inibizione della maturazione delle cellule dendritiche, è essenziale per la prevenzione del danno provocato da forti risposte infiammatorie sostenute da effettori cellulari di tipo Th1.

Alcuni studi hanno evidenziato che nei soggetti con asma allergico, i monociti appartengono al tipo 2 di cellule presentanti l'antigene, con una

diminuita produzione di IL-12 (240). Una elevata produzione di PGE<sub>2</sub>, è stata riscontrata invece, nella dermatite atopica (203). In entrambe i casi, questi rilievi si associano a una diminuzione della produzione di IFN da parte dei linfociti Th in vitro.

E' interessante notare che citochine e fattori rilasciati durante il priming dei linfociti T inducono anche un differente repertorio recettoriale chemochinico. Mentre in linfociti Th1 esprimono CCR1, CCR2, CCR5, CXCR3, e CXCR5; linfociti Th2 sono caratterizzati dall'espressione di CCR2, CCR3, (recettore per l'eotaxina), CCR4 e CXCR5. Il particolare pattern di espressione chemochinico può favorire il reclutamento dei linfociti in determinati processi infiammatori (allergici o non allergici) e condizionare la partecipazione al processo flogistico di altri effettori cellulari. A tale proposito è di particolare rilevanza il fatto che linfociti Th2, eosinofili e basofili hanno in comune l'espressione CCR3, mentre linfociti Th1 e monociti (che possono differenziarsi in cellule dendritiche) esprimono CCR1 e CCR5.

## **Partecipazione delle cellule dendritiche alle reazioni allergiche**

E' noto che il recettore ad alta affinità per le IgE (Fc RI) presente su mastociti e basofili svolge un ruolo fondamentale nel mediare le risposte in corso di malattie allergiche. Ma, altre cellule che partecipano alle reazioni allergiche e tra esse le cellule dendritiche, esprimono Fc RI.

La competenza funzionale e l'espressione di Fc RI (18) sono influenzate dal microambiente e dai molteplici mediatori rilasciati a seguito della presentazione dell'allergene da parte delle cellule dendritiche.

I primi studi dimostrarono che le cellule di Langerhans di soggetti affetti da dermatite atopica avevano IgE di superficie (29) e solo successivamente venne dimostrato che le molecole di IgE erano legate a Fc RI (19, 28, 116). Cellule dendritiche provviste di Fc RI sono state dimostrate nella cute (247), nel polmone (227), nella mucosa nasale (232, 174) e anche nelle cellule dendritiche circolanti (140).

Inoltre, le cellule dendritiche Fc RI<sup>+</sup> sono aumentate nei pazienti allergici, così come è aumentato il numero di molecole di Fc RI presenti su cellule dendritiche isolate da lesioni cutanee di soggetti atopici (253). Infatti, è stato proposto che, nelle malattie cutanee, un'alta espressione di Fc RI sulle cellule di Langerhans può essere considerato un marker diagnostico di dermatite atopica (254).

La struttura di Fc RI, presente su basofili e mastociti è costituita da un

tetramero . RNA messaggero per le subunità  $\alpha$  e  $\beta$  di Fc RI è stato identificato, mediante la tecnica di reazione a catena della polimerasi (PCR), in cellule di Langerhans (105), nelle cellule dendritiche circolanti (140) e nei monociti (138). Comunque, come già riportato per i monociti (139) i trascritti per la catena  $\beta$  non sono evidenziabili nelle cellule dendritiche circolanti (130); essi sono documentabili solo in cellule di Langerhans di una minoranza di donatori (105). Ciò suggerisce che le cellule dendritiche esprimono un Fc RI di tipo  $\alpha$ . Infatti, alcuni studi (130) hanno dimostrato che negli immunoprecipitati ottenuti da cellule dendritiche umane del sangue periferico, Fc RI manca di subunità  $\beta$ . L'assenza della catena  $\beta$  può spiegare le differenti caratteristiche funzionali di Fc RI presente sui mastociti e di quello associato alle cellule dendritiche. D'altra parte, recentemente sono stati identificati trascritti per Fc RI- in cellule dendritiche di derivazione monocitaria (196, 197), e in cellule dendritiche circolanti.

Resta ancora da chiarire se l'RNA messaggero per la sub-unità  $\beta$  sia translato nella proteina e integrato nel recettore di superficie  $\beta$ .

Sebbene i livelli di espressione di Fc RI possano essere condizionati da uno stato atopico, è molto probabile che il microambiente sede di flogosi allergica, possa fare incrementare l'espressione di Fc RI sulle cellule dendritiche.

Si possono individuare due modelli, mutualmente interagenti, attraverso i quali il microambiente determina l'aumento di cellule dendritiche Fc RI<sup>+</sup> e del recettore stesso. Il primo modello si basa sul fatto che le cellule dendritiche presenti sulle superfici epiteliali, non appartengono a una popolazione cellulare statica. Nel polmone, in particolare, il turn-over cellulare ha un'emivita di circa 2 giorni (96).

Queste popolazioni rispondono a stimoli esterni, compreso il challenge allergenico, con un drammatico aumento numerico dagli elementi cellulari (145, 146). Dato che l'espressione di Fc RI è intrinsecamente elevata nelle cellule dendritiche dei soggetti allergici, il loro reclutamento, indotto dalle chemochine prodotte nelle sedi di flogosi allergica, può spiegare la massiccia presenza di cellule dendritiche Fc RI<sup>+</sup> nei tessuti. In seconda istanza, l'incremento di cellule dendritiche e la sopraregolazione di Fc RI nei tessuti, potrebbe dipendere dal microambiente ricco di citochine. Questa possibilità è più difficile da dimostrare perché queste cellule mutano rapidamente il fenotipo dopo il loro isolamento (175, 176).

Nonostante queste difficoltà tecniche, recentemente sono stati identificati due fattori che hanno un ruolo modulatore sull'espressione di Fc RI: le molecole di IgE e l'IL-4. Sebbene sia ormai ampiamente accettato che i livelli di IgE totali nel siero sono correlate con il livello di espressione di Fc RI e la concentrazione di IgE presenti su monociti (138) e su cellule di Langerhans (29), la stessa relazione non è stata ancora dimostrata in maniera definitiva per le cellule dendritiche presenti in sedi diverse.

Durante la differenziazione delle cellule dendritiche di origine mono-

citaria, è possibile documentare un incremento di RNA messaggero per le subunità  $\alpha$  e  $\beta$  di Fc RI, verosimilmente indotto dall'IL-4, utilizzata per sopprimere la differenziazione dei macrofagi in coltura (197). Ma occorrono altri studi volti a chiarire i reali effetti di IL-4 e IgE sulle cellule dendritiche, in particolare sulla modulazione delle subunità di Fc RI.

Si conosce poco su come viene trasdotto il segnale sulle cellule dendritiche. La fosforilazione della tirosina e la mobilitazione del calcio sono stati dimostrati in modo definitivo a seguito del cross-linking di Fc RI sulle cellule di Langerhans (105). Due recenti studi affermano che le cellule che presentano l'antigene sono in grado di esprimere recettori con attività di segnalazione difettosa (105, 176) che risulterebbe in una inibizione diretta della funzione di Fc RI. È stato infatti dimostrato che il co-cross-linking di Fc RI con la tirosinofosfatasi CD45, interferisce con il segnale di trasduzione in cellule di Langerhans e monociti (18, 175).

Fc RI lega con elevata affinità ( $K_a=10^{10}M^{-1}$ ) le molecole di IgE. Sulle cellule dendritiche le IgE specifiche legate a Fc RI legano a loro volta l'allergene che viene successivamente internalizzato attraverso l'endocitosi mediata dal recettore (105). Nei processi allergici la cattura dell'allergene attraverso questa via è sicuramente più efficiente e specifica rispetto ad altre modalità di cattura dell'antigene mediante adsorbimento non specifico. L'antigene può essere focalizzato non soltanto con Fc RI, ma anche attraverso il recettore a bassa affinità per le IgE (Fc RII/CD23) (92).

Nelle cellule dendritiche e nei monociti le modalità di captazione dell'antigene da parte di Fc RI sembrano avvenire nonostante la struttura di questo recettore (138, 139, 140).

Nelle malattie allergiche, dopo la processazione proteolitica dell'allergene, verso il quale un individuo è presensibilizzato, i peptidi vanno a occupare gran parte della superficie delle molecole di classe II del MHC presenti sulla membrana delle cellule dendritiche. È stato calcolato (139, 140) che le cellule dendritiche sono approssimativamente dieci volte più efficienti dei monociti nella presentazione dell'allergene attraverso Fc RI. Il cross-linking di Fc RI sulla superficie delle cellule dendritiche induce la fosforilazione tirosinica di diverse proteine, con modalità direttamente proporzionali alla densità di espressione dei recettori di superficie (105). L'attivazione cellulare induce probabilmente la sintesi e il rilascio di mediatori non ancora definiti dalle cellule dendritiche localizzati nelle sedi di reazioni allergiche. Questi mediatori potrebbero contribuire ulteriormente al circolo vizioso di eventi che portano alla flogosi allergica cronica.

Si può tentare di speculare se la presenza di Fc RI sulle cellule dendritiche possa direttamente influenzare la differenziazione dei linfociti T helper attraverso la via Th2. Per esempio, i complessi allergene-IgE internalizzati attraverso endocitosi mediata da Fc RI, possono attivare diverse vie proteolitiche di processazione dell'allergene catturato dalle cellule dendritiche,

nella cosiddetta bulk phase. In questo modo si creano differenti repertori peptidici con differenti affinità per TCR. Alternativamente, i mediatori rilasciati dalle cellule dendritiche attivate attraverso il cross-linking di Fc RI potrebbero favorire lo sviluppo di linfociti Th2, anche se questo meccanismo non è ancora stato dimostrato.

Come accennato in precedenza, c'è un notevole interesse intorno alla possibilità che il fenotipo dei linfociti T possa determinarsi nel corso dell'interazione tra linfociti T e cellule presentanti l'antigene: in conseguenza della dose di antigene; dei segnali costimolatori ricevuti dai linfociti T; o attraverso gli effetti paracrini delle citochine rilasciate dalle cellule che presentano l'antigene (183, 233).

Sebbene in alcuni sistemi alte dosi di peptide antigenico provochino la differenziazione di linfociti T vergini in linfociti Th1, mentre piccole dosi dello stesso peptide inducono una differenziazione di linfociti Th2 (44), in altri sistemi sperimentali la relazione tra la dose di antigene e la differenziazione dei linfociti T helper appare più complessa (98). La stessa dose di antigene non comporta necessariamente la stessa capacità di presentazione antigenica nei differenti tipi di cellule presentanti l'antigene. Ad esempio, le cellule dendritiche attrezzate con meccanismi estremamente efficienti di macropinosi ed endocitosi mediati dal recettore per l'antigene, insieme con gli alti livelli di espressione di molecole di Classe II di MHC di superficie (237), possono attivare un maggior numero di T-recettori rispetto ad una dose di antigene equivalente somministrata ai macrofagi.

Inoltre, bisogna ricordare che oltre alla disponibilità dell'antigene, anche l'affinità per le molecole di classe II o per il TCR possono influenzare la differenziazione dei linfociti T (165).

Una particolare attenzione è stata rivolta al ruolo assegnato alla famiglia di molecole costimolatorie B7 nel determinare il fenotipo dei linfociti T. Di particolare interesse il fatto che B7-1 (CD80) e B7-2 (CD86) vengono espressi e regolati diversamente sulle cellule dendritiche (114). Comunque, malgrado precedenti studi suggerissero che l'ingaggio di CD28 potesse dirigere i linfociti T vergini a differenziarsi in senso Th2 (248), e che la differenziazione in senso Th1 o Th2 di precursori di linfociti Th non commissionati fosse indotta dal legame di CD28 rispettivamente con B7-1 o B7-2 (126), appare ora evidente che l'importanza di CD28 nel determinare il fenotipo è secondario al ruolo svolto dal microambiente citochinico (195) e può variare in base alle condizioni sperimentali.

Anche l'interazione tra altri recettori come CD30, presente sui linfociti T, e il ligando di CD30, presente sulle cellule presentanti l'antigene, possono essere coinvolte nello sviluppo preferenziale dei linfociti Th2 (82), così come possono essere interessate alcune interazioni recettore-controrecettore non ancora conosciute.

