ARNDT BORKHARDT

Biologische Grundlagen der Immunrekonstitution nach allogener Stammzelltransplantation bei Kindern und Jugendlichen

Die allogene Stammzelltransplantation (alloSCT) stellt für einen signifikanten Anteil von Kindern mit bösartigen Erkrankungen (circa 20 Prozent der akuten lymphatischen Leukämien, 30 bis 50 Prozent der akuten myeloischen Leukämien, 100 Prozent der myelodysplastischen Syndrome und so weiter) sowie für eine Reihe von Patienten mit angeborenen Erkrankungen (Immundefekterkrankungen, Stoffwechselerkrankungen, Osteopetrose, Erkrankungen der Hämoglobinsynthese und andere) die einzige etablierte kurative Therapieoption dar. Die jüngere Entwicklung der Stammzelltransplantation ist dabei unter anderem durch folgende Merkmale charakterisiert:

- deutliche Verbesserung der Spendersituation durch verbesserte HLA-Typisierung, umfassende Vernetzung der Spenderdateien, verbesserte Melde- und Transportlogistik sowie Nutzung unterschiedlicher Stammzellquellen (Knochenmark, Nabelschurrestblut, Entwicklung der haploidentischen SCT) für die Transplantation;
- verbesserte infektiologische Kontrolle insbesondere von bakteriellen und mykotischen Infektionen durch neue Antibiotika und Antimykotika sowie die Herstellung virusspezifischer T-Zellen für den klinischen Einsatz;
- Entwicklung von Verfahren der adoptiven Immuntherapie (T- und NK-Zelltherapie) zur Aufrechterhaltung eines dauerhaften Graft-versus-Leukemia-Effektes (GvL-Effektes), insbesondere für die malignen Erkrankungen der Myelopoese;
- verbesserte Prophylaxe und Therapie der akuten und chronischen Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) durch hochauflösende (molekular-genetische) HLA-Typisierung, neue Immunsuppressiva, extrakorporale Photophoresetechniken und so weiter.

Die alloSCT geht jedoch mit einer tiefgreifenden, lang dauernden Kompromittierung des Immunsystems – insbesondere der Thymusfunktion – einher.¹ Die je nach Transplantationsverfahren unterschiedlich stark ausgeprägte Störung der T-Zellfunktion hält Monate bis Jahre nach der alloSCT an und resultiert unter Umständen in (oft tödlichen) viralen Komplikationen. Bei malignen Erkrankungen ist ein dauerhafter über T-Zellen vermittelter GvL-Effekt Voraussetzung für das Langzeitüberleben. Bis zur vollständigen Wiederherstellung eines funktionierenden (Spender-)Immunsystems sind die Kinder diesen erhöhten Infektions- und Rückfallrisiken ausgesetzt.

Die gegenwärtigen Aussagen zur Langzeitprognose, die Empfehlungen für die mögliche Wiedereingliederung der Kinder in den Kindergarten und die Schule, die Durchfüh-

¹ Vgl. Levinsky (1989), Slavin und Kedar (1988), Kolb *et al.* (2004) sowie Wils und Cornelissen (2005).

rung von Impfungen und so weiter basieren in der Regel auf empirischen Querschnittsuntersuchungen und berücksichtigen nicht das individuelle Ausmaß und die Dynamik, mit der sich das transplantierte Immunsystem im Empfänger rekonstituiert.² Interventionsversuche, um die allgemeine antigenunabhängige Immunfunktion nach alloSCT möglichst rasch wieder herzustellen, wurden bisher nur in kleineren Studien untersucht.³

Die Regeneration des T-Zellsystems beinhaltet insbesondere bei Kindern zwei Komponenten, eine thymusabhängige Reifung sowie die periphere T-Zellexpansion.⁴ Die Reifungsprozesse dieser beiden Kompartimente für die Ausbildung spezifischer Immunität zu nutzen setzt jedoch die genaue Kenntnis der Regenerationsprozesse in Abhängigkeit vom Alter der Patienten, der Intensität der Konditionierung sowie der HLA-Kompatibilität des Transplantats voraus. Dies gilt auch für immuntherapeutische Strategien. Während die komplette Regeneration des Immunsystems die Entwicklung eines breiten T-Zellrepertoires voraussetzt, lässt sich bereits vorher in der Phase der Lymphopenie die Spezifität des T-Zellrepertoires durch die gezielte Präsentation von Antigenen im Rahmen von Impfsätzen beeinflussen.

