

CÉLULAS PRESENTADORAS DE ANTÍGENO: CÉLULAS DENDRÍTICAS Y SU PAPEL EN LA LENGUA AZUL

P. J. SÁNCHEZ CORDÓN^{1*}, M. PEDRERA¹, A.C. PÉREZ DE DIEGO², B. RODRÍGUEZ-SÁNCHEZ², E. RUIZ-VILLAMOR³, F.J. PLEGUEZUELOS¹, J.M. SÁNCHEZ-VIZCAÍNO², J.C. GÓMEZ-VILLAMANDOS¹

RESUMEN

Las células presentadoras de antígeno (CPA) desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de la respuesta inmunitaria mediante el procesamiento y la presentación de antígenos, así como a través de distintos estímulos que favorecen la proliferación y diferenciación linfocitaria. Entre las CPA, las células dendríticas (CDs) son consideradas como las más eficientes en las funciones de presentación. En este trabajo se abordan aspectos generales relacionados con la localización, estructura y función de estas células, así como con su importante papel en la instauración de la repuesta inmunitaria. Junto a las células endoteliales y a los macrófagos, las CDs son consideradas células blanco del virus de la lengua azul (vLA), desempeñando un importante papel en la diseminación orgánica de éste. Además, las CDs parecen jugar un importante papel como productoras o inductoras de sustancias vasoactivas responsables de los cambios vasculares que caracterizan a la enfermedad, quedando aún por determinar la influencia de estos mediadores químicos en la instauración de la respuesta inmunológica frente al virus, aspecto fundamental para el desarrollo y mejora de vacunas.

¹Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, Edificio Sanidad Animal, Campus de Rabanales, 14014, Córdoba, España.

²Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Avda Puerta de Hierro s/n 28040 Madrid, España.

³Laboratorio Central de Veterinaria de Santa Fe, Camino del Jau s/n, 18320, Santa Fe, Granada, España

*E-mail: an2sacop@uco.es

INTRODUCCIÓN.

Las células presentadoras de antígeno (CPA) constituyen una población leucocitaria heterogénea con una gran capacidad inmunoestimulante que desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de la respuesta inmunitaria, ya que procesan y presentan los antígenos extraños a las células del sistema inmunitario más sensibles como los linfocitos T y proporcionan, además, señales que estimulan la proliferación y diferenciación de éstos. Entre las CPA se incluyen los **macrófagos**, las **células B** y las **células dendríticas** (1,2,3,4).

Sólo las células que expresan en su superficie el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) de clase II poseen función de presentadoras de **“antígenos exógenos”**. Las células capaces de reconocer estos antígenos fijados al CMH clase II son las células T auxiliares (CD4+). No todos los macrófagos expresan el CMH clase II, aunque pueden adquirirlo cuando se activan. Algunos antígenos que provocan respuesta inmunitaria no son fagocitados, sino que se originan en el interior de las propias células, siendo denominados **“antígenos endógenos”**, como es el caso de las nuevas proteínas sintetizadas en las células infectadas por virus. En este caso, los antígenos son presentados por moléculas del CMH clase Ia. Las células que reconocen este tipo de complejo son las células T citotóxicas (CD8+), las cuales poseen la capacidad de destruir a las células infectadas. Las células dendríticas poseen una particularidad no presentada por los macrófagos denominada **“presentación cruzada”** y por la cual, los antígenos exógenos se presentan unidos al CMH de clase I con la consiguiente inducción de una respuesta de células T CD8+ (5).

Los **macrófagos** son CPA que desempeñan una importante función en la presentación de antígenos. La importancia de los macrófagos en la defensa del organismo frente a infecciones víricas es tal que la valoración de sus funciones durante la infección permite determinar la capacidad de resistencia y la susceptibilidad del individuo frente a las infecciones víricas. Participan en una respuesta inmune temprana y no específica antes de que se produzca la respuesta de células T. Además, fagocitan de forma activa grandes partículas, por lo que tienen una importante función en la presentación de antígenos derivados de microorganismos infecciosos como bacterias y parásitos. También son capaces de presentar antígenos a los linfocitos T CD4+ en la fase efectora de la inmunidad celular, siendo estos a su vez capaces de activar a los macrófagos para que destruyan a estos microorganismos (1,2,3,4)

Por su parte, los **linfocitos B** también pueden desempeñar funciones como CPA. Poseen receptores específicos que pueden unir moléculas completas de antígeno, interiorizándolo y transformándolo para presentarlo, asociado con el CMH clase II,

a las células T. Las células B son especialmente eficaces para presentar antígenos a las células T de memoria y a las cooperadoras durante la respuesta inmunitaria humoral, siendo su papel esencial ya que la respuesta de células T se presenta gravemente alterada en ausencia de células B (1,2,3,4).