Le cellule dendritiche sono state tradizionalmente considerate cellule

produttrici di livelli minimi di citochine (219). In realtà, sotto appropriate condizioni di stimolo, come ad esempio il cross-linking di CD40 con CD40L che avviene durante l'interazione tra linfociti T e cellule dendritiche, queste ultime possono essere indotte a produrre citochine come IL-12 (41, 19) e IL-16 (fattore chemiotattico maggiore per le cellule dendritiche) (111, 219). L'IL-12 prodotta dalle cellule dendritiche dirige la differenziazione dei linfociti T verso il fenotipo TH1 (91). I linfociti Th2 non rispondono all'IL-12 (94) perché non esprimono sulla membrana la subunità  $\beta$  nel recettore per l'IL-12 (182). Inoltre stanno emergendo nuove evidenze, come già espresso nei paragrafi precedenti, che ci sono almeno due fattori esogeni, presenti nelle sedi di flogosi allergica, l'IL-10 e la PGE2 che possono far mutare il fenotipo alle cellule dendritiche (51, 106, 130) e far differenziare il linfociti Th vergini in linfociti Th2 in vitro. Anche in vivo è documentabile una ridotta produzione di IL-12 da parte di monociti di pazienti affetti da asma allergico (240).

Un altro potente segnale polarizzante per la differenziazione in senso Th2 è rappresentato dall'IL-4 (161). Comunque, le cellule dendritiche non sembrano in grado di produrre questa citochina, che potrebbe pertanto agire secondo modalità paracrine.

Invece l'IL-6, derivata dalle cellule dendritiche, induce la produzione di IL-4 da linfociti T vergini polarizzando il loro sviluppo in senso Th2 (180). Così provvedendo alla necessità di IL-12 per lo sviluppo in senso Th1, o di IL-6 richiesta per la polarizzazione verso il fenotipo Th2, le cellule dendritiche sono in grado di fornire segnali polarizzanti per la differenziazione dei linfociti Th.

Nei soggetti normali, gli antigeni solubili che entrano nel corpo attraverso le mucose, stimolano, in modo caratteristico una immunità locale transitoria di tipo umorale che viene sostituita successivamente da una irresponsività periferica a lungo termine. Il meccanismo responsabile dell'anergia dei linfociti può variare in conseguenza alla dose di antigene. Sia nel tubo digerente che nel tratto respiratorio, alte dosi di antigene tendono ad indurre anergia (o delezione clonale nel caso di tolleranza orale), mentre basse dosi di antigene solubile possono provocare deviazione immunitaria o soppressione attiva da parte dei linfociti T immunoregolatori (99). Nel tratto respiratorio, l'induzione di anergia dei linfociti T viene di regola preceduta da attivazione dei linfociti T e dal rilascio di citochine (100). Ciò implica che le cellule presentanti l'antigene non sono ereditariamente tollerogeniche, ad esempio, per mancanza di costimolazione. Infatti è stato ipotizzato che in aggiunta all'induzione del legame con il TCR e la costimolazione dei linfociti T, le cellule presentanti l'antigene mucosali possono fornire un terzo segnale durante la fase di attivazione dei linfociti T vergini, i quali andrebbero incontro a differenziazione in linfociti T immunoregolatori (99). Malgrado appaiano anergiche in vivo, queste cellule probabilmente persistono, in vitro, ed esercitano funzioni effettrici di tipo soppressivo dopo attivazione e successiva esposizione ad un antigene che induce tolleranza.



Possibili candidati proposti nel modello Hoyne e Lamb per i linfociti CD4<sup>+</sup> immunoregolatori sono compresi nella sottopopolazione di linfociti denominati TH2 regolatori/soppressori (TH3). Questi linfociti hanno molto in comune con i linfociti TH2, condividendo con essi un profilo citochinico, con l'unica differenza che i linfociti TH3 producono livelli caratteristicamente alti della citochina immunosoppressiva TGF- $\beta$ . La somiglianza è ulteriormente confermata dal fatto che proprio come le citochine dei linfociti Th2, IL-12 e IFN- $\gamma$ , bloccano l'induzione di TGF- $\beta$  che porta alla produzione di cellule immunoregolarie.

Recentemente Risoan (181) ha dimostrato che le cellule dendritiche mieloidi, definite DC1, orientano lo sviluppo dei linfociti TH1, mentre le cellule dendritiche, definite DC2, dirigono lo sviluppo IL-4 indipendente, in senso Th2. Le cellule dendritiche mieloidi di tipo 1, ma anche le cellule di Langerhans e i monociti, esprimono Fc RI (159).

La cattura dell'antigene da parte delle cellule dendritiche provviste di Fc RI, e la successiva presentazione sembra essere abbastanza improbabile durante la risposta primaria, poiché le IgE specifiche dovrebbero essere presenti in una fase molto iniziale. Comunque, non si può escludere che strutture allergeniche complesse possano essere catturate in modo efficiente dalle cellule dendritiche attraverso Fc RI e successivamente processate. La processazione di questi allergeni potrebbe portare allo smascheramento e alla successiva presentazione di peptidi/epitopi criptati mai incontrati prima dai linfociti, e ciò favorirebbe l'allargamento delle specificità delle IgE.

## Coinvolgimento delle cellule dendritiche in alcune patologiche allergiche

Il numero di cellule dendritiche presenti nelle alte vie respiratorie è elevato (600-800 mm<sup>3</sup>), ma decresce rapidamente nelle basse vie respiratorie (144, 74). Questa distribuzione cellulare differenziata rispecchia la necessità di una forte presenza di cellule dendritiche nei distretti dove è maggiore l'esposizione all'antigene.

E' stato dimostrato che in pazienti sottoposti a test di provocazione bronchiale, le cellule dendritiche aumentano dopo esposizione all'allergene. All'inizio del periodo di provocazione, cellule dendritiche CD1a<sup>+</sup> si osservano nello strato subepiteliale e intorno a vasi. Nella seconda settimana dalla provocazione, queste cellule si trovano lungo l'intero spessore dell'epitelio (174, 192). Poiché mancano evidenze che le cellule dendritiche siano in grado di proliferare all'interno della mucosa respiratoria, è verosimile che la loro presenza sia imputabile ad alterazioni di reclutamento / egresso cellulare.

E' noto che nell'asma le cellule epiteliali sono in grado di produrre quantità di GM-CSF tali da richiamare le cellule dendritiche nella sede di contatto con l'antigene (150).

Un altro meccanismo che può contribuire ad aumentare la risposta in pazienti asmatici dopo inalazione di allergeni è rappresentato dalla trasformazione dei monociti in cellule dendritiche. Le cellule di derivazione monocitaria, dei soggetti asmatici, presentano differenze fenotipiche nell'espressione di HLA-DR, CD11b, Fc RI e B7-2 (CD86) e sono in grado di differenziarsi in cellule accessorie maggiormente efficienti, dal punto di vista funzionale, rispetto alle cellule di soggetti normali (238).

Mentre le cellule dendritiche svolgono un ruolo critico nel priming del sistema immunitario nei confronti di allergeni inalanti, altre sottopopolazioni di cellule presentanti l'antigene possono essere determinanti nell'avviare una risposta immunitaria secondaria verso allergeni "conosciuti", con conseguente facilitazione del processo infiammatorio cronico dell'asma.

Le principali sottopopolazioni di cellule presentanti l'antigene nelle vie respiratorie sono costituite dai macrofagi alveolari, dalle cellule dendritiche intraepiteliali e subepiteliali, dai linfociti B specifici intraluminari, delle cellule epiteliali alveolari di tipo II, e verosimilmente dalle cellule epiteliali bronchiali.

La dermatite allergica da contatto è l'esempio delle reazioni da ipersensibilità mediate da cellule, in cui le cellule dendritiche giocano un ruolo fondamentale nel processo di sensibilizzazione. Mentre il contatto con la cute di composti irritanti induce la secrezione di TNF- $\alpha$  e GM-CSF dai cheratinociti, apteni a basso peso molecolare come il nichel, il DNCB o l'oxazolone, stimolano il rilascio addizionale di IL-1, IP-10 e MIP-2. Queste chemochine attivano le cellule dendritiche e le cellule endoteliali, e provocano un accumulo di cellule dendritiche nella sede di contatto con l'antigene. Inoltre, l'applicazione di aptene induce il rilascio di IL-1 dalle cellule di Langerhans cutanee promuovendone, di conseguenza, il loro egresso dall'epitelio.

È noto che dopo la captazione dell'antigene, le cellule dendritiche lo processano e migrano nei linfonodi regionali dove presenteranno l'antigene in associazione a molecole di classe I e II del MHC e successiva attivazione di linfociti T aptene specifici sia CD4<sup>+</sup> che CD8<sup>+</sup> (43, 204). Mentre la classica reazione di ipersensibilità ritardata viene mediata da linfociti CD4<sup>+</sup>, la dermatite da contatto è mediata da linfociti effettori CD8<sup>+</sup> (25, 75, 259).

Alcune citochine rilasciate durante il processo di sensibilizzazione possono dirigere il tipo di risposta immune sostenuta dai linfociti T. E' stato dimostrato che l'IL-10 trasforma le cellule dendritiche / cellule di Langerhans da potenti induttori della risposta immunitaria primaria in cellule tolleranti aptene-specifiche. Una caduta significativa di mRNA per IL-1, IL-1 e TNF- $\alpha$  confermano il ruolo immuno-modulatorio di queste citochine nelle reazioni da ipersensibilità da contatto (57, 58). D'altra parte, l'IL-12

rilasciata da cheratinociti e dalle cellule dendritiche stesse (115) è un potente induttore della risposta Th1.

Dopo un secondo incontro con un allergene da contatto, linfociti T della memoria antigene – specifici possono essere stimolati sia da cellule dendritiche, sia da cellule presentanti l'antigene meno efficienti (es. macrofagi o monociti), e grazie a molecole specifiche di homing, dare il via a risposte immunitarie in particolari sedi anatomiche.

## Strategie terapeutiche future

Allo stato attuale delle conoscenze, un possibile approccio terapeutico consiste nell'inibire nelle cellule dendritiche, l'internalizzazione di Fc RI o impedirne la transduzione del segnale.

Recentemente è stato scoperto che una nuova generazione di macrolidi immunosoppressivi (tacrolimo e ascomicina) sopprime l'espressione di molecole costimolatorie nelle cellule dendritiche e contrariamente alla ciclosporina, i farmaci possono essere impiegati per via topica (19).

L'epoca perinatale, che va dal tardo periodo di vita fetale alle fasi iniziali del periodo neonatale, rappresenta un momento critico per la formazione del sistema immunitario (97). In vitro, linfociti specifici per gli aeroallergeni in grado di proliferare, sono già presenti nel sangue del funicolo ombelicale (167). Ciò implica che il feto può essere esposto in utero a quantità minime di allergeni alimentari o inalanti, che condizionano la risposta immunitaria delle cellule dendritiche fetali.

Tuttavia, la risposta proliferativa dei linfociti T di sangue cordale nei confronti di antigeni ambientali innocui può essere dimostrata nella maggior parte dei neonati, indipendentemente dal fatto che essi sviluppino atopia in futuro. Pertanto, almeno nel caso delle malattie allergiche polmonari, differenze quantitative e qualitative della cinetica maturativa postnatale delle cellule dendritiche intraepiteliali (154, 155), possono essere di capitale importanza nel futuro orientamento del sistema immunitario in senso Th2.

A circa 130 anni dalla descrizione delle cellule dendritiche cutanee effettuata da Paul Langerhans, la nostra conoscenza su queste affascinanti cellule e i progressi futuri rivoluzioneranno le strategie terapeutiche, e con la generazione in vitro di cellule dendritiche provenienti da pazienti, si aprirà una nuova era dell'immunoterapia.