An der Klinik für Kinder-Onkologie, -Hämatologie und Klinische Immunologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf werden seit 1988 Kinder mit malignen und angeborenen Erkrankungen unter Einbeziehung der jeweils neuen wissenschaftlichen Erkenntnisse und Entwicklungen transplantiert.

Das zellbiologisch-molekulargenetische Methodenspektrum zur Überwachung der Immunfunktion

Im Zusammenhang mit der Etablierung des Transregio-Sonderforschungsbereichs 36 „Prinzipien und Anwendung der T-Zell-Therapie“ (Sprecher: Univ.-Prof. Dr. Thomas Blankenstein, Berlin, und Univ.-Prof. Dr. Dolores Schendel, München) sind an der Klinik für Kinder-Onkologie folgende molekularbiologische Techniken etabliert worden:

- Spektratyping der *complementarity-determining region 3* (CDR3-Region; siehe Abb. 1 und 2);
- Klonierung und Sequenzierung einzelner T-Zell-Klone;
- Klonspezifische quantitative PCR, T-Zell-Monitoring nach alloSCT;
- Quantifizierung von *recent thymic emigrants* durch Bestimmung der *T-cell-receptor excision circles* (TRECS);
- Expressionsprofiling von mRNA- und mikro-RNA-Genen.

In der Vergangenheit wurden bereits erfolgreich durch Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der Kinderonkologie Düsseldorf (PD Dr. Dagmar Dilloo) multizentrische klinische Studien zur Optimierung der T-Zellfunktion nach SCT initiiert und geleitet. Hier ist vor allem die klinische Studie „Immunogenität des DtaP-IPV-Hib-HBV-Kombinationsimpfstoffs Infanrix hexaTM und des 7-valenten Pneumokokkenkonjugatimpfstoff PrevenarTM bei Kindern nach allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation“ zu nennen. An dem

² Vgl. Gordon *et al.* (1997) sowie Ochs *et al.* (1995).

³ Vgl. Kook *et al.* (1997), Weinberg *et al.* (1995) sowie Armitage *et al.* (1986).

⁴ Vgl. FRY *et al.* (2004).

Düsseldorfer Impfprotokoll sind über zehn Kliniken der Arbeitsgemeinschaft Pädiatrische Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation beteiligt.

Im Gegensatz zur relativ raschen Wiederherstellung der Bestandteile der angeborenen Immunität (*innate immunity*) – der natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) und des Granulozyten/Makrophagen-Systems – bleiben B- und T-Lymphozyten sowohl in Anzahl als auch Funktion für eine relativ lange Zeit (> 6-12-18 Monate) nach der SCT insuffizient. So erreichen Erwachsene aufgrund der in der Regel fortgeschrittenen Thymusinvolution während ihres gesamten weiteren Lebens vermutlich sehr selten wieder ein volles polyklonales T-Zell-Repertoire.⁵ Die „posttransplantationsassoziierte“ lymphozytäre Defizienz geht mit einem deutlich erhöhten Infektionsrisiko sowie einem erhöhten Rezidivrisiko einher. Gleichzeitig bietet die Phase der Lymphopenie auch die Chance, das T-Zellrepertoire durch wirkungsvolle Antigenpräsentation zu einer definierten Spezifität hin zu verschieben. Inwieweit eine prolongierte Immundefizienz nach Transplantation auch die Entstehung von Zweittumoren beeinflusst, ist nicht untersucht. Letzterer Gesichtspunkt ist jedoch gerade in der Pädiatrie von besonderer Bedeutung; die Risikoabschätzung für die Entwicklung von Sekundärtumoren bei Kindern nach alloSCT erscheint zum Teil widersprüchlich.⁶ Unzweifelhaft spielen hierbei auch die Art der Konditionierung (Bestrahlung?), die Stammzellquelle, das Auftreten einer GvHD und andere Faktoren im komplexen Zusammenspiel eine Rolle.

