



## Deutsche Gesellschaft für Transfusionsmedizin und Immunhämatologie

*Geschäftsstelle:* Prof. Dr. Reinhold Eckstein,  
Abteilung für Transfusionsmedizin und Hämostaseologie,  
Universitätsklinikum Erlangen/Nürnberg,  
Krankenhausstraße 12, D-91054 Erlangen,  
Tel. +49 91 31 85-6346, Fax -6987

### **Stellungnahme der Sektion Transplantation und Zelltherapie der DGTI (15. August 2005) zur Gewinnung und Langzeitlagerung von autologen und allogenen Stammzellpräparaten aus Nabelschnurblut: Indikationen und Grenzen**

#### **Einleitung**

Die Indikation zur Gewinnung, Kryokonservierung und Langzeitlagerung von autologen und allogenen Stammzellpräparaten aus Nabelschnurblut (NSB) sowie die Frage, ob es sich hierbei um ein medizinisch sinnvolles Verfahren handelt, wird zunehmend kontrovers diskutiert. Dabei stellt sich im Zusammenhang mit der autologen Gewinnung vielfach die Problematik, dass die betroffenen Schwangeren, deren Familienangehörige oder involvierte ärztliche Kollegen häufig unzureichend bzw. nicht immer sachgerecht von kommerziellen NSB-Banken über die Hintergründe informiert werden.

Die Sektion «Transplantation und Zelltherapie» der DGTI will deshalb den aktuellen Stand von Wissenschaft und Technik zur Gewinnung und Langzeitlagerung von autologen und allogenen Stammzellpräparaten aus NSB darstellen. Die Stellungnahme bezieht andere klinisch verfügbare Quellen von Blut bildenden Stammzellen sowie neue, alternative Anwendungen von adulten Stammzellen, z.B. zur Geweberegeneration, für eine umfassende Darstellung mit ein.

### **Stellenwert der Transplantation Blut bildender Stammzellen aus Knochenmark und peripherem Blut**

Die Transplantation Blut bildender Stammzellen hat sich in den vergangenen 40 Jahren zu einem unverzichtbaren Behandlungsverfahren einer Vielzahl von angeborenen und erworbenen Erkrankungen des hämatopoetischen Systems entwickelt [1]. Dieses Therapiekonzept umfasst sowohl autologe als auch allogene Stammzellen, wobei für eine allogene Transplantation derzeit Knochenmark (KM), peripheres Blut (pB) und NSB (Synonym Plazentarestblut) von verwandten und unverwandten Spendern angewandt wird. Für die autologe Transplantation werden als Stammzellquellen regelhaft pB und KM, nicht jedoch NSB eingesetzt [1, 2]. Die aus ethischer Sicht nicht unbedenklichen embryonalen Stammzellen finden in den etablierten Therapiekonzepten bislang keine Anwendung.

#### *Hämatopoetisches Potential von Blutstammzellen*

Das langfristige hämatopoetische Potential eines Transplantats leitet sich aus den Eigenschaften seiner undifferenzierten hämatopoetischen Stammzellen ab [3]. Diese Zellen sind zur asymmetrischen Zellteilung und damit zur Selbsterneuerung befähigt [4, 5]. Darüber hinaus besitzen sie die Eigenschaft, in ein Empfänger-KM einzuwandern, es zu repopulieren und sich nach der asymmetrischen Teilung multilinear in reife Blutzellen und immunkompetente Zellen zu differenzieren [4, 5]. Als phänotypischer Marker für die Charakterisierung von Stamm- und Progenitorzellen dient das Antigen CD34, dessen Expression mit zunehmender Differenzierung der hämatopoetischen Zelle abnimmt [4]. Eine weitere Abgrenzung unreifer Stammzellen von reiferen Progenitoren kann über das Fehlen von Differenzierungsmarkern, wie etwa die Antigene CD38, HLA-DR, CD71, CD33, CD19 oder CD45RA, erfolgen [6]. Trotz umfassender phänotypischer Charakterisierung ist jedoch die Untersuchung der funktionellen Eigenschaften einer Zelle entscheidend, um unreife Stammzellen durch den Nachweis ihrer asymmetrischen Teilungsfähigkeit oder ihres hämatopoetischen Rekonstitutionspotentials zu identifizieren [7].

Über längere Zeit wurde angenommen, dass für eine möglichst rasche und langfristige Rekonstitution der Hämatopoese nach myeloablativer Konditionierung die Anzahl proliferationsfähiger Stammzellen sowie bereits in Differenzierung be-

findlicher Progenitorzellen entscheidend ist. Daten aus dem xenogenen Mausmodell lassen jedoch vermuten, dass die Rekonstitution mit der Zahl der übertragenen unreifen Stammzellen und weniger mit der Menge an übertragenen Progenitoren korreliert [8]. Vor diesem Hintergrund ist es entscheidend, dass bei allen Präparationsschritten zur Herstellung eines Stammzelltransplantats so wenig unreife Stammzellen wie möglich verloren werden. Dies trifft aufgrund der geringen Ausgangszahl an CD34+ Zellen insbesondere für die Präparation von Stammzellen aus NSB zu, die vor der Kryokonservierung in der Regel einem Präparationsschritt zur Anreicherung und Volumenreduzierung unterzogen werden müssen.