CÉLULAS DENDRÍTICAS Y RESPUESTA INMUNE.

Sin embargo, las CPA consideradas más eficientes son las **células dendríticas (CDs)**, las cuales se localizan por debajo de los epitelios así como formando una extensa red interdigitante en los tejidos linfoides, lo que facilita el atrapamiento de los antígenos y permite la interacción entre las células. Su localización estratégica en lugares de entrada de patógenos les permite ser una de las primeras células en tomar contacto con ellos. En estas localizaciones madurarán, y desde aquí migrarán a los tejidos linfoides para presentar estos antígenos procesados a los linfocitos T, promoviendo así una respuesta inmune efectiva (6). Por tanto, desempeñan un papel crucial en la generación de una respuesta inmune protectora en enfermedades infecciosas. Dado el potencial migratorio que poseen, estas células son el blanco de diferentes virus que las utilizan como mecanismo de difusión orgánica. Sin embargo, las CDs también cuentan con receptores que identifican proteínas o ácidos nucleicos víricos que les permiten iniciar una respuesta inmune innata antivírica esencial para limitar la diseminación de ciertos virus (7).

Las CDs son capaces de responder a citoquinas y otros estímulos derivados de la respuesta inmune innata, ajustando y modificando sus funciones (8). Así, trabajos *in vitro* en distintas especies domésticas han demostrado que las células dendríticas aferentes de los nódulos linfoides, las cuales tienen su origen en las células dendríticas migratorias de la dermis, prolongaron su vida tras la administración de factor estimulador de colonias recombinante (rGM-CSF) y TNF α recombinante (rTNF α) de forma conjunta, siendo mayor el efecto que con la administración única de rTNF α (9). Además, las CDs producen citoquinas inflamatorias e interferones en respuesta a la acción de distintos virus (10,11). Tal es su importancia que se han descrito estados de inmunodeficiencia asociados a alteraciones de las CDs en el transcurso de infecciones víricas (12).

Dependiendo de la expresión de diferentes marcadores en superficie, podemos distinguir distintas subpoblaciones de CDs, tanto circulantes en sangre y linfa como residentes en tejidos linfoides. Así, las células dendríticas convencionales se dividen, a su vez, en **células dendríticas inmaduras o indiferenciadas**, **células dendríticas**

mieloides y células dendríticas plasmocitoides (también conocidas como linfoides), las cuales se muestran como las principales productoras de interferón (IFN) tipo I frente a virus (13). Sin embargo, esta clasificación no tiene relevancia funcional (14). Tanto el fenotipo como la función de las CDs están regulados por un conjunto de mediadores solubles (citoquinas) que pueden igualmente promover la inmunidad o favorecer un estado de tolerancia. Como ya hemos indicado anteriormente, la principal función de las CDs radica en llevar a cabo “procesos de presentación de antígenos (propios o exógenos)”, desempeñando un papel fundamental de unión entre la respuesta inmune innata y adaptativa. Originadas en la médula ósea, las CDs inmaduras circulantes penetran en los tejidos en respuesta a citoquinas quimiotácticas inflamatorias. Al entrar en contacto con el antígeno extraño, las CDs sufren una serie de cambios morfológicos, así como una modificación de los receptores de superficie. Tras la captación y procesamiento del antígeno, las CDs migran a los nódulos linfáticos regionales, donde presentan el antígeno procesado a los linfocitos T, que generarán distintos tipos de respuestas (efectora, memoria, tolerancia) (15). Una vez finalizada la expresión de antígeno, estas células entran en apoptosis, posiblemente con el fin de regular una disminución de la intensidad de la respuesta inmune desarrollada (16). Así, en presencia de citoquinas anti-inflamatorias (p.e. interleuquina (IL)-10), las CDs permanecen inmaduras (con ausencia de expresión de moléculas coestimuladoras), dando lugar a una tolerancia inmunológica mediante la no activación de linfocitos T. Sin embargo, en presencia de citoquinas proinflamatorias (p.e. IL-1, TNF, IL-12), las CDs maduran y expresan ciertas moléculas coestimuladoras que provocarán la activación de las células T y la inducción de inmunidad (17).

