



Fachliche Stellungnahme der DGHO Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie e.V. zum Modul 2.5. „Klinischer Überblick zum Nachweis der Funktionalität und Risiken der Stammzellzubereitung“ (Genehmigung von Stammzellzubereitungen – Common Technical Document) des Paul-Ehrlich-Institutes

*Gerhard Ehninger, Alexander Platz, Kristina Hölig, Martin Bornhäuser
(Dresden, 10. Januar 2008)*

DGHO Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie e.V.
Albrechtstraße 10 Hof
10117 Berlin
Tel. 030/278 760 89 0
Fax. 030/278 760 89 18
Email: dgho-berlin@dgho.de

Die Entwicklung der Blutstammzelltransplantation wurde nach dem 2. Weltkrieg vom Gedanken stimuliert, eine wirksame Behandlung gegen Strahlenbelastungen nach Atombombenabwürfen oder Unfällen in Kernreaktoren und die damit verbundene Schädigung der Blutbildung zu entwickeln. 1956 wurde erstmals von Barnes et al. im Mausmodell [1] über die erfolgreiche Übertragung von Knochenmark nach supraletaler Bestrahlung berichtet. Thomas et al. beschrieb 1957 die ersten Ergebnisse der Knochenmarkübertragung beim Menschen nach supraletaler Bestrahlung [2]. Unglücklicherweise wurden erfolgreiche Übertragungen nur bei Patienten beobachtet, die ein Transplantat von einem eineiigen Zwilling erhielten [3].

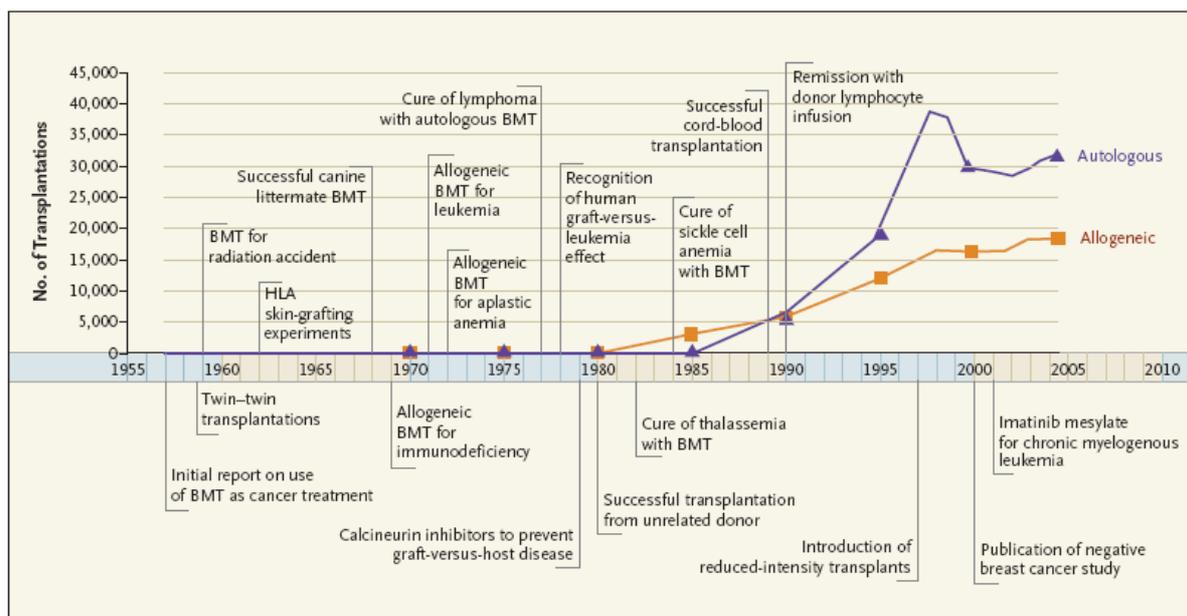
In den folgenden Jahren wurde erkannt, dass Immunzellen im Knochenmark eine Reaktion im Empfängergewebe hervorriefen, die als Wasting-Syndrom beschrieben wurde [4]. Diese Erkrankung wird heute als Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) bezeichnet [5, 6]. Eine, wenn nicht die wichtigste Erkenntnis, war der Nachweis, dass genetische Faktoren für diese Reaktion in dem von Dausset und van Rood [7, 8] beschriebenen Humanleukozytenantigenensystem (HLA) liegen. Dies war ein wichtiger Ansatz, die frühen katastrophalen Ergebnisse der Transplantation in den 50er und 60er Jahren zu verbessern. Keiner der 200 Patient, die damals ein Transplantat empfangen, hatte überlebt [9].

In den frühen 70er Jahren wurden serologische Testverfahren für die HLA-Typisierung eingeführt und an klinischen Beispielen gezeigt, dass Patienten mit sonst fatalen Erkrankungen durch eine Knochenmarkübertragung langfristig krankheitsfrei wurden [10-12]. 1968 und 1969 wurden drei Kinder mit Immundefekten erfolgreich transplantiert. Das Seattler Transplantationsteam konnte 1972 von erfolgreichen Transplantationen bei Patienten mit schwerer aplastischer Anämie berichten [13].