## Bibliografia

1. Adema GJ, Hartgers F, Verstraten R, de Vries E, Marland G, Menon S, Foster J, Xu Y, Nooyen P, McClanahan T, Bacon KB, Figdor CG. A dendritic-cell-derived C-C chemokine that preferentially attracts naive T cells. *Nature* 1997;387:713-717.
2. Ahmed R, & Gray D. Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. *Science* 1996; 272: 54-60.
3. Akagawa KS, Takasuka N, Nozaki Y, Komuro I, Azuma M, Ueda M, Naito M, Takahashi K. Generation of CD1<sup>+</sup>RelB<sup>+</sup> dendritic cells and tartrate-resistant acid phosphatase-positive osteoclast-like multinucleated giant cells from human monocytes. *Blood* 1996;88:4029-4039.
4. Ardavin C. Thymic dendritic cells *Immunol Today* 1997;18:350-361.
5. Arkema JM, Schadee-Eestermans IL, Beelen RH, Hoefsmit EC. A combined method for both endogenous myeloperoxidase and acid phosphatase cytochemistry as well as immunoperoxidase surface labelling discriminating human peripheral blood-derived dendritic cells and monocytes. *Histochemistry* 1991;95:573-578.
6. Austrup F et al. P- and E - selectin mediate recruitment of T-helper-1 but not T-helper-2 cells into inflamed tissues, *Nature* 1997; 385: 81-83.
7. Austyn JM, Weinstein DE and Steinman RM. Clustering with dendritic cells precedes and is essential for T-cell proliferation in a mitogenesis model. *Immunology* 1988; 63: 691-696.
8. Austyn JM, Hankins DF, Larsen CP, Morris PJ, Rao AS, Roake JA. Isolation and characterization of dendritic cells from mouse heart and kidney. *J Immunol* 1994;152:2401-2410.
9. Austyn JM, Weinstein DE, Steinman RM. Clustering with dendritic cells precedes and is essential for T-cell proliferation in a mitogenesis model. *Immunology* 1988;63:691-696.
10. Bain G, Robanus Maandag E, Izon D, Amsen D, Kruisbeek A, Weintraub B, Krop I, Schlissel M, Feeney A, van Roon M, van der Valk M, te Riele H, Berns H and Murre C. E2A proteins are required for proper B cell development and initiation of immunoglobulin gene rearrangements. *Cell* 1994;79:885-892.
11. Balfour BM, Drexhage HA, Kamperdijk EW, Hoefsmit EC. Antigen-presenting cells, including Langerhans cells, veiled cells and interdigitating cells. *Ciba Found Symp* 1981;84:281-301.
12. Banchereau J, & Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-252.

13. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392:245-252.
14. Barrett AW, Cruchley AT, Williams DM. Oral mucosal Langerhans' cells. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996;7:36-58.
15. Berney C, Herren S, Power CA, Gordon S, Martinez-Pomares L, Koscovilbois MH. A member of the dendritic cell family that enters B cell follicles and stimulates primary antibody responses identified by a mannose receptor fusion protein. *J Exp Med* 1999 sep 20;190:851-860.
16. Bianchi R, Grohmann U, Vacca C, Belladonna ML, Fioretti MC, Puccetti P. Autocrine IL-12 is involved in dendritic cell modulation via CD40 ligation. *J Immunol* 1999;163:2517-2521.
17. Bilbe G, Delabie J, Bruggen J, Richener H, Asslbergs FA, Cerletti N, Sorg C, Odink K, Tarcsay L, Wiesendanger W, de Wolf - Peeters C, Shipman R. A novel intermediate filament -associated protein highly expressed in the Reed. Sternberg cells of Hodgkin's disease. *EMBO J* 1992; 11:2103-2106.
18. Bieber T. Fc epsilon RI on human epidermal Langerhans cells: an old receptor with new structure and functions. *Int Arch Allergy Immunol* 1997;113:30-34.
19. Bieber T. Topical tacrolimus (Fk506): a new milestone in the management of atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1998; 105:555-557.
20. Bieber T, de la Salle H, Wollenberg A, Hakimi J, Chizzonite R, Ring J, Hanau D, de la Salle C. Human epidermal Langerhans cells express the high affinity receptor for immunoglobulin E (Fc epsilon RI). *J Exp Med* 1992;175:1285-1290.
21. Birbeck MS, Brathnach As, Everall JD. An electron microscope study of basal melanocytes and high-level clear cells (Langerhans cells) in vitiligo. *J Invest Dermatol* 1961; 37:51-64.
22. Blauvelt A, Katz SI, Udey MC. Human Langerhans cells express E-cadherin. *J Invest Dermatol* 1995;104:293-296.
23. Boise LH, Minn AJ, Noel PJ, June CH, Accavitti MA, Lindsten T and Thompson CB. CD2B costimulation can promote T cell survival by enhancing the expression of Bcl-XL. *Immunity* 1995; 3: 87-98.
24. Borkowski TA, Letterio JJ, Farr AG, Udey MC. A role for endogenous transforming growth factor beta 1 in Langerhans cell biology: the skin of transforming growth factor beta 1 null mice is devoid of epidermal Langerhans cells. *J Exp Med* 1996;184:2417-2422.
25. Bour H, Peyron E, Gaucherand M, et al. Major histocompatibility complex class I-restricted CD8<sup>+</sup> T cells and class II-restricted CD4<sup>+</sup> T cells, respectively, mediate and regulate contact sensitivity to dinitrofluorobenzene. *Eur. J. Immunol* 1995;25:3006-3010.
26. Brocker T. The role of dendritic cells in T cell selection and survival. *J Leukoc Biol* 1999;66:331-535.

27. Bruijnzeel-Koomen CA, Fokkens WJ, Mudde GC, Bruijnzeel PL. Role of Langerhans cells in atopic disease. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1989; 90:51-56.
28. Bruijnzeel-Koomen CA, Mudde GC, Bruijnzeel PL. The presence of IgE molecules on epidermal Langerhans cells in atopic dermatitis and their significance for its pathogenesis. *Allerg Immunol (Paris)* 1989;21:219-223.
29. Bruynzeel-Koomen C, van Wichen DF, Toonstra J, Berrens L, Bruynzeel PL. The presence of IgE molecules on epidermal Langerhans cells in patients with atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1986;278:199-205.
30. Burkly L, Hession C, Ogata L, Reilly C, Marconi LA, Olson D, Tizard R, Cate R, Lo D. Expression of relB is required for the development of thymic medulla and dendritic cells. *Nature* 1995;373:531-536.
31. Butcher EC & Picker LJ. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 1996; 272: 60-66.
32. Cai Z, Zishimoto H, Brunmark A, Jackson MR, Peterson PA and Sprent J. Requirements for peptide – induced T cell receptor downregulation on naive CD8<sup>+</sup> T cells. *J. Exp. Med.* 1997; 185: 641-651.
33. Cameron PU, Lowe MG, Sotzik F, Coughlan AF, Crowe SM, Shortman K. The interaction of macrophage and non-macrophage tropic isolates of HIV- 1 with thymic and tonsillar dendritic cells in vitro. *J Exp Med* 1996;183:1851-1856.
34. Carrasco D, Ryseck RP, Bravo R. Expression of RelB transcripts during lymphoid organ development: specific expression in dendritic antigen-presenting cells. *Development* 1993;118:1221-1231.
35. 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.
36. Caux C, Massacrier C, Dezutter-Dambuyant C, Vanbervliet B, Jacquet C, Schmitt D, Banchereau J. Human dendritic Langerhans cells generated in vitro from CD34<sup>+</sup> progenitors can prime naive CD4<sup>+</sup> T cells and process soluble antigen. *J Immunol* 1995;155:5427-5435.
37. Caux C, Vanbervliet B, Massacrier C, Dezutter-Dambuyant C, de Saint-Vis B, Jacquet C, Yoneda K, Imamura S, Schmitt D, Banchereau J. CD34<sup>+</sup> hematopoietic progenitors from human cord blood differentiate along two independent dendritic cell pathways in response to GM-CSF+TNF alpha. *J Exp Med* 1996;184:695-706.
38. Cella M, Dohring C, Samaridis J, Dessing M, Brockhaus M, Lanzavecchia A, Colonna M. A novel inhibitory receptor (ILT3) expressed on monocytes, macrophages, and dendritic cells involved in antigen processing. *J Exp Med* 1997;185:1743-1751.
39. Cella M, Engering A, Pinet V, Pieters J, Lanzavecchia A. Inflammatory stimuli induce accumulation of MHC class II complexes on dendritic cells *Nature* 1997;388:782-787.

40. Cella M, Salio M, Sakakibara Y, Langen H, Julkunen I, Lanzavecchia A. Maturation, activation of dendritic cells induced by double-stranded RNA. *J Exp Med* 1999;5:821-829
41. Cella M, Scheidegger D, Palmer-Lehmann K, Lane P, Lanzavecchia A, Alber G. Ligation of CD40 on dendritic cells triggers production of high levels of interleukin-12 and enhances T cell stimulatory capacity: T-T help via APC activation. *J Exp Med* 1996;184:747-752.
42. Cerio R, Griffiths CE, Cooper KD, Nickoloff BJ, Headington JT. Characterization of factor XIIIa positive dermal dendritic cells in normal and inflamed skin. *Br J Dermatol* 1989;121:421-431.
43. Chan SC, Kim JW, Henderson WR, Hanifin JM. Altered prostaglandin E2 regulation of cytokine production in atopic dermatitis. *J. Immunol.* 1993; 151:3345-3352.
44. Constant S, Pfeiffer C, Woodard A, Pasqualini T and Bottomly K. Extent of T cell receptor ligation can determine the functional differentiation of naive CD4<sup>+</sup> T cells. *J.Exp.Med.* 1995;182:1591-1596.
45. Corinti S, Medaglini D, Cavani A, Rescigno M, Pozzi G, Ricciardi-Castagnoli P, Girolomoni G. Human dendritic cells very efficiently present a heterologous antigen expressed on the surface of recombinant gram-positive bacteria to CD4<sup>+</sup> T lymphocytes. *J Immunol* 1999; 163:3029-3036.
46. Crithfield JM, Racke MK, Zuniga-Pflucker JC, Cannella B, Raine CS, Goverman J and Lenardo MJ. T cell deletion in high antigen dose therapy of autoimmune encephalomyelitis. *Science* 1994; 263: 1139-1143.
47. Crowley MT, Reilly CR, Lo D. Influence of lymphocytes on the Presence and Organization of Dendritic Cell Subsets in the Spleen. *J Immunol* 1999;163:4894-4900.
48. Daniel PT, Scholz C, Essmann F, Westermann J, Pezzuto A, Dorken B. CD95/Fas-triggered apoptosis of activated T lymphocytes is prevented by dendritic cells through a CD58-dependent mechanism. *Exp Hematol* 1999;27:1402-1408.
49. Davis AL, McKenzie JL, Hart DN. HLA-DR-positive leucocyte subpopulations in human skin include dendritic cells, macrophages, and CD7-negative T cells. *Immunology* 1988;65:573-581.
50. De Bruijn ML, Nieland JD, Schumacher TN, Ploegh HL, Kast WM, Melief CJ. Mechanisms of induction of primary virus-specific cytotoxic T lymphocyte responses. *Eur J Immunol* 1992;22:3013-3020.
51. 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.
52. Del Prete G, De Carli M, D'Elios MM, Daniel KC, Almerigogna F, Alderson M, Smith CA, Thomas E and Romagnani S. CD30-mediated signaling promotes the development of human T helper type 2-like T cells. *J.Exp.Med.* 1995;182:1655-1661.

53. Dutton RW, Bradley LM & Swain SL. T cell memory. *Annu. Rev. Immunol.* 1998; 16: 201-223.
54. Egner W, Andreesen R, Hart DN. Allostimulatory cells in fresh human blood: heterogeneity in antigen-presenting cell populations. *Transplantation* 1993;56:945-950.
55. Egner W, McKenzie JL, Smith SM, Beard ME, Hart DN. Identification of potent mixed leukocyte reaction-stimulatory cells in human bone marrow. Putative differentiation stage of human blood dendritic cells. *J Immunol* 1993;150:3043-3053.
56. Engering AJ, Cella M, Fluitsma D, Brockhaus M, Hoefsmit EC, Lanzavecchia A, Pieters J. The mannose receptor functions as a high capacity and broad specificity antigen receptor in human dendritic cells. *Eur J Immunol* 1997;27:2417-2425.
57. Enk AH, Angeloni VL, Udey MC, Katz SI. Inhibition of Langerhans cell antigen-presenting function by IL-10. A role for IL-10 in induction of tolerance. *J Immunol* 1993;151:2390-2398.
58. Enk AH, Angeloni VL, Udey MC, Katz SI. An essential role for Langerhans cell-derived IL-1 beta in the initiation of primary immune responses in skin. *J Immunol* 1993;150:3698-3704.
59. Fanger NA, Voigtlaender D, Liu C, Swink S, Wardwell K, Fisher J, Graziano RF, Pfefferkorn LC, Guyre PM. Characterization of expression, cytokine regulation, and effector function of the high affinity IgG receptor Fc gamma RI (CD64) expressed on human blood dendritic cells. *J Immunol* 1997;158:3090-3098.
60. Fanger NA, Wardwell K, Shen L, Tedder TF, Guyre PM. Type I (CD64) and type II (CD32) Fc gamma receptor-mediated phagocytosis by human blood dendritic cells. *J Immunol* 1996;157:541-548.
61. Fearnley DB, McLellan AD, Mannering SI, Hock BD, Hart DN. Isolation of human blood dendritic cells using the CMRF-44 monoclonal antibody: implications for studies on antigen-presenting cell function and immunotherapy. *Blood* 1997;89:3708-3716.
62. Feuillard J, Korner M, Fourcade C, Costa A, Binet JL, Debre P, Raphael M. Visualization of the endogenous NF-kappa B p50 subunit in the nucleus of follicular dendritic cells in germinal centers. *J Immunol* 1994; 152:12-21.
63. Fokkens WJ, Broekhuis-Fluitsma DM, Rijntjes E, Vroom TM, Hoefsmit EC. Langerhans cells in nasal mucosa of patients with grass pollen allergy. *Immunobiology* 1991;182:135-142.
64. Fokkens WJ, Vroom TM, Rijntjes E, Mulder PG. CD-1 (T6), HLA-DR-expressing cells, presumably Langerhans cells, in nasal mucosa. *Allergy* 1989;44:167-172.
65. Fokkens WJ, Vinke JG, De Jong SS, Bogaert DP, Kleinjan A, Eichhorn E. Differences in cellular infiltrates in the adenoid of allergic children