CÉLULAS ESTROMALES: CÉLULAS INTERDIGITANTES Y DENDRÍTICAS FOLICULARES.

La generación de una respuesta inmune efectiva se basa en una organización especializada de los órganos linfoides secundarios, apoyada en una red tridimensional de células estromales, con la cual interactúan de una forma dinámica. Así, estas células estromales aportan importantes factores funcionales, como quimoquinas y citoquinas, con influencia sobre el medio ambiente celular y la supervivencia de las células inmunocompetentes. Esta red estromal está constituida por las **células reticulares**, más abundantes en áreas T de los órganos linfoides, junto a dos poblaciones de CDs, **las células interdigitantes (CID)**, localizadas en las áreas de células T y las **células dendríticas foliculares (CDF)**, población especializada de CPA que se encuentran en los folículos linfoides (principalmente en la zona clara de los centros germinales)

de los nódulos linfáticos (áreas B), del bazo y de los tejidos linfoides de las mucosas (18). Ambas poblaciones celulares de CDs parecen presentar poca capacidad fagocítica. Además, las CID expresan el CMH de clase II, mientras que las CDF presentan receptores para los componentes del complemento (CR1, CR2 y CR3) y la fracción Fc de las inmunoglobulinas (1,3).

Las CDF intervienen de manera importante en la patogenia de distintas enfermedades, siendo células blanco de virus como el de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) (19), el virus Epstein-Barr (VEB) (20), el herpesvirus bovino tipo1 (HVB-1) (21), el virus de la diarrea vírica bovina (vDVB) (22,23,24) y el virus de la lengua azul (25). Además, se presentan como una de las principales células donde se acumula el agente responsable de las encefalopatías espongiformes transmisibles (26,27).

Desde el punto de vista morfológico, las **CDF** presentan un escaso citoplasma del que parten largas y finas prolongaciones citoplasmáticas que abrazan a los linfocitos B. El citoplasma contiene escasas organelas, entre las que se encuentran algunos filamentos y microtúbulos (28,29,30). Su núcleo es grande e irregular, a menudo bilobulado, con escasa heterocromatina y un pequeño nucleolo. En ocasiones se pueden observar desmosomas uniendo prolongaciones de células distintas (30). Las CDF, a diferencia de los macrófagos, no presentan un sistema vacuolar desarrollado debido a su escasa capacidad de endocitosis. En la superficie de las CDF se observa con frecuencia un material electrodens, correspondiente a los complejos antígeno/ anticuerpo que son capaces de retener estas células durante largos periodos de tiempo (24,29).

Estas células tienen un origen incierto, ya que no derivan de la médula ósea y son claramente diferentes de las CDs que expresan CMH clase II. Se trata de células morfológicamente semejantes a las células reticulares pero, a diferencia de estas, no sintetizan fibras colágenas. Además, las células reticulares no retienen complejos inmunes en la superficie. Estudios ultraestructurales (24,29) e inmunohistoquímicos (31) sugieren que las CDF son formas diferenciadas de las células del estroma folicular en los tejidos linfoides, también denominadas fibroblastos reticulares. El hecho de mostrar una morfología similar a la de los fibroblastos y la capacidad de presentar proteínas propias de células mesenquimales como la vimentina y la desmina (32), favorecen la posibilidad de que tengan un origen mesenquimal. Por otro lado, es poco probable que se originen de precursores hematopoyéticos de la médula ósea, debido a la resistencia que presentan las CDF a la radiación (33). Algunas CDF pueden derivar de precursores que migran desde otras localizaciones, como monocitos o CDs derivadas de las áreas T, las cuales son capaces de transportar antígeno intacto al interior de los folículos, aunque se desconoce si estos tipos celulares pueden adquirir el fenotipo y la resistencia a la radiación característica de las CDF (33).

