

INTERFERON-ALPHA NELLA GENERAZIONE DI CELLULE DENDRITICHE MIELOIDI: IMPLICAZIONI E PROSPETTIVE PER L'IMMUNOTERAPIA DEI TUMORI

Caterina Lapenta, Simona Donati, Francesca Spadaro, Laura Lattanzi, Massimo Spada, Maria Ferrantini, Filippo Belardelli, Stefano Maria Santini
Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

L'esposizione di monociti di sangue periferico all'Interferon-alpha (IFN- α) induce il loro differenziamento in cellule dendritiche

A partire da poco più di 10 anni fa, una serie di nostri studi, poi confermati ed estesi anche da quelli di altri gruppi, ha dimostrato come l'esposizione dei monociti di sangue periferico all'IFN- α in combinazione con GM-CSF (*Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) sia in grado di determinare una loro precoce perdita di adesione al substrato, lo sviluppo di lunghi e fini processi cellulari e il loro rapido differenziamento in cellule dendritiche (DC) (1-4). Un processo accompagnato da un marcato aumento dei livelli di espressione di alcune molecole di membrana, come CD40, CD54, CD80, CD86, delle molecole MHC di classe I e II e dall'espressione *de novo* di variabili, ma significativi livelli di CD25 e CD83 (marcatori associati alla maturazione delle DC) senza la necessità dell'aggiunta di ulteriori stimoli maturativi. È stato anche osservato come questa nuova classe di DC (IFN-DC) possieda altre particolarità, come il mantenimento di moderati livelli di CD14 in membrana, l'espressione di CD123 (IL-3R α), anche se a livelli inferiori rispetto alle DC plasmacitoidi (pDC) (5), l'espressione di TLR7 e TLR9 (nostre osservazioni non pubblicate) e l'acquisizione di alcune caratteristiche delle cellule NK (6, 7) inclusa l'espressione di TRAIL (5) e Granzyme-B (7) e la dimostrata attività citotossica nei confronti di cellule target tumorali (1). Caratteristiche che si associano alla riconosciuta capacità delle IFN-DC, a dispetto del loro fenotipo parzialmente maturo, di fagocitare attivamente corpi apoptotici (8) e antigeni solubili, oltre alla loro comprovata efficienza nella cross-presentazione di antigeni ai linfociti T CD8. Infatti, le IFN-DC si sono rivelate superiori alle DC mieloidi convenzionali ottenute con IL-4 e GM-CSF nella cross-presentazione di quantità sub-ottimali di antigene, ma soprattutto hanno dimostrato la capacità di indurre una efficiente risposta primaria *in vitro*, anche in assenza di *helping* da parte dei linfociti T CD4 (9), suggerendo la loro caratteristica di DC *licensed*. Analogamente, abbiamo dimostrato come le IFN-DCs, caricate con corpi apoptotici derivati da linee cellulari linfoblastoidi, risultino più potenti rispetto alle DC convenzionali nello stimolare l'attività citotossica di linfociti T CD8 specifici per un epitopo sub-dominante di LMP-2 di EBV e come le IFN-DC, caricate con cellule apoptotiche di melanoma risultino particolarmente efficienti nel cross-presentare l'epitopo MART-1₂₇₋₃₅ al clone specifico CD8. Un fenomeno che è risultato legato ad una più intensa attività proteolitica dell'immunoproteasoma, associata ad una maggiore espressione delle sue diverse subunità, di TAP-1, TAP-2 e tapasina (10). Analizzando in dettaglio il meccanismo di *antigen processing*, ci è stato possibile dimostrare come gli endosomi di tipo *early* e quelli deputati al *recycling* funzionino, nelle IFN-DC, da efficienti organi subcellulari di immagazzinamento di molecole MHC di classe I prontamente disponibili

per associazione con gli epitopi generati. In particolare, le IFN-DC hanno mostrato una ridotta attività degradativa endosomiale associata ad una prolungata ritenzione degli antigeni proprio nel comparto degli *early-endosomes*. Questa tardiva proteolisi consente alle IFN-DC il preferenziale *processing* e presentazione dell'antigene nel contesto delle molecole MHC di classe I, ma anche di prolungare nel tempo la sua presentazione ai linfociti T CD8 specifici (11).

