

ROBERTO PEREIRA GONZALEZ

**DIFERENCIAÇÃO DE CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE
PERIFÉRICO HUMANO EM CÉLULAS DENDRÍTICAS: VIAS DE
SINALIZAÇÃO E EFEITOS DA MELATONINA SOBRE O FENÓTIPO E
FUNÇÃO DE CÉLULAS GERADAS *IN VITRO***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia USP/Instituto Butantan/IPT, para obtenção do Título de Doutor em Biotecnologia.

Área de concentração: Biotecnologia

Orientador: Prof. Dr. José Alexandre Marzagão Barbuto

Versão corrigida. A versão original eletrônica encontra-se disponível tanto na Biblioteca do ICB quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

São Paulo
2014

RESUMO

GONZALEZ, R. P. **Diferenciação de células mononucleares do sangue periférico humano em células dendríticas: vias de sinalização e efeitos da melatonina sobre o fenótipo e função de células geradas *in vitro***. 2014. 131 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

A melatonina (MLT) é um hormônio responsável pela regulação dos ritmos circadianos, que exibe outros efeitos como a modulação de células do sistema imunológico em diferentes espécies, incluindo os seres humanos. Ela estimula a ativação de monócitos, aumenta a capacidade de apresentação de antígenos, a proliferação de linfócitos, a produção de anticorpos e de citocinas. Este estudo pretendeu avaliar os efeitos da MLT sobre monócitos durante o processo de obtenção de células dendríticas (DCs), um fenômeno com diversas aplicações biotecnológicas. Para tanto, a MLT foi adicionada em diferentes concentrações, por duas horas, a monócitos em etapa de adesão, antes da adição das citocinas, IL-4 e GM-CSF, indutoras da diferenciação dos monócitos em DCs. A MLT provocou aumento de moléculas do MHC de classe II (HLA-DR), CD11c, CD86, CD83, CD209 e dos receptores para citocinas GM-CSF, IL-4 e TNF- α nos monócitos tratados. Nestas células a MLT provocou, também, aumento de ERK-1 e -2 e STAT-5 fosforiladas, mas não de STAT-6. Já as DCs geradas sob ação da MLT, não apresentaram mudança em ERK-1 e -2 fosforiladas, tiveram redução de STAT-5 fosforilada, mas elevação de STAT-6 fosforilada, além de aumento de expressão de CD80, CD40 e CD83. Em sobrenadantes de DCs imaturas geradas sob ação da MLT detectou-se mais IL-6, IL-8 e IL-10, e IL-6, IL-8 e TNF- α nos de DCs maduras. A MLT aumentou a capacidade de estimulação linfocitária das DCs e, nos sobrenadantes de co-culturas de linfócitos e DCs maduras, houve aumento das concentrações de IL-4, IL-10 e IFN- γ e diminuição de IL-2, IL-6 e TNF- α . A fim de avaliar se o aumento de receptor de IL-4 em monócitos, provocado pela MLT, poderia permitir o uso de menores concentrações desta citocina e, assim, economia na geração *in vitro* de DCs, concentrações reduzidas de IL-4 foram utilizadas em ensaios para geração destas células. Observou-se que, sob ação da MLT, já 3,125 ng/ml de IL-4 foram capazes de induzir a diferenciação de DCs com fenótipo equivalente ao obtido com o uso da concentração-padrão, de 50 ng/ml, de IL-4 (avaliado pela expressão de CD11c, HLA-DR, CD209, CD80, CD86, CD40, CD83 e CD274). Além do mais, estas DCs mantiveram tendência a provocar aumento do índice de proliferação de linfócitos T CD4+ e CD8+. Entre os linfócitos CD4+ notou-se, também, aumento de células CD279+. Populações duplo positivas CD4 e CD25 também se mantiveram elevadas, mas houve redução de células CD4+CD25+FoxP3+ quando comparadas às células estimuladas por DCs geradas com a concentração padrão de IL-4. Ainda, houve elevação da população CD4+ Tbet+, indicativo de padrão Th-1, e diminuição da população CD4+ Gata-3+ (Th-2). Concomitantemente, houve detecção de IFN- γ e acentuada queda na concentração de IL-4, citocinas típicas dos padrões Th-1 e Th-2, respectivamente. O uso do inibidor de MLT (Luzindol) inibiu parcialmente alguns dos efeitos induzidos pela MLT, mas, paradoxalmente, potencializou outros.

Palavras-chave: Células dendríticas. Melatonina. Monócitos. Citocinas. Diferenciação. Ativação.

ABSTRACT

GONZALEZ, R. P. **Differentiation of human peripheral blood mononuclear cells into dendritic cells: signaling pathways and melatonina effects on phenotype and function of in vitro generated cells.** 2014. 131 p. Ph. D. thesis (Biotechnology) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Melatonin (MLT) is a hormone responsible for the circadian rhythm regulation, and presents other effects, such as modulation of immune system cells, in different species, including human beings. It stimulates monocytes activation, enhances antigen presentation, lymphocyte proliferation, antibodies and cytokines production. This study intended to evaluate the effects of MLT over the monocytes differentiation into dendritic cells (DCs), a phenomenon with various biotechnological applications. For that, MLT was added, at different concentrations, during two hours, to monocytes in the adhesion stage, before the IL-4 and GM-CSF cytokine supplementation. MLT caused enhanced expression of class II MHC molecules (HLA-DR), CD11c, CD86, CD83, CD209 and of the IL-4, GM-CSF and TNF- α cytokine receptors, by the treated monocytes. In these cells, MLT induced, also, increases of p-ERK-1 and -2 and of p-STAT-5, but not found of p-STAT-6. On the other hand, on DCs generated under MLT, there were no changes in p-ERK-1 -2, reduction of p-STAT-5, but an increase of p-STAT-6, besides the enhanced expression of CD80, CD40 and CD83. In culture supernatants of immature DCS generated under MLT, higher levels of IL-6, IL-8 and IL-10 were detected, while in mature DCs' supernatant, we detected more IL-6, IL-8 and TNF- α . MLT increased the ability of DCs to stimulate lymphocytes proliferation and, in the supernatants of mature DCs and lymphocytes co-cultures there were increases in the IL-4, IL-10 and IFN- γ and decreases in IL-2, IL-6 and TNF- α . In order to investigate if the enhanced presence of IL-4 receptors by MLT-treated monocytes would allow the use of reduced doses of this cytokine, and thus, economy in the *in vitro* generation of these cells, lower concentrations of IL-4 were evaluated in DC generation assays. Indeed, already 3.125 ng/ml were able to induce the differentiation of DCs with an equivalent phenotype to that obtained with the standard IL-4 concentration, 50 ng/ml (as evaluated by the expression of CD11c, HLA-DR, CD209, CD80, CD86, CD40, CD83 and CD274). Furthermore, these DCs maintained the tendency to enhance the lymphocyte proliferation rate of both CD4+ and CD8+ T cells. Among CD4+ cells an increase in CD279+ cells was also noted. Double positive cells for CD4 and CD25 were also enhanced, but CD4+CD25+FoxP3+ cells were reduced when compared to the response induced by DCs generated by the standard IL-4 concentration. There was an increase of CD4+ Tbet+ cells (Th1 pattern), and a diminished CD4+ Gata-3+ population (Th2 pattern). In parallel, IFN- γ was detected, as was an expressive diminution of IL-4, cytokines related to Th1 and Th2 lymphocytes, respectively. The use of a MLT inhibitor (Luzindol) inhibited some of the MLT effects but, paradoxically, enhanced others.

Keywords: Dendritic cells. Melatonin. Monocytes. Cytokines. Differentiation. Activation.

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

Em 1973 um artigo intitulado *Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice* publicado no periódico *Journal of Experimental Medicine*, iniciava a descrição das Células Dendríticas (DCs) por meio da morfologia, quantificação e localização destas nos tecidos linfóides (STEINMAN; COHN, 1973).