- compared with age-and gender-matched controls. *Clin Exp Allergy* 1998; 84:281-301.
66. Foy TM, Page DM, Waldschmidt TJ, Schoneveld A, Laman JD, Masters SR, Tygrett L, Ledbetter JA, Aruffo A, Claassen E, et al. An essential role for gp39, the ligand for CD40, in thymic selection. *J Exp Med* 1995;182:1377-1388.
  67. Freudenthal PS, Steinman RM. The distinct surface of human blood dendritic cells, as observed after an improved isolation method. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87:7698-7702.
  68. Galy A, Morel F, Hill B, Chen BP. Hematopoietic progenitor cells of lymphocytes and dendritic cells. *J Immunother* 1998;21:132-142.
  69. Galy A, Travis M, Cen D, Chen B. Human T, B, natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset. *Immunity* 1995;3:459-473.
  70. Gardella S, Andrei C, Costigliolo S, Poggi A, Zocchi MR, Rubartelli A. Interleukin-18 synthesis and secretion by dendritic cells are modulated by interaction with antigen-specific T cells. *J Leukoc Biol* 1999;66:237-241.
  71. Garside P et al. Visualization of specific B and T lymphocyte interactions in the lymph node. *Science* 1998; 281: 96-99.
  72. Georgopoulos K, Bigby M, Wang LH, Moinar A, Winandy S and Sharpe A. The Ikaros gene is required for the development of all lymphoid lineages. *Cell* 1994;79:143-156.
  73. Godiska R, Chantry D, Raport CJ, Sozzani S, Allavena P, Leviten D, Mantovani A, Gray PW. Human macrophage-derived chemokine (MDC), a novel chemoattractant for monocytes, monocyte-derived dendritic cells, and natural killer cells. *J Exp Med* 1997;185:1595-604.
  74. Godthelp T, Fokkens WJ, Kleinjan, et al. Antigen presenting cells in the nasal mucosa of patients with allergic rhinitis during allergen provocation. *Clin.Exp.Allergy* 1996; 26:677-688.
  75. Grabbe S, Schwarz T, Immunoregulatory mechanisms involved in elicitation of allergic contact hypersensitivity. *Immunol. Today* 1998; 19:37-44.
  76. Granelli-Piperno A, Pope M, Inaba K, Steinman RM. Coexpression of NF-kappa B/Rel and Sp1 transcription factors in human immunodeficiency virus 1-induced, dendritic cell-T-cell syncytia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:10944-10948.
  77. Grosjean I, Caux C, Bella C, Berger I, Wild F, Banchereau J, Kaiserlian D. Measles virus infects human dendritic cells and blocks their allostimulatory properties for CD4<sup>+</sup> T cells. *J Exp Med* 1997;186:801-812.
  78. Grouard G, Durand I, Filgueira L, Banchereau J, Liu YJ. Dendritic cells capable of stimulating T cells in germinal centres. *Nature* 1996;384:364-367.
  79. Groux H, O'Garra A, Bogler M. et al. CD4<sup>+</sup> T-cell subset inhibits

- antigen-specific T cell-responses and prevents colitis. *Nature* 1997; 389:737-742.
80. Guery JC, Adorini L. Dendritic cells are the most efficient in presenting endogenous naturally processed self-epitopes to class II-restricted T cells. *J Immunol* 1995;154:536-544.
  81. Hancock WW, Atkins RC. Immunohistological analysis of the cell surface antigens of human dendritic cells using monoclonal antibodies. *Transplant. Proc.* 1984; 16:963-967.
  82. Hamann D, Hilkens CMU, Grogan JL, Lens SMA, Kapsenberg ML, Yazdanbakhsh M and Vanlier RAW. CD30 expression does not discriminate between human Th1-type and Th2 type T-cells. *J.Immunol* 1996; 156:1387-1391.
  83. Hart DN. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood* 1997;90:3245-87.
  84. Hart DN, Clark GJ, Dekker JW, Fearnley DB, Kato M, Hock BD, McLellan AD, Neil T, Sorg RV, Sorg U, Summers KL, Vuckovic S. Dendritic cell surface molecules. A proliferating field. *Adv Exp Med Biol* 1997;417:439-442.
  85. Hart DN, Fabre JW. Demonstration and characterization of Ia-positive dendritic cells in the interstitial connective tissues of rat heart and other tissues, but not brain. *J Exp Med* 1981;154:347-361.
  86. Hart DN, McKenzie JL. Isolation and characterization of human tonsil dendritic cells. *J Exp Med* 1988;168:157-170.
  87. Hart DN, Prickett TC. Intercellular adhesion molecule-2 (ICAM-2) expression on human dendritic cells. *Cell Immunol* 1993;148:447-454.
  88. Hart DN, Starling GC, Egner W, Hock BD, McLellan AD, McKenzie JL, Williams LA, Simmons DL. New molecules on dendritic cells and their interactions with T lymphocytes. *Adv Exp Med Biol* 1995;378:351-354.
  89. Havenith CE, Breedijk AJ, Betjes MG, Calame W, Beelen RH, Hoefsmit EC. T cell priming in situ by intratracheally instilled antigen-pulsed dendritic cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993;8:319-324.
  90. Heemskerk M, Blom B, Nolan G, Stegmann A, Bakker A, Weijer K, Res P, and Spits H. Inhibition of T cell and promotion of natural killer cell development by the negative helix loop helix factor Id3. *J Exp Med* 1997; 186:1597-1602.
  91. Heufler C, Koch F, Stanzl U, Topar G, Wysocka M, Trinchieri G, Enk A, Steinman RM, Romani N, Schuler G. 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: 659-368.
  92. Heyman B, Tianmin L and Gustavsson S. In vivo enhancement of the specific antibody response via the low-affinity receptor for IgE. *Eur. J. Immunol.* 1993;23:1739-1742.

93. Hilkens CM, 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.
94. Hilkens CMU, Messer G, Tesselaar K, Vanrietschoten AGI, Kapsenberg ML and Wierenga EA. Lack of IL-12 signaling in human allergen-specific Th2 cells. *J. Immunol.* 1996; 157:4316-4321.
95. Hock BD, Starling GC, Daniel PB, Hart DN. Characterization of CMRF-44, a novel monoclonal antibody to an activation antigen expressed by the allostimulatory cells within peripheral blood, including dendritic cells. *Immunology* 1994;83:573-581.
96. Holt PG, Haining S, Nelson DJ, Sedgwick JD. Origin and steady-state turnover of class II MHC-bearing dendritic cells in the epithelium of the conducting airways. *J Immunol* 1994;153:256-261.
97. Holt PG. Primary allergic sensitization to environmental antigens – perinatal T-cell priming as a determinant of responder phenotype in adulthood. *J.Exp. Med.* 1996; 183:1297-1301.
98. Hosken NA, Shibuya K, Heath AW, Murphy KM and O’Garra A. The effect of antigen dose on CD4<sup>+</sup> T helper cell phenotype development in a T cell receptor  $\alpha$ -transgenic model. *J.Exp.Med.* 1995; 182:1579-1584.
99. Hoyne GF and Lamb JR. Regulation of T cell function in mucosal tolerance. *Immunol. Cell. Biol.* 1997; 75:197-201.
100. Hoyne GF, Askonas BA, Hetzel C, Thomas WR and Lamb JR. Regulation of house dust mite responses by inhaled peptide: transient activation precedes the development of tolerance in vivo. *Int.Immunol.* 1996; 8: 335-342.
101. Inaba K, Inaba M, Deguchi M, Hagi K, Yasumizu R, Ikehara S, Muramatsu S, Steinman RM. Granulocytes, macrophages, and dendritic cells arise from a common major histocompatibility complex class II-negative progenitor in mouse bone marrow. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:3038-42.
102. Jaksits S, Kriehuber E, Charbonnier AS, Rappersberger K, Stingl G, Maurer D. CD34<sup>+</sup> Cell-Derived CD14<sup>+</sup> Precursor Cells Develop into Langerhans Cells in a TGF-beta1-Dependent Manner. *J Immunol* 1999; 163:4869-4877.
103. Jiang W, Swiggard WJ, Heufler C, Peng M, Mirza A, Steinman RM, Nussenzweig MC. The receptor DEC-205 expressed by dendritic cells and thymic epithelial cells is involved in antigen processing. *Nature* 1995;375:151-155.
104. Jonuleit H, Wiedemann K, Muller G, Degwert J, Hoppe U, Knop J, Enk AH. Induction of IL-15 messenger RNA and protein in human blood-derived dendritic cells: a role for IL-15 in attraction of T cells. *J Immunol* 1997;158:2610-2615.

105. Jurgens M, Wollenberg A, Hanau D, de la Salle H, Bieber T. Activation of human epidermal Langerhans cells by engagement of the high affinity receptor for IgE, Fc epsilon RI. *J Immunol* 1995;155:5184-5189.
106. Kalinski P, Hilkens CM, Snijders A, Snijdewint FG, Kapsenberg ML. IL-12-deficient dendritic cells, generated in the presence of prostaglandin E2, promote type 2 cytokine production in maturing human naive T helper cells. *J Immunol* 1997;159:28-35.
107. Kalinski P, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. T-cell priming by type -1 and type -2 polarized dendritic cells: the concept of third signal. *Immunology Today* 1999;20:561-567.
108. Kalinski P, Schuitemaker JH, Hilkens CM, Kapsenberg ML. Prostaglandin E2 induces the final maturation of IL-12-deficient CD1a<sup>+</sup>CD83<sup>+</sup> dendritic cells: the levels of IL-12 are determined during the final dendritic cell maturation and are resistant to further modulation. *J Immunol* 1998;161:2804-2809.
109. Kalinski P, Schuitemaker JH, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. Final maturation of dendritic cells is associated with impaired responsiveness to IFN-gamma and to bacterial IL-12 inducers: decreased ability of mature dendritic cells to produce IL-12 during the interaction with Th cells. *J Immunol* 1999;162:3231-3236.
110. Kampgen E, Koch N, Koch F, Stoger P, Heufler C, Schuler G, Romani N. Class II major histocompatibility complex molecules of murine dendritic cells: synthesis, sialylation of invariant chain, and antigen processing capacity are down-regulated upon culture. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:3014-3018.
111. Kaser A, Dunzendorfer S, Offner FA, Ryan T, Schwabegger A, Cruikshank WW, Wiedermann CJ, Tilg H. A role for IL-16 in the cross-talk between dendritic cells and T cells. *J Immunol* 1999;163:3232-3238.
112. Kato M, Neil TK, Clark GJ, Morris CM, Sorg RV, Hart DNJ. cDNA cloning of human DEC-205, a putative antigen-uptake receptor on dendritic cells. *Immunogenetics* 1998;47:442-450.
113. Katz SI, Tamaki K, Sachs DH. Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in bone marrow. *Nature* 1979;282:324-326.
114. Kawamura T, Furue M. Comparative analysis of B7-1 and B7-2 expression in Langerhans cells: differential regulation by T helper type 1 and T helper type 2 cytokines. *Eur J Immunol* 1995;25:1913-1917.
115. Kelsall BL, Stuber E, Neurath M, Strober W. Interleukin-12 production by dendritic cells. The role of CD40-CD40L interactions in Th1 T-cell responses. *Ann N Y Acad Sci* 1996;795:116-126.
116. Klubal R, Osterhoff B, Wang B, Kinet JP, Maurer D, Stingl G. The high-affinity receptor for IgE is the predominant IgE-binding structure in lesional skin of atopic dermatitis patients. *J Invest Dermatol* 1997; 108: 336-342.