Folgende (sich zum Teil überlappende) Themengebiete müssen in zukünftigen Untersuchungen adressiert werden:

Verbesserung der Thymusfunktion

Bei der T-Zellrekonstitution nach alloSCT sind prinzipiell zwei Wege zu unterscheiden: Zum einen kommt es unabhängig vom Thymus durch Antigen-Stimulation und Stimulation über Zytokine wie IL2, IL7 und IL15 zur peripheren Expansion von transplantierten reifen Spender-T-Zellen mit vergleichsweise geringer Diversifizierung des T-Zellrepertoires.⁷ Zum anderen – und wesentlicheren Anteil – ermöglicht insbesondere bei Kindern und jungen Erwachsenen der zweite thymusabhängige Weg der T-Zellrekonstitution auch die Generierung von naiven T-Zellen aus Spender-T-Vorläuferzellen, die eine dauerhafte Rekonstitution des T-Zellsystems mit einem breiten T-Zellrepertoire erlaubt. Die thymusabhängige T-Zellregeneration lässt sich über die Quantifizierung von *recent thymic emigrants* mit Hilfe der quantitativen PCR von *T-cell-receptor excision circles* (TRECS), die durch Deletionen beim T-Zellrezeptorearrangement entstehen, ermitteln. Nach alloSCT ist eine gesteigerte TREC-Produktion mit der Generierung naiver T-Zellen und mit den kritischen Outcome-Parametern nach Transplantation wie einem niedrigeren GvHD-Risiko oder einer niedrigeren Inzidenz von opportunistischen Infektionen sowie einem verbesserten Überleben assoziiert. Dabei ist bereits die gesteigerte TREC-Produktion des Empfängers vor der Transplantation prädiktiv für das Transplantationsergebnis.⁸

⁵ Vgl. Small *et al.* (1999) sowie Parkman und Weinberg (1997).

⁶ Vgl. Ortega *et al.* (2005), Hasegawa *et al.* (2005) sowie Cutler *et al.* (2001).

⁷ Vgl. Honda *et al.* (2000).

⁸ Vgl. Clave *et al.* (2005).

Adoptiver Transfer von lymphatischen Vorläuferzellen

Eine immunologische Unterscheidung der lymphozytären (CLPs) von den myelozytären hämatopoetischen Präkursorzellen (CMPs) würde die praktische Möglichkeit der Übertragung nach der alloSCT eröffnen. So hat sich der adoptive Transfer von CMPs im Mausmodell als effektiver Schutz vor Infektionen mit den klinisch hochrelevanten Erregern *Pseudomonas aeruginosa* und *Aspergillus fumigatus* erwiesen.⁹ Demgegenüber war es bei dem Transfer von CLPs überraschend, dass auch thymektomierte Mäuse einen erhöhten Infektionsschutz (gegen murine CMV-Infektion) aufwiesen, was auf eine verbesserte und raschere Reifung von extrathymischen CD8+-Zellen hinwies.¹⁰ Allerdings differenzierte die Mehrheit der adoptiv übertragenen lymphozytären Precursoren in Richtung der B-Zell-Linie. Die Übertragung von bereits in T-Zell-Richtung „determinierter“ Lymphozyten (CD62L+) oder direkter thymischer Vorläuferzellen könnte hier gegebenenfalls den positiven Effekt auf die T-Zell-Rekonstitution verstärken. Im Gegensatz zur Übertragung reifer T-Lymphozyten scheint die Übertragung von CLPs auch ein geringeres Risiko für das Entstehen einer GvHD zu bergen, indem alloreaktive T-Zellen bei den Rezipienten effektiv durch die im Thymus stattfindende Negativselektion eliminiert werden. Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, dass ein geringes GvHD-Risiko an eine ausreichende Thymusfunktion gekoppelt ist. Inwieweit jedoch diese tierexperimentellen Daten sowie die ersten klinischen Daten in größere klinische Studienprotokolle zu übertragen sind, ist derzeit noch offen.

Ansätze zur Optimierung der Toleranzinduktion

Thymusgewebe wurde auch bei Patienten nach solider Organtransplantation zur Induktion einer zentralen Toleranz – bisher mit wechselndem Erfolg – übertragen. Auch bei der alloSCT ist die thymusabhängige T-Zellregeneration für eine gesteigerte Toleranzinduktion erforderlich (siehe oben). Dies beruht zum einen auf der Deletion empfinderspezifischer T-Lymphozyten. Doch spielt der Thymus nicht nur für die Regeneration naiver T-Zellen eine entscheidende Rolle, sondern auch für die Generierung der so genannten natürlichen regulatorischen T-Zellen (Treg). Diese CD25-hochexprimierenden(high)/Foxp3-positiven Tregs sind in der Lage, in der Phase der Lymphopenie-induzierten T-Zellproliferation bei CD4-positiven T-Zellen eine klonale Anergie zu induzieren.¹¹ Auch ist inzwischen bekannt, dass die Abwesenheit von Tregs einen der Schlüsselmechanismen für erfolgreiche immuntherapeutische Interventionen in der Lymphopenie darstellt.¹²