A este artigo inicial seguiram outros quatro que descreviam as características funcionais *in vitro* das DCs (STEINMAN; COHN, 1974), *in vivo* (STEINMAN; LUSTIG; COHN, 1974) sua caracterização e distribuição no baço dos animais (STEINMAN; ADAMS; COHN, 1975) e, por fim, a separação, manutenção da viabilidade em cultura e a presença de moléculas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) (STEINMAN et al., 1979).

Cerca de 40 anos se passaram e a estes trabalhos iniciais foram somados diversos outros estudos enfocando diferentes aspectos da imunobiologia das DCs, que vão desde descrições da função que as qualificam como as mais importantes células apresentadoras de antígenos (APCs), descrevendo-as como de elevada eficiência em ativar linfócitos (Ly) T *naive* (BANCHEREAU et al., 2000; BOOG et al., 1985; FONG; ENGLEMAN, 2000), assim como sua importância na regulação da atividade imunológica (revisto por GALLO; GALLUCCI, 2013).

Estas células vêm sendo alvo de inúmeros estudos para a utilização em protocolos de imunoterapia de estados fisiopatológicos como asma (KUIPERS; LAMBRECHT, 2005), diabetes (LO; CLARE-SALZLER, 2006), infecção por HIV (ANDRIEU; LU, 2006), tumores (BARBUTO et al., 2004; MACKENSEN et al., 2000; MORSE et al., 1997; NESTLE et al., 1998), e também estudos relacionados à imunologia dos transplantes de órgãos e tratamento de doenças auto-imunes (LU; THOMSON, 2002). Estes estudos ilustram a variedade de papéis fisiológicos e a ampla possibilidade de uso das DC, estimulando ou regulando a função imune do organismo.

Monócitos do sangue periférico humano, tratados com o fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), interleucina 4 (IL-4) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), dão origem a DC mielóides, muito utilizadas em protocolos de vacinação, inclusive pelo grupo do Professor Barbuto (BARBUTO et al., 2004; NEVES et al., 2005). Entretanto, as DCs constituem uma população heterogênea e com grande plasticidade, mesmo *in vitro*, e, dependendo das

condições de cultura, obtêm-se diferentes tipos de DC, tanto a partir de monócitos do sangue periférico quanto a partir de outros precursores, como as células-tronco hematopoiéticas CD34⁺, por exemplo (STRUNK et al., 1996; ZHOU; TEDDER, 1996). De modo geral e incompleto, pode-se falar de DCs mielóides, caracterizadas pelo fenótipo CD11c⁺CD123⁻ (CRAVENS et al., 2007), DCs plasmacitóides, geralmente caracterizadas pelo fenótipo CD11c⁻CD123⁺ (SUMMERS et al., 2001) e de células de Langerhans (LC), que apresentam os marcadores CD1a, langerina e os grânulos de Birbeck (ITO et al., 1999). Pode-se, ainda, acrescentar alguns tipos celulares derivados de precursores mielóides, que apresentam morfologia e funcionalidade semelhantes às DC, quando tratadas com P-selectina, fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF) e IL-4, sem, no entanto, serem classificadas como tal, recebendo a denominação de células semelhantes a dendríticas (*Dendritic Like Cells* – DLC), que a despeito da morfologia e funcionalidade semelhante às DC, têm predominância dos marcadores de superfície CD14 e CD16, característicos de macrófagos (LI et al., 2003).

Com a possibilidade de se obter DCs a partir de células mononucleares do sangue periférico, principalmente por meio de aférese do sangue de doadores saudáveis (SVENSSON et al., 2005; THURNER et al., 1999), estas vêm sendo muito estudadas em protocolos terapêuticos para os mais variados tipos de tumores (BARBUTO et al., 2004; HOMMA et al., 2006; MATSUMOTO et al., 2007; MORSE et al., 1997; THOMAS-KASKEL et al., 2007; WESTERS; OSSENKIPPELE; LOOSDRECHT, 2007).

No nosso laboratório são geradas DCs para utilização em imunoterapia de tumores (BARBUTO et al., 2004). Por outro lado, a melatonina (MLT) tem mostrado efeito antitumoral tanto em trabalhos *in vitro* (COS; FERNANDEZ; SANCHEZ-BARCELÓ, 1996) quanto *in vivo* (LISSONI et al., 2003; LISSONI, 2007). Isto despertou interesse em estudar os possíveis efeitos desta substância sobre as células dendríticas, usando-se como modelo seu efeito sobre a diferenciação de células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) humano.

A MLT é um hormônio ligado à regulação dos ritmos circadianos, principalmente em mamíferos (BINKLEY, 1988) e apresenta participação fundamental em diversos aspectos do sistema imune como revisto em vários trabalhos (GUERRERO; REITER, 2002; MAESTRONI, 1999; MILLER et al., 2006). Mais especificamente, já foi descrita a sua participação na ativação de monócitos,

com secreção de IL-1, IL-6 e TNF- α (BARJAVEL et al., 1998), produção de IL-12 (GARCIA-MAURIÑO et al., 1999), inibição da circulação leucocitária (LOTUFO et al., 2001), aumento da apresentação de antígenos e de moléculas de MHC de classe II com amplificação da proliferação de linfócitos T (PIOLI et al., 1993), além de seu já bastante citado efeito citostático sobre células tumorais (CHEN et al., 1995; HILL; BLASK, 1988). Intrigantemente, a MLT também apresentou efeito redutor da taxa de rejeição de alotransplantes cardíacos em ratos, com aumento na sobrevivência do órgão transplantado (JUNG et al., 2004). Esta última observação é condizente com a hipótese paradoxal em vista dos vários efeitos acima citados da MLT, de um papel “tolerogênico” deste hormônio sobre as DC.

A MLT liga-se a três receptores específicos, dois de membrana (MT1 e MT2) e um nuclear (ROR α 1) (LANOIX; OUELLETTE; VAILLANCOURT, 2006). Tanto MT1 quanto MT2 são receptores pertencentes à família das proteínas G, com sete domínios α -hélice transmembrana e sequências pouco conservadas em relação a outros receptores acoplados a proteínas G (GPCR) encontrados (revisto por BARRET; CONWAY; MORGAN, 2003), os quais, de modo geral, são controladores chave em processos fisiológicos, tais como transmissão neuronal, metabolismo celular, secreção de substâncias, diferenciação e crescimento celular (DAULAT et al., 2007).

Os receptores MT1 e MT2 podem estar presentes como homo ou heterodímeros nas células de mamíferos (AYOUB et al., 2002). Pozo et al. (2004) já relataram a presença do receptor de membrana MT1 bem como de mRNA para o receptor nuclear em diferentes células humanas do sistema imune, como PBMCs, células CD4+, CD8+, CD19+, CD14+ e CD56+. A expressão do receptor MT2, por outro lado, foi descrita para adipócitos e células arteriais humanas (BRYDON et al., 2001; EKMEKCIOGLU et al., 2003). Assim, embora o receptor MT1 pareça o melhor candidato a mediar a ação da MLT sobre a diferenciação de PBMC *in vitro*, não se pode excluir a participação dos outros dois receptores neste fenômeno.

Como já mencionado anteriormente, a adição de citocinas, como IL-4 e GM-CSF, favorece a diferenciação de monócitos em células dendríticas imaturas, *in vitro*. A via de sinalização, no caso da IL-4, inicia-se com a participação do receptor para IL-4 e parece contar com a participação de proteínas como as JAK-1 e -3 que levam à ativação da STAT-6 (JIANG; HARRIS; ROTHMAN, 2000) ou através da fosforilação da via Ras/MAPK (Proteína ligadora/proteína quinase ativadora de

mitógeno) que resultará na ativação das proteínas quinase MEK e, na sequência da cascata, ERK-1 e ERK-2 que no núcleo ativam a expressão de genes como *c-fos* (NELMS et al., 1999) e fatores de transcrição como fator nuclear (NF)- κ -B (INOUE et al., 2004).