#### *Transplantation allogener Blutstammzellen*

Das Prinzip der allogenen Stammzelltransplantation besteht in einem teilweisen oder vollständigen Austausch des erkrankten hämatopoetischen Systems des Patienten durch ein Blut bildendes, immunkompetentes Gewebe eines verwandten oder unverwandten gesunden Spenders [1]. Die wesentlichen Indikationen betreffen die Behandlung akuter und chronischer Leukämien sowie nichtmaligne hämatologische Erkrankungen, wie etwa aplastische Anämie, Fanconi-Anämie und schwere Hämoglobinopathien. Auch im Rahmen der Behandlung lymphoproliferativer Erkrankungen scheint sich ein zukünftig wachsendes Einsatzfeld der allogenen Blutstammzelltransplantation abzuzeichnen [2].

In den vergangenen Jahren konnte durch den weltweiten Aufbau von Fremdspenderregistern für KM und periphere Blutstammzellen die Versorgung von Patienten ohne HLA-kompatible Familienspender wesentlich verbessert werden. In Deutschland werden derzeit für zirka 80% der eingeleiteten Suchanfragen HLA-kompatible Fremdspender gefunden, so dass die Anzahl der unverwandt allogenen Transplantationen stetig ansteigt [9]. In Europa wurden im Jahr 2002 insgesamt 8018 allogene Blutstammzelltransplantationen durchgeführt [2]. Als bevorzugte Stammzellquelle werden im Rahmen der allogenen Transplantation periphere Blutstammzellen eingesetzt, da im Vergleich zur KM-Transplantation die behandlungsassoziierte Leuko- und Thrombozytopenie entscheidend verkürzt ist [10]. Gleichzeitig scheint die Verwendung von peripheren Blutstammzellen eine Verminderung der Rezidivrate sowie ein verbessertes Gesamtüberleben der Patienten zu gewährleisten [10, 11].

Es kann davon ausgegangen werden, dass sich der jährliche Anstieg allogener Stammzelltransplantationen von 5–10% in Europa auch in den nächsten Jahren fortsetzen wird [2]. Dies hängt auch mit dem Einsatz von Konditionierungsregimes mit reduzierter Toxizität zusammen, wodurch zunehmend die Behandlung von Hochrisiko-Patienten ermöglicht und gleichzeitig eine Ausweitung der Indikationen zur allogenen Stammzelltransplantation erreicht wird [12, 13].

#### *Transplantation autologer Blutstammzellen*

Bei der autologen Transplantation hämatopoetischer Stammzellen wird eine myelotoxische Hochdosis-Chemotherapie mit der nachfolgenden Rückgabe kryokonservierter Blutstammzellen des Patienten kombiniert. Ziel der dosiseskalierten Chemotherapie ist die Eradikation des Tumors. Mit der supportiven Stammzellgabe wird eine rasche Überwindung der chemotherapieinduzierten Aplasie und Immunsuppression erreicht und damit die therapieassoziierte Morbidität und Mortalität reduziert.

Im Jahr 2002 wurden in Europa 13 292 autologe Transplantationen durchgeführt, was einem Anteil von 66% an den gesamten Stammzelltransplantationsaktivitäten entspricht [2]. Im Gegensatz zur allogenen Transplantation ist bei der autologen Transplantation in den letzten Jahren jedoch kein weiterer Anstieg mehr zu verzeichnen. Etwa 75% der autologen Transplantationen betreffen lymphoproliferative Erkrankungen, wie multiples Myelom, Morbus Hodgkin sowie Non-Hodgkin-Lymphome. Seltener Indikationen sind solide Tumoren (13%), Leukämien (12%) und Autoimmunerkrankungen (<1%).

Als Stammzellquelle für die autologe Transplantation haben sich periphere Blutstammzellen mit einem Anteil von inzwischen mehr als 97% weitestgehend durchgesetzt [2]. Periphere Blutstammzellen werden nach einer Mobilisationsbehandlung des Patienten mit Wachstumsfaktoren durch Apheresen gewonnen und bis zur Transplantation in kryokonservierter Form gelagert. Der Anteil von autologem KM lag im Jahr 2002 in Europa mit 359 Transplantationen unter 3%. Der wesentliche Vorteil von autologen Stammzellen aus pB gegenüber KM besteht einerseits in der einfacheren Gewinnung durch Apherese im Vergleich zur KM-Punktion in Vollnarkose; andererseits wird mit pB eine raschere hämatopoetische und immunologische Rekonstitution des Empfängers und damit eine Reduzierung der behandlungsbedingten Komplikationen erreicht [14, 15].

#### *Stellenwert der Transplantation Blut bildender Stammzellen aus NSB*

##### *Hämatopoetisches Potential von Blutstammzellen aus NSB*

Trotz des im Vergleich zu einem Transplantat aus pB oder KM deutlich geringeren Volumens von NSB finden sich darin grundsätzlich ausreichende Mengen an hämatopoetischen Vorläuferzellen, um Patienten zu transplantieren [16, 17]. Etwa  $0,05 \pm 0,08\%$  der mononukleären Zellen bzw. zirka 5% der CD34+ Zellen im NSB weisen einen unreifen Phänotyp auf (CD38–), im KM sind dies nur 1–2% der CD34+ Zellen [16–18]. CD34+ Zellen aus NSB haben darüber hinaus sowohl nativ als auch nach In-vitro-Kultivierung eine verlängerte telomerische DNA, die ebenfalls auf ein gesteigertes proliferatives Potential hinweist [19, 20]. Einzelne in Kultur verbrachte