Die Periode von 1976 bis 1985 war charakterisiert durch eine rasche Zunahme der Transplantationen in sich bald etablierenden Transplantationszentren und einer Verbesserung der supportiven Therapien nach Knochenmarktransplantation. Das Verfahren wurde bei einer Vielzahl weiterer maligner und nicht maligner Erkrankungen angewendet. Das bessere Management führte auch dazu, dass Patienten in früheren Krankheitsphasen behandelt wurden. 1979 wurde der erste Bericht über Transplantationen bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie in erster Remission vorgelegt [14].

Seit den 80er Jahren ist die Blutstammzelltransplantation ein akzeptiertes Verfahren für die Behandlung vieler maligner und genetischer Erkrankungen. Multiple Daten über verschiedene Aspekte der Transplantation führten zu einer Verbesserung des Behandlungsverfahrens. E. D. Thomas, der Nobelpreisträger von 1990, beschreibt in einer Übersichtsarbeit über historische Schritte in der Entwicklung der Blutstammzelltransplantation besonders die Bedeutung der Einführung von antiviralen CMV-Strategien, die

Vermeidung der Bestrahlung durch Einführung medikamentöser Konditionierungsverfahren, die Verwendung von Spenderlymphozyten zur erfolgreichen Behandlung von Leukämierезидивen, die Gewinnung und Verabreichung von peripheren Blutstammzellen oder Nabelschnurrestblut, Fortschritte in der Immungenetik mit Entwicklung von molekularen Typisierungsstrategien und letztendlich den Aufbau eines weltweiten Systems von freiwilligen unverwandten Blutstammzellspendern [15]. Die wichtigen Meilensteine in der Entwicklung der Blutstammzelltransplantation wurden in einem Review von F. Appelbaum [16] dargestellt. Weltweit werden heute jährlich 50 000 Patienten mit einer Blutstammzelltransplantation behandelt. Die Indikationen zur Blutstammzelltransplantation in Deutschland finden sich auf der Internetseite der DAG-KBT unter <http://www.dag-kbt.de/inkat/Indikationskatalog>, die Behandlungsergebnisse werden in jährlichen Berichten des DRST Deutsches Register für Stammzelltransplantationen http://www.drst.de/tx_activity.html veröffentlicht.



Timeline Showing Numbers of Bone Marrow Transplants and Advances in the Field, 1957–2006.

BMT denotes bone marrow transplantation, and HLA human leukocyte antigen. Data are from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research.

Abbildung aus [17]

Voruntersuchungen von Blutstammzellspendern

Die Anforderungen an Spender, um sowohl Spender- und Empfängersicherheit weitest möglich sicher zu stellen, wurden in einschlägigen Richtlinien der Bundesärztekammer für die periphere Blutstammzellspende, Nabelschnurrestblut und die unverwandte Spende

bereits vor 15 Jahren beschrieben. In einer aktuellen Übersichtsarbeit werden die Anforderungen aus medizinischer Sicht zusammengefasst [18]. Verschiedene EU-Direktiven wurden am 1. August 2007 durch die Novellierung des AMG, Änderungen im Transplantationsgesetz (Gewebegesetz) und Änderungen im Transfusionsgesetz in das Deutsche Recht umgesetzt. Auf dem Verordnungsweg werden 2008 weitere Regeln durch die Gewebeverordnung (Entwurf TPG-Gewebeverordnung) und in der Änderung der Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung vorgegeben. Die gesetzlichen Grundlagen und die geplanten Veränderungsänderungen werden zur Zeit in einem durch die DGHO und die DKMS Deutsche Knochenmarkspenderdatei gGmbH beauftragten juristischen Fachgutachten für den Bereich der hämatopoietischen Blutstammzelltransplantation zusammengefasst.

Stammzellquellen

Hämatopoietische Blutstammzellen zur Transplantation können aus Knochenmark, peripheren Blut nach Stimulation mit Wachstumsfaktoren oder aus Nabelschnurrestblut gewonnen werden.