Para a citocina GM-CSF, a ligação com o receptor também pode ativar a proteína JAK-2 que ativa, neste caso, STAT-5 (SAKURAI; ARAI; WATANABE, 2000) ou, como também ocorre com a IL-4, a sinalização pode ocorrer através da via Ras/MAPK via receptor para GM-CSF, culminando também com a ativação na cascata de proteínas como MEK e ERK (LIU et al., 1999). Na verdade, tem-se descrito a via Raf/MEK/ERK como muito relevante para a diferenciação e sobrevivência de DC imaturas derivadas de PBMCs (XIE et al., 2005).

Por outro lado, para a ativação das DCs, desempenham papel relevante fatores de transcrição como, por exemplo, o NF- κ -B e a proteína ativadora (AP)-1 (JANSSENS et al., 2003), além de fatores reguladores de interferon (IRF) (GORIELY et al., 2006), envolvidos com a produção de citocinas pelas mesmas (GAUTIER et al., 2005). Estão também envolvidas a via p-38 MAPK (ARDESHNA et al., 2000) e a via da quinase da porção N-terminal de c-Jun (JNK) (NAKAHARA et al., 2004), ambas regulando a expressão de moléculas como CD80, CD83 e CD86, e a família das proteínas quinase (PK) C (LIN et al., 2007), relacionadas com a diferenciação de monócitos em DCs.

Já foi descrita a ativação da via das MAPK/MEK de modo MLT-dependente na agregação de pigmento em melanóforos de rãs da espécie *Xenopus laevis* (ANDERSSON; SVENSSON; KARLSSON, 2003), da mesma forma que em células da linhagem tumoral de mama MCF-7 (CHAN et al., 2002). Nestas células tumorais, mostrou-se que a MLT é capaz de ativar a JNK, o que pode indicar um mecanismo de ação da MLT na diferenciação de DCs, uma vez que esta mesma quinase está relacionada com o aumento das moléculas de superfície CD80, CD83, CD86 e CD54 durante a ativação de DCs pelo lipopolissacarídeo bacteriano (LPS) (NAKAHARA et al., 2004). É relevante notar que esta mesma via (MEK/ERK-1 e -2) pode ser ativada também pelo receptor MT2, ao menos em osteoblastos humanos (RADIO; DOCTOR; WITT-ENDERBY, 2006), abrindo-se assim, mais uma possível via de influência da MLT sobre a geração de DCs. E, mais recentemente, outro trabalho relatou o envolvimento da MLT sobre a via Jak/STAT, mais especificamente a Jak2/STAT-3, cuja ativação pela MLT reduz o dano oxidativo mitocondrial atenuando

a injúria miocárdica por isquemia/reperfusão (YANG et al., 2013), e também o dano por estresse oxidativo em células Huvec (DUAN et al., 2013).

Retornando ao papel do fator de transcrição NF- κ -B nas DCs, há relatos de que a inibição do componente RelB, impede sua translocação para o núcleo, o que diminui levemente a expressão de CD80 e, intensamente, a expressão de CD40, diminuindo a capacidade das DCs estimularem a proliferação e ativar Lys T (HERNANDEZ et al., 2007). Sabe-se, por outro lado, que a inibição do fator de transcrição NF- κ -B pela MLT é um fator de inibição do crescimento *in vitro* de células de glioma (MARTIN et al., 2006). Em modelo animal de trauma de crânio, a MLT atenuou a ativação dos fatores NF- κ -B e AP-1, protegendo neurônios da oxidação (BENI et al., 2004). Esta ação da MLT sobre estes fatores de transcrição também indica mais uma via potencial de ação desta substância sobre a biologia das DCs, visto que o equilíbrio entre NF- κ -B e JNK/AP-1 já foi descrito como necessário à sobrevivência deste tipo celular (KRIEHUBER et al., 2005), ações que apontam para uma tendência reguladora da substância, talvez relacionada com a homeostase.

A diferenciação de PBMC em DC pelo uso de GM-CSF e IL-4 é indicada pela diminuição da expressão de moléculas CD14 e aumento da expressão de CD1a (PEREIRA et al., 2005), gerando células em cachos, semi-aderentes, apresentando dendritos, com aumentada expressão de moléculas do MHC de classe II (HLA-DR), DC-SIGN (CD209), o receptor para manose homólogo ao de macrófagos (DEC-205), bem como elevada capacidade endocítica, mesmo frente a baixas concentrações de antígenos (AHN; AGRAWAL, 2005). Com a adição de TNF- α , para a maturação, ocorre a diminuição de moléculas de membrana CD1a e expressão de moléculas CD83 (ZHOU; TEDDER, 1996), bem como aumento na expressão de moléculas CD80, CD86 e acentuada diminuição da taxa de endocitose (PEREIRA et al., 2005), além da expressão do receptor de quimiocinas, CCR7 (DIEU-NOSJEAN et al., 1999).

Em estudo anterior, verificou-se que a MLT induz, em PBMCs de doadores saudáveis, modificações fenotípicas que são compatíveis com uma diferenciação para DCs, mas, ao mesmo tempo que DC diferenciadas sob ação da MLT apresentam maior produção de IL-10 (GONZALEZ, 2006). No entanto, a simples diferenciação não fornece informações precisas e detalhadas do funcionamento destas células. Um detalhamento mais amplo do fenótipo destas células por meio de uma análise mais apurada das moléculas de membrana que indiquem a diferenciação das PBMC

em DCs, bem como a avaliação da melhor concentração de MLT a ser utilizada nas culturas foram, então, as etapas iniciais de desenvolvimento do presente trabalho. Além do efeito direto da MLT ainda consideramos os efeitos indiretos da mesma, na indução de um aumento de sensibilidade das PBMCs a citocinas presentes no meio e capazes de levá-las à diferenciação em DCs (receptores para as citocinas GM-CSF, IL-4 e TNF- α). Também o estado de “maturação” das DCs foi investigado, não só pelo fenótipo de membrana das células, mas também pela avaliação da função linfo-estimuladora das mesmas e pelo perfil das citocinas produzidas pelas DCs ou em co-culturas das mesmas com Linfócitos T. Dada a possibilidade de um comportamento tolerogênico das DCs sob ação da MLT, buscamos também identificar a presença de linfócitos T reguladores (CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺), relacionados com a imunorregulação e supressão (LEHNER, 2008; RAMOS et al., 2012).

Ainda com relação ao tipo de linfócitos sujeitos à ação das DCs e que podem proliferar sob estímulo destas, embora haja sugestão de um comportamento tolerogênico, não se pode deixar de lado o aspecto de polarização destes linfócitos quanto a outros subtipos como os já conhecidos linfócitos Th1 e Th2, e que além das citocinas que os caracterizam (IFN- γ e IL-4, respectivamente), também contam com fatores de transcrição associados como Tbet para linfócitos Th1 e Gata-3 para Th2 (revisito por AMSEN; SPILIANAKIS; FLAVELL, 2009)

Além do estudo do fenótipo e função, buscou-se esclarecer o mecanismo pelo qual a MLT age. Já foi relatado que a via de transdução de sinal da MLT partilha com as vias da IL-4 e GM-CSF moléculas em comum, como ERK-1 e ERK-2, estabelecendo assim um elo de ligação entre MLT e citocinas utilizadas no processo de diferenciação e ativação. Assim, avaliou-se a presença das moléculas STAT-6 e STAT-5, relacionadas às citocinas IL-4 e GM-CSF, respectivamente.

Em conclusão, portanto, o presente trabalho objetivou investigar o papel da MLT na diferenciação *in vitro* de PBMC, analisando o fenótipo de membrana e o papel funcional das células, ao mesmo tempo em que procurou acrescentar algum conhecimento sobre as vias de sinalização envolvidas nesta diferenciação sob ação da MLT.

1.1 Objetivos

Investigar a ação da MLT no processo de obtenção de DCs derivadas de PBMCs.

