



Método de vacunación basado en el direccionamiento de antígenos a células dendríticas

Resumen

A casi 150 años del descubrimiento de las células dendríticas, Langerhans, Steinman y otros investigadores en todo el mundo, han descrito el papel tan significativo de las células dendríticas en el sistema inmune. Durante este periodo ha sido posible discernir los mecanismos involucrados en la captura, procesamiento y presentación de antígenos, así como la interacción que tienen con otras células y la activación o supresión de la respuesta inmune. El hallazgo de estas células, ha detonado el diseño y desarrollo de nuevas técnicas, y reactivos, como su cultivo y diferenciación *in vitro*. El direccionamiento de antígenos a las células dendríticas empleando anticuerpos monoclonales como acarreadores, permite instruir a estas células para generar una respuesta inmune contra el antígeno de interés. Es posible dirigir una respuesta del tipo humoral, celular o supresora dependiendo de la estirpe de células dendríticas a la cual sea dirigido el antígeno, receptor empleado y adyuvante. El direccionamiento de antígenos es elegante y presenta diversos retos tecnológicos y fisiológicos; sin embargo, una vez superados podría dar origen a la nueva generación de vacunas, con impacto contundente en la salud humana.

ABSTRACT

About 150 years after, scientists for instance Langerhans, Steinman and many others in the worldwide have discovered and described the pivotal role of dendritic cells in the immune system. During this period it has been possible to discern the mechanisms involved in the capture, processing and presentation of antigens, as well as the interaction they have with other cells and the activation or suppression of the immune response. The discovery of dendritic cells came with the design and development of new techniques and reagents, as *in vitro* culture and differentiation. Targeting of antigens to dendritic cells by using monoclonal antibodies as a shuttle, allows the dendritic cells to be trained in order to evoke or

Vaccination method based on the targeting of antigens to dendritic cells

not an immune response against the selected antigen. It is possible to choose a humoral, cellular or suppressive immune response by selecting the dendritic cells subset; the receptor to which the antigen has to be directed and importantly an adjuvant have to be included. Dendritic cells-targeting based vaccines constitute an elegant strategy to improve immunity; many technological and physiological challenges have to be overcome and move forward to a new generation of vaccines with impact in human protection.

Keyword: dendritic cells, antigen targeting, vaccines

Castillo González, A.R.¹
Fávila Pérez, M.A.¹
Espino-Solis, G.P.^{1*}

¹ Grupo Disciplinar de Inmunología y Microbiología Molecular y Laboratorio de Investigación Traslacional. Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Circuito Universitario, Campus UACH II, 31109 Chihuahua, Chih., México

* Autor de correspondencia: gspinos@uach.mx.

Castillo González A. R., Fávila Pérez M. A., Espino-Solis G. P. Método de vacunación basado en el direccionamiento de antígenos a células dendríticas
Alianzas y Tendencias. 2017, 2 (2): 1-5.

Recibido: 03 mayo 2017. Aceptado: 7 junio 2017.

Breve historia de las vacunas

La historia de las vacunas tiene muchas aristas, existen reportes que en el año 1122 a. C. en India y China se empleaba la variolización (inoculación subcutánea del virus de viruela con pústulas de una persona infectada, a otra no inmune), este procedimiento confería protección del 40% contra la infección de viruela adquirida por inhalación, era bien sabido que los sobrevivientes se hacían inmunes (1-4). En 1796 Edward Jenner médico inglés, estrictamente hablando no descubrió la vacuna, pero pudo relacionar la protección que adquirían las mujeres ordeñadoras cuando se infectaban las manos con la viruela bovina y no desarrollaban la viruela humana; lo cual se demostró al vacunar con esas pústulas a un niño que posteriormente se expuso a la viruela mediante variolización y el niño no desarrollo la infección (1-4). A este procedimiento, Jenner le llamó vacunación (del latín vacca: vaca y cowpox: vaccinia), el cuál consistía en inocular por escarificación pústulas que desarrollaban las personas infectadas con viruela a las no infectadas. Este término se utiliza en la actualidad para describir la inoculación de individuos sanos con cepas atenuadas, partículas proteicas, lisados de microorganismos, etc. de agentes causantes de enfermedades para proporcionar protección contra una enfermedad. En el pasado, con esta técnica se transmitían por vía sanguínea otras enfermedades como la tuberculosis o sífilis, motivo por el cual, su trabajo fue cuestionado (1-4). El metodo de vacunación de Jenner fue tan exitoso, que la OMS en 1977 logró erradicar la viruela, y en 1980 la Asamblea Mundial de Salud anunció que el mundo estaba libre de este virus, por lo tanto, recomendó suspender la vacunación para esta enfermedad (1-4). A través de la historia se ha logrado establecer el papel de protección que confiere la inmunización para prevenir una serie de enfermedades como: la difteria, viruela, rabia, tétano, sarampión, poliomielitis, por mencionar algunas (1-2, 4).