Knochenmarkentnahme

Knochenmark wird durch multiple Punktionen vom hinteren Beckenkamm entnommen. Zusätzlich kann nach Maßgabe des entnehmenden Arztes der vordere Beckenkamm verwendet werden. Die Entnahme wird üblicherweise in Allgemeinanästhesie durchgeführt, regionale Anästhesiemaßnahmen wurden beschrieben. Das Ziel ist bis zu 10-20 ml Knochenmarkblutgemisch pro Kilogramm Spendergewicht (bzw. $2-4 \times 10^8$ kernhaltige Zellen pro Kilogramm Patientengewicht) zu entnehmen. Das Knochenmarkblutgemisch wird über grobmaschige Filter von größeren Knochenmarkpartikeln und Fett getrennt und nach entsprechenden Untersuchungen dem Patienten direkt oder nach Kryokonservierung übertragen. Der Blutverlust wird entweder über kolloidale Lösungen oder über autologe Erythrozyten, die mindestens sieben Tage vor der Entnahme entnommen wurden, ausgeglichen. Die Eigenblutübertragung und postoperative Versorgung wird nach ärztlicher Einschätzung durchgeführt. Die postoperative Überwachung erfolgt mit Blutdruck- und Pulskontrolle, ausreichende Analgesie zur Schmerzkontrolle bis zur sicheren Mobilisierung und Nahrungsmittelaufnahme. Spender, die diese Kriterien nicht innerhalb von 6-8 Stunden erreichen, werden bis zur Stabilisierung stationär weiter überwacht. Üblicherweise können Spender spätestens nach 24 Stunden nach Entnahme entlassen werden [19-21].

Periphere Blutstammzellgewinnung

Periphere Blutstammzellspender werden mit G-CSF (Filgrastim oder Lenograstim) nach Dosierungsempfehlungen des Herstellers durch subkutane Injektion des Medikaments vorbehandelt. Am vierten oder fünften Tag der Behandlung mit G-CSF wird eine periphere Blutstammzellsammlung durch eine Zytapherese durchgeführt [22-25]. Das erste Aphereseprodukt kann bei $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ für maximal 72 Stunden aufbewahrt werden. Wird das üblicherweise angestrebte Ergebnis von 5×10^6 CD34+ Zellen pro Kilogramm Patientenkörpergewicht nicht erreicht und bestehen keine Kontraindikationen hinsichtlich der Spendertauglichkeit, wird die G-CSF-Applikation fortgesetzt und eine zweite Apherese am Folgetag durchgeführt. Für Stammzellapheresen werden normalerweise Blutzellseparatoren mit kontinuierlichem Durchfluss verwendet. Der venöse Zugang sollte in der Regel über periphere Venen erfolgen, ggf. kann die Anlage eines zentral venösen Katheters erforderlich sein. Die Antikoagulation erfolgt mit ACD, zusätzlich kann Heparin appliziert werden. Die Verlaufparameter des Aphereseverfahrens können je nach Typ des Blutzellseparators entweder manuell oder automatisch angepasst werden. Das maximal prozessierte Blutvolumen pro Apherese sollte das 4-fache Spenderblutvolumen nicht überschreiten.

Während der G-CSF Mobilisierung ist auf eine ausreichende Schmerzmedikation zu achten (üblicherweise Acetaminophen oder Equivalente).

Nabelschnurrestblut

Die Aufbereitung und die Kryokonservierung von Nabelschnurrestblut (CBU) sind kritische Schritte um ausreichend Blutstammzellen für eine Transplantation zu erhalten [26-29]. Unterschiedliche Verfahren der Volumenreduktion oder zusätzlichen Zellepletion werden verwendet [30, 31]. Bei der Wahl der verwendeten Methode ist auf eine geringe Verlustrate von CD34+ Vorläuferzellen zu achten.

Als Kryokonservierung hat sich eine Präparation mit 10% DMSO und 3%igem humanen Albumin oder Eigenplasma bei hoher Zellkonzentration bewährt [32]. Die Kryopräservierung wird mit einem computerkontrolliertem Gefriervorgang mit einer Rate von $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ durchgeführt.

Die Entfernung von DMSO nach dem Auftauvorgang unmittelbar vor Übertragung erscheint nicht zwingend erforderlich zu sein und führt zu einem deutlichen Verlust von Blutvorläuferzellen [33, 34].

Über die unveränderte Viabilität der kryokonservierten Produkte wurde auch nach einer Lagerzeit von 15 Jahren berichtet [35].

Die Transplantation von CBU wird nun auch bei Erwachsenen als sicheres Therapieverfahren angesehen. Es wurden vergleichbare Ergebnisse wie nach der Übertragung von Knochenmark oder peripheren Blutstammzellen eines unverwandten Spenders berichtet [36, 37]. Günstig für den Verlauf scheint die Wahl einer CBU mit mehr als 1×10^7 /kg nukleären Zellen pro Kilogramm Empfänger zu sein. Die Graft-versus-Host Reaktionen sind trotz geringerer Übereinstimmung in den HLA Merkmalen weniger ausgeprägt. Infektiöse Komplikationen und ein komplettes oder inkomplettes Engraftment stehen bei der TRM (transplantation related mortality) im Vordergrund. Die Behandlungsergebnisse können möglicherweise weiter verbessert werden, wenn die Anzahl der übertragenen nukleären Zellen durch Verabreichung von zwei oder mehreren CBU erhöht wird oder eine dosisreduzierte Konditionierung eingesetzt wird, die bei einem Non-Engraftment eine autologe Regeneration ermöglicht [29, 38-41].