Relativamente alla capacità delle IFN-DC di attivare una risposta immune, una serie di dati indica come le IFN-DC siano capaci di migrare attivamente verso gli organi linfoidi secondari, un'attitudine suggerita dalla forte espressione del recettore CCR7 (caratteristico delle DC mature), da una spiccata risposta chemiotattica ai ligandi del CCR7 (le chemochine Mip-3 β /CCL19 e SLC/CCL21, responsabili del reclutamento di DC e linfociti nei linfonodi) (5, 12) e dall'esaltata capacità di aderire a cellule endoteliali e transmigrare attraverso l'endotelio linfatico (12). Inoltre, le IFN-DC producono rilevanti quantità di alcune chemochine, come CCL19, CCL21 e IP10/CXCL10 capaci di reclutare altre DC e determinate popolazioni linfocitarie, ma soprattutto citochine pro-infiammatorie, tra cui quelle appartenenti alla famiglia della IL-12 come IL-23 e IL-27 (9), orientando fortemente i linfociti T CD4 verso una risposta di tipo Th1 e promuovendo la produzione di elevate quantità di IFN- γ (1, 5, 9, 13, 14).

Se questa serie di dati spiega, almeno in parte, le peculiari proprietà funzionali delle IFN-DC, differenti studi hanno dimostrato la capacità di queste cellule di indurre con estrema efficienza la risposta *in vitro* e/o *in vivo* contro una varietà di antigeni, tra cui quelli correlati a disordini linfoproliferativi EBV-associati, verso HIV-1 o contro cellule di leucemia mieloide cronica (13, 15, 16). Parallelamente alla loro straordinaria capacità di orientare la risposta CD4 in senso Th1, abbiamo recentemente dimostrato come le IFN-DC siano anche in grado di promuovere una risposta di tipo Th17 (14). Grazie ad un modello sperimentale messo a punto nel nostro laboratorio, in cui i linfociti T CD4 *naïve* vengono stimolati in presenza di IFN-DC autologhe, abbiamo infatti evidenziato come questi siano in grado di differenziarsi in una popolazione Th1 CXCR3+ produttore IFN- γ e in due popolazioni minori, una di tipo Th17 CCR6+, produttore IL-17, e una CXCR3+/CCR6+, produttore entrambe le citochine IL-17 e IFN- γ (Th1/Th17). Nondimeno, le IFN-DC si sono dimostrate capaci di indurre queste stesse risposte anche dopo fagocitosi di corpi apoptotici derivati da linee tumorali o da PBL autologhi (14), suggerendo che simili DC *in vivo*, potrebbero internalizzare materiale apoptotico, promuovendo risposte Th1 e Th17 capaci di innescare fenomeni di tipo autoimmune ma, anche di controllare la crescita tumorale (14, 17).

Ruolo delle IFN-DC *in vivo*

La produzione di IFN di tipo I rappresenta una delle prime linee di difesa che l'organismo mette in atto per fronteggiare le infezioni virali. È tuttavia noto che concentrazioni rilevanti di questa citochina possono essere raggiunte in diverse condizioni patologiche, con importanti effetti sulla risposta immune innata e adattativa. Alla luce di queste evidenze, è stato ipotizzato un ruolo fisiologico dell'IFN di tipo I nel differenziamento delle DC e che elevati livelli di IFN- α prodotto localmente in taluni microambienti potessero agire sui monociti, inducendo il loro differenziamento in IFN-DC. Ipotesi che ha trovato conferma solo in tempi più recenti, grazie all'acquisizione di nuove conoscenze che hanno permesso di disegnare un possibile scenario che vede protagoniste le cellule dendritiche plasmacitoidi (pDC), una sottopopolazione leucocitaria capace di produrre altissimi livelli di IFN di tipo I. La presenza di queste cellule nei tessuti non-linfoidi è stata osservata in diverse malattie autoimmuni e tumori, permettendo di legare la loro attivazione al differenziamento delle IFN-DC e all'induzione di un'energica risposta immune, capace anche di tradursi in una risposta di tipo autoreattivo,