117. Knight SC, Elsley W, Wang H. Mechanisms of loss of functional dendritic cells in HIV-1 infection. *J Leukoc Biol* 1997;62:78-81.
118. Knight SC, Iqbal S, Roberts MS, Macatonia S, Bedford PA. Transfer of antigen between dendritic cells in the stimulation of primary T cell proliferation. *Eur J Immunol* 1998;28:1636-1644.
119. Koch F, Stanzl U, Jennewein P, Janke K, Heufler C, Kampgen E, Romani N, Schuler G. High level IL-12 production by murine dendritic cells: upregulation via MHC class II and CD40 molecules and down-regulation by IL-4 and IL-10 *J Exp Med* 1996;184:741-746.
120. Kohrgruber N, Halanek N, Groger M, Winter D, Rappersberger K, Schmitt-Egenolf M, Stingl G, Maurer D. Survival, maturation, and function of CD11c<sup>-</sup> and CD11c<sup>+</sup> peripheral blood dendritic cells are differentially regulated by cytokines. *J Immunol* 1999;163:3250-3259.
121. Koszik F, Strunk D, Simonitsch I, Picker LJ, Stingl G, Payer E. Expression of monoclonal antibody HECA-452-defined E-selectin ligands on Langerhans cells in normal and diseased skin. *J Invest Dermatol* 1994; 102: 773-780.
122. Krasteva M, Kehren J, Choquet G, Kaiserlian D, Nicolas JF. The role of dendritic cells in contact hypersensitivity *Immunol Today* 1998;19:289-292.
123. Krasteva M, Kehren J, Horand F, Akiba H, Choquet G, Ducluzeau MT, Tedone R, Garrigue JL, Kaiserlian D, Nicolas JF. Dual role of dendritic cells in the induction and down-regulation of antigen-specific cutaneous inflammation. *J Immunol* 1998;160:1181-1190.
124. Kronin V, Winkel K, Suss G, Kelso A, Heath W, Kirberg J, von Boehmer H, Shortman K. A subclass of dendritic cells regulates the response of naive CD8 T cells by limiting their IL-2 production. *J Immunol* 1996; 157:3819-3827.
125. Kyewski BA, Momburg F, Schirmacher V. Phenotype of stromal cell-associated thymocytes in situ is compatible with selection of the T cell repertoire at an "immature" stage of thymic T cell differentiation. *Eur J Immunol* 1987;17:961-967.
126. Kuchroo VK, Das MP, Brown JA, Ranger AM, Zamvil SS, Sobel RA, Weiner HL, Nabavi N and Glimcher LH. B7-1 and B7-2 costimulatory molecules activate differentially the Th1/Th2 developmental pathways: application to autoimmune disease therapy. *Cell*. 1995; 80:707-718.
127. Lenschow DJ, Walunas TL and Buestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu. Rev. Immunol.* 1996; 14: 233-258.
128. Lezzi G, Karjalainen K. and Lanzavecchia A. The duration of antigenic stimulation determines the fate of naive and effector T cells. *Immunity* 1998; 8: 89-95.
129. Lin H and Grosschedl R. Failure of B-cell differentiation in mice lacking the transcription factor EBF. *Nature* 1995; 376:263-267.

130. Liu L, Rich BE, Inobe J, Chen W, Weiner HL. A potential pathway of Th2 development during primary immune response. IL-10 pretreated dendritic cells can prime naive CD4<sup>+</sup> T cells to secrete IL-4. *Adv Exp Med Biol* 1997;417:375-381.
131. Ludewig B, Odermatt B, Ochsenbein AF, Zinkernagel RM, Hengartner H. Role of dendritic cells in the induction and maintenance of autoimmune diseases. *Immunol Rev* 1999;169:45-54.
132. Mackay CR. Homing of naive, memory and effector lymphocytes. *Curr Opin Immunol*. 1993; 5: 423-427.
133. MacLennan IC. et al. The changing preference of T and B cells for partners as T-dependent antibody responses develop. *Immunol. Rev.* 1997; 156: 53-66.
134. Maraskovsky E, Pulendran B, Brasel K, Teepe M, Roux ER, Shortman K, Lyman SD, McKenna HJ. Dramatic numerical increase of functionally mature dendritic cells in FLT3 ligand-treated mice. *Adv Exp Med Biol* 1997;417:33-40.
135. Marquez C, Trigueros C, Fernandez E, Toribio ML. The development of T and non-T cell lineages from CD34<sup>+</sup> human thymic precursors can be traced by the differential expression of CD44. *J Exp Med* 1995; 181:475-483.
136. Matsuno K, Ezaki T, Kudo S, Uehara Y. A life stage of particle-laden rat dendritic cells in vivo: their terminal division, active phagocytosis, and translocation from the liver to the draining lymph J Exp Med 1996; 183:1865-1878.
137. Matzinger P. Immunology. Memories are made of this? *Nature* 1994; 369: 605-606.
138. Maurer D, Ebner C, Reininger B, Petzelbauer P, Fiebiger E, Stingl G. Mechanisms of Fc epsilon RI-IgE-facilitated allergen presentation by dendritic cells. *Adv Exp Med Biol* 1997;417:175-178.
139. Maurer D, Fiebiger E, Reininger B, Ebner C, Petzelbauer P, Shi GP, Chapman HA, Stingl G. Fc epsilon receptor I on dendritic cells delivers IgE-bound multivalent antigens into a cathepsin S-dependent pathway of MHC class II presentation. *J Immunol* 1998;161:2731-2739.
140. Maurer D, Fiebiger S, Ebner C, Reininger B, Fischer GF, Wichlas S, Jouvin MH, Schmitt-Egenolf M, Kraft D, Kinet JP, Stingl G. Peripheral blood dendritic cells express Fc epsilon RI as a complex composed of Fc epsilon RI alpha- and Fc epsilon RI gamma-chains and can use this receptor for IgE-mediated allergen presentation. *J Immunol* 1996; 157: 607-616.
141. McKenzie JL, Calder VL, Starling GC, Hart DN. Role of tumour necrosis factor-alpha in dendritic cell-mediated primary mixed leucocyte reactions. *Bone Marrow Transplant* 1995;15:163-171.
142. McLellan AD, Heiser A, Sorg RV, Fearnley DB, Hart DN. Dermal

- dendritic cells associated with T lymphocytes in normal human skin display an activated phenotype. *J Invest Dermatol* 1998;111:841-849.
143. McLellan AD, Sorg RV, Williams LA, Hart DN. Human dendritic cells activate T lymphocytes via a CD40: CD40 ligand- dependent pathway. *Eur J Immunol* 1996;26:1204-1210.
  144. McLellan AD, Starling GC, Williams LA, Hock BD, Hart DN. Activation of human peripheral blood dendritic cells induces the CD86 co-stimulatory molecule. *Eur J Immunol* 1995;25:2064-2068.
  145. McWilliam AS, Napoli S, Marsh AM, Pemper FL, Nelson DJ, Pimm CL, Stumbles PA, Wells TN, Holt PG. Dendritic cells are recruited into the airway epithelium during the inflammatory response to a broad spectrum of stimuli. *J Exp Med* 1996;184:2429-2432.
  146. McWilliam AS, Nelson DJ, Holt PG. The biology of airway dendritic cells. *Immunol Cell Biol* 1995;73:405-413.
  147. Moller GM, Overbeek SE, Van Helden-Meeuwsen CG, Van Haarst JM, Prens EP, Mulder PG, Postma DS, Hoogsteden HC. Increased numbers of dendritic cells in the bronchial mucosa of atopic asthmatic patients: downregulation by inhaled corticosteroids. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 517-524.
  148. Morelli A, Larregina A, Chuluyan I, Kolkowski E, Fainboim L. Expression and modulation of C5a receptor (CD88) on skin dendritic cells. Chemotactic effect of C5a on skin migratory dendritic cells. *Immunology* 1996;89:126-134.
  149. Morgan B, Sun L, Avithal N, Andrikopoulos K, Ikeda T, Gonzales E, Wu P, Neben S and Gerogopoulos K. Aiolos, a lymphoid restricted transcription factor that interacts with Ikaros to regulate lymphocyte differentiation. *EMBO J* 1997; 16:2004-2013.
  150. Mori L, Kleimberg J, Mancini C, Bellini A, Marini M, Mattoli S. Bronchial epithelial cells of atopic patients with asthma lack the ability to inactivate allergens. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995;217:817-824.
  151. Mosialos G, Birkenbach M, Ayehunie S, Matsumura F, Pinkus GS, Kieff E, Langhoff E. Circulating human dendritic cells differentially express high levels of a 55-kd actin-bundling protein. *Am J Pathol* 1996;148:593-600.
  152. Moskophidis D, Lechner F, Pircher H and Zinkermagel RM. Virus persistence in acutely infected immunocompetent mice by exhaustion of antiviral cytotoxic effector T cells. *Nature* 1993; 362: 758-761.
  153. Mueller CG, Rissoan MC, Salinas B, Ait-Yahia S, Ravel O, Bridon JM, Briere F, Lebecque S, Liu YJ. Polymerase chain reaction selects a novel disintegrin proteinase from CD40-activated germinal center dendritic cells. *J Exp Med* 1997;186:655-663.
  154. Nelson DJ, Holt PG. Defective regional immunity in the respiratory tract of neonates is attributable to hyporesponsiveness of local dendritic cells to activation signals. *J Immunol* 1995;155:3517-3524.

155. Nelson DJ, McMenamin C, McWilliam AS, Brenan M, Holt PG. Development of the airway intraepithelial dendritic cell network in the rat from class II major histocompatibility (Ia)-negative precursors: differential regulation of Ia expression at different levels of the respiratory tract. *J Exp Med* 1994;179:203-212.
156. Nestle FO, Nickoloff BJ. Dermal dendritic cells are important members of the skin immune system. *Adv Exp Med Biol* 1995;378:111-116.
157. Niki M, Ukada H, Iakano H, Kuno K, Tani K, Hibino H, Asano S, Ito Y, Satake M and Noda T. Hematopoiesis in the fetal liver is impaired by targeted mutagenesis of a gene encoding a non -DNA binding subunit of the transcription factor, polyomavirus enhancer binding 2/core binding factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:5697-5702.
158. Norton J, Sloane JP, Al-Saffer N, Haskaard DO. Expression of adhesion molecules in human intestinal graft-versus host disease. *Clin Exp Immunol* 1992; 87:231-236.
159. Novak N, Haberstok J, Geiger E, Bieber T. Dendritic cells in allergy. *Allergy* 1999;54:792-803.
160. O'Doherty U, Steinman RM, Peng M, Cameron PU, Gezelter S, Kopeloff I, Swiggard WJ, Pope M, Bhardwaj N. Dendritic cells freshly isolated from human blood express CD4 and mature into typical immunostimulatory dendritic cells after culture in monocyte-conditioned medium. *J Exp Med* 1993;178:1067-1076.
161. Ohshima Y, Delespesse G. T cell-derived IL-4 and dendritic cell-derived IL-12 regulate the lymphokine-producing phenotype of alloantigen-primed naive human CD4 T cells. *J Immunol* 1997;158:629-636.
162. Olweus J, BitMansour A, Warnke R, Thompson PA, Carballido J, Picker LJ, Lund-Johansen F. Dendritic cell ontogeny: a human dendritic cell lineage of myeloid origin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:12551-12556.
163. Orkin S. Development of the hematopoietic system. *Curr Opin Genet* 1996; 6:597-602.
164. Pavli P, Hume DA, Van De Pol E, Doe WF. Dendritic cells, the major antigen-presenting cells of the human colonic lamina propria. *Immunology* 1993;78:132-141.
165. Pearson CI, van Weijk W and McDevitt HO. Induction of apoptosis and T helper 2 (Th2) responses correlates with peptide affinity for the major histocompatibility complex in self-reactive T cell receptor transgenic mice. *J.Exp.Med.* 1997; 185:583-599.
166. Peters JH, Gieseler R, Thiele B, Steinbach F. Dendritic cells: from ontogenetic orphans to myelomonocytic descendants. *Immunol Today* 1996;17:273-278.
167. Piccinni MP, Mecacci F, Sampognaro S, Mnetti R, Parronchi P, Maggi E, Romagnani S. Aeroallergen sensitization can occur during fetal life. *Int Arch Allergy Immunol* 1993;102:301-303.