Sin embargo, nuevas enfermedades emergentes como el VIH / SIDA, tuberculosis, malaria, zika, algunos trastornos autoinmunes y diversos tipos de cáncer, están desafiando la forma actual de diseñar y desarrollar vacunas. Esta nueva problemática ha permitido mejorar los procedimientos para obtener metodos de vacunación efectivos y precisos. La vacunación es una de las formas más eficientes de inmunoterapia y una de las intervenciones de salud pública más rentables (1, 5). Una nueva estrategia de vacunación con gran potencial consiste en el direccionamiento de antígenos a las células dendríticas, es decir, los antígenos son dirigidos de manera específica utilizando anticuerpos monoclonales como acarreadores, con la finalidad de

entregar directamente a la célula profesional presentadora de antígeno un agente inmunógeno seleccionado a través de un receptor involucrado en la internalización, figura 1 (6-7).

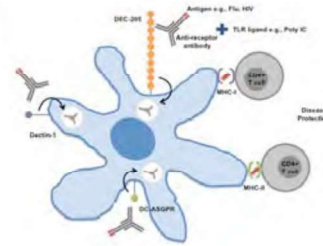


Figura 1. Respuesta inmunológica evocada por direccionamiento de antígenos a las células dendríticas.

Células dendríticas

Las células dendríticas (CD), fueron observadas por primera vez en la piel por Paul Langerhans en 1868, sin tener claro cuál era la función de estas células. En aquel momento se pensó que dichas células formaban parte del sistema nervioso, cuando en realidad se trataba de las actualmente conocidas como células dendríticas epidérmicas o células de Langerhans (8-9). Hace aproximadamente cien años, estas células fueron observadas por Ralph Steinman en 1973, mientras estudiaba las células del bazo de ratón con el fin de comprender la inducción de respuestas inmunes en un órgano linfóide mayor. Steinman, observó una población de células con formas y movimientos inusuales en forma de árbol o “dendríticas” (figura 2), a las cuales llamó células dendríticas (griego, dendrón, árbol) (10-11). Por su aportación en el área de la inmunología, Steinman fue galardonado con el Premio Nobel de Medicina en el 2011.

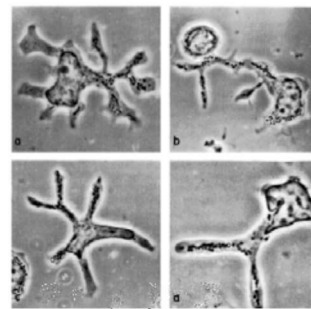


Figura 2. Microfotografías de contraste de fases de células dendríticas aisladas del bazo. Tomada de: Journal of Experimental Medicine, 1973. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. (I. Morphology, quantitation, tissue distribution).

Las CD son de origen hematopoyético y expresan constitutivamente los complejos de histocompatibilidad (MHC) de clase I y II (12). Representan a un elemento celular clave en el sistema inmune ya que capturan a los antígenos, ya sean

bacterianos, virales o toxinas, los reducen de tamaño y luego los presentan en su superficie celular a través de las moléculas MHC I y II. Posteriormente, las CD viajan a los ganglios linfáticos o al bazo (8) donde presentan los antígenos procesados a las células T, generando una respuesta inmune específica para contrarrestar al antígeno presentado. Existen evidencias de su capacidad para activar otros tipos celulares, como linfocitos B, células NK, macrófagos o eosinófilos, así como de generar tolerancia inmunológica (5, 13-16).