1.2 Objetivos específicos

Caracterizar o fenótipo de membrana das células obtidas, características funcionais destas, potenciais vias de sinalização envolvidas, e o padrão de citocinas produzidas no processo.

5 CONCLUSÃO

A MLT mostrou-se capaz de afetar a diferenciação *in vitro* de monócitos em DCs, e, quando adicionada a monócitos antes do estímulo destas células pelas citocinas IL-4 e GM-CSF, permitiu o uso de concentrações reduzidas de IL-4, para obtenção de DCs com fenótipo equivalente ao obtido com as concentrações padrão da citocina. Esta atividade da MLT pode ter aplicação biotecnológica na geração de DCs para uso clínico.

REFERÊNCIAS¹

ACOLLA, R. S.; LOMBARDO, L.; ABDALLAH, R.; RAVAL, G.; FORLANI, G.; TOSI, G. Boosting the MHC class I-restricted tumor antigen presentation to CD4+ T helper cells: a critical issue for triggering protective immunity and re-orienting the tumor microenvironment toward an anti-tumor state. **Front. Oncol.**, v. 4, p. 1-9, 2014.

AHN, J. S.; AGRAWAL, B. IL-4 is more effective than IL-13 for *in vitro* differentiation of dendritic cells from peripheral blood mononuclear cells. **Int. Immunol.**, v. 17, p. 1337-1346, 2005.

AMSEN, D.; SPILIANAKIS, C. G.; FLAVELL, R. A. How are Th1 and Th2 effector cells made? **Curr. Op. Immunol.**, v. 21, p. 153-160, 2009.

ANDERSSON, T. P. M.; SVENSSON, S. P. S.; KARLSSON, A. M. Regulation of melanosome movement by MAP Kinase. **Pigment Cell Res.**, v. 15, p. 215-221, 2003.

ANDRIEU, J. M.; LU, W. A dendritic cell-based vaccine for treating HIV infection: background and preliminary results. **J. Intern. Med.**, v. 261, p. 123-131, 2007.

ARDESHNA, K. M.; PIZZEY, A. R.; DEVEREUX, S.; KHWAJA, A. The phosphoinositol 3 kinase, p38 SAP kinase, and NF-kappaB signal transduction pathways are involved in the survival and maturation of lipopolysaccharide-stimulated human monocyte-derived dendritic cells. **Blood**, v. 96, p. 1039-1046, 2000.

AYOUB, M. A.; COUTURIER, C.; LUCAS-MEUNIER, E.; ANGERS, S.; FOSSIER, P.; BOUVIER, M.; JOCKERS, R. Monitoring of ligand-independent dimerization and ligand induced conformational changes of melatonin receptors in living cells by Bioluminescence Resonance Energy Transfer. **J. Biol. Chem.**, v. 277, p. 21522-21528, 2002.

BANCHEREAU, J.; BRIERE, F.; CAUX, C.; DAVOUST, J.; LEBECQUE, S. ; LIU, Y-J. ; PULENDRAN, B.; PALUCKA, K. Immunobiology of Dendritic Cells. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 18, p. 767-811, 2000.

BARBUTO, J. A. M.; ENSINA, L. F., NEVES, A. R.; BERGAMI-SANTOS, P. C.; MARQUES, R.; LEITE, K. R. M. Dendritic-tumor hybrid cell therapeutic vaccination for metastatic melanoma and renal cell carcinoma patients. **Canc. Det. & Prev. online. In: International Symposium on Predictive Oncology and Intervention Strategies**; 2002 Feb; France. Paris. section on Metastasis. Disponível em: <<http://www.cancerprev.org/Journal/Issues/26/101/1011/4579> - 06/08/2003>. Acesso em: 14 jul. 2010.

BARBUTO, J. A. M.; ENSINA, L. F. C.; NEVES, A. R.; BERGAMI-SANTOS, P. C.; LEITE, K. R. M.; MARQUES, R.; COSTA, F.; MARTINS, S. C.; CAMARA-LOPES, L.

¹ De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

H.; BUZAID, A. C. Dendritic cell-tumor cell hybrid vaccination for metastatic cancer. **Cancer Immunol. Immunother.**, v. 53, n. 12, p. 1111-1118, 2004.

BARJAVEL, M. J.; MAMDOUH, Z.; RAGHBATE, N.; BAKOUCHE, O. Differential expression of the melatonin receptor in human monocytes. **J. Immunol.**, v. 160, p. 1191-1197, 1998.

BARRET, P.; CONWAY, S.; MORGAN, P. J. Digging deep – structure-function relationships in the melatonin receptor family. **J. Pineal Res.**, v. 35, p. 221-230, 2003.

BEDNAREK, I. W.; STACHOWICZ, N.; ROGALA, E.; NOWICKA, A.; KOTARSKI, J. Phenotype of dendritic cells generated from peripheral blood monocytes of patients with ovarian cancer. **Transpl. Proceed.**, v. 42, p. 3301-3305, 2010.

BENI, S. M.; KOHEN, R.; REITER, R. J.; TAN, D-X.; SHOHAMI, E. Melatonin-induced neuroprotection after closed head injury is associated with increased brain antioxidants and attenuated late-phase activation of NF- κ B and AP-1. **FASEB J.**, v. 18, n. 1, p. 149-151, 2004.

BEYAERT, R.; FIERS, W. Tumor Necrosis Factor and Lymphotoxin. In: MIRE-SLUIS, A.R.; THORPE, R. (Ed.). **Cytokines**. San Diego: Academic Press, 1998. p. 335-360.

BINKLEY, S. Circadian Rhythms. In: **The Pineal – endocrine and Nonendocrine Function**. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice Hall, 1988, Cap. 8, p. 116-127.

BONTKES, H. J.; RUIZENDAAL, J. J.; KRAMER, D.; SANTEGOETS, S. J.; SCHEPER, R. J.; de GRUJIL, T. D.; MEIJER, C. J. HOOIJBERG, E. Constitutively active STAT5b induces cytokine-independent growth of the acute myeloid leucemia derived MUTZ-3 cell line and accelerates its differentiation into mature dendritic cells. **J. Immunother.**, v. 29(2), p. 188-200, 2006.

BOOG, C. J.; KAST, W. M.; TIMMERS, H. T.; BOES, J.; DE WAAL, L. P.; MELIEF, C. J.; Abolition of specific immune response defect by immunization with dendritic cells. **Nature**, v. 318, n. 6041, p. 59-62, 1985.

BRYDON, L.; PETIT, L.; DELAGRANGE, P.; STROSBERG, A. D.; JOCKERS, R. Functional expression of MT2 (Mel1b) melatonin receptors in human PAZ6 adipocytes. **Endocrinology**, v. 142, n. 10, p. 4264-4271, 2001.

BULLWINKEL, J.; LÜDEMANN, A.; DEBARRY, J.; SINGH, P. B. Epigenotype switching at the CD14 and CD209 genes during differentiation of human monocytes to dendritic cells. **Epigenetics**, v. 6, n. 1, p. 45-51, 2011.

CHAN, A. S. L.; LAI, F.P.L.; LO, R. K. H.; VOYNO-YASENETSKAYA-VOYNO, T. A.; STANBRIDGE, E. J.; WONG, Y. H. Melatonin MT1 and MT2 receptors stimulate c-Jun N-terminal kinase via pertussis toxin-sensitive and –insensitive G proteins. **Cell. Signaling**, v. 14, p. 249-257, 2002.

CHEN, L. D.; LEAL, B. Z.; REITER, R. J.; ABE, M.; SWEREYNEK, E.; MELCHIORRI, D.; MELTZ, M. L.; POEGGELER, B. Melatonin inhibitory effect on growth of ME-180 human cervical cancer cells is not related to intracellular glutathione concentrations. **Cancer Lett.**, v. 91, p. 153-159, 1995.