CD34+ Zellen zeigen tatsächlich eine starke Klonogenität und können in mehrmals hintereinander angesetzten Zellkulturen zu Kolonie bildenden Einheiten auswachsen [21, 22]. Im Vergleich zu KM befindet sich ein größerer Anteil von CD34+/CD38- NSB-Zellen im aktiven Zellzyklus, so dass diese schneller als phänotypisch identische KM-Zellen auf eine Ex-vivo-Stimulation mit Zytokinen reagieren und zur Proliferation angeregt werden können [23–25]. Untersuchungen zum Gehalt von in vitro quantifizierbaren, unreifen hämatopoetischen Vorläuferzellen (LTC-IC) zeigten eine weitgehend vergleichbare Konzentration im KM, pB und NSB [26]. Diese In-vitro-Daten wurden letztlich auch durch klinische Transplantationsergebnisse bestätigt. Aus ihnen konnte abgeleitet werden, dass ein einzelnes Transplantat aus NSB eine ausreichende Zahl an undifferenzierten hämatopoetischen Stammzellen enthält, um bei Patienten eine dauerhafte Hämatopoese zu etablieren [27–30]. Allerdings sollte zur erfolgreichen Etablierung eine Mindestdosis an transplantierten kernhaltigen Zellen (nucleated cells; NC) von zirka  $3 \times 10^7$ /kg Körpergewicht (KG) des Patienten angestrebt werden. Auch im xenogenen Mastransplantationsmodell konnte gezeigt werden, dass humanes NSB undifferenzierte Stammzellen enthält, die das KM subletal bestrahlter Tiere dauerhaft repopulieren können [31–33]. Darüber hinaus ließ sich in quantitativen, murinen Transplantationsexperimenten mittels «Limiting dilution»-Technik nachweisen, dass die Stammzellfrequenz im NSB im Vergleich zum KM dreimal und im Vergleich zu pB-Präparaten sechsmal höher ist [34]. Als weiterer Nachweis der ausgeprägten Repopulationskapazität von Stammzellen aus NSB zeigte sich im fetalen Schafmodell, dass Stammzellen, die bereits in zwei aufeinander folgende Schafgenerationen transplantiert worden waren, auch nach der Übertragung in eine dritte Empfängergeneration ihr Repopulierungspotential nicht verloren hatten [35].

Blutstammzelltransplantate aus NSB werden zur Langzeitlagerung kryokonserviert und anschließend in Flüssigstickstofftanks bei unter  $-135^\circ\text{C}$  aufbewahrt. Es wird dabei allgemein angenommen, dass sich unter diesen kontrollierten Bedingungen die Zellqualität auch bei jahrelanger Aufbewahrung nicht nachteilig verändert. Für kryokonservierte, hämatopoetische Stammzellen aus NSB liegen für die In-vitro-Proliferationskapazität und die Expansionsfähigkeit, sowie für die Repopulationskapazität im xenogenen NOD/SCID-Mausmodell Daten nach 15-jähriger Lagerungszeit vor [36]. Diese besagen, dass sich die Qualität der Präparate durch die Kryolagerung nicht nachteilig verändert. Dennoch bleibt aus heutiger Sicht abzuwarten, ob diese Aussage auch nach noch längeren Lagerungszeiträumen beibehalten werden kann.

#### *Transplantation allogener Blutstammzellen aus NSB*

Die klinische Anwendung allogener Blutstammzellen aus NSB ist erst seit kurzem dabei, sich neben der Transplanta-

tion allogener KM-Stammzellen oder peripherer Blutstammzellen als alternatives Therapieverfahren zu etablieren. Nachdem 1988 durch Gluckman et al. [27] die erste familiär allogene NSB-Transplantation erfolgreich durchgeführt wurde, starteten in der Folge weltweit Programme zur Sammlung und Bevorratung kryokonservierter Transplantate von unverwandten Fremd Spendern in öffentlichen NSB-Banken. Als erstes derartiges Projekt gilt das ab 1992 am New York Blood Center initiierte Placental Blood Program [37, 38]. Durch diese Vorarbeiten wurde die Durchführung der ersten unverwandten Transplantation von NSB durch Kurtzberg et al. [39] im August 1993 ermöglicht.

13 Jahre nach Beginn der Einlagerung von allogenen NSB-Einheiten von Fremd Spendern beträgt der weltweite Bestand in öffentlichen Banken über 191 000 kryokonservierte Transplantate (Stand März 2005, Datenbank Bone Marrow Donor Worldwide, [www.bmdw.org](http://www.bmdw.org)), wobei die Gesamtzahl enorme Wachstumsraten verzeichnet. So ist allein von September 2002 bis März 2005 die Zahl der weltweit verfügbaren NSB-Einheiten um zirka 60% angestiegen, was vor allem auf sehr aktive Programme in USA und Asien zurückzuführen ist. Trotz dieses rasanten Anstiegs liegt der weltweite Anteil an eingelagerten NSB-Transplantaten im Vergleich zu den gegenwärtig 9,6 Millionen registrierten freiwilligen KM- und Blutstammzell Spendern erst bei etwa 2%.

Bislang wurden mehr als 3500 allogene Blutstammzelltransplantate aus NSB klinisch eingesetzt (<https://www.netcord.org/inventory.html>). Wegen der limitierten Dosis an NC sowie CD34+ Zellen wurden die Präparate aber vornehmlich für die Behandlung von Kindern verwendet [28, 29, 39–42]. Die aktivsten Transplantationszentren sind dabei ebenfalls in den USA und Asien zu finden. Im Jahr 2002 wurden für Europa insgesamt nur 162 allogene NSB-Transplantationen gemeldet, was einem Anteil von 2% an den insgesamt durchgeführten allogenen Stammzelltransplantationen entspricht [2]. Insbesondere profitieren solche Patienten von der schnellen Verfügbarkeit von NSB, für die entweder kein HLA-kompatibler Fremdsponder gefunden wird oder für die die Dauer der Spendersuche wegen der Dringlichkeit der Transplantation ein erhöhtes Risiko darstellen würde [43].