Descubrimientos innovadores

En la década de los 80's, los estudios sobre las CD avanzaron lentamente, debido a las complicaciones en la purificación de este tipo celular proveniente de tejidos linfoides. Este panorama cambió en los 90, a raíz de la implementación de técnicas metodológicas que permitieron la diferenciación *in vitro* de células que compartían marcadores celulares y características funcionales con las CD (17). Por ejemplo, en el 2000 se caracterizaron una serie de antígenos específicos de las CD sanguíneas, los Blood Dendritic Cell Antigens (BDCA) (18). Con la implementación de técnicas de identificación y diferenciación *in vitro*, se han tenido avances en el estudio de las CD. Apartir del descubrimiento de las CD, se han desarrollado nuevas tecnologías con el objetivo de sacar el mayor provecho de ellas. Con base al papel tan relevante que desempeñan las CD en la respuesta inmune, están tratando de instruir las para eliminar patógenos o proteger al cuerpo de daños autoinmunes. Posiblemente una de las principales contribuciones a la biología de las células dendríticas humanas fue realizada en 1994 por Sallusto y Lanzavecchia, con la descripción de las DC derivadas de monocitos, un sistema de cultivo artificial para obtener un gran cantidad de DC. Otro descubrimiento importante relacionado con las células dendríticas fue la descripción de los receptores Toll-like (TLRs) de Hoffman y Beutler entre 1996 y 1998, estos receptores permiten el reconocimiento de ciertos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) no encontrados en el huésped y las células dendríticas son activadas por la unión a los TLRs. Después del descubrimiento de TLR, se identificó otra familia de receptores de reconocimiento de patrones (PRR), la superfamilia del receptor de lectina de tipo C (CLR), estos receptores tienen un amplio rango de funciones con capacidad de reconocer ligandos decorados con glicosilaciones o sin ellas, además actúan como PRRs y pueden estimular o inhibir las respuestas celulares (5, 16, 19-20).

Se han logrado grandes avances en el entendimiento de la función que tienen las CD en el sistema inmune. Por ejemplo, se conoce más sobre los mecanismos de

captura, procesamiento y presentación de antígenos derivados de patógenos, células apoptóticas o tumorales, la sinapsis inmunológica entre las CD y los linfocitos T, el control de la activación de las CD a través de TLRs, la importancia de las CD plasmacitoides en la respuesta antiviral, la función de las CD en la respuesta de linfocitos T colaboradores (helper), la regulación de las respuestas de linfocitos B y células natural killer (NK), el control de inmunidad *versus* tolerancia por las CDs, la función de las CDs en las infecciones microbianas, procesos autoinmunes, reacciones alérgicas, rechazo de trasplantes, y respuestas inmunes antitumorales, y las vías de diferenciación de las CD. Estos son algunos avances en la inmunobiología de las CD, que junto con las técnicas de transfección y diferenciación *in vitro*, han permitido considerables avances en terapias efectivas en el campo de la inmunoterapia anti-tumoral y anti-infecciosa, así como para aumentar el éxito en el trasplante de órganos y en el tratamiento de enfermedades autoinmunes (5, 13, 15-16, 19-20).

Ingeniería de anticuerpos monoclonales para dirigir antígenos a las células dendríticas

Las células dendríticas representan a un grupo celular con alto grado de heterogeneidad, reflejado fenotípicamente en su origen celular y en los diferentes nombres que reciben según su localización en el organismo. Las CDs se originan a partir de precursores hematopoyéticos con excepción de las CDs foliculares (se originan de precursores mesenquimales). Las CDs de origen hematopoyético se dividen en dos grupos: las de origen linfóide y mieloide. La multiplicidad en las funciones de las CDs en la regulación de la respuesta inmune innata, adaptativa, y/o tolerancia, refleja la diversidad en sus linajes con respecto a su origen y plasticidad funcional. Con la ayuda de herramientas moleculares y de citometría de flujo, ha sido posible agruparlas con base a la expresión de genes y al perfil de receptores expresados en su superficie. Estudios recientes han puesto particular énfasis en comprender la función específica de cada uno de los linajes, ya que estos determinan la naturaleza de la respuesta inmune que pueden desencadenar/favorecer (5-7, 15-16, 19-22).