Dabei ist davon auszugehen, dass die Rekonstitution zumindest der thymusabhängigen Tregs bei Kindern und Erwachsenen nach SCT unterschiedlich verläuft. Darüber hinaus wurde kürzlich gezeigt, dass periphere CD25high/Foxp3-positive Tregs auch durch den schnellen Umsatz eines hochproliferativen CD4-positiven memory-T-Zellpools in der Peripherie generiert werden können.¹³ Die Charakterisierung der Kinetik der quantitativen und qualitativen Treg-Regeneration stellt vermutlich eine Schlüsselvoraussetzung für die

⁹ Vgl. Bitmansour *et al.* (2002).

¹⁰ Vgl. Arber *et al.* (2003).

¹¹ Vgl. Khazaie und von Boehmer (2006).

¹² Vgl. Gattinoni *et al.* (2005).

¹³ Vgl. Vukmanovic-Stejic *et al.* (2006).

differenzielle Manipulation des GvHD/GvL-Gleichgewichtes mit dem Ziel der Optimierung antineoplastischer Reaktivität dar.

Ein alternativer thymusunabhängiger Ansatz zur Toleranzinduktion stellt im Sinne des adoptiven Transfers die Kotransplantation mesenchymaler Stromazellen (MSZ) dar. Neben der Fähigkeit zur Unterstützung der Hämatopoese sind die immunmodulierenden Eigenschaften mesenchymaler Stromazellen immer mehr in den Mittelpunkt des Interesses zellbasierter immuntherapeutischer Konzepte gerückt. Während in einzelnen Fällen der Einsatz von MSZ zur Behandlung der therapierefraktären GvHD erfolgreich war, ist derzeit weitgehend ungeklärt, ob durch die Applikation von MSZ die GvHD ohne gleichzeitige Beeinträchtigung des GvL-Effektes verhindert werden kann.¹⁴ Dabei ist der geeignete Zeitpunkt im Rahmen der Immunrekonstitution nach HSZT für den Einsatz von MSZ wahrscheinlich eine wichtige Komponente, um die potenziell differenzielle Wirkung von MSZ auf den GvH- versus GvL-Effekt ausnutzen zu können.

Wirkungsweise von Wachstumsfaktoren und Hormonen

Sexualhormone werden unter anderem für den progressiven Verlust der Thymusfunktion in Abhängigkeit vom Alter verantwortlich gemacht. Da die Zellularität des Thymus und die Zahl der aus dem Thymus emigrierenden Zellen eng miteinander korrelieren, schränkt die altersabhängige Involution des Thymus auch das polyklonale T-Zellrezeptor-Repertoire von sowohl CD4- als auch CD8-positiven Zellen ein.¹⁵ Androgene, Progesteron und Östrogene sind wesentliche Mediatoren der Thymusinvolution. So weisen Mäuse nach chirurgischer oder chemischer Kastration höhere periphere T-Zellzahlen, eine höhere Zellularität im Thymus und eine deutlich erhöhte Abstoßungsrate von Hauttransplantaten auf. Insoweit scheint sich auch die T-Zellfunktion nach Ausschalten der Wirkung der Sexualhormone zu verbessern. Thymusepithelzellen exprimieren – im Gegensatz zu Thymozyten – funktionell aktive Rezeptoren für Androgene.¹⁶

Es ist denkbar, dass der passagere klinische Einsatz von LHRH-Analoga, wie er seit Jahren bei einer großen Zahl von Patienten mit Prostatakarzinom, Endometriose, Mammakarzinom und anderen Erkrankungen vorgenommen wird, für Jugendliche und junge Erwachsene nach alloSCT zu einer Verbesserung der T-Zellfunktion führen könnte. Patienten, die wegen eines Prostatakarzinoms mit LHRH-Agonisten behandelt werden, weisen erhöhte Werte für naive CD4-positive Zellen auf.¹⁷ Die Zusammenhänge zwischen der Chemotherapie-induzierten Schädigung des Thymusepithels, Androgenrezeptoren und der Zahl und Funktion der Emigranten aus dem Thymus ist jedoch nicht systematisch untersucht worden.