In der von Rubinstein et al. [29] 1998 publizierten Auswertung wurde abschließend festgestellt, dass Fremdsponder NSB, zumindest für pädiatrische Patienten und für bestimmte Indikationen, als Stammzellquelle eine vollwertige Alternative zu KM oder pB-Präparaten darstellt. Sind für die notwendige Behandlung von Erwachsenen weder HLA-kompatible Familien- oder Fremdsponder zur Gewinnung von KM-Stammzellen oder peripheren Blutstammzellen verfügbar, so wird seit kurzem auch für Erwachsene die Transplantation von allogenen NSB als mögliche Therapieoption betrachtet [44, 45]. Die im Rahmen der deutschen Konsensuskonferenz erarbeiteten Empfehlungen zur immunogenetischen Spenderauswahl bei Fremdspondertransplantation befürworten die Anwendung von NSB dagegen zunächst noch ausschließlich

bei Kindern und bei gleichzeitigem Fehlen eines kompatiblen Familien- oder Fremdspenders, wobei als weitere Option die Möglichkeit einer haploidenten Stammzelltransplantation mit einem Familienspender besteht [46, 47].

Europaweit lag im Jahr 2002 der Schwerpunkt der Indikation von allogenen NSB bei familiär gerichteten Transplantationen [2, 28]. Die Spannweite der Diagnosen reichte dabei von malignen hämatologischen Systemerkrankungen wie akuten und chronischen Leukämien (akute lymphatische Leukämie, akute myeloische Leukämie, chronisch myeloische Leukämie), über angeborene Blutbildungsstörungen wie Fanconi-Anämie oder  $\beta$ -Thalassämie bis hin zu heterogenen, hereditären oder erworbenen Erkrankungen wie Wiskott-Aldrich-Syndrom, Hunter-Syndrom oder soliden Tumoren (Neuroblastom) [28, 29, 48]. Besonders gute Ergebnisse konnten bei der Behandlung nicht-maligner, hereditärer hämatologischer Erkrankungen wie der  $\beta$ -Thalassämie oder schwerer angeborener Immundefekte erzielt werden, bei denen kein «Anti-Tumor-Effekt» des Transplantats erforderlich ist. Für diese Patientengruppe könnte daher – nach einer pränatalen Diagnostik in der Spätschwangerschaft zur Testung der HLA-Kompatibilität zwischen potentiell Spender und Patient – die Bereitstellung eines gerichtet gesammelten, familiär allogenen NSB-Transplantats insbesondere dann erwogen werden, wenn aufgrund der ethnischen Zugehörigkeit des Patienten eine Fremdspendersuche wenig erfolgreich erscheint [40, 49–51].

#### *Bedeutung von Zellzahl und HLA-Kompatibilität für den Erfolg einer allogenen NSB-Transplantation*

In den klinischen Studien zeigten 75–100% der mit verwandtem oder unverwandtem NSB transplantierten Patienten innerhalb von 60 Tagen nach Transplantation einen signifikanten Anstieg der Leukozyten als Hinweis für ein erfolgreiches Anwachsen der allogenen Stammzellen [30, 44, 45]. Bis zum Anstieg der neutrophilen Granulozyten im pB auf 500/ $\mu$ l vergehen im Median 22–30 Tage; der Anstieg der Thrombozyten auf 20 000/ $\mu$ l bzw. 50 000/ $\mu$ l dauert im Median 56–71 Tage, so dass die Regenerationszeiten im Vergleich zur Transplantation mit KM-Stammzellen oder peripheren Blutstammzellen signifikant verlängert sind [10, 28, 29, 33, 41, 44, 45, 52]. Die bisherigen Studien zeigten übereinstimmend, dass sowohl für eine möglichst kurze Aplasiezeit und der damit verbundenen Reduzierung des Risikos lebensbedrohlicher Infektionen als auch für das Langzeitüberleben eine möglichst hohe Dosis an kernhaltigen NSB-Zellen übertragen werden sollte [30]. Somit stellt bei der allogenen NSB-Transplantation die applizierte Dosis an kernhaltigen Zellen einen der wichtigsten prädiktiven Faktoren für eine erfolgreiche Behandlung dar. Eine Dosis von  $\geq 3 \times 10^7$  NC/kg KG des Patienten ist deshalb bei NSB-Transplantaten anzustreben [28], wobei eine erfolgreiche Transplantation im Einzelfall auch mit etwa  $1 \times 10^7$  NC/kg KG möglich ist [44, 45, 52–54].

Bei der allogenen NSB-Transplantation muss in 25–50% der Patienten mit einer klinisch relevanten akuten Graft-versus-Host-Erkrankung (graft versus host disease; GvHD)  $\geq 2$ . Grades gerechnet werden [28, 29, 39, 41, 44, 45, 52]. Der Anteil der Patienten mit einer chronischen GvHD beträgt etwa 10–50%, wobei erwachsene Patienten vermehrt betroffen sind. Bei der familiär allogenen Transplantation zeigen Patienten mit NSB eine signifikant niedrigere Rate an akuter und chronischer GvHD im Vergleich zur Transplantation mit familiär allogenen KM [50]. Trotz dieser im Vergleich zur HLA-inkompatiblen KM-Transplantation signifikant geringeren GvHD-Rate steigt jedoch auch bei NSB die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Transplantation mit zunehmender HLA-Übereinstimmung [55], auch wenn im Einzelfall experimentelle Transplantationen von gerichtetem, HLA-haploidentem NSB ohne die Entwicklung einer schweren GvHD durchgeführt wurden [56, 57].