CHOMARAT, P.; DANTIN, C.; BENNETT, L.; BANCHEREAU, J.; PALUCKA, A. K. TNF skews monocyte differentiation from macrophages to dendritic cells. **J. Immunol.**, v. 171, p. 2262-2269, 2003.

COHEN, P. A.; KOSKI, G. K.; CZERNIECKI, B. J.; BUNTING, K. D.; FU, X. Y.; WANG, Z.; ZHANG, W. J.; CARTER, C. S.; AWAD, M.; DISTEL, C. A.; NAGEM, H.; PAUSTIAN, C. C.; JOHNSON, T. D.; TISDALE, J. F.; SHU, S. STAT3- and STAT5-dependent pathways competitively regulate the pan-differentiation of CD34^{pos} cells into tumor-competent dendritic cells. **Blood**, v. 112, n. 5, p. 1832-1843, 2008.

COS, S.; FERNANDEZ, F.; SANCHES-BARCELÓ, E. J. Melatonin inhibits DNA synthesis in MCF-7 human breast cancer cells in vitro. **Life Sci.**, v. 58, p. 2447-2453, 1996.

CRAVENS, P. D.; HAYASHIDA, K.; DAVIS, L. S.; NANKI, T.; LIPSKY, P. E.; Human peripheral blood dendritic cells and monocyte subsets display similar chemokine receptor expression profiles with differential migratory responses. **Scand. J. Immunol.**, v. 65, p. 514-524, 2007.

DAULAT, A. M.; MAURICE, P.; FROMENT, C.; GUILLAUME, J-L.; BROUSSARD, C.; MONSARRAT, B.; DELAGRANGE, P.; JOCKERS, R. Purification and identification of G Protein-coupled receptor protein complexes under native conditions. **Mol. Cell. Prot.**, v. 6, p. 835-844, 2007.

DIEU-NOSJEAN, M-C.; VICARI, A.; LEBECQUE, S.; CAUX, C. Regulation of dendritic cell trafficking: a process that involves the participation of selective chemokines. **J. Leukoc. Biol.**, v. 66, p. 252-262, 1999.

DIJKGRAAF, E. M.; HEUSINKVELD, M.; TUMMERS, B.; VOGELPOEL, L. T. C.; GOEDMANS, R.; JHA, V.; NORTIER, J. W. R.; WELTERS, M. J. P.; KROEP, J. R.; van der BURG, S. H. Chemotherapy alters monocyte differentiation to favore generation of cáncer-supporting M2 macrophages in the tumor microenvironment. **Cancer Res.**, v. 73, n. 8, p. 2480-2492, 2013.

DILIOGLOU, S.; CRUSE, J. M.; LEWIS, R. E. Function of CD80 and CD86 on monocyte- and stem cell-derived dendritic cells. **Exp. Mol. Pathol.**, v. 75, p. 217-227, 2003.

DORSCH, M.; HOCK, H.; DIAMANTSTEIN, T. Tyrosine phosphorylation of SHC is induced by IL-3, IL-5 and GM-CSF. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 200, p. 562-568, 1994.

DUAN, W.; YANG, Y.; YI, W.; YAN, J.; LIANG, Z.; WANG, N.; LI, Y.; CHEN, W.; YU, S.; JIN, Z.; YI, D. New role of JAK2/STAT3 Signaling in endothelial cell oxidative stress injury and protective effect of melatonin. **Plos One**, v. 8, n. 3, p. 1-13, 2013.

EREN, E.; YATES, J.; Cwynarski, K.; PRESTON, S.; DONG, R.; GERMAIN, C.; LECHLER, R.; HUBY, R.; RITTER, M.; LOMBARDI, G. Location of major histocompatibility complex class II molecules in rafts on dendritic cells enhances the efficiency of t-cell activation and proliferation. **Scan. J. Immunol.**, v. 63, p. 7-16, 2006.

FONG, L.; ENGLEMAN, E. G. Dendritic cells in cancer immunotherapy. **Annu. Ver. Immunol.**, v. 18, p. 245-273, 2000.

GALLO, P. M.; GALLUCCI, S. The dendritic cell response to classic, emerging, and homeostatic danger signals. Implications for autoimmunity. **Front. Immunol.**, v. 4, p. 1-18, 2013.

GARCIA-MAURIÑO, S.; GONZALEZ-HABA, M. G.; CALVO, J. R.; RAFII-EL-IDRISSI, M.; SANCHEZ-MARGALET, V.; GOBERNA, R.; GUERRERO, J. M. Melatonin enhances IL-2, IL-6, and IFN- γ production by human circulating CD4+ cells. A possible nuclear receptor-mediated mechanism involving T helper type 1 lymphocytes and monocytes. **J. Immunol.**, v. 159, p. 574-581, 1997.

GARCIA-MAURIÑO, S.; POZO, D.; CARRILLO-VICO, A.; CALVO, J. R.; GUERRERO, J. M. Melatonin activates Th1 lymphocytes by increasing IL-12 production. **Life Sci.**, v. 65, p. 2143-2150, 1999.

GARCIA-MAURIÑO, S.; POZO, D.; CALVO, J. R.; GUERRERO, J. M. Correlation between nuclear melatonin receptor expression and enhanced cytokine production in human lymphocytic and monocytic cell lines. **J. Pineal Res.**, v. 29, n. 3, p. 129-137, 2000.

GAUTIER, G.; HUMBERT, M.; DEAUVIEAU, F.; SCUILLER, M.; HISCOTT, J.; BATES, E. E. M.; TRINCHIERI, G.; CAUX, C.; GARRONE, P. A type I interferon autocrine-paracrine loop is involved in Toll-like receptor-induced interleukin-12p70 secretion by dendritic cells. **J. Exp. Med.**, v. 201, p. 1435-1446, 2005.

GEIJTENBEEK, B. H.; TORENSMA, R.; VAN VLIET, S. J.; VAN DUIJNHOFEN, G. C. F.; ADEMA, G. J.; VAN KOOYK, Y.; FIGDOR, C. G. Identification of DC-SIGN, a Novel Dendritic Cell-Specific ICAM-3 Receptor that Supports Primary Immune Responses. **Cell**, v. 100, p. 575-585, 2000.

GONZALEZ, R. P. **Efeito da melatonina sobre a diferenciação, ativação e função de células dendríticas**. 2006. 104 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

GORIELY, S.; MOLLE, C.; NGUYEN, M.; ALBARANI, V.; HADDOU, N. O.; LIN, R.; DE WIT, D.; FLAMAND, V.; WILLENS, F.; GOLDMAN, M. Interferon regulatory factor 3 is involved in Toll-like receptor 4 (TLR4)-and TLR3-induced IL-12p35 gene activation. **Blood**, v. 107, p. 1078-1084, 2006.

GUERRERO, J. M.; REITER, R. J. Melatonin-Immune system relationships. **Curr. Top. Med. Chem.**, v. 2, n. 2, p. 167-179, 2002.

GUO, B.; ROTHSTEIN, T. L. B cell receptor (BCR) cross-talk: IL-4 creates an alternate pathway for BCR-induced ERK activation that is phosphatidylinositol 3-kinase independent. **J. Immunol.**, v. 174, p. 5375-5381, 2005.

HERNANDEZ, A.; BURGER, M.; BLOMBERG, B. B.; ROSS, W. A.; GAYNOR, J. J.; LINDNER, I.; CIROCCO, R.; MATHEW, J. M.; CARRENO, M.; JIN, Y.; LEE, K. P.; ESQUENAZI, V.; MILLER, J. Inhibition of NF-kappaB during human dendritic cell differentiation generates anergy and regulatory T-cell activity for one but not two human leukocyte antigen DR mismatches. **Human Immunol.**, v. 68, p. 715-729, 2007.

HILL, S. M.; BLASK, D. E. Effects of the pineal hormone melatonin on the proliferation and morphological characteristics of human breast cancer cells (MCF-7) in culture. **Cancer Res.**, v. 48, p. 6121-6126, 1988.