168. Porcher C, Swat W, Rockwell K, Fujiwara Y, Alt FW and Orkin S. The cell leukemia oncoprotein SCL/tal-1 is essential for development of all hematopoietic lineages. *Cell* 1996; 86:47-57.
169. Power CA, Church DJ, Meyer A, Alouani S, Proudfoot AE, Clark-Lewis I, Sozzani S, Mantovani A, Wells TN. Cloning and characterization of a specific receptor for the novel CC chemokine MIP-3alpha from lung dendritic cells. *J Exp Med* 1997;186:825-835.
170. Prickett TC, Hart DN. Anti-leucocyte common (CD45) antibodies inhibit dendritic cell stimulation of CD4 and CD8 T-lymphocyte proliferation. *Immunology* 1990;69:250-256.
171. Prickett TC, McKenzie JL, Hart DN. Adhesion molecules on human tonsil dendritic cells. *Transplantation* 1992;53:483-490.
172. Prickett TC, McKenzie JL, Hart DN. Characterization of interstitial dendritic cells in human liver. *Transplantation* 1988;46:754-761.
173. Pure E, Inaba K, Crowley MT, Tardelli L, Witmer-Pack MD, Ruberti G, Fathman G, Steinman RM. Antigen processing by epidermal Langerhans cells correlates with the level of biosynthesis of major histocompatibility complex class II molecules and expression of invariant chain. *J Exp Med* 1990;172:1459-1469.
174. Rajakulasingam K, Durham SR, O'Brien F, Humbert M, Barata LT, Reece L, Kay AB, Grant JA. Enhanced expression of high-affinity IgE receptor (Fc epsilon RI) alpha chain in human allergen-induced rhinitis with co-localization to mast cells, macrophages, eosinophils, and dendritic cells. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:78-86.
175. Reischl IG, Corvaia N, Unger J, Woisetschlager M and Mudde GC. Characterization of Fc RI expressing human monocytic cell lines. 1. The role of CD45 on signal transduction in primary monocytes and cell lines. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1997b; 113:444-453.
176. Reischl IG, Bjerke T, Brown K, Peiritsch S, Woisetschlager M, Corvaia N and Mudde GC. Characteristics of Fc RI expression on human monocytes and monocytic cell lines: Establishment of an in vitro model. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1997a; 113:266-268.
177. Res P, Martinez-Caceres E, Cristina Jaleco A, Staal F, Noteboom E, Weijer K, Spits H. CD34<sup>+</sup>CD38<sup>dim</sup> cells in the human thymus can differentiate into T, natural killer, and dendritic cells but are distinct from pluripotent stem cells. *Blood* 1996;87:5196-5206.
178. Res PC, Couwenberg F, Vyth-Dreese FA, Spits H. Expression of pTalpha mRNA in a committed dendritic cell precursor in the human thymus. *Blood* 1999;94:2647-2657.
179. Richters CD, Reits EA, Van Pelt AM, Hoekstra MJ, Van Baare J, Du Pont JS, Kamperdijk EW. Effect of low dose UVB irradiation on the migratory properties and functional capacities of human skin dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 1996;104:191-197.

180. Rincón M, Anguita J, Nakamura T, Fikrig E and Flavell RA, Interleukin (IL)-6 directs the differentiation of IL-4 producing CD4<sup>+</sup> T cells. *J.Exp.Med.* 1997; 185:461-469.
181. Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, Grouard G, Briere F, de Waal Malefyt R, Liu YJ. Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation *Science* 1999;283:1183-1186.
182. Rogge L, Barberis-Maino L, Biffi M, Passini N, Presky DH, Gubler U and Sinigaglia F. Selective expression of an interleukin-12 receptor component by human T helper 1 cells. *J.Exp. Med.* 1997; 185:825-831.
183. Romagnani S. Development of Th1 or Th2 dominated immune responses: what about the polarizing signals? *Int. J. Clin. Lab. Res.* 1996; 26:83-98.
184. Romani N, Koide S, Crowley M, Witmer-Pack M, Livingstone AM, Fathman CG, Inaba K, Steinman RM. Presentation of exogenous protein antigens by dendritic cells to T cell clones. Intact protein is presented best by immature, epidermal Langerhans cells. *J Exp Med* 1989;169:1169-1178.
185. Romani N, Lenz A, Glassel H, Stossel H, Stanzl U, Majdic O, Fritsch P, Schuler G. Cultured human Langerhans cells resemble lymphoid dendritic cells in phenotype and function. *J Invest Dermatol* 1989;93:600-609.
186. Romani N, Schuler G. The immunologic properties of epidermal Langerhans cells as a part of the dendritic cell system. *Springer Semin Immunopathol* 1992;13:265-279.
187. Sallusto F, Lenig D, Förster R, Lippi M, Lanzavecchia A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions. *Nature* 1999; 401: 708-712.
188. Sallusto F, Lening D, Mackay CR & Lanzavecchia A. Flexible programs of chemokine receptor expression on human polarized T helper 1 and 2 lymphocytes. *J.Exp.Med.* 1998; 187: 875-883.
189. Sallusto F, Lanzavecchia 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.
190. Saunders D, Lucas K, Ismaili J, Wu L, Maraskovsky E, Dunn A, Shortman K. Dendritic cell development in culture from thymic precursor cells in the absence of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 1996;184:2185-2196.
191. Schilham MW, Oosterwegel MA, Moerer P, Ya J, de Boer PA, van de Wetering M, Verbeek S. Formation and pro-B lymphocyte expansion in mice lacking sox-4. *Nature* 1996; 380:711-714.
192. Schon-Hegrad MA, Oliver J, McMenamin PG, Holt PG. Studies on the density, distribution, and surface phenotype of intraepithelial class II

- major histocompatibility complex antigen (Ia)- bearing dendritic cells (DC) in the conducting airways. *J Exp Med* 1991;173:1345-1356.
193. Schuler G, Steinman RM. Dendritic cells as adjuvants for immune-mediated resistance to tumors. *J Exp Med* 1997 Oct 20;186:1183-1187.
  194. Schuler G, Steinman RM. Murine epidermal Langerhans cells mature into potent immunostimulatory dendritic cells in vitro. *J Exp Med* 1985;161:526-546.
  195. Seder RA, Germain RN, Linsley PS and Paul WE. CD28 mediated cotimulation of interleukin 2 (IL-2) production plays a critical role in T cell priming for IL-4 and interferon production. *J. Exp. Med.* 1994; 179:299-304.
  196. Semper AE, Hartley JA. Dendritic cells in the lung: what is their relevance to asthma? *Clin Exp Allergy* 1996;26:485-490.
  197. Semper AE, Hartley JA, Tunon-de-Lara JM, Bradding P, Redington AE, Church MK, Holgate ST. Expression of the high affinity receptor for immunoglobulin E (IgE) by dendritic cells in normals and asthmatics. *Adv Exp Med Biol* 1995;378:135-138.
  198. Sher A, Grazinelli RT, Jankovic D, et al. Cytokines as determinants of disease and disease interactions. *Braz.J.Med Biol.Res.* 1998; 31:85-87.
  199. Shibaki A, Meunier L, Ra C, Shimada S, Ohkawara A, Cooper KD. Differential responsiveness of Langerhans cell subsets of varying phenotypic states in normal human epidermis. *J Invest Dermatol* 1995; 104:42-46.
  200. Shortman K, Vremec D. Different subpopulations of developing thymocytes are associated with adherent (macrophage) or nonadherent (dendritic) thymic rosettes. *Dev Immunol* 1991;1:225-235.
  201. Skok J, Poudrier J, Gray D. Dendritic cell-derived IL-12 promotes B cell induction of Th2 differentiation: A feedback regulation of Th1 development. *J Immunol* 1999;163:4284-4291.
  202. Sminia T, Wilders MM, Janse EM, Hoefsmit EC. Characterization of nonlymphoid cells in Peyer's patches of the rat. *Immunology* 1983; 164:136-143.
  203. Snijders A, van der Pouw Kraan TCMT, Engel M et al. Enhanced prostaglandin E2 production by monocytes in atopic dermatitis (AD) is not accompanied by enhanced production of IL-6, IL-10 or IL-12. *Clin. Exp. Immunol.* 1998; 11:472-476.
  204. Snijders A, Kalinski P, Hilkens CM, Kapsenberg ML. High-level IL-12 production by human dendritic cells requires two signals. *Int Immunol* 1998;10:1593-1598.
  205. Soler P, Moreau A, Basset F, Hance AJ. Cigarette smoking-induced changes in the number and differentiated state of pulmonary dendritic cells/Langerhans cells. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:1112-1117.
  206. Soler P, Tazi A, Basset F, Hance AJ. Pulmonary dendritic cells *Rev Mal Respir* 1991;8:191-196.

207. Sorg RV, McLellan AD, Hock BD, Fearnley DB, Hart DN. Human dendritic cells express functional interleukin-7. *Immunobiology* 1998; 198:514-526.
208. Sorg UR, Morse TM, Patton WN, Hock BD, Angus HB, Robinson BA, Colls BM, Hart DN. Hodgkin's cells express CD83, a dendritic cell lineage associated antigen. *Pathology* 1997;29:294-299.
209. Sotzik F, Rosenberg Y, Boyd AW, Honeyman M, Metcalf D, Scollay R, Wu L, Shortman K. Assessment of CD4 expression by early T precursor cells and by dendritic cells in the human thymus. *J Immunol* 1994; 152:3370-3377.
210. Sozzani S, Luini W, Borsatti A, Polentarutti N, Zhou D, Piemonti L, D'Amico G, Power CA, Wells TN, Gobbi M, Allavena P, Mantovani A. Receptor expression and responsiveness of human dendritic cells to a defined set of CC and CXC chemokines. *J Immunol* 1997;159:1993-2000.
211. Sozzani S, Sallusto F, Luini W, Zhou D, Piemonti L, Allavena P, Van Damme J, Valitutti S, Lanzavecchia A, Mantovani A. Migration of dendritic cells in response to formyl peptides, C5a, and a distinct set of chemokines. *J Immunol* 1995;155:3292-3295.
212. Sprent J. Immunological memory. *Curr. Opin. Immunol.* 1997; 9: 371-379.
213. Sprent J. Antigen-presenting cells. Professionals and amateurs. *Curr Biol* 1995;5:1095-1097.
214. Steinman RM, Lustig DS, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice III. Functional properties in vivo. *J Exp Med* 139,1431-1445.
215. Sprent J, Lo D, Gao EK, Ron Y. T cell selection in the thymus. *Immunol Rev* 1988;101:173-190.
216. Sprent J, Webb SR. Function and specificity of T cell subsets in the mouse. *Adv Immunol* 1987;41:39-133.
217. Starling GC, McLellan AD, Egner W, Sorg RV, Fawcett J, Simmons DL, Hart DN. Intercellular adhesion molecule-3 is the predominant costimulatory ligand for leukocyte function antigen-1 on human blood dendritic cells. *Eur J Immunol* 1995;25:2528-2532.
218. Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 1991;9:271-296.
219. Steinman RM, Inaba K. Myeloid dendritic cells. *J Leukoc Biol* 1999; 66: 205-208.
220. Steinman RM, Lustig DS, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organ of mice. Functional properties in vivo. *J Exp Med* 1974: 139:1431-1445.
221. Sun X. Constitutive expression of the Id1 gene impairs mouse B cell development. *Cell* 1994; 79:893-900.
222. Strunk D, Egger C, Leitner G, Hanau D, Stingl G. A skin homing