Las **CID** abrazan a los linfocitos T, siendo su función la de procesar y presentar antígenos a los linfocitos T colaboradores y activarlos (1,3,34). Por su parte, las **CDF**, las cuales no tienen capacidad de internalizar ni de procesar antígenos, tienen como principal función la captación y presentación de antígenos en forma de inmunocomplejos a los linfocitos B (35,36); así, son capaces de expresar en su superficie durante largos periodos de tiempo complejos inmunes unidos a receptores Fc o a receptores para los productos de la activación del complemento (C3b y C3d), los cuales pueden estar constituidos de antígeno y anticuerpo, antígeno y complemento o de los tres tipos de moléculas (37,38). Gracias a ello, las CDF crean el medio adecuado en los centros germinales para la activación y proliferación celular de los linfocitos T y B, así como para la maduración de los linfocitos B hacia células de memoria (39). Los linfocitos B son fundamentales en el desarrollo normal de las CDF en los centros germinales (40,41). A su vez, las CDF son esenciales para generar una respuesta inmune humoral efectiva (39,42). Mientras que en los folículos primarios las CDF se localizan en la región central, en los centros germinales se encuentran distribuidos más densamente en la zona clara (médula), que en la oscura (corteza) (35).

Las CDF expresan un gran número de moléculas con importantes funciones en la interacción con las células B, destacando los receptores del complemento CR1 / CD35 y CR2 / CD21 tanto en la zona clara como en la oscura (30). El mayor receptor expresado por las CDF con capacidad para atrapar inmunocomplejos es el receptor CR2 / CD21, el cual juega un papel clave en la activación de las células B y en la generación de la respuesta inmune humoral, por lo que deficiencias en su expresión provocan alteraciones en la habilidad para generar una respuesta de anticuerpos dependiente de linfocitos T y reacción de los centros germinales (43). Es en la zona clara de los centros germinales donde las CDF adquieren propiedades particulares. Así, sólo las CDF de esta zona expresan abundantes receptores FcγRIIb (CD32) para IgG (44). Los antígenos M1 y M2 también son expresados por las CDF de esta localización, siendo el antígeno M2 identificado como el componente C4 del complemento (30). Además, en la zona clara, las CDF sobreexpresan varias moléculas de adhesión, entre las que destacan el ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule*) y el VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule*), receptores que previenen *in vitro* la apoptosis de las células B por su unión a las CDF (8), así como el MADCAM-1 (*mucosal addressin-cell adhesion molecule*) (30). Además, también sobreexpresan el receptor Fc de baja afinidad FcεRII (CD23) para IgE, pero sólo bajo ciertas condiciones de inmunización (45), siendo el interferón (IFN)-γ, la interleuquina (IL)-4 y el CD40 potenciales inductores de este receptor. Estas y otras citoquinas podrían actuar sobre las CDF modificando directa o indirectamente sus funciones. Así, cambios en la expresión de epitopos de superficie o en la secreción de citoquinas de las CDF pueden alterar el microambiente de los folículos linfoides con

el consiguiente efecto sobre los folículos B, como se ha propuesto en la Enfermedad de las Mucosas que afecta a bovinos (22) y en infecciones con cepas no citopáticas (NCP) de alta virulencia del virus de la diarrea vírica bovina (46). Las propiedades de las CDF en la zona oscura de los centros germinales no se conocen con exactitud. Trabajos recientes muestran que sobre ellas se deposita fibrinógeno, reconocido por el anticuerpo monoclonal CD46 y que tradicionalmente se ha usado para marcar células reticulares en la zona oscura (8).

CÉLULAS DENDRÍTICAS Y LENGUA AZUL

Junto a los macrófagos, las células dendríticas foliculares así como las células reticulares de distintos órganos linfoides de ovejas y cabras han mostrado signos de infección *in vivo* durante infecciones por el **virus de la lengua azul (vLA)** (25). Trabajos *in vitro* recientes han demostrado que las células dendríticas convencionales son células blanco primarias del vLA (47,48) y que éstas contribuyen a la diseminación primaria del virus desde la piel a los nódulos linfáticos regionales (48). Dicho transporte tiene lugar justo antes de la aparición de la viremia y de los signos clínicos. En los nódulos linfáticos regionales, las CDs sufren la replicación de distintos serotipos del vLA. Además, parece que el virus favorece la llegada masiva de CDs desde la piel a los nódulos. Sin embargo, las funciones de las CDs no parecen verse afectadas. El vLA indujo en las CDs un incremento de moléculas de superficie coestimuladoras (CD80 y CD86) y la síntesis de citoquinas involucradas en la respuesta inflamatoria e inmune (IL-12, IL-1 β e IL-6), aunque contribuyendo en mucha menor medida a la instauración de procesos inflamatorios que las células endoteliales, consideradas las principales células de replicación del vLA. Además, las CDs infectadas estimularon la proliferación de los linfocitos T CD4 y CD8, así como la producción de IFN γ e IL-10. Todo ello pone de manifiesto una adaptación óptima del virus a estas células, lo que permitirá su diseminación primaria (48).