Transplantatmanipulation

Zur Vermeidung oder Reduktion der Graft-versus-Host-Erkrankung wurden verschiedene Verfahren zur Reduktion oder Elimination von T-Zellen im Transplantat (in vitro Depletion) oder durch Verabreichung von monoklonalen Antikörper nach Gabe eines unveränderten Transplantates (in vivo Depletion) untersucht. Neben einer Positivselektion von CD34 Stammzellen werden antikörpervermittelte Depletionsverfahren verschiedener T-Zell-Subpopulationen durchgeführt [42-49].

Insgesamt konnte mit diesen Verfahren eine Verminderung der Graft-versus-Host-Erkrankung erreicht werden. Das Gesamtüberleben wurde aber nicht signifikant beeinflusst, da nach T-Zelldepletionsverfahren eine verlängerte Immunkompetenz mit Häufung von Infektionen und teilweise auch ein erhöhtes Risiko von Transplantatversagen oder Rezidiven der Grunderkrankung beobachtet wurde [50].

Eine effektive T-Zelldepletion ist für die erfolgreiche Transplantation von Zellen mit einem Mismatch in mehreren HLA-Loci bis hin zu einer Identität in nur einem Haplotypen (Haploidente Transplantation) zwingend erforderlich. Die Ergebnisse mit einer alleinigen intensivierten Pharmakoprophylaxe der GvHD waren mit einer hohen transplantationsbezogenen Letalität belastet und werden daher nur noch selten durchgeführt [51].

Die sogenannte haploidente Blutstammzelltransplantation wurde in den 90er Jahren vor allem unter Verwendung von CD34+ selektierten Blutstammzellen entwickelt [45, 52, 53]. Die dabei beobachteten Komplikationen während der langen Immunsuppression können eventuell durch selektivere Depletionsverfahren (z. B. Anti-CD3, Anti-CD19) mit Erhalt der NK-Population reduziert oder vermieden werden [54, 55].

Gewebetypisierung als wichtige Komponente der Spenderauswahl

Der zweite deutschen Konsensus zur immungenetischen Spenderauswahl bei allogener Blutstammzelltransplantation wurde 2001 publiziert [56]. Darin werden die Suchstrategien, die erforderlichen Kompatibilitätstestungen, die zu untersuchenden Loci und akzeptable HLA-Mismatch-Konstellationen in Zusammenhang mit der zugrunde liegenden Erkrankung, Spendertyp und Konditionierungsregimen beschrieben.

Grundsätzlich sollte bei nicht bösartigen Erkrankungen eine maximal mögliche Übereinstimmung aufgrund molekularer Testuntersuchung zwischen Spender und Empfänger angestrebt werden. Neben den Klasse I Merkmalen HLA-A, - B, - C sind das Klasse II Merkmale DR hochauflösend zu untersuchen. Der zusätzliche Gewinn einer DP- und DQ-Typisierung wird überwiegend als marginal angesehen. Bei mehreren vorhandenen Spendern sollte diese Untersuchung aber zusätzlich durchgeführt werden. Bei malignen Erkrankungen oder fortgeschrittenen Erkrankungsstadien ist der Grad der Übereinstimmung weniger bedeutsam, da durch Verstärkung des Graft-versus-Leukämieeffektes die zusätzlichen Risiken einer stärkeren GvH-Reaktion ausbalanciert werden können [57-61].

Bei Nabelschnurbluttransplantationen werden bessere Ergebnisse bei einer höhergradigen HLA-Übereinstimmung erzielt, in Abhängigkeit vom Alter des Patienten und der zugrunde liegenden Erkrankung sind auch höhergradige Mismatch-Konstellationen verantwortbar.

Eine Differenz in der Hälfte der HLA-Merkmale wird bei der haploidenten Transplantation konzeptionell akzeptiert. Die massiv erhöhte GvH-Rate muss aber durch eine effektive T-Zelldepletion wirksam vermieden werden.

Die Bedeutung von nicht HLA-Antigenen für die Spenderauswahl wird aktuell in wissenschaftlichen Projekten untersucht [62-66]. Eine Untersuchung dieser Gen-Loci wird aber noch nicht routinemäßig in der klinischen Spenderauswahl eingesetzt.