¹⁴ Vgl. Ringden *et al.* (2006) sowie Dean und Bishop (2003).

¹⁵ Vgl. Linton und Dorshkind (2004).

¹⁶ Vgl. Olsen *et al.* (2001) sowie Olsen *et al.* (1994).

¹⁷ Vgl. van den Brink *et al.* (2004).

Funktionsbeziehung zwischen Komponenten der *innate immunity* und der T-Zell-vermittelten *adaptive immunity*

Im Rahmen allogener Transplantationskonzepte ist durch die Kombination von Effektormechanismen der *innate* und *adaptive immunity* bei unvollständiger HLA-Anpassung eine eindruckliche antileukämische Wirksamkeit erzielt worden. So haben Velardi *et al.* erstmals gezeigt, dass alloreaktive NK-Zellen eine entscheidende Rolle bei der Erkennung von leukämischen Zellen nach Transplantation hämatopoetischer Stammzellen spielen können.¹⁸ Dabei kommt den *Killer-cell-immunoglobulin-like*-Rezeptoren (KIR) eine besondere Bedeutung zu. In Düsseldorf wurden vor allem durch die Arbeitsgruppe um Markus Uhrberg, die die KIR-Genfamilie umfassend beschrieben hat, Erkenntnisse von prinzipieller Wichtigkeit erbracht.¹⁹ Im Gegensatz zu leukämischen Blasten weist eine Reihe der soliden Tumoren des Kindesalters nur eine niedrige HLA-Klasse-I-Expression auf, so dass nicht nur im Rahmen des GvL-Effektes eine Kombination von Strategien, die sowohl das angeborene als auch das adaptive Immunsystem umfassen, sinnvoll erscheint. So ist vorstellbar, dass es durch eine vorgeschaltete NK-Zelltherapie über die Ausschüttung von IFN-gamma in der unmittelbaren Umgebung der neoplastischen Zelle zu der für einen erfolgreichen T-Zellansatz erforderlichen Hochregulation der HLA-Moleküle kommt. Ebenso erfordern Vakzinationsansätze, die eine Zerstörung der Vakzinezelle oder der neoplastischen Zielzelle als Ausgangspunkt für *cross-priming*-Effekte beinhalten, die Rekrutierung von Zellen des angeborenen und adaptiven Immunsystems.

Die Funktionsweise der an der Immunantwort des angeborenen Immunsystems beteiligten Zellrezeptoren, die im Wesentlichen unter dem Begriff *pattern-recognition*-Rezeptoren subsummiert werden können, ist erst ansatzweise verstanden. Neben den klassischen Toll-like-Rezeptoren (TLR) sind heute NOD-like-Rezeptoren (NLRs) und RIG-I-like-Rezeptoren (RLR) bekannt. Die Rezeptoren erkennen bakterielle, virale oder Pilz-DNA (beziehungsweise RNA, einzel- als auch doppelsträngig!). Unter anderem wird hierdurch ein zentraler Signalweg der angeborenen Immunität, der NfκappaB-Signalweg, aktiviert.²⁰ Die Aktivierung von NfκappaB spielt neben einer Vielzahl von anderen Prozessen wahrscheinlich auch bei der malignen Transformation von B-Precursor-Leukämien durch verschiedene chromosomale Translokationen eine große Rolle. Es kann postuliert werden, dass die Komponenten des angeborenen Immunsystems mit den TLRs, NLRs und RLRs ebenfalls eine bedeutende Rolle bei der Interaktion der verschiedenen an der antineoplastischen Immunantwort beteiligten Zellpopulationen im Rahmen der alloSCT spielen. Um daneben eine funktionelle T-Zell-Rekonstitution nach Transplantation gezielt in immuntherapeutische Strategien einzubinden, ist ein weiteres Verständnis der beteiligten Rezeptoren/Signalwege sowie ihrer wechselseitigen Beeinflussbarkeit eine Grundvoraussetzung.²¹

¹⁸ Vgl. Ruggeri *et al.* (2002).

¹⁹ Vgl. Uhrberg (2005) sowie Uhrberg *et al.* (1997).

²⁰ Vgl. Doyle und O'Neill (2006).

²¹ Vgl. Voutsadakis (2003) sowie Koh *et al.* (2000).