Por el papel tan importante que desempeñan en el sistema inmune (activación de células B y T), las DCs sobresalen de otras células presentadoras de antígeno (APC) debido a su alta eficiencia en la captura, procesamiento y presentación de antígenos. Estudios recientes en fase clínica y preclínica han sacado el mayor provecho de las características de estas células para hacer más eficientes las vacunas (5-6, 15, 20-22). Una gran variedad de estrategias se han

empleado para entregar los antígenos a las DCs, entre estas se incluye el uso de anticuerpos y nanopartículas sintéticas (5-6, 21-22). La administración de antígenos conjugados a ligandos naturales expresados en las DCs o de anticuerpos específicos contra receptores ha sido ampliamente estudiada como medio para el direccionamiento *in vivo* de antígenos, para hacer más eficiente su captura y presentación. A mediados de los años ochenta, se hizo más evidente que algunos anticuerpos eran capaces de inducir una respuesta inmune dependiente de células T al facilitar la internalización de antígenos; debido a que el ligando natural de los receptores Fc es la región constante (cristalizable) de los anticuerpos (5-6, 21-22). Con estas evidencias, surge la siguiente hipótesis: si los antígenos son dirigidos a las moléculas expresadas en la superficie de células presentadoras de antígeno, ¿será posible estimular (amplificar) la respuesta inmune modulada por células T? (5-6, 21-22). En experimentos pioneros realizados por Snider y Segal, a finales de los 80's, por medio del uso de anticuerpos específicos contra los receptores de IgG (FcγRs) y el MHC, dirigieron antígenos a las células presentadoras de antígeno obteniendo como resultado la amplificación del proceso de presentación de antígeno a las células T en un modelo *in vitro* (23). Estos resultados después fueron corroborados *in vivo*, donde se muestra una fuerte respuesta humoral contra los antígenos dirigidos a estos receptores en ausencia de adyuvante (5-6, 21-22).

Sin embargo, la expansión de esta estrategia realmente comenzó a principios del nuevo milenio con la identificación de los receptores de lectinas expresados en las células dendríticas. Ralph Steinman y sus colegas describieron por primera vez las interesantes propiedades de anticuerpos que reconocen el receptor de lectina de tipo C, DEC-205; el cual es utilizado en el direccionamiento *in vivo* de antígenos tumorales a DCs (24-27). Con este descubrimiento se inicia una nueva etapa en el diseño de vacunas basadas en el direccionamiento de antígenos a las CD. Actualmente esta estrategia se emplea para tratar diversos tipos de cáncer, enfermedades infecciosas, tales como HIV-1, o para atender enfermedades autoinmunes. En la tabla I se muestran los receptores más representativos que han sido empleados para dirigir antígenos a las células dendríticas (6, 24-27).

Caja de herramientas inmunológicas para producir vacunas

La base conceptual de las nuevas vacunas se sustentan en la plataforma experimental propuesta por Daniel Hawiger y Ralph Steinman (28-29), la cual consiste en hacer las proteínas de fusión

anticuerpo:antígeno utilizando herramientas de biología molecular e ingeniería de proteínas, con esta metodología es posible unir antígenos a los anticuerpos (sin modificarlos químicamente) y expresarlos en sistemas heterólogos para obtener los prototipos de vacunas que podrían ser empleados para tratar VIH-1, tuberculosis, alergias, diabetes o cánceres específicos. Esta plataforma permite enlazar el antígeno seleccionado a un anticuerpo específico que sirve como acarreador para entregarlo directamente a las células dendríticas a través de receptores, tales como DEC-205, Dectina, Langerina, DC-ASGPR, DC-SIGN, etc. Este tipo de procedimiento de inmunización requiere adyuvantes, tales como ligandos de TLR, para activar a las células dendríticas (1, 5, 7, 13, 15, 20, 22, 24, 27, 30).