Literaturverzeichnis

1. BARNES, D. W., CORP, M. J., LOUITIT, J. F., NEAL, F. E.: Treatment of murine leukaemia with X rays and homologous bone marrow; preliminary communication. *Br. Med. J.* **2**, 626-627, **1956**.
2. THOMAS, E. D., LOCHTE, H. L., Jr., LU, W. C., FERREBEE, J. W.: Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* **257**, 491-496, **1957**.
3. THOMAS, E. D., LOCHTE, H. L., Jr., CANNON, J. H., SAHLER, O. D., FERREBEE, J. W.: Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J. Clin. Invest.* **38:1709-16.**, 1709-1716, **1959**.
4. BILLINGHAM, R. E., BRENT, L.: Acquired tolerance in newborn mice. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **69**, 678-680, **1957**.
5. THOMAS, E. D., FEFER, A.: Graft-versus-host disease. *N. Engl. J. Med.* **301**, 556, **1979**.
6. WEISDORF, D.: GVHD the nuts and bolts. *Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* **2007:62-7.**, 62-67, **2007**.
7. DAUSSET, J.: [Iso-leuko-antibodies.]. *Acta Haematol.* **20**, 156-166, **1958**.
8. VAN ROOD, J. J., EERNISSE, J. G., VAN, L. A.: Leucocyte antibodies in sera from pregnant women. *Nature.* **181**, 1735-1736, **1958**.
9. BORTIN, M. M.: A compendium of reported human bone marrow transplants. *Transplantation.* **9**, 571-587, **1970**.
10. GATTI, R. A., MEUWISSEN, H. J., ALLEN, H. D., HONG, R., GOOD, R. A.: Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet.* **2**, 1366-1369, **1968**.
11. BACH, F. H., ALBERTINI, R. J., JOO, P., ANDERSON, J. L., BORTIN, M. M.: Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet.* **2**, 1364-1366, **1968**.
12. DE, K. J., VAN BEKKUM, D. W., DICKE, K. A., DOOREN, L. J., RADL, J., VAN ROOD, J. J.: Transplantation of bone-marrow cells and fetal thymus in an infant with lymphopenic immunological deficiency. *Lancet.* **1**, 1223-1227, **1969**.
13. THOMAS, E. D., STORB, R., FEFER, A., SLICHTER, S. J., BRYANT, J. I., BUCKNER, C. D., NEIMAN, P. E., CLIFT, R. A., FUNK, D. D., LERNER, K. E.: Aplastic anaemia treated by marrow transplantation. *Lancet.* **1**, 284-289, **1972**.
14. THOMAS, E. D., BUCKNER, C. D., CLIFT, R. A., FEFER, A., JOHNSON, F. L., NEIMAN, P. E., SALE, G. E., SANDERS, J. E., SINGER, J. W., SHULMAN, H., STORB, R., WEIDEN, P. L.: Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission. *N. Engl. J. Med.* **301**, 597-599, **1979**.
15. THOMAS, E. D.: Landmarks in the development of hematopoietic cell transplantation. *World J. Surg.* **24**, 815-818, **2000**.

16. APPELBAUM, F. R.: Hematopoietic-cell transplantation at 50. N. Engl. J. Med. **357**, 1472-1475, **2007**.
17. APPELBAUM, F. R.: Hematopoietic-cell transplantation at 50. N. Engl. J. Med. **357**, 1472-1475, **2007**.
18. HOROWITZ, M. M., CONFER, D. L.: Evaluation of hematopoietic stem cell donors. Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program. :**469-75.**, 469-475, **2005**.
19. THORNE, A. C., STEWART, M., GULATI, S. C.: Harvesting bone marrow in an outpatient setting using newer anesthetic agents. J. Clin. Oncol. **11**, 320-323, **1993**.
20. THORNE, A. C., MALBIN, K. F., JAIN, M., STEWART, M., GULATI, S. C.: Autologous bone marrow harvesting in outpatients. J. Clin. Anesth. **8**, 551-556, **1996**.
21. ROWLEY, S. D., DONALDSON, G., LILLEBY, K., BENSINGER, W. I., APPELBAUM, F. R.: Experiences of donors enrolled in a randomized study of allogeneic bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation. Blood. **97**, 2541-2548, **2001**.
22. ROWLEY, S. D., DONALDSON, G., LILLEBY, K., BENSINGER, W. I., APPELBAUM, F. R.: Experiences of donors enrolled in a randomized study of allogeneic bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation. Blood. **97**, 2541-2548, **2001**.
23. COTTLER-FOX, M. H., LAPIDOT, T., PETIT, I., KOLLET, O., DIPERSIO, J. F., LINK, D., DEVINE, S.: Stem cell mobilization. Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program. :**419-37.**, 419-437, **2003**.
24. SCHREINER, T., WIESNETH, M., KRUG, E., KALINOVA, J., BUCHELE, H., MACCARI, B., ERNE, E., BISCHOF, C., DE, R. S.: Collection of allogeneic peripheral blood progenitor cells by two protocols on an apheresis system. Transfusion. **38**, 1051-1055, **1998**.
25. WIESNETH, M., SCHREINER, T., FRIEDRICH, W., BUNJES, D., DUNCKER, C., KRUG, E., MACCARI, B., MULLER, S., NOWAK, S., KUBANEK, B.: Mobilization and collection of allogeneic peripheral blood progenitor cells for transplantation. Bone Marrow Transplant. **21 Suppl 3:S21-4.**, S21-S24, **1998**.
26. RUBINSTEIN, P., ADAMSON, J. W., STEVENS, C.: The Placental/Umbilical Cord Blood Program of the New York Blood Center. A progress report. Ann. N. Y. Acad. Sci. **872:328-34; discussion 334-5.**, 328-334, **1999**.
27. STEVENS, C. E., GLADSTONE, J., TAYLOR, P. E., SCARADAVOU, A., MIGLIACCIO, A. R., VISSER, J., DOBRILA, N. L., CARRIER, C., CABBAD, M., WERNET, P., KURTZBERG, J., RUBINSTEIN, P.: Placental/umbilical cord blood for unrelated-donor bone marrow reconstitution: relevance of nucleated red blood cells. Blood. **100**, 2662-2664, **2002**.
28. BROXMEYER, H. E.: Biology of cord blood cells and future prospects for enhanced clinical benefit. Cytotherapy. **7**, 209-218, **2005**.
29. BROXMEYER, H. E., SROUR, E., ORSCHELL, C., INGRAM, D. A., COOPER, S., PLETT, P. A., MEAD, L. E., YODER, M. C.: Cord blood stem and progenitor cells. Methods Enzymol. **419:439-73.**, 439-473, **2006**.
30. TAKAHASHI, T. A., REBULLA, P., ARMITAGE, S., VAN, B. J., EICHLER, H., KEKOMAKI, R., LETOWSKA, M., WAHAB, F., MOROFF, G.: Multi-laboratory