#### *Hintergrund der Langzeitlagerung autologer Blutstammzellen aus NSB*

In zunehmendem Umfang werden in Deutschland und anderen europäischen Ländern Schwangere und deren Familien von kommerziellen NSB-Banken umworben, gegen entsprechende Bezahlung eine Sammlung und Langzeitlagerung von Nabelschnurblut des eigenen Kinds vornehmen zu lassen. Auch in den USA haben sich bereits etwa 20 private NSB-Banken etabliert, die eine sehr aktive Öffentlichkeitsarbeit und Werbung bei Schwangeren und deren Familien betreiben [58]. In Deutschland gibt es augenblicklich 6 Firmen, die die Einlagerung von autologem NSB anbieten. Hier wie dort werden den Familien dabei für die Gewinnung, Verarbeitung und Kryokonservierung sowie in Abhängigkeit von der vereinbarten Lagerungszeit nicht unerhebliche Kosten in Rechnung gestellt. Diese Dienstleistung, die bereits von vielen Tausend Schwangeren in Deutschland in Anspruch genommen wurde, wird von den kommerziell betriebenen Privatbanken als höchst sinnvolle «Investition in die Zukunft» dargestellt, da das eingelagerte NSB mit den darin enthaltenen Stammzellen bei zukünftigem Bedarf aufgetaut und für die erkrankte Person selbst oder für einen erkrankten Familienangehörigen lebensrettend sein könne. Als Einsatzgebiete der autologen NSB-Stammzellen werden dabei vor allem Erkrankungen aufgeführt, für deren Behandlung bereits jetzt mehr oder weniger gesicherte Indikationen zur autologen Blutstammzelltransplantation bestehen (z.B. lymphoproliferative Erkrankungen, solide Tumoren und Leukämien). Darüber hinaus wird den potentiellen Kunden in Werbebroschüren und Internetpräsentationen dargestellt, dass neben den Blut bildenden Stammzellen die ebenfalls im NSB enthaltenen mesenchymalen Stammzellen für regenerative Zelltherapieverfahren eingesetzt werden könnten. Es wird vielfach der Eindruck erweckt, dass beispielsweise Behandlungen des Myokardinfarkts oder



andere Gewebeersatztherapien mit den eigenen Zellen aus dem aufgetauten NSB schon jetzt Standard sind oder alsbald sein werden.

Viele der von den Privatbanken mit solchen Informationen konfrontierten Schwangeren wenden sich Hilfe suchend an ihren Hausarzt oder Gynäkologen mit der Frage, ob die Sammlung und Einlagerung von autologem NSB wirklich eine so unverzichtbare und lebensrettende Maßnahme sei. Alternativ oder zusätzlich kontaktieren sie häufig eine der in Deutschland etablierten öffentlichen NSB-Banken, um dort fachkompetente Hintergrundinformationen zu erhalten und damit die prinzipiell komplexen Zusammenhänge eines möglichen Einsatzes der autologen NSB-Stammzellen besser zu verstehen. In zwei Untersuchungen wurden Schwangere nach ihrem Kenntnisstand bezüglich einer NSB-Sammlung befragt. Wenig überraschend zeigten 60–70% der Schwangeren einen sehr unzureichenden Informationsstand [59, 60]. Es ist daher davon auszugehen, dass viele Schwangeren und deren Familienangehörige nicht in der Lage sind, die Versprechungen kommerzieller NSB-Banken kritisch zu hinterfragen. Da werdende Mütter und Väter in dieser Situation vor allem das Wohl ihres Kindes im Auge haben, sind sie im Zweifelsfall eher dazu bereit, die als «einmalige Chance» bezeichnete Sammlung und Kryokonservierung von autologem NSB bei der Geburt ihres Kindes selbst zu finanzieren.

#### *Wahrscheinlichkeit einer durch autologe Stammzelltransplantation behandelbaren Erkrankung*

Die Sinnhaftigkeit der Gewinnung und Langzeitlagerung von autologen NSB-Stammzellen muss jeweils vor dem Hintergrund der wissenschaftlich gesicherten medizinischen Erkenntnisse beurteilt werden. Der mögliche Sinn dieser Maßnahme hängt natürlich auch von dem Risiko ab, im Laufe des Lebens eine Erkrankung zu entwickeln, die mit einer Stammzelltransplantation behandelt werden muss. Auch wenn sich die Indikationen und Therapiemöglichkeiten ausweiten, wird das Risiko, bis zum jungen Erwachsenenalter eine durch Stammzelltransplantation therapierbare Erkrankung zu entwickeln, als sehr gering eingestuft. Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer solchen Erkrankung liegt derzeit in der Größenordnung von 1:15 000 bis 1:20 000 [61, 62].

#### *Stellenwert der Transplantation autologer Blutstammzellen aus NSB*

Falls bei einem Patienten, für den ein autologes NSB-Transplantat eingelagert ist, eine mit Blutstammzellen behandelbare Erkrankung auftreten sollte, wäre eine Verwendung der autologen NSB-Stammzellen gegenwärtig höchst unwahrscheinlich, da derzeit kein im Rahmen von klinischen Studien überprüfbares Therapieregime mit autologen NSB-Stammzellen existiert. Bislang finden sich lediglich vereinzelte Fallberichte zur klinischen Anwendung autologer Blutstammzellen aus NSB [61]. Nach den derzeit verfügbaren Daten kamen Präparate aus autologem NSB im Rahmen der weltweit sehr aktiv

betriebenen Programme zur autologen Blutstammzelltransplantation insgesamt nur siebenmal zum Einsatz [63].