potenzialmente capace di scatenare patologie autoimmuni. La concomitante produzione di IFN- α e IL-17 è stata infatti implicata nella patogenesi di diverse patologie infiammatorie o autoimmuni, come il lupus eritematoso sistemico, per cui è stato enfatizzato un chiaro ruolo patogenetico dell'IFN- α e di DC simili alle IFN-DC nella rottura della tolleranza verso molecole *self* (18, 19) con la partecipazione dei linfociti Th17 nella progressione della malattia (20). Analogamente, è stato evidenziato un ruolo dell'asse IFN- α /IL-17 nell'artrite reumatoide e nel morbo di Chron, con la mediazione delle pDC e della IL-23 prodotta da una popolazione di DC mieloidi CD83+ (21-23), nonché nella psoriasi (24-27). In uno studio recente, è stato dimostrato come l'IFN prodotto dalle pDC sia capace di promuovere le fasi patogeniche iniziali della sclerosi multipla, attraverso l'attivazione dei linfociti Th17, in cui la neutralizzazione dell'IFN di tipo I era associata alla riduzione del numero dei Th17 e ad una attenuazione della malattia (28). Ci sono tuttavia forti evidenze che indicano come il reclutamento delle pDC, e la presenza di DC assimilabili alle IFN-DC giochino un ruolo importante nel controllo delle patologie neoplastiche e virali. La regressione spontanea di lesioni dovute al Mollusco Contagioso sono generalmente precedute da fenomeni infiammatori e solo recentemente è stato possibile associare la regressione di tali lesioni con infiltrati di pDC insieme a DC mieloidi assimilabili alle IFN-DC, esprimenti CD123, CD11c, HLA-DR, CD40 CD14, CD83 e MxA, un *marker* surrogato della produzione di IFN di tipo I (29). L'infiltrazione delle pDC e di DC mieloidi CD83+/CD14+ a stretto contatto con le cellule producenti IFN- α è stata anche descritta nella regressione delle lesioni di carcinoma basale (BCC) dopo trattamento con Imiquimod (30) e nelle lesioni cutanee in corso di infezione del virus della varicella/Zoster (31).

Studi attuali sulla IFN-DC e prospettive future

Nell'ultimo decennio la comunità scientifica internazionale ha dedicato notevoli sforzi allo sviluppo di vaccini terapeutici contro il cancro, capaci di stimolare la risposta immune cellulare dei pazienti al fine di eradicare o quantomeno controllare la crescita del tumore. Purtroppo, gli antigeni tumorali (*tumor associated antigens*, TAA) sono antigeni generalmente deboli, essendo essenzialmente considerati come *self* o *altered self* dal sistema immune. Conseguentemente, la risposta immune generata verso questi antigeni risulta solitamente inadeguata se non addirittura soppressa dall'induzione di uno stato di vera tolleranza immunologica verso il tumore. Moltissimi vaccini sperimentali contro il cancro sono stati quindi basati sull'uso di DC autologhe caricate con antigeni tumorali e reinfuse nei pazienti con diverse modalità, sfruttando la loro caratteristica di potenti *antigen-presenting cells* professioniste, che hanno portato a risultati non definitivi e spesso controversi (32).

I nostri primi studi di caratterizzazione biologica e funzionale delle IFN-DC ci avevano portato a ritenere che queste cellule potessero essere in grado di rimodulare la risposta immune, rompendo lo stato di tolleranza verso il tumore, inducendo una risposta cellulare efficace verso i TAA e con il vantaggio di un'alta specificità e di una virtuale assenza di tossicità. Complessivamente, i nostri studi recenti rafforzano il rationale per l'utilizzo delle IFN-DC in strategie di immunoterapia contro le malattie infettive croniche e soprattutto neoplastiche, considerando che nei confronti dei tumori sia possibile la rottura della tolleranza immunologica analogamente a quanto avviene nelle malattie autoimmunitarie. La robustezza e la qualità della risposta immune adattativa dipende dagli eventi iniziali che caratterizzano la presentazione dell'antigene da parte delle DC. Di fatto, le IFN-DC posseggono alcune caratteristiche delle DC attivate da virus o da altri *danger signals*, con l'indubbio vantaggio di non richiedere l'aggiunta al terreno di coltura di altri fattori solubili attivanti, come i ligandi dei *Pattern Recognition Receptors* (PRRs), anche se le IFN-DC si dimostrano comunque sensibili ad una serie di