Trabajos recientes también han especulado con la posibilidad de que junto a los macrófagos y células endoteliales, las células dendríticas infectadas por el vLA sean capaces de producir potentes mediadores vasoactivos que contribuyan a la aparición del edema y del colapso vascular observados en casos fulminantes de lengua azul en rumiantes (47). Sin embargo, se requieren trabajos *in vivo* que permitan conocer con precisión dichos mecanismos, especialmente aquellos relativos al papel directo del vLA o indirecto, a través de mediadores quimiotácticos y proinflamatorios, en la aparición de dichos cambios vasculares, así como las diferencias entre especies rumiantes (25,47).

Por tanto, el conocimiento de las señales (especialmente citoquinas) necesarias para convertir CDs en células presentadoras de antígeno capaces de inducir una respuesta de células T apropiada, se considera un eje primordial para el desarrollo de nuevas vacunas. Esta línea de investigación está siendo tenida muy en cuenta en el caso de la lengua azul, donde constituye una línea prioritaria de estudio para el desarrollo de nuevas vacunas. Se tienen pocos datos acerca de cómo la infección de las CDs por el virus de la lengua azul (vLA) afecta a sus funciones y, en consecuencia, a la respuesta inmune, siendo necesario establecer una correlación entre los perfiles de citoquinas inducidos durante la infección y su relación con la estimulación o no de estas células. Este aspecto de la patogenia del vLA resulta crucial si se quiere potenciar, de forma eficiente, una respuesta inmune protectora mediante la aplicación de nuevos inmunomoduladores en la vacunas.

AGRADECIMIENTOS.

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN) a través del proyecto AGL2009-13174-C02-01. Pedro José Sánchez Cordón es beneficiario de un contrato dentro del “Programa Ramón y Cajal” del Ministerio de Ciencia e Innovación, (España).

REFERENCIAS.

- [1] Abbas AK, Litchman AH. Cellular and Molecular Immunology, 5th edition. Abbas AK, Litchman AH (Eds). Saunders Elsevier Science (2003).
- [2] Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Immunobiology: The immune System in health and Disease. Garland Publishing. New York (2001).
- [3] Roitt IM, Burton DR, Martin SJ, Delves PJ. Roitt Inmunología: Fundamentos. 11ª Edición. Roitt IM, Burton DR, Martin SJ, Delves PJ. (Eds). Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires (2008).
- [4] Tizard IR. Introducción a la Inmunología Veterinaria. 8ª Edición. Elsevier España S.A., Barcelona (2009).
- [5] Grommé M, Uytendaele FGCM, Janssen H, Calafat J, Van Binnendijk RS, Kenter MJH, Tulp A, Verwoerd D, Neeffjes J. Recycling MHC class I molecules and endosomal peptide loading. Proc Nat Acad Sci, USA 96:10326-10331 (1999).
- [6] MacPherson GG, Liu LM. Dendritic cells and Langerhans cells in the uptake of mucosal. Curr Top Microbiol Immunol. 236: 33-53. (1999).
- [7] Dalod M, Hamilton T, Salomon R, Salazar-Mather TP, Henry SC, Hamilton JD, Biron CA. Dendritic cell responses to early murine cytomegalovirus infection: subset functional specialization and differential regulation by interferon alpha/beta. J Exp Med 197: 885-898 (2003).
- [8] Allen DC, Cyster JG. Follicular dendritic cell networks of primary follicles and germinal centers: Phenotype and function. Seminars in Immunology 20:14-25 (2008).