Für die autologe Stammzelltransplantation haben sich periphere, mit Wachstumsfaktoren stimulierte Blutstammzellen als optimale Stammzellquelle erwiesen, weil sie zu einer sehr schnellen Überbrückung der Aplasiaphase führen. Auch für die Entwicklung optimierter pädiatrisch-onkologischer Therapieregimes, wie etwa bei der Behandlung rezidivierender Malignome, werden Hochdosis-Chemotherapien in Kombination mit autologen peripheren Blutstammzellen eingesetzt. Die im Vergleich zu KM-Stammzellen und peripheren Blutstammzellen deutlich verzögerte hämatopoetische Rekonstitution bei der Transplantation von NSB lässt diese Stammzellquelle derzeit nicht als gleichwertigen Ersatz für periphere Blutstammzellen im Rahmen der autologen Transplantation erscheinen, da mit einem erheblich erhöhten Behandlungsrisiko gerechnet werden muss.

#### *Mögliche Risiken autologer NSB-Transplantate bei der Behandlung maligner Erkrankungen*

Eingehende molekularbiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass bereits im NSB von Kindern, die im späteren Verlauf an einer akuten lymphatischen Leukämie erkrankten, präleukämische, chromosomale Translokationen nachweisbar waren, die für die klinische Manifestation der Erkrankung typisch sind [64]. Es ist daher davon auszugehen, dass solche genomischen Veränderungen als pränatale Prädisposition für eine potentielle maligne Transformation bereits intrauterin erworben werden und damit im Stammzell-Pool des NSB vorhanden sind.

Nur ein relativ geringer Anteil der pädiatrischen Patienten mit akuten leukämischen Erkrankungen muss für einen kurativen Ansatz eine Stammzelltransplantation erhalten, die dann zumeist mit verwandten oder unverwandten Spendern durchgeführt wird. Allogene Transplantate aus NSB können prinzipiell ebenfalls erfolgreich eingesetzt werden. Gegen den klinischen Einsatz autologer NSB-Zellen spricht dagegen das häufige Vorliegen potentiell präleukämischer Stammzellen bei diesen Patienten, die verzögerte hämatopoetische Rekonstitution sowie das Fehlen des allogenen Graft-versus-Tumor-Effekts, der einen wesentlichen Anteil an der biologischen Kontrolle bzw. Eradikation des malignen Zellklons hat [65]. Vor diesem Hintergrund ist die Transplantation autologer Stammzellen aus NSB für die Behandlung von kindlichen Leukämien derzeit kein realistischer Ansatz und wird auch klinisch nicht praktiziert.

In einer im Jahre 2002 publizierten Stellungnahme Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantationen (DAG-KBT) zur Kryokonservierung und Langzeitlagerung von NSB-Stammzellen bei Neugeborenen zur späteren Eigennutzung kommen die Experten zu vergleichbaren Schlussfolgerungen ([www.dkms.de/asp/Publikationen/1683](http://www.dkms.de/asp/Publikationen/1683)). Darin wird abschließend betont, dass die Mütter und Familien von gesunden Neugeborenen kein Versäumnis begehen, wenn sie das NSB des Kindes *nicht* einfrieren lassen.

### *Stellenwert der Transplantation familiär allogener Blutstammzellen aus NSB*

Die Sammlung, Präparation und Einlagerung familiär allogener NSB-Transplantate erscheint in Familien mit einem transplantationspflichtigen und HLA-identischen Geschwister sinnvoll. Da nur in 25% der Fälle mit einer HLA-Identität zwischen dem potentiellen Spender des Nabelschnurbluts und den erkrankten Geschwistern zu rechnen ist, empfiehlt sich daher vor der Entscheidung zur Sammlung von NSB in einem spezialisierten Zentrum eine wenig belastende Pränataldiagnostik in der Spätschwangerschaft, bei der die HLA-Merkmale des Ungeborenen bestimmt werden [49, 66]. Im Rahmen der Sammlung von familiär gerichtetem allogenen NSB, bei der der Spender pränatal nicht auf HLA-Kompatibilität zum transplantationspflichtigen Geschwister getestet wird, ist das Verhältnis von Aufwand und Nutzen unter Umständen sehr ungünstig. So wurden in einem groß angelegten Programm zur Einlagerung von familiär allogenen NSB bei solchen Familien, in denen bereits transplantationspflichtige Patienten mit Malignomen, Hämoglobinopathien, Stoffwechselstörungen usw. vorlagen, tatsächlich nur 3,4% der Präparate für die Geschwisterbehandlung eingesetzt [51]. Die Verwendungsrate familiär allogener NSB-Transplantate wird vermutlich bei solchen Konstellationen noch niedriger liegen, bei denen sich der Patient nach einer erfolgreich abgeschlossenen Behandlung in dauerhafter Remission befindet und im späteren Verlauf nur möglicherweise auf eine allogene Transplantation angewiesen ist. Darüber hinaus stünden Geschwister, von denen kein NSB-Transplantat vorliegt, später dennoch als Spender von peripheren Blutstammzellen oder KM zur Verfügung.