molecole compresi i ligandi dei TLR3, TLR4, TLR7, TLR8 e TLR9 (nostre osservazioni non pubblicate) e suscettibili di differenziamento terminale. L'inoculo intradermico delle IFN-DC, direttamente nelle lesioni tumorali o in sede intranodale, potrebbe rappresentare un'opzione terapeutica complementare ai trattamenti correnti, soprattutto dopo *debulking* tumorale, opportunamente integrata da radioterapia o chemioterapia. A questo proposito, basandosi su dati recenti della letteratura, apparirebbe vantaggioso associare questa strategia vaccinale ad una rimodulazione della risposta cellulare del paziente attraverso l'alterazione del rapporto tra cellule T regolatorie (Treg) e cellule T effettrici, mediante l'ablazione della risposta Treg con dosi minimali di ciclofosfamide (33, 34), traendo vantaggio dall'introduzione di DC efficienti ed eludendo gli effetti delle DC endogene funzionalmente alterate dalle citochine prodotte nel microambiente tumorale. In particolare, risultano ipotizzabili due modalità di trattamento: (i) le IFN-DC potrebbero essere inoculate dopo chemio/radioterapia direttamente nella lesione tumorale, dove acquisirebbero gli antigeni tumorali attraverso l'*uptake* di corpi apoptotici e/o cellule necrotiche, come diretta conseguenza dell'effetto citotossico esercitato dalla chemio/radioterapia; (ii) le IFN-DC potrebbero essere preventivamente caricate con antigeni o corpi apoptotici prima dell'inoculo nel paziente. I nostri nuovi dati dimostrano come la rallentata degradazione delle proteine endocitate o fagocitate dalle IFN-DC corrisponda ad una prolungata capacità di ritenere e presentare l'antigene (11). Considerando che i complessi MHC-I-peptide sulla membrana cellulare risultano relativamente instabili e caratterizzati da un elevato *turnover*, mentre la migrazione delle DC dalla periferia ai linfonodi può durare da 1 a 3 giorni, il lento processamento delle IFN-DC favorirebbe la prolungata persistenza dell'antigene negli organi linfoidi, aumentando di conseguenza la probabilità di interazione delle DC con i linfociti T CD8 antigene-specifici a bassa frequenza e favorendo un *signalling* prolungato attraverso il TCR corrispondente per una più ampia ed energica risposta. L'insieme dei nostri dati sperimentali sulla risposta chemotattica delle IFN-DC dimostra in maniera chiara la loro capacità di migrare attivamente all'area paracorticale dei linfonodi regionali, mentre l'espressione di alti livelli di molecole co-stimolatorie e la produzione di citochine fortemente polarizzanti la risposta CD4 in senso Th1 determinerebbe l'attivazione e l'espansione di cellule effettrici in grado di attaccare il tumore, anche favorendo la risposta Th17. Del resto, alcuni fenomeni autoimmunitari appaiono fortemente legati all'immunità antitumorale e spesso rappresentano dei correlati clinici dei *benefits* dell'immunoterapia. Per di più, la popolazione Th17 è stata recentemente descritta avere un ruolo nell'immunità antitumorale (17) e correlare positivamente con la presenza di linfociti T CD8 e CD4, Th1 e NK (35, 36) nel microambiente tumorale, e inversamente correlata alla presenza di Treg.

Con questo solido razionale e nella prospettiva di un'applicazione clinica delle IFN-DC generate da monociti di sangue periferico, abbiamo attivato una serie di studi preclinici atti a valutare la trasferibilità delle conoscenze acquisite in ambito terapeutico. Abbiamo così avviato uno studio atto a valutare il potenziale vantaggio nell'uso delle IFN-DC caricate con la proteina E7 di HPV16, come adiuvanti cellulari nell'immunizzazione terapeutica contro tumori della cervice uterina (HPV16 positivi), utilizzandole nel *priming* dei linfociti T autologhi. I nostri risultati preliminari hanno mostrato che le IFN-DC sono in grado di indurre una forte risposta CD4 e CD8 sia *in vitro* che *in vivo* nel modello chimerico hu-PBL-SCID. Risultati analoghi sono stati ottenuti in uno studio mirato allo sviluppo di un vaccino per il trattamento di linfomi/leucemie a cellule B, utilizzando come antigene una proteina idiotipica ricombinante condivisa da diversi *subset* di leucemie/linfomi. In entrambi gli studi è stato anche possibile valutare l'efficienza della vaccinazione di topi hu-PBL-SCID ricostituiti con PBL umani HLA-A2+, portatori di tumore umano sia della cervice uterina che di linfoma NHL HLA-A2+, nell'inibire la crescita tumorale, prolungando la sopravvivenza degli animali.