- [9] SchijnsVECJ, Horzinek MC. Cytokines in Veterinary Medicine. SchijnsVECJ, Horzinek MC (Eds) Cab International, Wallingford, UK (1997).
- [10] Andoniu CE, van Dommelen SL, Voigt V, Andrews DM, Brizard G, Asselin-Paturel C, Delale T, Stacey KJ, Trinchieri G, Degli-Esposti MA. Interaction between conventional dendritic cells and natural killer cells is integral to the activation of effective antiviral immunity. *Nat Immunol* 10: 1011-1019 (2005).
- [11] Eisenacher K, Steinberg C, Reindl W, Krug A. The role of viral nucleic acid recognition in dendritic cells for innate and adaptive antiviral immunity. *Immunobiology* 212:701-714 (2008).
- [12] Teleshova N, Frank I, Pope M. Immunodeficiency virus exploitation of dendritic cells in the early steps of infection. *Journal of Leukocyte Biology*, 74: 683-690. (2003).
- [13] Segura E, Villadangos JA. Antigen presentation by dendritic cells in vivo. *Curr. Opin Immunol* 21:105-110. (2009).
- [14] Kelsall BL, Biron CA, Sharma O, Kaye PM. Dendritic cells at the host-pathogen interface. *Nat Immunol*, 3:699-702 (2002).
- [15] Banchereau J, Briere F, Caux C, Davoust J, Lebecque S, Liu YJ, Pulendran B, Palucka K. Immunobiology of dendritic cells. *Annu Rev Immunol*. 18:767-811 (2000).
- [16] Shortman K, Liu YJ. Mouse and human dendritic cell subtypes. *Nat Rev Immunol* 2:151-161(2002).
- [17] Capone I, Rizza P, Belardelli F. Dendritic cells as targets and tools in vaccines. In: Immunopotentiators in Modern Vaccines. Virgil Schijns and Derek O'Hagan (Eds). Academic Press. pp 17-33 (2005).
- [18] Liu Y, Arpin C. Germinal center development. *Immunological Reviews* 156: 111-26 (1997).
- [19] Smith BA, Gartner S, Liu Y, Perelson AS, Stilianakis NI, Keele BF, Kerkering TM, Ferreira-Gonzalez A, Szakal AK, Tew JG, Burton GF. Persistence of infectious HIV on follicular dendritic cells. *J Immunol* 166:690-6 (2001).
- [20] Lindhout E, Lakeman A, Mevissen ML, de Groot C. Functionally active Epstein-Barr virus-transformed follicular dendritic cell-like cell lines. *J Exp Med* 179:1173-84 (1994).
- [21] Winkler MT, Doster A, Jones C. Persistence and reactivation of bovine herpesvirus 1 in the tonsils of latently infected calves. *J Virol* 74: 5337-46 (2000).
- [22] Liebler EM, Küsters C, Pohlenz JF. Experimental mucosal disease in cattle: changes of lymphocyte subpopulations in Peyer's patches and in lymphoid nodules of large intestine. *Vet Immunol Immunopathol* 48: 233-48 (1995).
- [23] Bruschke CJ, Haghighparast A, Hoek A, Rutten VP, Wentink GH, van Rijn PA, van Oirschot JT. The immune response of cattle persistently infected with noncytopathic BVDV, after superinfection with antigenically semi-homologous cytopathic BVDV. *Vet Immunol Immunopathol* 62: 37-50 (1998).
- [24] Teichmann U, Liebler-Tenorio EM, Pohlenz JF. Ultrastructural changes in follicles of small-intestinal aggregated lymphoid nodules in early and advanced phases of experimentally induced mucosal diseases in calves. *Am J Vet Res* 61:174-82 (2000).
- [25] Sanchez-Cordon PJ, Rodríguez-Sánchez B, Rialde MA, Molina V, Sánchez-Vizcaíno JM, Gómez-Villamandos JC. Immunohistochemical detection of Bluetongue virus (BTV) in fixed tissue. *J Comp Pathol* 143: 20-28 (2010).
- [26] Bruce ME, Brown KL, Mabbott NA, Farquhar CF, Jeffrey M. Follicular dendritic cells in TSE pathogenesis. *Immunol Today* 21: 442-446 (2000).
- [27] Montrasio F, Frigg R, Glatzel M, Klein MA, Mackay F, Aguzzi A. Impaired prion replication in spleens of mice lacking functional follicular dendritic cells. *Science* 288: 1257-1259 (2000).
- [28] Steinman RM, Adams JC, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. IV. Identification and distribution in mouse spleen. *J Exp Med* 141: 804-20 (1975).