### *Ethische Fragen bei der Gewinnung und Langzeitlagerung von autologem NSB*

In ihrer Stellungnahme zu den unterschiedlichen Aspekten der Einlagerung von autologen NSB stellt die Europäische Gruppe für Ethik (EGE) die Legitimation kommerzieller NSB-Banken prinzipiell in Frage, da sie eine kostenpflichtige Dienstleistung anbieten, die gegenwärtig keinerlei gesicherten therapeutischen Nutzen gewährt [61]. Die EGE sah aus ethischer Sicht zwar keine Notwendigkeit, eine Empfehlung zum generellen Verbot kommerziell betriebener NSB-Banken auszusprechen, regte jedoch an, dass die Aktivitäten solcher Einrichtungen von den staatlichen Behörden reguliert und kontrolliert werden. Auch alle Werbemaßnahmen sollten unter die Kontrolle der zuständigen Behörden fallen, um eine irreführende Darstellung medizinischer Zusammenhänge oder gar eine bewusste Fehlinformationen potentieller Kunden zu verhindern, zumal eine Langzeitlagerung von NSB über mehrere Jahrzehnte bisher weder klinisch getestet noch arzneimittelrechtlich überprüft wurde. Weiterhin wird gefordert, dass diese Einrichtungen lizenziert werden sollten und damit die gleichen Qualitätsstandards wie öffentliche NSB-Banken einhalten. Daneben soll von diesen privaten Einrichtungen eine Versicherung abgeschlossen werden, die die Weiterführung

der Lagerung in jedem Fall garantiert. Falls sich wider Erwarten herausstellen sollte, dass eine Sammlung und Langzeitlagerung von autologem NSB von gesundheitlichem Nutzen ist, sollten nach Ansicht der EGE diese Maßnahmen dann durch das öffentliche Gesundheitssystem ermöglicht werden.

### **Perspektiven eines erweiterten klinischen Einsatzes von Stammzellen aus NSB**

#### *Mesenchymale Stammzellen aus NSB*

Spektakuläre Forschungsergebnisse über eine mögliche Plastizität adulter humaner Stammzellen haben in der breiten Öffentlichkeit die Frage aufgeworfen, ob sich durch eine zielgerichtete Transdifferenzierung von Stammzellen möglicherweise völlig neue Perspektiven für deren klinische Anwendung eröffnen [67, 68]. Dabei stehen gegenwärtig die so genannten mesenchymalen Stammzellen (MSC) im Zentrum des wissenschaftlichen Interesses. Es handelt sich dabei um eine Population von Zellen, welche primär aus KM isoliert wurde und sich in vitro in Knochen-, Knorpel- und Muskelzellen differenzieren kann [69]. Neueste Untersuchungen brachten auch Hinweise auf eine mögliche In-vitro-Transdifferenzierungsfähigkeit von MSC, z.B. in Leberzellen [70]. Erst vor kurzem wurde berichtet, dass auch aus sehr frischem NSB in zirka 40–60% der untersuchten Proben MSC-Klone isoliert werden konnten, allerdings in einer extrem niedrigen Konzentration [71–73]. Diese Zellen zeigten in vitro eine ausgeprägte Expansionsfähigkeit sowie im Tiermodell Hinweise auf ein Transdifferenzierungspotential [72–73]. Lediglich eine Arbeitsgruppe beschrieb, dass MSC auch aus zuvor kryokonserviertem und aufgetautem NSB isolierbar sind [74]. Dafür war es möglich, fetale MSC auch aus anderen Geweben zu isolieren, wie etwa der Plazenta, der Nabelschnur oder aus Amnionflüssigkeit [75, 76]. Im Rahmen der Charakterisierung dieser Zellen wurden bereits erste vergleichende Studien zur Genexpression von MSC aus KM und NSB sowie eine Proteom-Analyse von MSC aus NSB publiziert [77, 78]. Trotz dieser ersten wissenschaftlichen Ergebnisse ist aber zum heutigen Zeitpunkt noch völlig unklar, ob sich diese MSC aus NSB für zukünftige klinische Anwendungen einsetzen lassen.

#### *Immunregulation und Gewebeersatz durch NSB*

Klinische Anwendungen von in vitro expandierten MSC könnten künftig im Rahmen der Blutstammzelltransplantation stattfinden, wobei kotransplantierte MSC zu einer Beschleunigung der hämatopoetischen Rekonstitution oder zur Kontrolle einer schweren GvHD beitragen sollen [79, 80]. Ebenso wird darüber spekuliert, ob diese Zellen im Rahmen von Gewebeersatztherapien einsetzbar sind. Diese prinzipiell hochinteressanten wissenschaftlichen Ansätze sind aber noch

weit von einem breiten klinischen Einsatz entfernt – wenn er überhaupt möglich sein wird. So werden bereits seit Jahren experimentelle Therapieverfahren evaluiert, die auf einer vor der Transplantation durchgeführten In-vitro-Vermehrung der hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen basieren [25]. Trotz erheblicher Anstrengungen haben diese Strategien zur Zellexpansion und Zelldifferenzierung bisher nicht den Weg in die klinische Routineanwendung gefunden. Solche Studien werden auf absehbare Zeit ausschließlich im Rahmen grundlagenorientierter Forschung betrieben, da noch eine Vielzahl offener Probleme zu lösen ist, die unter anderem auch arzneimittelrechtliche Aspekte zur Herstellung somatischer Zelltherapeutika berühren.

## Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Die Gewinnung und Langzeitlagerung von fremd allo genen und – bei bestehender medizinischer Indikation – von familiär

allogenen Stammzelltransplantaten aus NSB in öffentlichen NSB-Banken wird generell als sinnvolle Maßnahme angesehen und ist inzwischen medizinischer Standard. Diese freiwillig und unentgeltlich gespendeten, allo genen Blutstammzellen tragen dazu bei, die weltweite Versorgung transplantationspflichtiger Patienten weiter zu verbessern. Dagegen kann die kommerziell betriebene, von privaten NSB-Banken propa gierte Einlagerung autologer Stammzellpräparate vor dem Hintergrund des medizinischen Wissensstands zum jetzigen Zeitpunkt nicht empfohlen werden, da sich für diese Blutstammzellpräparate aus heutiger Sicht keine klinischen Ein satzmöglichkeiten ableiten lassen.