HOMMA, S.; SAGAWA, Y.; ITO, M.; OHNO, T.; TODA, G. Cancer immunotherapy using dendritic/tumor-fusion vaccine induces elevation of serum anti-nuclear antibody with better clinical responses. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 144, p. 41-47, 2006.

INOUE, Y.; OTSUKA, T.; NIRO, H.; NAGANO, S.; ARINOBU, Y.; OGAMI, E.; AKAHOSHI, M.; MIYAKE, K.; NINOMIYA, I.; SHIMIZU, S.; NAKASHIMA, H.; HARADA, M. Novel regulatory mechanisms of CD40-induced prostanoic acid synthesis by IL-4 and IL-10 in human monocytes. **J. Immunol.**, v. 172, p. 2147-2154, 2004.

ITO, T.; INABA, M.; INABA, K.; TOKI, J.; SOGO, S.; IGUCHI, T.; ADACHI, Y.; YAMAGUCHI, K.; AMKAWA, R.; VALLADEAU, J.; SAELAND, S.; FUKUHARA, S.; IKEHARA, S. A CD1a⁺/Cd11c⁺ subset of human blood dendritic cells is a direct precursor of Langerhans cells. **J. Immunol.**, v. 163, p. 1409-1419, 1999.

JANSSENS, S.; BURNS, K.; VERCAMMEN, E.; TSCHOPP, J.; BEYAERT, R. MyD88s, a splice variant of MyD88, differentially modulates NF- κ B and AP-1-dependent gene expression. **FEBS Letters**, v. 548, p. 103-107, 2003.

JIANG, H.; HARRIS, M. B.; ROTHMAN, P. IL-4/IL-13 signaling beyond JAK/STAT. **J. Allergy Clin. Immunol.**, v. 105, p. 1063-1070, 2000.

JUNG, F. J.; YANG, L.; HÄRTER, L.; INCI, I.; SCHNEITER, D.; LARDINOIS, D.; KELL, M.; WEDER, W.; KOROM, E. Melatonin *in vivo* prolongs cardiac allograft survival in rats. **J. Pineal Res.**, v. 37, p. 36-41, 2004.

KEENE, J. A.; FORMAN, J. Helper activity is required for the *in vivo* generation of cytotoxic T lymphocytes. **J. Exp. Med.**, v. 155, p. 768-782, 1982.

KINOSHITA, T.; YOKATA, T.; ARAI, K.; MIYAJIMA, A. Suppression of apoptotic death in hematopoietic cells by signalling through the IL-3/GM-CSF receptors. **EMBO J.**, v. 14, n. 2, p. 266-275, 1995.

KRIEHLER, E.; BAUER, W.; CHARBONNIER, A-S.; WINTER, D.; ARNATSCHEK, S.; TAMANDL, D.; SCHWEIFER, N.; STINGL, G.; MAURER, D. Balance between

NF- κ B and JNK/AP-1 activity controls dendritic cell life and death. **Blood**, v. 106, p. 175-183, 2005.

KUIPERS, H.; LAMBRECHT, B. N. Modification of dendritic cell function as a toll to prevent and treat allergic asthma. **Vaccine**, v. 23, p. 4577-4588, 2005.

LANIER, L. L.; O'FALLON, S.; SOMOZA, C.; PHILLIPS, J. H.; LINSLEY, P. S.; OKUMURA, K.; ITO, D.; AZUMA, M. CD80 (B7) and CD86 (B70) provide similar costimulatory signals for T Cell proliferation, Cytokine Production, and generation of CTL. **J. Immunol.**, v. 154, p. 97-105, 1995.

LANOIX, D.; OUELLETTE, R.; VAILLANCOURT, C. Expression of melatoninergic receptors in human placental choriocarcinoma cell lines. **Hum. Reprod.**, v. 21, n. 8, p. 1981-1989, 2006.

LAU, W. W. I.; NG, J. K. Y.; LEE, M. M. K.; CHAN, A. S. L.; WONG. Interleukin-6 autocrine signaling mediates melatonin MT 1/2 receptor-induced STAT3 Tyr705 phosphorylation. **J. Pineal Res.**, v. 52, p. 477-489, 2012.

LEEVERS, S. J.; MARSHALL, C. J. Activation of extracellular signal-regulated kinase, ERK-2, by p21 ras oncoprotein. **EMBO J.**, v. 11, p. 569-574, 1992.

LEHNER, T. Special regulatory T cell review: The resurgence of the concept of contrasuppression in immunoregulation. **Immunology**, v. 123, p. 40-44, 2008.

LI, G.; KIM, Y-J.; MANTEL, C.; BROXMEYER, H. E. P-Selectin enhances generation of CD14⁺ CD16⁺ dendritic-like cells and inhibits macrophage maturation from human peripheral blood monocytes. **J. Immunol.**, v. 171, p. 669-677, 2003.

LIN, Y-F.; LEE, H-M.; LEU, S-J.; TSAI, Y-H. The essentiality of PKC-alpha and PKC-beta1 translocation for CD14⁺ monocyte differentiation towards macrophages and dendritic cells, respectively. **J. Cell. Biochem.**, v. 102, p. 429-441, 2007.

LISSONI, P. Biochemotherapy with standard chemotherapies plus the pineal hormone melatonin in the treatment of advanced solid neoplasmas. **Pathologie Biologie**, v. 55, p. 201-204, 2007.

LISSONI, P.; CHILELLI, M.; VILLA, S.; CERIZZA, L.; TANCINI, G. Five years survival in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy alone or chemotherapy and melatonin: a randomized trial. **J. Pineal Res.**, v. 35, p. 12-15, 2003.

LIU, R.; ITOH, T.; ARAI, K-I.; WATANABE, S. Janus Kinase 2 play redundant roles for antiapoptotic activity of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. **Mol. Biol. Cell.**, v.10, p. 3959-3970, 1999.

LO, J.; CLARE-SALZLER, M. J. Dendritic cell subsets and type I diabetes: Focus upon DC-based therapy. **Autoimmunity Rev.**, v. 5, p. 419-423, 2006.

LOTUFO, C. M. C.; LOPES, C.; DUBOCOVICH, M. L.; FARSKY, S. H. P.; MARKUS, R. P. Melatonin and N-acetylserotonin inhibit leukocyte rolling and adhesion to rat microcirculation. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 430, p. 351-357, 2001.

LU, L.; THOMSON, A. W. Manipulation of dendritic cells for tolerance induction in transplantation and autoimmune disease. **Transplantation**, v. 73, p. S19-S22, 2002.

LUCHETTI, F.; BETTI, M.; CANONICO, B.; ARCANGELETTI, M.; FERRI, P.; GALLI, F.; PAPA, S. ERK MAPK activation mediates the antiapoptotic signaling of melatonin in UVB-stressed U937 cells. **Free Radic. Biol. Med.**, v. 46, n. 3, p. 339-351, 2009.

LYONS, A. B. Analysing cell division in vivo and in vitro using flow cytometric measurement of CFSE dye dilution. **J Immunol Methods**, v. 243, p. 147-154, 2000.

LYONS, A. B.; PARISH, C. R. Determination of lymphocyte division by flow cytometry. **J Immunol Methods**, v. 171, p. 131-137, 1994.

MACKENSEN, A.; HERBST, B.; CHEN, J. L.; KOHLER, G.; NOPPEN, C.; HERR, W.; SPAGNOLI, G. C.; CERUNDOLO, V.; LINDEMANN, A. Phase I study in melanoma patients of a vaccine with peptide-pulsed dendritic cells generated in vitro from CD34(+) hematopoietic progenitor cells. **Int. J. Cancer**, v. 86, n. 3, p. 385-392, May 2000.

MAESTRONI, G. J. M. Melatonin and immune-hematopoietic system. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 460, p. 395-405, 1999.