Tabla 1. Direccionamiento de antígenos vía receptores expresados en la superficie de las células dendríticas y que además involucran mecanismos de internalización. Adaptado de Nature Immunology Reviews, 2014. Dendritic cell-targeted vaccines - hope or hype?

Receptor	Estimula Células T CD4 ⁺		Estimula Células T CD8 ⁺	
	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>
CD205	+	+	+	++
CD207	+	+	+	+/-
MMR	+	+	+	++
DC-SIGN	+	+	+	+
CLEC9A	+	+	+	++
DCIR2	+	+	+	+
CLEC12A	+	++	+	+/-
DC-ASGPR	+	++	+	+/-
Dectin1	+	++	+	+
CD11c	+	++	+	++
CD11b	+	+	+	+
MHC-II	+	++	+	+/-
CD40	++(humano)	+	++(humano)	+
FcγR	+	+	+	+
XCR1 ó XCL1	+	+	+	++

En resumen, el diseño de las vacunas basadas en el direccionamiento de antígenos a las de células dendríticas implica una matriz matemática en la que intervienen variantes tales como: el receptor al cual será dirigido un determinado antígeno, la señal de activación y el linaje de células dendríticas. Los detalles se describen en la figura 3.

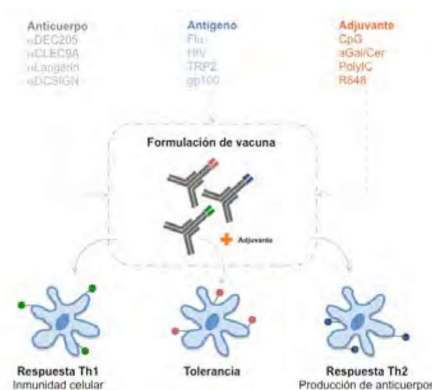


Figura 3. Estrategia para la formulación de vacunas basadas en el direccionamiento de antígenos a células dendríticas. La preparación requiere de la selección de acarreadores (anticuerpos monoclonales contra un receptor determinado), antígenos,

adyuvantes así como la elección del tipo de linaje celular. El resultado de este procedimiento se traduce en una plataforma versátil para el diseño y desarrollo de nuevas vacunas.

CONCLUSIONES

En los últimos años más de un centenar de estudios han evaluado la estrategia del direccionamiento de antígenos a las células dendríticas en su capacidad de estimular la respuesta inmune mediada por células T y anticuerpos. La mayoría de estos ensayos han sido llevados a cabo *in vivo* en modelos murinos o *in vitro* utilizando células humanas. Sin embargo, los experimentos futuros tendrán que llevarse a cabo en ratones humanizados, empleando antígenos mucho más fisiológicos, para después escalar los ensayos en primates no humanos para evaluarlos en su capacidad de estimular respuestas inmunes efectivas e idealmente tendrán que complementarse con estudios de protección. Las vacunas basadas en el direccionamiento de antígenos a las células dendríticas constituyen una estrategia elegante para mejorar los mecanismos de inmunidad. Muchos desafíos tecnológicos y fisiológicos tienen que ser superados, para avanzar hacia una nueva generación de vacunas con un impacto contundente en la protección humana contra la infección de agentes patógenos y tumores.

Hace algunos años era prácticamente imposible pensar en el uso de terapias celulares para tratar patologías complejas, tal es el caso del cáncer y enfermedades autoinmunes. Sin embargo, los avances biotecnológicos en la ciencia han permitido el uso de células en estos tratamientos. La aplicación de células dendríticas (CDs) o células no diferenciadas ha contribuido en mejorar la expectativa y calidad de vida en pacientes para quienes los tratamientos convencionales no han tenido buen resultado.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores no presentan ningún conflicto de interés

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado por los Drs. Luis Carlos Hinojos y Bernardo Enriquez. ARCG y GPES reciben apoyo a profesores de tiempo completo de nuevo ingreso, por parte de SEP - PRODEP.