- molecule defines the Langerhans cell progenitor in human peripheral blood. *J Exp Med* 1997;185:1131-1136.
223. Suss G, Shortman K. A subclass of dendritic cells kills CD4 T cells via Fas/Fas-ligand- induced apoptosis. *J Exp Med* 1996;183:1789-1796.
  224. Sykulev Y, Joo M, Vturina I, Tsomides TJ and Eisen HN. Evidence that a single peptide MHC complex on a target U cell can elicit a cytolytic T cell response. *Immunity* 1996; 4: 565-571.
  225. Takamizawa M, Rivas A, Fagnoni F, Benike C, Kosek J, Hyakawa H, Engleman EG. Dendritic cells that process and present nominal antigens to naive T lymphocytes are derived from CD2<sup>+</sup> precursors. *J Immunol* 1997;158:2134-2142.
  226. Tanaka Y, Mamalaki C, Stockinger B, Kioussis D. In vitro negative selection of alpha beta T cell receptor transgenic thymocytes by conditionally immortalized thymic cortical epithelial cell lines and dendritic cells. *Eur J Immunol* 1993;23:2614-2621.
  227. Tenen D, Hromas R, Licht J and Zhang D. Transcription factors, normal myeloid development and leukemia. *Blood* 1997; 90:489-519.
  228. Thomas R, Davis LS, Lipsky PE. Isolation and characterization of human peripheral blood dendritic cells. *J Immunol* 1993;150:821-834.
  229. Thomas R, Lipsky PE. Human peripheral blood dendritic cell subsets. Isolation and characterization of precursor and mature antigen-presenting cells. *J Immunol* 1994;153:4016-4028.
  230. Troy AJ, Summers KL, Davidson PJ, Atkinson CH, Hart DN. Minimal recruitment and activation of dendritic cells within renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 1998;4:585-593.
  231. Tsai FY, Keller G, Kuo F, Weiss M, Chen J, Rosenblatt M, Alt FW and Orkin S. An early haematopoietic defect in mice lacking the transcription factor GATA-2. *Nature* 1994; 371:221-226.
  232. Tunon-De-Lara JM, Redington AE, Bradding P, Church MK, Hartley JA, Semper AE, Holgate ST. Dendritic cells in normal and asthmatic airways: expression of the alpha subunit of the high affinity immunoglobulin E receptor (Fc epsilon RI -alpha). *Clin Exp Allergy* 1996; 26:648-655.
  233. Umetsu DT and DeKruyff RH. Th1 and Th2 CD4<sup>+</sup> cells in human allergic disease. *J Allergy Clin. Immunol.* 1997; 100:1-6.
  234. Urbanek P, Wang ZU, Fetka I, Wagner EF and Bisslinger M. Complete block of early B cell differentiation and altered patterning of the posterior midbrain in mice lacking Pax5/BSAP. *Cell* 1994; 79:901-912.
  235. Valitutti S and Lanzavecchia A. Serial triggering of T - cell receptors: a basis for the sensitivity and specificity of T cell antigen recognition. *Immunol. Today* 1977; 18: 299-304.
  236. Valitutti S, Dessing M, Aktories K, Gallati H and Lanzavecchia A. Sustained signaling leading to T cell activation results from prolonged

- T cell receptor occupancy. Role of T cell actin cytoskeleton. *J. Exp. Med.* 1995a; 181: 577-584
237. Valitutti S, Müller S, Cella M, Padovan E and Lanzavecchia A. Serial triggering of many T-cell receptors by a few peptide – MHC complexes. *Nature* 1995; 375:148-151.
238. van den Heuvel MM, Vanhee DD, Postmus PE, Hoefsmit EC, Beelen RH. Functional and phenotypic differences of monocyte-derived dendritic cells from allergic and nonallergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:90-95.
239. Van der Heijden FL, van Neerven RJJ, van Katwijk M, Bos JD and Kapsenberg ML. Serum – IgE-facilitated allergen presentation in atopic disease. *J Immunol* 1993; 150:3643-3650.
240. Van der Pouw Kraan TCMT, Boeije LCM, de Groot ER, Stapel SO, Sniijders A, Kapsenberg ML, van der Zee JS and Aarden LA. Reduced production of IL-12 and IL-12-dependent IFN-gamma release in patients with allergic asthma. *J. Immunol.* 1997; 158:5560-5565.
241. Van Wilsem EJ, Van Hoogstraten IM, Breve J, Scheper RJ, Kraal G. Dendritic cells of the oral mucosa and the induction of oral tolerance. A local affair. *Immunology* 1994;83:128-132.
242. Verbeek S, Izon D, Hofhuis F, Robanus-Maandag E, te Riele H, van de Wetering M, Osterwegel M, Wilson A, MacDonald HR and Clevers H. An HMG-box containing T-cell factor required for thymocyte differentiation. *Nature* 1995;374:70-74.
243. Viney JL. Dendritic cell subsets: the ultimate T cell differentiation decision makers? *Gut* 1999;45:640-641.
244. Viola A and Lanzavecchia A. T cell activation determined by T cell receptor number and tunable threshold. *Science* 1996; 273: 104-106.
245. Viola A, Salio M, Tuosto L, Linkert S, Acuto A and Lanzavecchia A. Quantitative contribution of CD4 and CD8 to T cell antigen receptor serial triggering. *J. Exp. Med.* 1997; 186: 1775-1779.
246. Vremec D, Lieschke GJ, Dunn AR, Robb L, Metcalf D, Shortman K. The influence of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor on dendritic cell levels in mouse lymphoid organs. *Eur J Immunol* 1997; 27:40-44.
247. Wang B, Rieger A, Kilgus O, Ochiai K, Maurer D, Fodinger D, Kinet JP, Stingl G. Epidermal Langerhans cells from normal human skin bind monomeric IgE via Fc epsilon RI. *J Exp Med* 1992;175:1353-1365.
248. Webb LMC and Feldmann M. Critical role of CD28/B7 costimulation in the development of human Th2 cytokine-producing cells. *Blood* 1995; 86:3479-3486.
249. Weiner HL. Oral tolerance: immune mechanisms and treatment of autoimmune disease. *Immunol Today* 1997; 18:335-343.
250. Williams LA, McLellan AD, Summers KL, Sorg RV, Fearnley DB, Hart

- DN. Identification of a novel dendritic cell surface antigen defined by carbohydrate specific CD24 antibody cross-reactivity. *Immunology* 1996;89:120-125.
251. Williamson E, O'Malley JM, Viney JL. Visualizing the T-cell response elicited by oral administration of soluble protein antigen. *Immunology* 1999;97:565-572.
252. Winkel K, Sotzik F, Vremec D, Cameron PU, Shortman K. CD4 and CD8 expression by human and mouse thymic dendritic cells. *Immunol Lett* 1994;40:93-99.
253. Wollenberg A, Kraft S, Hanau D, Bieber T. Immunomorphological and ultrastructural characterization of Langerhans cells and a novel, inflammatory dendritic epidermal cell (IDEC) population in lesional skin of atopic eczema. *J Invest Dermatol* 1996;106:446-453.
254. Wollenberg A, Wen S, Bieber T. Langerhans cell phenotyping: a new tool for differential diagnosis of inflammatory skin diseases *Lancet* 1995; 346:1626-1627.
255. Wollenberg A, Wen S, Bieber T. Phenotyping of epidermal dendritic cells: clinical applications of a flow cytometric micromethod *Cytometry* 1999;37:147-155.
256. Wu Q, Wang Y, Wang J, Hedgeman EO, Browning JL, Fu YX. The requirement of membrane lymphotoxin for the presence of dendritic cells in lymphoid tissues. *J Exp Med* 1999;190:629-638.
257. Wu L, Nichogiannopoulou A, Shortman K. Gerogopoulos - cell autonomos defect in dendritic cell populations of Ikaros mutant mice points to developmental relationship with the linfoid lineage. *Immunity* 1997; 7:483-792.
258. Wurznner R, Xu H, Franzke A, Schulze M, Peters JH, Gotze O. Blood dendritic cells carry terminal complement complexes on their cell surface as detected by newly developed neoepitope-specific monoclonal antibodies. *Immunology* 1991;74:132-138.
259. Xu H, Di Iulio NA, Fairchild RL. T cell populations primed by hapten sensitization in contact sensitivity are distinguished by polarized patterns of cytokine production: interferon gamma-producing (TH1) effector CD8<sup>+</sup> T cells and interleukin (IL) 4/IL-10-producing (TH2) negative regulatory CD4<sup>+</sup> T cells. *J.Exp.Med.*1996;183:1001-1012.
260. Xu H, Friedrichs U, Gieseler RK, Ruppert J, Ocklind G, Peters JH. Human blood dendritic cells exhibit a distinct T-cell-stimulating mechanism and differentiation pattern. *Scand J Immunol* 1992;36:689-696.
261. Yawalkar N, Brand CU, Braathen LR. IL-12 gene expression in human skin-derived CD1a<sup>+</sup> dendritic lymph cells. *Arch Dermatol Res* 1996; 288:79-84.
262. Young JW, Inaba K. Dendritic cells as adjuvants for class I major histocompatibility complex-restricted antitumor immunity *J Exp Med* 1996; 183:7-11.

263. Young JW, Szabolcs P, Moore MA. Identification of dendritic cell colony-forming units among normal human CD34<sup>+</sup> 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;182:1111-1119.
264. Zal T, Volkman A, Stockinger B. Mechanisms of tolerance induction in major histocompatibility complex class II-restricted T cells specific for a blood-borne self-antigen. *J Exp Med* 1994;180:2089-2099.
265. Zambruno G, Cossarizza A, Zacchi V, Ottani D, Luppi AM, Giannetti A, Girolomoni G. Functional intercellular adhesion molecule-3 is expressed by freshly isolated epidermal Langerhans cells and is not regulated during culture. *J Invest Dermatol* 1995;105:215-219.
266. Zhuang Y, Soriano P and Weintraub H. The helix-loop-helix gene E2A is required for B cell formation. *Cell* 1994; 79:875-884.
267. Zhou LJ, Schwarting R, Smith HM, Tedder TF. A novel cell-surface molecule expressed by human interdigitating reticulum cells, Langerhans cells, and activated lymphocytes is a new member of the Ig superfamily. *J Immunol* 1992;149:735-742.
268. Zhou LJ, Tedder TF. Human blood dendritic cells selectively express CD83, a member of the immunoglobulin superfamily. *J Immunol* 1995; 154:3821-3835.
269. Zhou LJ, Tedder TF. CD14<sup>+</sup> blood monocytes can differentiate into functionally mature CD83<sup>+</sup> dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:2588-92.
270. Zhou LJ, Tedder TF. A distinct pattern of cytokine gene expression by human CD83<sup>+</sup> blood dendritic cells. *Blood* 1995;86:3295-3301.
271. Zinkernagel RM, Bachmann MF, Kundig TM, Oehen S, Pirchet H and Hengartner H. On immunological memory. *Annu. Rev. Immunol.* 1996; 14: 333-367.
272. Zitvogel L, Regnault A, Lozier A, Wolfers J, Flament C, Tenza D, Ricciardi-Castagnoli P, Raposo G, Amigorena S. Eradication of established murine tumors using a novel cell-free vaccine: dendritic cell-derived exosomes. *Nat Med* 1998;4:594-600.
273. Zitvogel L, Regnault A, Lozier A, Raposo G, Amigorena S. Dendritic cell-derived exosomes: potent immunogenic cell-free vaccines in: Dendritic cells. Lotze MT, Thomson A.W. eds. Academic Press 1999 p.643-652.



## Indice

Editoriale .....	»	3
Introduzione .....	»	5
Ontogenesi .....	»	7
Etereogeneità delle cellule dendritiche .....	»	7
Mutazioni focalizzate con effetti sulla specificità su Linee cellulari . ematopoietiche .....	»	9
Caratterizzazione fenotipica delle cellule dendritiche .....	»	12
Precursori midollari .....	»	14
Cellule dendritiche del sangue .....	»	14
Cellule dendritiche derivate da tessuti non linfoidi .....	»	15
Cellule dendritiche timiche .....	»	16
Ruolo delle cellule dendritiche timiche nella selezione negativa ...	»	18
Fenotipi funzionali delle cellule dendritiche .....	»	20
Altre molecole delle cellule dendritiche .....	»	22
Ruolo delle cellule dendritiche nella presentazione dell'antigene ...	»	25
Le cellule dendritiche nelle malattie allergiche .....	»	30
Cellule dendritiche con funzioni polarizzate .....	»	30
Partecipazione delle cellule dendritiche nelle reazioni allergiche ...	»	34
Coinvolgimento delle cellule dendritiche in alcune patologie allergiche .....	»	39
Strategie terapeutiche future .....	»	41
Bibliografia .....	»	42
Indice .....	»	63

# Caleidoscopio

Italiano

1. Rassu S.: *Principi generali di endocrinologia*. Gennaio '83
2. Rassu S.: *L'ipotalamo endocrino*. Giugno '83
3. Rassu S.: *L'ipofisi*. Dicembre '83
4. Alagna., Masala A.: *La prolattina*. Aprile '84
5. Rassu S.: *Il pancreas endocrino*. Giugno '84
6. Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza)*. Luglio '84.
7. Rassu S.: *L'obesita'*. Settembre '84
8. Franceschetti F., Ferraretti A.P., Bolelli G.F., Bulletti C.: *Aspetti morfofunzionali del - l'ovaio*. Novembre '84.
9. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (1)*. Dicembre '84.
10. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima*. Gennaio '85.
11. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda*. Febbraio '85.
12. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima*. Aprile '85.
13. Nacamulli D, Girelli M.E., Zanatta G.P., Busnardo B.: *Il TSH*. Giugno '85.
14. Facchinetti F. e Petraglia F.: *La -endorfina plasmatica e liquorale*. Agosto '85.
15. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (1)*. Ottobre '85.
16. Kubasik N.P.: *Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda*. Dicembre '85.
17. Nuti R.: *Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale*. Febbraio '86
18. Cavallaro E.: *Ipnosi: una introduzione psicofisiologica*. Marzo '86.
19. Fanetti G.: *AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti*. Maggio '86.
20. Fiorini I., Nardini A.: *Toxoplasmosi, immunologia e clinica*. Luglio '86.
21. Limone P.: *Il feocromocitoma*. Settembre '86.
22. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.: *Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*. Novembre '86.
23. Bolcato A.: *Allergia*. Gennaio '87.
24. Kubasik N.P.: *Il dosaggio enzimologico e fluoroimmunologico*. Febbraio '87.
25. Carani C.: *Patologie sessuali endocrino-metaboliche*. Marzo '87.
26. Sanna M., Carcassi R., Rassu S.: *Le banche dati in medicina*. Maggio '87.
27. Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.: *L'amenorrea*. Giugno '87.
28. Zilli A., Pagni E., Piazza M.: *Il paziente terminale*. Luglio '87.
29. Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.: *Patologie prostatiche*. Settembre '87.
30. Cingolani M.: *Manuale di ematologia e citologia ematologica*. Novembre '87.
31. Kubasik N.P.: *Ibridomi ed anticorpi monoclonali*. Gennaio '88.
32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: *Diagnostica del carcinoma mammario*. Febbraio '88.