- evaluation of procedures for reducing the volume of cord blood: influence on cell recoveries. *Cytotherapy*. **8**, 254-264, **2006**.
31. EICHLER, H., KERN, S., BECK, C., ZIEGER, W., KLUTER, H.: Engraftment capacity of umbilical cord blood cells processed by either whole blood preparation or filtration. *Stem Cells*. **21**, 208-216, **2003**.
 32. MEYER, T. P., HOFMANN, B., ZAISSERER, J., JACOBS, V. R., FUCHS, B., RAPP, S., WEINAUER, F., BURKHART, J.: Analysis and cryopreservation of hematopoietic stem and progenitor cells from umbilical cord blood. *Cytotherapy*. **8**, 265-276, **2006**.
 33. YANG, H., ZHAO, H., ACKER, J. P., LIU, J. Z., AKABUTU, J., MCGANN, L. E.: Effect of dimethyl sulfoxide on post-thaw viability assessment of CD45+ and CD34+ cells of umbilical cord blood and mobilized peripheral blood. *Cryobiology*. **51**, 165-175, **2005**.
 34. LAROCHE, V., MCKENNA, D. H., MOROFF, G., SCHIERMAN, T., KADIDLO, D., MCCULLOUGH, J.: Cell loss and recovery in umbilical cord blood processing: a comparison of postthaw and postwash samples. *Transfusion*. **45**, 1909-1916, **2005**.
 35. BROXMEYER, H. E., SROUR, E. F., HANGOC, G., COOPER, S., ANDERSON, S. A., BODINE, D. M.: High-efficiency recovery of functional hematopoietic progenitor and stem cells from human cord blood cryopreserved for 15 years. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 645-650, **2003**.
 36. LAUGHLIN, M. J., EAPEN, M., RUBINSTEIN, P., WAGNER, J. E., ZHANG, M. J., CHAMPLIN, R. E., STEVENS, C., BARKER, J. N., GALE, R. P., LAZARUS, H. M., MARKS, D. I., VAN ROOD, J. J., SCARADAVOU, A., HOROWITZ, M. M.: Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N. Engl. J. Med.* **351**, 2265-2275, **2004**.
 37. ROCHA, V., LABOPIN, M., SANZ, G., ARCESE, W., SCHWERDTFEGER, R., BOSI, A., JACOBSEN, N., RUUTU, T., DE, L. M., FINKE, J., FRASSONI, F., GLUCKMAN, E.: Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N. Engl. J. Med.* **351**, 2276-2285, **2004**.
 38. BARKER, J. N.: Umbilical Cord Blood (UCB) Transplantation: An Alternative to the Use of Unrelated Volunteer Donors? *Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. **2007:55-61.**, 55-61, **2007**.
 39. CHAO, N. J., EMERSON, S. G., WEINBERG, K. I.: Stem cell transplantation (cord blood transplants). *Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. **:354-71.**, 354-371, **2004**.
 40. BRUNSTEIN, C. G., BARKER, J. N., WEISDORF, D. J., DEFOR, T. E., MILLER, J. S., BLAZAR, B. R., MCGLAVE, P. B., WAGNER, J. E.: Umbilical cord blood transplantation after nonmyeloablative conditioning: impact on transplantation outcomes in 110 adults with hematologic disease. *Blood*. **110**, 3064-3070, **2007**.
 41. MAJHAIL, N. S., BRUNSTEIN, C. G., WAGNER, J. E.: Double umbilical cord blood transplantation. *Curr. Opin. Immunol.* **18**, 571-575, **2006**.
 42. WILLIAMS, R. J., CLARKE, E., BLAIR, A., EVELY, R., HALE, G., WALDMANN, H., BROOKES, S., PAMPHILON, D. H.: Impact on T-cell depletion and CD34+ cell recovery using humanised CD52 monoclonal antibody (CAMPATH-1H) in BM and PSBC collections; comparison with CAMPATH-1M and CAMPATH-1G. *Cytotherapy*. **2**, 5-14, **2000**.