GLOSARIO

Adyuvantes. Agentes que se mezclan con un antígeno e incrementan la respuesta inmune a un antígeno después de la inmunización.

Antígeno. Una toxina o sustancia extraña que induce una respuesta inmune en el organismo, principalmente la producción de anticuerpos.

Lecitina tipo C. Receptores que se unen a carbohidratos de manera dependiente de calcio. Pueden ser clasificados con base a sus propiedades de

señalización, que también influyen en el señalamiento celular del receptor internalizado y posterior presentación del antígeno unido.

Patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Moléculas asociadas con grupos de patógenos, las cuales son reconocidas por las células del sistema inmune innato. Estas moléculas pueden ser descritas como pequeños sitios moleculares conservados dentro de una clase de microorganismos. Son reconocidos por los receptores Toll (TLR) y otros receptores de reconocimiento de patrones (PRRs), tanto en vegetales como en animales. Una amplia gama de moléculas pueden funcionar como PAMPs, tales como, glucanos y glucoconjugados.

Receptores de reconocimiento de patrones (PRR). Proteínas expresadas por células del sistema inmune innato, las cuales detectan moléculas asociadas a patógenos microbianos o estrés celular.

Receptor tipo Toll (TLR). Receptor de reconocimiento de patrones conservados. Estas moléculas se localizan intracelularmente y también en la superficie celular de macrófagos, células dendríticas, células B y células epiteliales intestinales. Sus ligandos naturales son patrones moleculares conservados, conocidos como patrones moleculares asociados a patógenos que se encuentran en bacterias, virus y hongos.

REFERENCIAS

- [1]. Shah RR, Hassett KJ, Brito LA. Overview of Vaccine Adjuvants: Introduction, History, and Current Status. *Methods Mol Biol.* 2017;1494:1-13.
- [2]. Plotkin S. The history of vaccination against cytomegalovirus. *Med Microbiol Immunol.* 2015;204(3):247-54.
- [3]. Lakhani S. Early clinical pathologists: Edward Jenner (1749-1823). *J Clin Pathol.* 1992;45(9):756-8.
- [4]. Kiss L. [History of Smallpox Vaccination and of the Vaccine Supply in Hungary, up to 1890]. *Orvostört Kozl.* 2015;61(1-4):69-86.
- [5]. Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature.* 2007;449(7161):419-26.
- [6]. Kastenmuller W, Kastenmuller K, Kurts C, Seder RA. Dendritic cell-targeted vaccines--hope or hype? *Nat Rev Immunol.* 2014;14(10):705-11.
- [7]. Flamar AL, Xue Y, Zurawski SM, Montes M, King B, Sloan L, et al. Targeting concatenated HIV antigens to human CD40 expands a broad repertoire of multifunctional CD4+ and CD8+ T cells. *AIDS.* 2013;27(13):2041-51.
- [8]. Kashem SW, Haniffa M, Kaplan DH. Antigen-