33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnassi L., Isidori A.: *Neuroendocrinologia dello stress*. Marzo '88.
34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: *La fecondazione in vitro*. Maggio '88.
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: *Il gozzo nodulare*. Giugno '88.
36. Baccini C.: *Le droghe d'abuso (2)*. Luglio '88.
37. Piantino P., Pecchio F.: *Markers tumorali in gastroenterologia*. Novembre '88.
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: *Le leucemie acute infantili*. Gennaio '89.
39. Sommariva D., Branchi A.: *Le dislipidemie*. Febbraio '89.
40. Butturini U., Butturini A.: *Aspetti medici delle radiazioni*. Marzo '89.
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: *Diagnostica delle neoplasie colo-rettali*. Aprile '89.
42. Palleschi G.: *Biosensori in Medicina*. Maggio '89.
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: *HTLV-I*. Giugno '89.
44. Fanetti G.: *Emostasi: fisiopatologia e diagnostica*. Luglio '89.
45. Contu L., Arras M.: *Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie*. Settembre '89.
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: *Immunologia dell'occhio*. Ottobre '89.
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: *Infezioni opportunistiche in corso di AIDS*. Gennaio '90.
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: *La coriogonadotropina umana*. Febbraio '90.
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: *L'immunologia del diabete mellito*. Marzo '90.
50. Cappi F.: *La trasfusione di sangue: terapia a rischio*. Aprile '90.
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: *I micobatteri*. Maggio '90.
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: *Anticorpi antinucleo*. Giugno '90.
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: *Le macchine in terapia intensiva*. Luglio '90.
54. Goracci E., Goracci G.: *Gli allergo-acari*. Agosto '90.
55. Rizzetto M.: *L'epatite non A non B (tipo C)*. Settembre '90.
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: *Infezione da HIV-1: patogenesi ed allestimento di modelli animali*. Ottobre '90.
57. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (I)*. Gennaio '91.
58. La Vecchia C.: *Epidemiologia e prevenzione del cancro (II)*. Febbraio '91.
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: *Le molecole dell'adesività nelle cellule immunocompetenti*. Marzo '91.
60. Bedarida G., Lizioli A.: *La neopterina nella pratica clinica*. Aprile '91.
61. Romano L.: *Valutazione dei kit immunochimici*. Maggio '91.
62. Dondero F. e Lenzi A.: *L'infertilità immunologica*. Giugno '91.
63. Bologna M., Biordi L., Martinotti S.: *Gli Oncogeni*. Luglio '91.
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: *Infezione-malattia da HIV in Africa*. Agosto '91.
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: *L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni*. Settembre '91.
66. Gentilomi G.A.: *Sonde genetiche in microbiologia*. Ottobre '91.
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Besaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: *Le sonde di DNA e la virulenza batterica*. Gennaio '92.
68. Zilli A., Biondi T.: *Il piede diabetico*. Febbraio '92.
69. Rizzetto M.: *L'epatite Delta*. Marzo '92.
70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: *Gli screening neonatali*. Aprile '92.
71. Tavani A., La Vecchia C.: *Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari*. Luglio '92.

72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: *L'ormone della crescita*. Agosto '92.
73. Contu L., Arras M.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (I)*. Settembre '92.
74. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio I*. Ottobre '92.
75. Gori S.: *Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti*. Novembre '92.
76. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio II*. Gennaio '93.
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: *Ipertensione Arteriosa*. Febbraio '93.
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: *I linfomi non Hodgkin*. Marzo '93.
79. Arras M., Contu L.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (II)*. Aprile '93.
80. Amin R.M., Wells K.H., Poiesz B.J.: *Terapia antiretrovirale*. Maggio '93.
81. Rizzetto M.: *L'epatite C*. Settembre '93.
82. Andreoni S.: *Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti*. Ottobre '93.
83. Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: *Diagnostica con radionuclidi del Morbo di Graves-Basedow*. Novembre '93.
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: *Chemiluminescenza*. Dicembre '93.
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: *Applicazioni degli esami immunologici*. Gennaio '94.
86. Arras M., Contu L.: *Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I Infociti B*. Febbraio '94.
87. Rossetti R.: *Gli streptococchi beta emolitici di gruppo B (SGB)*. Marzo '94.
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: *Marcatori biochimici del rimodel - lamento osseo*. Aprile '94.
89. Fanetti G.: *Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare*. Settembre '94.
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: *Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario*. Ottobre '94.
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: *Helicobacter pylori*. Novembre '94.
92. Parazzini F.: *L'epidemiologia della patologia ostetrica*. Febbraio '95.
93. Proietti A., Lanzafame P.: *Il virus di Epstein-Barr*. Marzo '95.
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P., Romano L.: *Im - munoflogosi nell'asma bronchiale*. Maggio '95.
95. Manduchi I.: *Steroidi*. Giugno '95.
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: *Sindromi tossiche sostenute da prin - cipi di origine vegetale*. Luglio '95.
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: *Le biotecnologie nella diagnosi delle infezioni da retrovirus umani*. Ottobre '95.
98. La Vecchia C., D'Avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: *Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica*. Dicembre '95.
99. Zilli A., Biondi T., Conte M.: *Diabete mellito e disfunzioni conoscitive*. Gennaio '96.
100. Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: *Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma*. Marzo '96.
101. Cogato I., Montanari E.: *La Sclerosi Multipla*. Aprile '96.
102. Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: *Malattie a trasmissione sessuale*. Maggio '96.
103. Fiori G. M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: *Il linfoma di Hodgkin*. Giu - gno '96.
104. Marcante R., Dalla Via L.: *Il virus respiratorio sinciziale*. Luglio '96.
105. Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: *Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tis - sutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative*. Ottobre '96.

106. Aiello V., Palazzi P., Calzolari E.: *Tecniche per la visualizzazione degli scambi cromatici (SCE): significato biologico e sperimentale*. Novembre '96.
107. Morganti R.: *Diagnostica molecolare rapida delle infezioni virali*. Dicembre '96.
108. Andreoni S.: *Patogenicità di Candida albicans e di altri lieviti*. Gennaio '97.
109. Salemi A., Zoni R.: *Il controllo di gestione nel laboratorio di analisi*. Febbraio '97.
110. Meisner M.: *Procalcitonina*. Marzo '97.
111. Carosi A., Li Vigni R., Bergamasco A.: *Malattie a trasmissione sessuale (2)*. Aprile '97.
112. Palleschi G., Moscone D., Compagnone D.: *Biosensori elettrochimici in Biomedicina*. Maggio '97.
113. Valtriani C., Hurle C.: *Citofluorimetria a flusso*. Giugno '97.
114. Ruggenini Moiraghi A., Gerbi V., Ceccanti M., Barcucci P.: *Alcol e problemi correlati*. Settembre '97.
115. Piccinelli M.: *Depressione Maggiore Unipolare*. Ottobre '97.
116. Pepe M., Di Gregorio A.: *Le Tiroiditi*. Novembre '97.
117. Cairo G.: *La Ferritina*. Dicembre '97.
118. Bartoli E.: *Le glomerulonefriti acute*. Gennaio '98.
119. Bufi C., Tracanna M.: *Computerizzazione della gara di Laboratorio*. Febbraio '98.
120. National Academy of Clinical Biochemistry: *Il supporto del laboratorio per la diagnosi ed il monitoraggio delle malattie della tiroide*. Marzo '98.
121. Fava G., Rafanelli C., Savron G.: *L'ansia*. Aprile '98.
122. Cinco M.: *La Borreliosi di Lyme*. Maggio '98.
123. Giudice G.C.: *Agopuntura Cinese*. Giugno '98.
124. Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (I)*. Luglio '98.
125. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Basofili*. Settembre '98.
126. Arcari R., Grosso N., Lezo A., Boscolo D., Cavallo Perin P.: *Eziopatogenesi del diabete mellito di tipo I*. Novembre '98.
127. Baccini C.: *Allucinogeni e nuove droghe (II)*. Dicembre '98.
128. Muzi P., Bologna M.: *Tecniche di immunoistochimica*. Gennaio '99.
129. Morganti R., Pistello M., Vatteroni M.L.: *Monitoraggio dell'efficacia dei farmaci antivirali*. Febbraio '99.
130. Castello G., Silvestri I.: *Il linfocita quale dosimetro biologico*. Marzo '99.
131. Aiello V., Caselli M., Chiamenti C.M.: *Tumorigenesi gastrica Helicobacter pylori - correlata*. Aprile '99.
132. Messina B., Tirri G., Fraioli A., Grassi M., De Bernardi Di Valserra M.: *Medicina Termale e Malattie Reumatiche*. Maggio '99.
133. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Eosinofili*. Giugno '99.
134. Fusco A., Somma M.C.: *NSE (Enolasi Neurono-Specifica)*. Luglio '99.
135. Chieffi O., Bonferraro G., Fimiani R.: *La menopausa*. Settembre '99.
136. Giglio G., Aprea E., Romano A.: *Il Sistema Qualità nel Laboratorio di Analisi*. Ottobre '99.
137. Crotti D., Luzzi I., Piersimoni C.: *Infezioni intestinali da Campylobacter e microrganismi correlati*. Novembre '99.
138. Giovanella L.: *Tumori Neuroendocrini: Diagnosi e fisiopatologia clinica*. Dicembre '99.
139. Paladino M., Cerizza Tosoni T.: *Umanizzazione dei Servizi Sanitari: il Case Management*. Gennaio 2000.
140. La Vecchia C.: *Come evitare la malattia*. Febbraio 2000.
141. Rossi R.E., Monasterolo G.: *Cellule dendritiche*. Marzo 2000.

**Caleidoscopio**  
**Rivista mensile di Medicina**  
anno 18, numero 141

**Direttore Responsabile**

Sergio Rassu  
Via Pietro Nenni, 6  
07100 Sassari  
Tel.-Fax 079 270464  
Tel. mobile 0338 2202502  
E-mail: sergio.rassu@medicalsistemas.it  
sergiorassu@libero.it

**Responsabile Ufficio Acquisti**  
Giusi Cunietti

**EDITORE**



**Consulenti di Redazione**

Giancarlo Mazzocchi ed  
Angelo Maggio

**Segretaria di Direzione**

Letizia Cuccuru

**Servizio Abbonamenti**

Maria Grazia Papalia  
Flavio Damarciasi

Via Rio Torbido, 40  
16165 Genova (Italy)  
Tel. (010) 83401 Numero Verde 800 801005 (senza prefisso);  
Telefax (010) 803498- 809070.

Internet URL:<http://medicalsistemas.editoria.com> e <http://www.medicalsistemas.it>  
La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Journal of Clinical Ligand Assay,  
Guida Pratica Immulite®, Caleidoscopio, Kaleidoscope, Caleidoscopio letterario, Pandora,  
Journal of Preventive Medicine and Hygiene, Tribuna Biologica e Medica.

**Stampa**

Tipolitografia ATA  
16143 Genova - Via G. Torti, 32 c.r.  
Tel. (010) 513120 - Fax (010) 503320

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996  
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Finito di stampare: Marzo 2000

Sped. in Abb. Post. 45%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:

“L'ECO DELLA STAMPA”  
Via Compagnoni, 28 - Milano