Zusammenfassung

Eines der Hauptziele der allogenen Stammzelltransplantation ist die Etablierung des Spenderimmunsystems im Empfänger. Nach Überwindung der akuten Toxizität der Transplantation besteht für die betroffenen Kinder und Jugendlichen ein vielfach erhöhtes Risiko, tödliche Infektionen an Viren, Pilzen und bakteriellen Erregern zu erleiden. Der Neuaufbau von Immunkomponenten ist für eine effektive Infektabwehr im weiteren Leben und für die langfristige Kontrolle der (malignen) Grunderkrankung essenzielle Voraussetzung. Die *De-novo*-Generierung naiver und antigenspezifischer T-Zellen nimmt nach der Transplantation unter Umständen Monate bis Jahre in Anspruch. Hierbei spielen mehrere Faktoren im komplexen Wechselspiel eine entscheidende Rolle. Die wichtigsten sind: die Grunderkrankung, die Konditionierung, die Art des Transplantats, das Alter von Spender und Empfänger, die GvHD, die Thymusfunktion/Thymopoese, hormonelle Einflüsse und die Begleitmedikation. Eine Verbesserung der (T-Zell-)Immunfunktion kann dabei theoretisch durch verschiedene klinisch anwendbare Interventionsmöglichkeiten erreicht werden, wie zum Beispiel durch die Thymustransplantationen, den Transfer lymphatischer Vorläuferzellen, den Einsatz von Zytokinen und Hormonen zur Verbesserung/Wiederherstellung der Thymusrestfunktion und die Reduktion der T-Zell-Apoptose.

Unter Zuhilfenahme eines modernen molekularbiologischen Methodenspektrums sind weitere Forschungsanstrengungen notwendig, um die oben genannten Strategien zum Nutzen der erkrankten Kinder und Jugendlichen im klinischen Alltag zu implementieren.

Literatur

- ARBER, C. *et al.* (2003). „Common lymphoid progenitors rapidly engraft and protect against lethal murine cytomegalovirus infection after hematopoietic stem cell transplantation“, *Blood* 102, 421–428.
- ARMITAGE, R. J., A. H. GOLDSTONE, J. D. RICHARDS und J. C. CAWLEY (1986). „Lymphocyte function after autologous bone marrow transplantation (BMT): a comparison with patients treated with allogeneic BMT and with chemotherapy only“, *British Journal of Haematology* 63, 637–647.
- BITMANSOUR, A. *et al.* (2002). „Myeloid progenitors protect against invasive aspergillosis and *Pseudomonas aeruginosa* infection following hematopoietic stem cell transplantation“, *Blood* 100, 4660–4667.
- CLAVE, E. *et al.* (2005). „Prognostic value of pretransplantation host thymic function in HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation“, *Blood* 105, 2608–2613.
- CUTLER, C. *et al.* (2001). „Acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic peripheral-blood stem-cell and bone marrow transplantation: a meta-analysis“, *Journal of Clinical Oncology* 19, 3685–3691.
- DEAN, R. M. und M. R. BISHOP (2003). „Graft-versus-host disease: emerging concepts in prevention and therapy“, *Current Hematology Reports* 2, 287–294.
- DOYLE, S. L. und L. A. O'NEILL (2006). „Toll-like receptors: From the discovery of NFkappaB to new insights into transcriptional regulations in innate immunity“, *Biochemical Pharmacology* 72, 1102–1113.
- FRY, T. J. *et al.* (2004). „Flt3 ligand enhances thymic-dependent and thymic-independent immune reconstitution“, *Blood* 104, 2794–2800.