- Presenting Cells in the Skin. *Annu Rev Immunol*. 2017.
- [9]. Polak ME, Ung CY, Masapust J, Freeman TC, Arden-Jones MR. Petri Net computational modelling of Langerhans cell Interferon Regulatory Factor Network predicts their role in T cell activation. *Sci Rep*. 2017;7(1):668.
- [10]. Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med*. 1973;137(5):1142-62.
- [11]. Steinman RM, Cohn ZA. Pillars Article: Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med*. 1973. 137: 1142-1162. *J Immunol*. 2007;178(1):5-25.
- [12]. Alfaro C, Onate C, Rodriguez A, Perez-Gracia JL, Fernandez de Sanmamed M, Melero I. [Specialized dendritic cells in cross-presentation of exogenous antigens to cytotoxic T lymphocytes]. *An Sist Sanit Navar*. 2013;36(3):519-37.
- [13]. Li D, Romain G, Flamar AL, Duluc D, Dullaers M, Li XH, et al. Targeting self- and foreign antigens to dendritic cells via DC-ASGPR generates IL-10-producing suppressive CD4+ T cells. *J Exp Med*. 2012;209(1):109-21.
- [14]. Steinman RM. Lasker Basic Medical Research Award. Dendritic cells: versatile controllers of the immune system. *Nat Med*. 2007;13(10):1155-9.
- [15]. Ueno H, Klechevsky E, Schmitt N, Ni L, Flamar AL, Zurawski S, et al. Targeting human dendritic cell subsets for improved vaccines. *Semin Immunol*. 2011;23(1):21-7.
- [16]. van Spriël AB, de Jong EC. Dendritic cell science: more than 40 years of history. *J Leukoc Biol*. 2013;93(1):33-8.
- [17]. Berger TG, Feuerstein B, Strasser E, Hirsch U, Schreiner D, Schuler G, et al. Large-scale generation of mature monocyte-derived dendritic cells for clinical application in cell factories. *J Immunol Methods*. 2002;268(2):131-40.
- [18]. Dzionek A, Fuchs A, Schmidt P, Cremer S, Zysk M, Miltenyi S, et al. BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J Immunol*. 2000;165(11):6037-46.
- [19]. Nussenzweig MC, Mellman I. Ralph Steinman (1943-2011). *Nature*. 2011;478(7370):460.
- [20]. Ueno H, Schmitt N, Klechevsky E, Pedroza-Gonzalez A, Matsui T, Zurawski G, et al. Harnessing human dendritic cell subsets for medicine. *Immunol Rev*. 2010;234(1):199-212.
- [21]. Kreutz M, Tacke PJ, Figdor CG. Targeting dendritic cells--why bother? *Blood*. 2013;121(15):2836-44.
- [22]. Yin W, Gorvel L, Zurawski S, Li D, Ni L, Duluc D, et al. Functional Specialty of CD40 and Dendritic Cell Surface Lectins for Exogenous Antigen Presentation to CD8(+) and CD4(+) T Cells. *EBioMedicine*. 2016;5:46-58.
- [23]. Snider DP, Segal DM. Efficiency of antigen presentation after antigen targeting to surface IgD, IgM, MHC, Fc gamma RII, and B220 molecules on murine splenic B cells. *J Immunol*. 1989;143(1):59-65.
- [24]. Cheong C, Choi JH, Vitale L, He LZ, Trumpfheller C, Bozzacco L, et al. Improved cellular and humoral immune responses in vivo following targeting of HIV Gag to dendritic cells within human anti-human DEC205 monoclonal antibody. *Blood*. 2010;116(19):3828-38.
- [25]. Idoyaga J, Lubkin A, Fiorese C, Lahoud MH, Caminschi I, Huang Y, et al. Comparable T helper 1 (Th1) and CD8 T-cell immunity by targeting HIV gag p24 to CD8 dendritic cells within antibodies to Langerin, DEC205, and Clec9A. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(6):2384-9.
- [26]. Park CG, Rodriguez A, Steinman RM. PE-Cy5.5 conjugates bind to the cells expressing mouse DEC205/CD205. *J Immunol Methods*. 2012;384(1-2):184-90.
- [27]. Park CG, Rodriguez A, Ueta H, Lee H, Pack M, Matsuno K, et al. Generation of anti-human DEC205/CD205 monoclonal antibodies that recognize epitopes conserved in different mammals. *J Immunol Methods*. 2012;377(1-2):15-22.
- [28]. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:685-711.
- [29]. Hawiger D, Inaba K, Dorsett Y, Guo M, Mahnke K, Rivera M, et al. Dendritic cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady state conditions in vivo. *J Exp Med*. 2001;194(6):769-79.
- [30]. Flamar AL, Zurawski S, Scholz F, Gayet I, Ni L, Li XH, et al. Noncovalent assembly of anti-dendritic cell antibodies and antigens for evoking immune responses *in vitro* and *in vivo*. *J Immunol*. 2012;189(5):2645-55.