43. BARGE, R. M., STARRENBURG, C. W., FALKENBURG, J. H., FIBBE, W. E., MARIJT, E. W., WILLEMZE, R.: Long-term follow-up of myeloablative allogeneic stem cell transplantation using Campath "in the bag" as T-cell depletion: the Leiden experience. *Bone Marrow Transplant.* **37**, 1129-1134, **2006**.
44. BUNJES, D., DUNCKER, C., WIESNETH, M., STEFANIC, M., DOHR, D., HARSDORF, S., KARAKAS, T., RESKE, S. N., BERGMANN, L.: CD34+ selected cells in mismatched stem cell transplantation: a single centre experience of haploidentical peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* **25 Suppl 2:S9-11.**, S9-11, **2000**.
45. HANDGRETINGER, R., KLINGEBIEL, T., LANG, P., GORDON, P., NIETHAMMER, D.: Megadose transplantation of highly purified haploidentical stem cells: current results and future prospects. *Pediatr. Transplant.* **7 Suppl 3:51-5.**, 51-55, **2003**.
46. LANG, P., KLINGEBIEL, T., BADER, P., GREIL, J., SCHUMM, M., SCHLEGEL, P. G., EYRICH, M., MUELLER-WEIHRICH, S., NIETHAMMER, D., HANDGRETINGER, R.: Transplantation of highly purified peripheral-blood CD34+ progenitor cells from related and unrelated donors in children with nonmalignant diseases. *Bone Marrow Transplant.* **33**, 25-32, **2004**.
47. BETHGE, W. A., HAEGELE, M., FAUL, C., LANG, P., SCHUMM, M., BORNHAUSER, M., HANDGRETINGER, R., KANZ, L.: Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults with reduced-intensity conditioning and CD3/CD19 depletion: fast engraftment and low toxicity. *Exp. Hematol.* **34**, 1746-1752, **2006**.
48. BETHGE, W. A., FAUL, C., BORNHAUSER, M., STUHLER, G., BEELEN, D. W., LANG, P., STELLJES, M., VOGEL, W., HAGELE, M., HANDGRETINGER, R., KANZ, L.: Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: An update. *Blood Cells Mol. Dis.* **40**, 13-19, **2008**.
49. CHAMPLIN, R. E., PASSWEG, J. R., ZHANG, M. J., ROWLINGS, P. A., PELZ, C. J., ATKINSON, K. A., BARRETT, A. J., CAHN, J. Y., DROBYSKI, W. R., GALE, R. P., GOLDMAN, J. M., GRATWOHL, A., GORDON-SMITH, E. C., HENSLEE-DOWNEY, P. J., HERZIG, R. H., KLEIN, J. P., MARMONT, A. M., O'REILLY, R. J., RINGDEN, O., SLAVIN, S., SOBOCINSKI, K. A., SPECK, B., WEINER, R. S., HOROWITZ, M. M.: T-cell depletion of bone marrow transplants for leukemia from donors other than HLA-identical siblings: advantage of T-cell antibodies with narrow specificities. *Blood.* **95**, 3996-4003, **2000**.
50. BUNJES, D.: T cell depletion of allogeneic stem cell grafts with anti-CD 52 monoclonal antibodies: the Ulm experience from 1983-1999. *Transfus. Sci.* **23**, 151-162, **2000**.
51. BARRETT, A. J., REZVANI, K., SOLOMON, S., DICKINSON, A. M., WANG, X. N., STARK, G., CULLUP, H., JARVIS, M., MIDDLETON, P. G., CHAO, N.: New developments in allotransplant immunology. *Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* **:350-71.**, 350-371, **2003**.
52. LANG, P., KLINGEBIEL, T., BADER, P., GREIL, J., SCHUMM, M., SCHLEGEL, P. G., EYRICH, M., MUELLER-WEIHRICH, S., NIETHAMMER, D., HANDGRETINGER, R.: Transplantation of highly purified peripheral-blood CD34+ progenitor cells from related and unrelated donors in children with nonmalignant diseases. *Bone Marrow Transplant.* **33**, 25-32, **2004**.