MARTIN, V.; HERRERA, F.; CARRERA-GONZALEZ, P.; GARCIA-SANTOS, G.; ANTOLIN, I.; RODRIGUEZ-BLANCO, J.; RODRIGUEZ, C. Intracellular signaling pathways involved in the cell growth inhibition of glioma cells by melatonin. **Cancer Res.**, v. 66, n. 2, p. 1081-1088, 2006.

MATSUMOTO, A.; HARAGUSHI, K.; TAKAHASHI, T.; AZUMA, T.; KANDA, Y.; TOMITA, K.; KUROKAWA, M.; OGAWA, S.; TAKAHASHI, K.; CHIBA, S.; KITAMURA, T. Immunotherapy against metastatic renal cell carcinoma with mature dendritic cells. **Int. J. Urol.**, v. 14, p. 277-283, 2007.

MILLER, S. C.; PANDI, P. S. R.; ESQUIFINO, A. I.; CARDINALI, D. P.; MAESTRONI, G. J. M. The role of melatonin in immuno-enhancement: potential application in cancer. **Int. J. Exp. Path.**, v. 87, p. 81-87, 2006.

MORSE, M. A.; ZHOU, L. J.; TEDDER, T. F.; LYERLY, H. K.; SMITH, C. Generation of dendritic cells in vitro from peripheral blood mononuclear cells with granulocyte-macrophage-colony stimulating factor, interleukin-4, and tumor necrosis factor-alpha for use in cancer immunotherapy. **Ann. Surg.**, v. 226, n. 1, p. 6-16, 1997.

NAKAHARA, T.; UCHI, H.; URABE, K.; CHEN, Q.; FURUE, M.; MOROI, Y. Role of c-Jun N-terminal kinase on lipopolysaccharide induced maturation of human monocyte-derived dendritic cells. **Int. Immunol.**, v. 16, p. 1701-1709, 2004.

NELMS, K.; KEEGAN, A. D.; ZAMORANO, J.; RYAN, J. J.; PAUL, W. E. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 17, p. 701-738, 1999.

NESTLE, F. O.; ALIJAGIC, S.; GILLIET, M.; SUN, Y.; GRABBE, S.; DUMMER, R.; BURG, G.; SCHADENDORF, D. Vaccination of melanoma patients with peptide-or tumor lysate-pulsed dendritic cells. **Nat. Med.**, v. 4, n. 3, p. 328-332, Mar 1998.

NEVES, A. R.; ENSINA, L. F. C.; ANSELMO, L. B.; LEITE, K. R. M.; BUZAID, A. C.; CÂMARA-LOPES, L. H.; BARBUTO, J. A. M. Dendritic cells derived from metastatic cancer patients vaccinated with allogeneic dendritic cell-autologous tumor cell hybrids express more CD86 and induce higher levels of interferon-gamma in midex lymphocyte reactions. **Cancer Immunol. Immunother.**, v. 54, p. 61-66, 2005.

OKAZAKI, T.; HONJO, T. The PD-1-PD-L pathway in immunological tolerance. **Trends Immunol.**, v. 27, n. 4, p. 195-201, 2006.

OOI, J.; TOJO, A.; ASANO, S.; SATO, Y.; OKA, Y. Thrombopoietin induces tyrosine phosphorylation of a common β subunit of GM-CSF receptor and its association with Stat-5 in TF-1/TPO cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 246, p. 132-136, 1998.

PALUCKA, K. A.; TAQUET, N.; SANCHEZ-CHAPUIS, F.; GLUCKMAN, J. C. Dendritic cells as the terminal stage of monocyte differentiation. **J Immunol.**, v. 160, n. 9, p. 4587-4595, 1998.

PEREIRA, S. R.; FAÇA, V. M. GOMES, G. G.; CHAMMAS, R.; FONTES, A. M.; COVAS, D. T.; GREENE, L. J. Changes in the proteomic profile during differentiation and maturation of human monocyte-derived dendritic cells stimulated with granulocyte macrophage colony stimulating factor/interleukin-4 and lipopolysaccharide. **Proteomics**, v. 5, p. 1186-1198, 2005.

PINHO, M. P.; MIGLIORI, I. K.; FLATOW, E. A.; BARBUTO, J. A. M. Dendritic cell membrane CD83 enhances immune responses by boosting intracellular calcium release in T lymphocytes. **J. Leukoc. Biol.**, v. 95, p. 1-8, 2014.

PIOLI, C.; CAROLEO, C.; NISTICO, G.; DORIA, G. Melatonin increases antigen presentation and amplifies specific and non specific signals for T-cell proliferation. **Int. J. Immunopharmac.**, v. 15, n. 4, p. 463-468, 1993.

POZO, D.; GARCIA-MAURIÑO, S.; GUERRERO, J. M.; CALVO, J. R. mRNA expression of nuclear receptor RZR/ROR α , melatonin membrane receptor MT1, and hydroxindole-O-methyltransferase in different populations of human immune cells. **J. Pineal Res.**, v. 37, p. 48-54, 2004.

PUIG-KRÖGER, A.; RELLOSO, M.; FERNÁNDEZ-CAPETILLO, O.; ZUBIAGA, A.; BERNABÉU, C.; CORBÍ, A. L. Extracellular signal-regulated protein kinase signaling pathway negatively regulates the phenotypic and functional maturation of monocyte-derived human dendritic cells. **Blood**, v. 98, n. 7, p. 2175-2182, 2001.

RADIO N.M.; DOCTOR, J.S.; WITT-ENDERBY P.A. Melatonin enhances alkaline phosphatase activity in differentiating human adult mesenchymal stem cells grown in osteogenic medium via MT2 melatonin receptors and the MEK/ERK (1/2) signaling cascade. **J. Pineal Res.**, v. 40, p. 332-342, 2006.

RADOGNA, F.; DIEDERICH, M.; GHIBELLI, L. Melatonin: A pleiotropic molecule regulating inflammation. **Biochem. Pharm.**, v. 80, p. 1844-1852, 2010.

RADOGNA, F.; PATERNOSTER, L.; DE NICOLA, M.; CERELLA, C.; AMMENDOLA, S.; BEDINI, A.; TARZIA, G.; AQUILANO, K.; CIRIOLO, M.; GHIBELLI, L. Rapid and transiente stimulation of intracelular reactive oxygen species by melatonin in normal and tumor leukocytes. **Toxicol. Applied Pharmacol.**, v. 239, p. 37-45, 2009.

RAMOS, R. N.; CHIN, L. S.; SANTOS, A. P. S. A.; BERGAMI-SANTOS, P. C.; LAGINHA, F.; BARBUTO, J. A. M. Monocyte-derived dendritic cells from breast cancer patients are biased to induce CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. **J. Leukoc. Biol.**, v. 92, p. 673-682, 2012.

RELLOSO, M.; PUIG-KRÖGER, A.; PELLO, O. M.; RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, J. L.; ROSA, G.; LONGO, N.; NAVARRO, J.; MUÑOZ-FERNÁNDEZ, M. A.; SÁNCHEZ-MATEOS, P.; CORBÍ, A. L. DC-SIGN (CD209) Expression is IL-4 Dependent and is negatively Regulated by IFN, TGF- β , and anti-inflammatory agentes. **J. Immunol.**, v. 168, p. 2634-2643, 2002.

RIDGWAY, W.; FASSÒ, M.; FATHMAN, C. G. Following antigen challenge, T cells up-regulate cell surfasse expression of CD4 *in vitro* and *in vivo*. **J. Immunol.**, v. 161, p. 714-720, 1998.

ROJAS-CANALES, R.; KRISHNAN, R.; JESSUP, C. F.; COATES, P. T. Early exposure of interferon- γ inhibits signal transducer and activator of transcription-6 and nuclear fator κ B activation in a short-term monocyte-derived dendritic cell culture promoting 'FAST' regulatory dendritic cells. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 167, p. 447-458, 2011.

ROLLING, C.; TRETON, D.; PELLEGRINI, S.; GALANAUD, P.; RICHARD, Y. IL4 and IL13 receptor share the γ c chain and activate STAT6, STAT3 e STAT5 proteins in normal human B cells. **FEBS Lett.**, v. 393, p. 53-56, 1996.