- [29] Chen LL, Adams JC, Steinman RM. Anatomy of germinal centers in mouse spleen, with especial reference to "follicular dendritic cells". *J Cell Biol* 77: 148-64 (1978).
- [30] Imai Y, Yamamkawa M. Morphology, function and pathology of follicular dendritic cells. *Pathol Int* 46: 807-33 (1996).
- [31] Halleraker M, Landsverk T, Nicander L. Organization of ruminant Peyer's patches as seen with enzyme histochemical markers of stromal and accessory cells. *Vet Immunol Immunopathol* 26: 93-104 (1990).
- [32] Rademakers LHPM. Follicular dendritic cells in germinal center development. *Res Immunol* 142: 257-260 (1991).
- [33] Cyster JG, Ansel KM, Reif K, Ekland EH, Imán PL, Tang HL, Luther SA, Ngo VN. Follicular stromal cells and lymphocyte homing to follicles. *Immunol Rev* 176:181-193 (2000).
- [34] Balfour BM, Drexhage HA, Kamperdijk EWA, Hoefsmit EC. Antigen-presenting cells, including Langerhans cells, veiled cells and interdigitating cells. In: *Microenvironments in Haematopoietic and Lymphoid Differentiation..* Whelan J (Ed). Pitman Medical, London, Ciba Foundation Symposium 84. pp 281-301 (1981).
- [35] MacLennan IC. Germinal centers. *Annu Rev Immunol* 12: 117-39 (1994).
- [36] Tew JG, Wu J, Qin D, Helm S, Burton GF, Szakal AK. Follicular dendritic cells and presentation of antigen and costimulatory signals to B cells. *Immunol Rev* 156: 39-52 (1997).
- [37] Chen LL, Frank AM, Adams JC, Steinman RM. Distribution of horseradish peroxidase (HRP)-anti-HRP immune complexes in mouse spleen with special reference to follicular dendritic cells. *J Cell Biol* 79: 184-99 (1978).
- [38] Yasuda M, Tanaka S, Arakawa H, Taura Y, Yokomizo Y, Ekino S. A comparative study of gut-associated lymphoid tissue in calf and chicken. *Anat Rec* 266: 207-17 (2002).
- [39] Heinen E. Follicular dendritic cells: phenotype, origin and functions. *Pathol Biol* 43: 848-57 (1995).
- [40] Fu YX, Chaplin DD. Development and maturation of secondary lymphoid tissues. *Annu Rev Immunol* 17: 399-433 (1999).
- [41] Tumanov AV, Kuprash DV, Nedospasov SA. The role of lymphotoxin in development and maintenance of secondary lymphoid tissues. *Cytokine Growth Factor Rev* 14: 275-88 (2003).
- [42] Kosco MH, Pflugfelder E, Gray D. Follicular dendritic cell-dependent adhesion and proliferation of B cells in vitro. *J Immunol* 148: 2331-9 (1992).
- [43] Ahearn JM, Fischer MB, Croix D, Goerg S, Ma M, Xia J, Zhou X, Howard RG, Rothstein TL, Carroll MC. Disruption of the Cr2 locus results in a reduction in B-1a cells and in an impaired B cell response to T-dependent antigen. *Immunity* 4: 251-62 (1996).
- [44] Yoshida K, van den Berg TK, Dijkstra CD. Two functionally different follicular dendritic cells in secondary lymphoid follicles of mouse spleen, as revealed by CR1/2 and FcR gamma II-mediated immune-complex trapping. *Immunology* 80: 34-9 (1993).
- [45] Maeda K, Burton GF, Padgett DA, Conrad DH, Huff TF, Masuda A, Szakal AK, Tew JG. Murine follicular dendritic cells and low affinity Fc receptors for IgE (Fc epsilon RII). *J Immunol* 148: 2340-7 (1992).
- [46] Ellis JA, West K, Cortese V, Myers SL, Carman S, Martin KM, Haines DM. Lesions and distribution of viral antigen following an experimental infection of young seronegative calves with virulent bovine virus diarrhoea virus-type II. *Can J Vet Res* 62: 161-9 (1998).
- [47] Drew B, Heller MC, Mayo C, Watson JL, MacLachlan NJ. Bluetongue virus infection activates bovine monocytes-derived macrophages and pulmonary artery endothelial cells. *Vet Immunol Immunopathol* 136: 292-296 (2010).
- [48] Hemati B, Contreras V, Urien C, Bonneau M, Takamatsu HH, Mertens PP, Bréard E, Sailleau C, Zientara S, Schwartz-Cornil I. Bluetongue virus targets conventional dendritic cells in skin lymph. *J Virol*. 83: 8789-8799 (2009).