- GATTINONI, L. *et al.* (2005). „Removal of homeostatic cytokine sinks by lymphodepletion enhances the efficacy of adoptively transferred tumor-specific CD8⁺ T cells“, *Journal of Experimental Medicine* 202, 907–912.
- GORDON, B. G. *et al.* (1997). „Allogeneic bone marrow transplantation for children with acute leukemia: long-term follow-up of patients prepared with high-dose cytosine arabinoside and fractionated total body irradiation“, *Bone Marrow Transplantation* 20, 5–10.
- HASEGAWA, W. *et al.* (2005). „Long-term follow-up of secondary malignancies in adults after allogeneic bone marrow transplantation“, *Bone Marrow Transplantation* 35, 51–55.
- HONDA, K. *et al.* (2000). „Thymus-independent expansion of T lymphocytes in children after allogeneic bone marrow transplantation“, *Bone Marrow Transplantation* 25, 647–652.
- KHAZAIE, K. and H. VON BOEHMER (2006). „The impact of CD4⁺CD25⁺ Treg on tumor specific CD8⁺ T cell cytotoxicity and cancer“. *Seminars in Cancer Biology* 16, 124–136.
- KOH, C. Y., L. A. WELNIAK und W. J. MURPHY (2000). „Adoptive cellular immunotherapy: NK cells and bone marrow transplantation“, *Histology and Histopathology* 15, 1201–1210.
- KOLB, H. J., C. SCHMID, A. J. BARRETT und D. J. SCHENDEL (2004). „Graft-versus-leukemia reactions in allogeneic chimeras“, *Blood* 103, 767–776.
- KOOK, H. *et al.* (1997). „Reconstruction of the immune system after unrelated or partially matched T-cell-depleted bone marrow transplantation in children: functional analyses of lymphocytes and correlation with immunophenotypic recovery following transplantation“, *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 4, 96–103.
- LEVINSKY, R.J. (1989). „Recent advances in bone marrow transplantation“, *Clinical Immunology. Immunopathology* 50, 124–132.
- LINTON, P. J. und K. DORSHKIND (2004). „Age-related changes in lymphocyte development and function“, *Nature Immunology* 5, 133–139.
- OCHS, L. *et al.* (1995). „Late infections after allogeneic bone marrow transplantations: comparison of incidence in related and unrelated donor transplant recipients“, *Blood* 86, 3979–3986.
- OLSEN, N. J., S. M. VISELLI, K. SHULTS, G. STELZER und W. J. KOVACS (1994). „Induction of immature thymocyte proliferation after castration of normal male mice“, *Endocrinology* 134, 107–113.
- OLSEN, N. J., G. OLSON, S. M. VISELLI, X. GU und W. J. KOVACS (2001). „Androgen receptors in thymic epithelium modulate thymus size and thymocyte development“, *Endocrinology* 142, 1278–1283.
- ORTEGA, J. J., T. OLIVE, C. D. DE HEREDIA und A. LLORT (2005). „Secondary malignancies and quality of life after stem cell transplantation“, *Bone Marrow Transplantation* 35 Supplement 1, S83–S87.
- PARKMAN, R. und K. I. WEINBERG (1997). „Immunological reconstitution following bone marrow transplantation“, *Review of Immunology* 157, 73–78.
- RINGDEN, O. *et al.* (2006). „Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease“, *Transplantation* 81, 1390–1397.
- RUGGERI, L. *et al.* (2002). „Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants“, *Science* 295, 2097–2100.
- SLAVIN, S. und E. KEDAR (1988). „Current problems and future goals in clinical bone marrow transplantation“, *Blood Review* 2, 259–269.
- SMALL, T. N. *et al.* (1999). „Comparison of immune reconstitution after unrelated and related T-cell-depleted bone marrow transplantation: effect of patient age and donor leukocyte infusions“, *Blood* 93, 467–480.
- UHRBERG, M. *et al.* (1997). „Human diversity in killer cell inhibitory receptor genes“, *Immunity* 7, 753–763.

- UHRBERG, M. (2005). „The KIR gene family: life in the fast lane of evolution“, *European Journal of Immunology* 35, 10–15.
- VAN DEN BRINK, M. R., O. ALPDOGAN und R. L. BOYD (2004). „Strategies to enhance T-cell reconstitution in immunocompromised patients“, *Nature Reviews Immunology* 4, 856–867.
- VOUSADAKIS, I. A. (2003). „NK cells in allogeneic bone marrow transplantation“, *Cancer Immunology, Immunotherapy* 52, 525–534.
- VUKMANOVIC-STEJIC, M. *et al.* (2006). „Human CD4⁺ CD25^{hi} Foxp3⁺ regulatory T cells are derived by rapid turnover of memory populations in vivo“, *Journal of Clinical Investigation* 116, 2423–2433.
- WEINBERG, K. *et al.* (1995). „The effect of thymic function on immunocompetence following bone marrow transplantation“, *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 1, 18–23.
- WILS, E. J. und J. J. CORNELISSEN (2005). „Thymopoiesis following allogeneic stem cell transplantation: new possibilities for improvement“, *Blood Review* 19, 89–98.