ROSEN, R.; HU, D. N.; CHEN, M.; MCCORMICK, S. A.; WALSH, J.; ROBERTS, J. E. Effects of melatonin and its receptor antagonista on retinal pigment epithelial cells against hydrogen peroxide damage. **Molec. Vision**, v. 18, p. 1648-1648, 2012.

SAKURAI, Y.; ARAI, K-I.; WATANABE, S. In vitro análisis of STAT5 activation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor. **Genes to cells**, v. 5, p. 937-947, 2000.

SCHALLENBERG, M.; CHARALAMBOUS, P.; THANOS, S. GM-CSF regulates the ERK1/2 pathways and protects injured retinal ganglion cells from induced death. **Exp. Eye Res.**, v. 89, p. 665-677, 2009.

SHUAI, K.; STARK, G. R.; KERR, I. M.; DARNELL, J. E. Polypeptide signaling to the nucleus through tyrosine phosphorylation of Jak and Stat proteins. **Nature**, v. 366, p. 580-583, 1993.

STEINMAN, R. M., et al. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. V. Purification of spleen dendritic cells, new surface markers, and maintenance *in vitro*. **J. Exp. Med.**, v. 149, p. 1-16, 1979.

STEINMAN, R. M.; ADAMS, J. C.; COHN, Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. IV. Identification and distribution in mouse spleen. **J. Exp. Med.**, v. 141, p. 804-820, 1975.

STEINMAN, R. M.; COHN, Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. **J. Exp. Med.**, v. 137, p. 1142-1162, 1973.

STEINMAN, R. M.; COHN, Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. II. Functional properties *in vitro*. **J. Exp. Med.**, v. 139, p. 380-397, 1974.

STEINMAN, R. M.; LUSTIG, D. S.; COHN, Z. A. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. III. Functional properties *in vivo*. **J. Exp. Med.**, v. 139, p. 1431-1445, 1974.

STRUNK, D.; RAPPERSBERGER, K.; EGGER, C.; STROBL, H.; KRÖMER, E.; ELBE, A.; MAURER, D.; STINGL, G. Generation of human dendritic cells/langerhans cells from circulating CD34+ hematopoietic progenitor cells. **Blood**, v. 87, n. 4, p. 1292-1302, Feb. 15, 1996.

SUMMERS, K. L.; HOCK, B. D.; MCKENZIE, J. L.; HART, D. N. J. Phenotypic characterization of five dendritic cell subsets in human tonsils. **Am. J. Pathol.**, v. 159, p. 285-295, 2001.

SVAJGER, U.; OBERMAJER, N.; ANDERLUH, M.; KOS, J.; JERAS, M. DC-SIGN ligation greatly affects dendritic cell differentiation from monocytes compromising their normal function. **J. Leukoc. Biol.**, v. 89, p. 893-905, 2011.

SVENSSON, A.; ADAMSON, L.; PISA, P.; PETERSSON, M.; HANSSON, M. Monocyte enriched apheresis for preparation of dendritic cells (DC) to be used in cellular therapy. **Transfus. Apher. Sci.**, v. 33, p. 165-173, 2005.

THOMAS-KASKEL, A-K.; WALLER, C. F.; SHULTZE-SEEMANN, W.; VEELKEN, H. Immunotherapy with dendritic cells for prostate cancer. **Int. J. Cancer**, v. 121, p. 467-473, 2007.

THORPE, R. Interleukin-2. In: MIRE-SLUIS, A. R.; THORPE, R. (Ed.). **Cytokines**. San Diego: Academic Press, 1998. p. 19-33.

THURNER, B.; RÖDER, C.; DIECKMANN, D.; HEUER, M.; KRUSE, M.; GLASER, A.; KEIKAVOUSSI, P.; KÄMPGEN, E.; BENDER, A.; SCHULER, G. Generation of

large number of fully mature and stable dendritic cells from leukapheresis products for clinical application. **J. Immunol. Methods**, v. 223, p. 1-15, 1999.

TZE, L. E.; HORIKAWA, K.; DOMASCHENZ, H.; HOWARD, D. R.; ROOTS, C. M.; RIGBY, R. J.; WAY, D. A.; OHMURA-OSHINO, M.; ISHIDO, S.; ANDONIOU, S. E.; DEGLI-ESPOSTI, M. A.; GOODNOW, C. C. CD83 increases MHC II and CD86 on dendritic cells by opposing IL-10-driven MARCH1-mediated ubiquitination and degradation. **J. Exp. Med.**, v. 208, n. 1, p. 149-165, 2011.

WANG, Y.; MALABARBA, M. G.; NAGY, Z. S.; KIRKEN, R. A. Interleukin-4 regulates phosphorylation of serine 756 in the transactivation domain of Stat6. **J. Biol. Chem.**, v. 279, p. 25196-25203, 2004.

WESTERS, T. M.; OSSENKOPPELE, G. J.; van de LOOSDRECHT, A. A. Dendritic cell-based immunotherapy in acute and chronic myeloid leukaemia. **Biomed. Pharmacother.**, v. 61, n. 6, p. 306-314, 2007.

WHITE, A. L.; TUTT, A. L.; JAMES, S.; WILKINSON, K. A.; CASTRO, F. V. V.; DIXON, S. V.; HITCHCOCK, J.; KHAN, M.; AL-SHAMKHANI, A.; CUNNINGHAM A. F.; GLENNIE M. J.; Ligation of CD11c during vaccination promotes germinal centre induction and robust humoral responses without adjuvant. **Immunology**, v.131, p. 141-151, 2010.

XIE, J.; QIAN, J.; YANG, J.; WANG, S.; FREEMAN III, M. E.; YI, Q. Critical roles of Raf/MEK/ERK and PI3K/AKT signaling and inactivation of p38 MAP kinase in the differentiation and survival of monocyte-derived immature dendritic cells. **Exp. Hematol.**, v. 33, p. 564-572, 2005.

YANG, Y.; DUAN, W.; JIN, Z.; YI, W.; YAN, J.; ZHANG, S.; WANG, N.; LIANG, Z.; LI, Y.; CHEN, W.; YI, D.; YU, S. JAK2/STAT3 activation by melatonin attenuates the mitochondrial oxidative damage induced by myocardial ischemia/reperfusion injury. **J. Pineal Res.**, v. 55, p. 275-286, 2013.

YOUNG, L. J.; WILSON, N. S.; SCHNORRER, P.; PROIETTO, A.; TEN BROEKE, T.; MATSUKI, Y.; MOUNT, A. M.; BELZ, G. T.; O'KEEFFE, M.; OHMURA-HOSHINO, M.; ISHIDO, S.; STORVOGEL, W.; HEATH, W. R.; SHORTMAN, K.; VILLADANGOS, J. A. Differential MHC class II synthesis and ubiquitination confers distinct antigen-presenting properties on conventional and plasmacytoid dendritic cells. **Nat. Immunol.**, v. 9, n. 11, p. 1244-1252, 2008.

ZHANG, L. F.; OKUMA, K.; TANAKA, R.; KODAMA, A.; KONDO, K.; ANSARI, A. A.; TANAKA, Y. Generation of mature dendritic cells with unique phenotype and function by *in vitro* short-term culture of human monocytes in the presence of Interleukin-4 and Interferon- β . **Exp. Biol. Med.**, v. 233, p. 721-731, 2008.

ZHENG, Y.; MANZOTTI, C. N.; LIU, M.; BURKE, F.; MEAD, K. I.; SANSOM, D. M. CD86 and CD80 differentially modulate the suppressive function of human regulatory T cells. **J. Immunol.**, v. 172, p. 2778-2784, 2004.

ZHOU, L. J.; TEDDER, T. F. CD14+ blood monocytes can differentiate into functionally mature CD83+ dendritic cells. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 93, p. 2588-2592, 1996.