Le prospettive di un trasferimento delle conoscenze acquisite a studi clinici sono oggi molto concrete e momentaneamente focalizzate sulla possibilità di intervento immunoterapeutico, in collaborazione con diversi IRCCS (Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico), in almeno due tipi di neoplasia per cui l'utilizzo delle IFN-DC sembra rappresentare un indiscutibile valore aggiunto.

Il primo studio sarà focalizzato su tipologie selezionate di linfomi non-Hodgking (LNH) indolenti di tipo B, per cui sarà previsto un approccio terapeutico personalizzato basato sull'inoculo intradermico delle IFN-DC caricate con corpi apoptotici/cellule necrotiche derivati dal tumore autologo. I linfomi non-Hodgkin (LNH) sono neoplasie maligne a prevalente localizzazione linfonodale, la loro incidenza è di 15-19 casi per 100.000 abitanti/anno e in Italia ogni anno circa 11.000 persone si ammalano di linfoma. Nonostante siano responsivi alla radioterapia e alla chemioterapia, i LNH indolenti tendono a recidivare in tempi sempre più rapidi. Per quanto riguarda lo sviluppo di questo vaccino terapeutico, è stata recentemente stabilita una collaborazione con l'Azienda Ospedaliera Sant'Andrea e l'IFO di Roma per un *trial* di fase I che riguarderà pazienti con diagnosi istologica di linfoma indolente di tipo: follicolare (G1,G2,G3a), marginale (non MALT), linfoplasmocitoide/ Sindrome di Waldenström, mantellare (non blastico), in esordio, recidiva o in progressione.

Il secondo studio, per cui stiamo prendendo contatti con possibili *partners* clinici, riguarderà le neoplasie della cervice uterina, che oggi rappresentano la seconda causa di morte per cancro nelle donne. Esiste evidenza che un importante ruolo causale in questa neoplasia è rivestito dall'infezione da parte di alcuni tipi di HPV (prevalentemente del tipo 16), la cui presenza è stata dimostrata nella maggioranza delle lesioni pre-invasive e dei carcinomi. Nonostante sia possibile diagnosticare l'infezione molto facilmente e nella maggioranza dei casi sia possibile trattare le lesioni locali, circa il 35% delle pazienti con lesioni pre-invasive sviluppa un carcinoma metastatico, per il quale non esiste a tutt'oggi una terapia efficace. L'approccio vaccinale in questo caso prevede che le IFN-DC siano caricate con la proteina virale ricombinante E7, molecola di cui è stata dimostrata l'espressione persistente in lesioni pre-neoplastiche e nel carcinoma della cervice uterina.

Bibliografia

1. Santini SM, Lapenta C, Logozzi M, Parlato S, Spada M, Di Pucchio T, Belardelli F. Type I interferon as a powerful adjuvant for monocyte-derived dendritic cell development and activity *in vitro* and in Hu-PBL-SCID mice. *J Exp Med* 2000;191:1777-88.
2. Paquette RL, Hsu NC, Kiertcher SM, Park AN, Tran L, Roth MD, Glaspy JA. Interferon-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor differentiate peripheral blood monocytes into potent antigen-presenting cells. *J Leukoc Biol* 1998;64:358-67.
3. Carboneil C, Aouba A, Burgard M, Cardinaud S, Rouzioux C, Langlade-Demoyen P, Weiss L. Dendritic cells generated in the presence of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and IFN-alpha are potent inducers of HIV-specific CD8 T cells. *AIDS* 2003;17:1731-40.
4. Mohty M, Vialle-Castellano A, Nunes JA, Isnardon D, Olive D, Gaugler B. IFN-alpha skews monocyte differentiation into Toll-like receptor 7-expressing dendritic cells with potent functional activities. *J Immunol* 2003;171:3385-93.
5. Parlato S, Santini SM, Lapenta C, Di Pucchio T, Logozzi M, Spada M, Giammarioli AM, Malorni W, Fais S, Belardelli F. Expression of CCR-7, MIP-3 β and Th-1 chemokines in type I IFN-induced monocyte-derived dendritic cells: importance for the rapid acquisition of potent migratory and functional activities. *Blood* 2001;98:3022-9.