53. SPITZER, T. R.: Haploidentical stem cell transplantation: the always present but overlooked donor. *Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* :**390-5.**, 390-395, **2005**.
54. BETHGE, W. A., HAEGELE, M., FAUL, C., LANG, P., SCHUMM, M., BORNHAUSER, M., HANDGRETINGER, R., KANZ, L.: Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults with reduced-intensity conditioning and CD3/CD19 depletion: fast engraftment and low toxicity. *Exp. Hematol.* **34**, 1746-1752, **2006**.
55. BETHGE, W. A., FAUL, C., BORNHAUSER, M., STUHLER, G., BEELEN, D. W., LANG, P., STELLJES, M., VOGEL, W., HAGELE, M., HANDGRETINGER, R., KANZ, L.: Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: An update. *Blood Cells Mol. Dis.* **40**, 13-19, **2008**.
56. OTTINGER, H. D., MULLER, C. R., GOLDMANN, S. F., ALBERT, E., ARNOLD, R., BEELEN, D. W., BLASCZYK, R., BUNJES, D., CASPER, J., EBELL, W., EHNINGER, G., EIERMANN, T., EINSELE, H., FAUSER, A., FERENCIK, S., FINKE, J., HERTENSTEIN, B., HEYLL, A., KLINGEBIEL, T., KNIPPER, A., KREMENS, B., KOLB, H. J., KOLBE, K., LENARTZ, E., LINDEMANN, M., MULLER, C. A., MYTILINEOS, J., NIEDERWIESER, D., RUNDE, V., SAYER, H., SCHAEFER, U. W., SCHMITZ, N., SCHRODER, S., SCHULZE-RATH, R., SCHWERDTFEGER, R., SIEGERT, W., THIELE, B., ZANDER, A. R., GROSSE-WILDE, H.: Second German consensus on immunogenetic donor search for allotransplantation of hematopoietic stem cells. *Ann. Hematol.* **80**, 706-714, **2001**.
57. PETERSDORF, E. W., HANSEN, J. A., MARTIN, P. J., WOOLFREY, A., MALKKI, M., GOOLEY, T., STORER, B., MICKELSON, E., SMITH, A., ANASETTI, C.: Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *N. Engl. J. Med.* **345**, 1794-1800, **2001**.
58. MICKELSON, E. M., PETERSDORF, E. W., HANSEN, J. A.: HLA matching and hematopoietic cell transplant outcome. *Clin. Transpl.* :**263-71.**, 263-271, **2002**.
59. PETERSDORF, E. W., ANASETTI, C., MARTIN, P. J., HANSEN, J. A.: Tissue typing in support of unrelated hematopoietic cell transplantation. *Tissue Antigens.* **61**, 1-11, **2003**.
60. PETERSDORF, E. W., ANASETTI, C., MARTIN, P. J., GOOLEY, T., RADICH, J., MALKKI, M., WOOLFREY, A., SMITH, A., MICKELSON, E., HANSEN, J. A.: Limits of HLA mismatching in unrelated hematopoietic cell transplantation. *Blood.* **104**, 2976-2980, **2004**.
61. HANSEN, J. A., PETERSDORF, E. W., LIN, M. T., WANG, S., CHIEN, J. W., STORER, B., MARTIN, P. J.: Genetics of allogeneic hematopoietic cell transplantation. Role of HLA matching, functional variation in immune response genes. *Immunol. Res.* , **2007**.
62. LIN, M. T., STORER, B., MARTIN, P. J., TSENG, L. H., GOOLEY, T., CHEN, P. J., HANSEN, J. A.: Relation of an interleukin-10 promoter polymorphism to graft-versus-host disease and survival after hematopoietic-cell transplantation. *N. Engl. J. Med.* **349**, 2201-2210, **2003**.
63. LIN, M. T., STORER, B., MARTIN, P. J., TSENG, L. H., GROGAN, B., CHEN, P. J., ZHAO, L. P., HANSEN, J. A.: Genetic variation in the IL-10 pathway modulates severity of acute graft-versus-host disease following hematopoietic cell transplantation:

- synergism between IL-10 genotype of patient and IL-10 receptor beta genotype of donor. *Blood*. **106**, 3995-4001, **2005**.
64. HILDEBRANDT, G. C., GRANELL, M., URBANO-ISPIZUA, A., WOLFF, D., HERTENSTEIN, B., GREINIX, H. T., BRENMOEHL, J., SCHULZ, C., DICKINSON, A. M., HAHN, J., ROGLER, G., ANDREESEN, R., HOLLER, E.: Recipient NOD2/CARD15 variants: a novel independent risk factor for the development of bronchiolitis obliterans after allogeneic stem cell transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant*. **14**, 67-74, **2008**.
65. HOLLER, E., ROGLER, G., BRENMOEHL, J., HAHN, J., HERFARTH, H., GREINIX, H., DICKINSON, A. M., SOCIE, G., WOLFF, D., FISCHER, G., JACKSON, G., ROCHA, V., STEINER, B., EISSNER, G., MARIENHAGEN, J., SCHOELMERICH, J., ANDREESEN, R.: Prognostic significance of NOD2/CARD15 variants in HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation: effect on long-term outcome is confirmed in 2 independent cohorts and may be modulated by the type of gastrointestinal decontamination. *Blood*. **107**, 4189-4193, **2006**.
66. DICKINSON, A. M., MIDDLETON, P. G., ROCHA, V., GLUCKMAN, E., HOLLER, E.: Genetic polymorphisms predicting the outcome of bone marrow transplants. *Br. J. Haematol*. **127**, 479-490, **2004**.