6. Korthals M, Safaian N, Kronenwett R, Maihöfer D, Schott M, Papewalis C, Diaz Blanco E, Winter M, Czibere A, Haas R, Kobbe G, Fenk R. Monocyte derived dendritic cells generated by IFN-alpha acquire mature dendritic and natural killer cell properties as shown by gene expression analysis. *J Transl Med* 2007;5:46.
7. Papewalis C, Jacobs B, Wuttke M, Ullrich E, Baehring T, Fenk R, Willenberg HS, Schinner S, Cohnen M, Seissler J, Zacharowski K, Scherbaum WA, Schott M. IFN-alpha skews monocytes into CD56⁺-expressing dendritic cells with potent functional activities *in vitro* and *in vivo*. *J Immunol* 2008;180:1462-70.
8. Parlato S, Romagnoli G, Spadaro F, Canini I, Sirabella P, Borghi P, Ramoni C, Filesi I, Biocca S, Gabriele L, Belardelli F. LOX-1 as a natural IFN-alpha-mediated signal for apoptotic cell uptake and antigen presentation in dendritic cells. *Blood* 2010;115:1554-63.
9. Lapenta C, Santini SM, Spada M, Donati S, Urbani F, Accapezzato D, Franceschini Andreotti M, Barnaba V, Belardelli F. IFN-alpha-conditioned dendritic cells are highly efficient in inducing cross-priming CD8(+) T cells against exogenous viral antigens. *Eur J Immunol* 2006;36:2046-60.
10. Lattanzi L, Rozera C, Marescotti D, D'Agostino G, Santodonato L, Cellini S, Belardelli F, Gavioli R, Ferrantini M. IFN- α boosts epitope cross-presentation by dendritic cells via modulation of proteasome activity. *Immunobiology* 2010;216:537-47.
11. Spadaro F, Lapenta C, Donati S, Abalsamo L, Barnaba V, Belardelli F, Santini SM, Maria Ferrantini M. IFN-alpha enhances cross-presentation in human dendritic cells by modulating antigen survival and endocytic routing. 2011 (inviato per la pubblicazione).
12. Rouzaut A, Garasa S, Teixeira A, González I, Martínez-Forero I, Suarez N, Larrea E, Alfaro C, Palazón A, Dubrot J, Hervás-Stubbs S, Melero I. Dendritic cells adhere to and transmigrate across lymphatic endothelium in response to IFN- α . *Eur J Immunol* 2010;40:3054-63.
13. Lapenta C, Santini SM, Logozzi M, Spada M, Andreotti M, Di Pucchio T, Parlato S, Belardelli F. Potent immune response against HIV-1 and protection from virus challenge in hu-PBL-SCID mice immunized with inactivated-virus-pulsed derived dendritic cells generated in the presence of IFN- α . *J Exp Med* 2003;198:361-7.
14. Santini SM, Lapenta C, Donati S, Spadaro F, Belardelli F, Ferrantini M. Interferon- α -Conditioned Human Monocytes Combine a Th1-Orienting Attitude with the Induction of Autologous Th17 Responses: Role of IL-23 and IL-12. *PLoS One* 2011;6:e17364.
15. Santodonato L, D'Agostino G, Nisini R, Mariotti S, Monque DM, Spada M, Lattanzi L, Perrone MP, Andreotti M, Belardelli F, Ferrantini M. Monocyte-derived dendritic cells generated after a short-term culture with IFN-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulate a potent Epstein-Barr virus-specific CD8⁺ T cell response. *J Immunol* 2003;170:5195-202.
16. Gabriele L, Borghi P, Rozera C, Sestili P, Andreotti M, Guarini A, Montefusco E, Foà R, Belardelli F. IFN-alpha promotes the rapid differentiation of monocytes from patients with chronic myeloid leukemia into activated dendritic cellstuned to undergo full maturation after LPS treatment. *Blood* 2004;103:980-7.
17. Wilke CM, Kryczek I, Wei S, Zhao E, Wu K, Wang G, Zou W. Th17 cells in cancer: help or hindrance? *Carcinogenesis* 2011;32:643-9.
18. Blanco P, Palucka AK, Gill M, Pascual V, Banchereau J. Induction of dendritic cell differentiation by IFN-alpha in systemic lupus erythematosus. *Science* 2001;294:1540-3.
19. Blanco P, Palucka AK, Pascual V, Banchereau J. Dendritic cells and cytokines in human inflammatory and autoimmune diseases. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008;19:41-52.
20. Garrett-Sinha LA, John S, Gaffen SL. IL-17 and the Th17 lineage in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2008;20:519-25.

21. Honorati MC, Meliconi R, Pulsatelli L, Canè S, Frizziero L, Facchini A. High *in vivo* expression of interleukin-17 receptor in synovial endothelial cells and chondrocytes from arthritis patients. *Rheumatology (Oxford)* 2001;40:522-7.
22. Lebre MC, Jongbloed SL, Tas SW, Smeets TJ, McInnes IB. Rheumatoid arthritis synovium contains two subsets of CD83-DC-LAMP- dendritic cells with distinct cytokine profiles. *Am J Pathol* 2008;172:940-50.
23. Salim SY, Silva MA, Keita AV, Larsson M, Andersson P . CD83+CCR7- dendritic cells accumulate in the subepithelial dome and internalize translocated Escherichia coli HB101 in the Peyer's patches of ileal Crohn's disease. *Am J Pathol* 2009;174:82-90.
24. Kryczek I, Wei S, Gong W, Shu X, Szeliga W, Cutting Edge: IFN-gamma enable APC to promote memory TH17 and abate TH1 cell development. *J Immunol* 2008;181:5842-6.
25. Yao Y, Richman L, Morehouse C, de los Reyes M, Higgs BW, Boutrin A, White B, Coyle A, Krueger J, Kiener PA, Jallal B. Type I interferon: potential therapeutic target for psoriasis? *PLoS One* 2008;3:e2737.
26. Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, McKenzie BS, Blumenschein WM, Mattson JD, Basham B, Smith K, Chen T, Morel F, Lecron JC, Kastelein RA, Cua DJ, McClanahan TK, Bowman EP, de Waal Malefyt R. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells. *Nat Immunol* 2007;8:950-7.
27. Blauvelt A. T-helper 17 cells in psoriatic plaques and additional genetic links between IL-23 and psoriasis. *J Invest Dermatol* 2008;128:1064-7.
28. Isaksson M, Ardesjö B, Rönnblom L, Kämpe O, Lassmann H, Eloranta ML, Lobell A. Plasmacytoid DC promote priming of autoimmune Th17 cells and EAE. *Eur J Immunol* 2009;39:2925-35.
29. Vermi W, Fisogni S, Salogni L, Schärer L, Kutzner H, Sozzani S, Lonardi S, Rossini C, Calzavara-Pinton P, LeBoit PE, Facchetti F. Spontaneous regression of highly immunogenic Molluscum contagiosum virus (MCV)-induced skin lesions is associated with plasmacytoid dendritic cells and IFN-DC infiltration. *J Invest Dermatol* 2011;131:426-34.
30. Strydom G, Bangert C, Tauber M, Strohal R, Kopp T, Stingl G. Tumoricidal activity of TLR7/8-activated inflammatory dendritic cells. *J Exp Med* 2007;204:1441-51.
31. Gerlini G, Mariotti G, Chiarugi A, Di Gennaro P, Caporale R, Parenti A, Cavone L, Tun-Kyi A, Prignano F, Saccardi R, Borgognoni L, Pimpinelli N. Induction of CD83+CD14+ nondendritic antigen-presenting cells by exposure of monocytes to IFN-alpha. *J Immunol* 2008;181:2999-08.
32. Palucka K, Ueno H, Banchereau J. Recent developments in cancer vaccines. *J Immunol* 2011;186:1325-31.
33. Cao Y, Zhao J, Lei Z, Shen S, Liu C, Li D, Liu J, Shen GX, Zhang GM, Feng ZH, Huang B. Local accumulation of FOXP3+ regulatory T cells: evidence for an immune evasion mechanism in patients with large condylomata acuminata. *J Immunol* 2008;180:7681-6.
34. Zhao J, Cao Y, Lei Z, Yang Z, Zhang B, Huang B. Selective depletion of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells by low-dose cyclophosphamide is explained by reduced intracellular ATP levels. *Cancer Res* 2010;70:4850-8.
35. Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, Evdemon-Hogan M, Conejo-Garcia JR, Zhang L, Burow M, Zhu Y, Wei S, Kryczek I, Daniel B, Gordon A, Myers L, Lackner A, Disis ML, Knutson KL, Chen L, Zou W. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med* 2004;10:942-9.
36. Kryczek I, Wei S, Szeliga W, Vatan L, Zou W. Endogenous IL-17 contributes to reduced tumor growth and metastasis. *Blood* 2009;114:357-9.