Im Namen der Sektion «Transplantation und Zelltherapie»

*H. Eichler*

*J. Burkhart*

*A. Sputtek*

*M. Wiesneth*

## Literatur

- Lennard AL, Jackson GH: Stem cell transplantation. *Br Med J* 2000;321:433–437.
- Gratwohl A, Schmid O, Baldomero H, Horisberger B, Urbano-Ispizua A; Accreditation Committee of the European Group for Blood and Marrow Transplantation: Haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) in Europe 2002. Changes in indication and impact of team density. A report of the EBMT activity survey. *Bone Marrow Transplant* 2004;34: 855–875.
- To LB, Haylock DN, Simmons PJ, Juttner CA: The biology and clinical uses of blood stem cells. *Blood* 1997;89:2233–2258.
- Orkin SH: Diversification of haematopoietic stem cells to specific lineages. *Nature Rev Genet* 2000;1: 57–64.
- Punzel M, Ho AD: Divisional history and pluripotency of human hematopoietic stem cells. *Ann N Y Acad Sci* 2001;938:72–81.
- Vesole D, Barlogie B, Hoffman R, Tsukamoto A: Enrichment of human hematopoietic stem cell activity in the CD34+Thy-1+Lin- subpopulation from mobilized peripheral blood. *Blood* 1995;85:368–378.
- van der Kooy D, Weiss S: Why stem cells? *Science* 2000;287:1439–1441.
- Zijlmans JM, Visser JW, Laterveer L, Kleiverda K, Heemskerk DP, Kluijn P, Willemze R, Fibbe WE: The early phase of engraftment after murine blood cell transplantation is mediated by hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95: 725–729.
- Goldmann SF: Search strategies for HLA compatible stem cell donors. Proceedings of the Second International Donor Registries Conference, France Greffe de Moelle, Paris, 1999, pp 62–70.
- Bensinger WI, Martin PJ, Storer B, Clift R, Forman SJ, Negrin R, Kashyap A, Flowers ME, Lilleby K, Chauncey TR, Storb R, Appelbaum FR: Transplantation of bone marrow as compared with peripheral-blood cells from HLA-identical relatives in patients with hematologic cancers. *N Engl J Med* 2001;344:175–181.
- Elmaagacli AH, Beelen DW, Opalka B, Seeber S, Schaefer UW: The risk of residual molecular and cytogenetic disease in patients with Philadelphia-chromosome positive first chronic phase chronic myelogenous leukemia is reduced after transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells compared with bone marrow. *Blood* 1999;94: 384–389.
- Carella AM, Champlin R, Slavin S, McSweeney P, Storb R: Mini-allografts: ongoing trials in humans. *Bone Marrow Transplant* 2000;25:345–350.
- Spitzer TR: Nonmyeloablative allogeneic stem cell transplant strategies and the role of mixed chimerism. *Oncologist* 2000;5:215–223.
- Roberts MM, To LB, Gillis D, Mundy J, Rawling C, Ng K, Juttner CA: Immune reconstitution following peripheral blood stem cell transplantation, autologous bone marrow transplantation and allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1993;12:469–475.
- Siena S, Bregni M, Di Nicola M, Ravagani F, Peccatori F, Gandola L, Lombardi F, Tarella C, Bonadonna G, Gianni AM: Durability of hematopoiesis following autografting with peripheral blood hematopoietic progenitors. *Ann Oncol* 1994;5: 935–941.
- Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, Cooper S, Bard J, English D, Arny M, Thomas L, Boyse EA: Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86: 3828–3832.
- Broxmeyer HE, Hangoc G, Cooper S, Ribeiro RC, Graves V, Yoder M, Wagner J, Vadhan-Raj S, Benninger L, Rubinstein P, Broun ER: Growth characteristics and expansion of human umbilical cord blood and estimation of its potential for transplantation in adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:4109–4113.
- Hao QL, Shah AJ, Thiemann FT, Smogorzewska EM, Crooks GM: A functional comparison of CD34+CD38- cells in cord blood and bone marrow. *Blood* 1995;86:3745–3753.
- Vaziri H, Dragowska W, Allsopp RC, Thomas TE, Harley CB, Lansdorp PM: Evidence for a mitotic clock in human hematopoietic stem cells: loss of telomeric DNA with age. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:9857–9860.
- Gammaitoni L, Weisel KC, Gunetti M, Wu KD, Bruno S, Pinelli S, Bonati A, Aglietta M, Moore MA, Piacibello W: Elevated telomerase activity and minimal telomerase loss in cord blood long-term cultures with extensive stem cell replication. *Blood* 2004;103:4440–4448.
- Carow CE, Hangoc G, Broxmeyer HE: Human multipotential progenitor cells (CFU-GEMM) have extensive replating capacity for secondary CFU-GEMM: an effect enhanced by cord blood plasma. *Blood* 1993;81:942–949.
- Lu L, Xiao M, Shen RN, Grigsby S, Broxmeyer HE: Enrichment, characterization, and responsiveness of single primitive CD34+++ human umbilical cord blood hematopoietic progenitors with high proliferative and replating potential. *Blood* 1993; 81:41–48.
- De Bruyn C, Delforge A, Bron D, Bernier M, Stryckmans P: Cell cycle status and kinetics of CD34+ subpopulations from umbilical cord blood, bone marrow and mobilized peripheral blood. *Blood* 1996;88(suppl 1):3130.
- Eichler H, Zieger W, Klüter H: Ex vivo expansion of umbilical cord blood cells generated from CD34+ progenitors by using a megakaryocyte-active cytokine combination. *Infus Ther Transfus Med* 2001;28:318–325.
- Wagner JE, Verfaillie CM: Ex vivo expansion of umbilical cord blood hematopoietic stem and progenitor cells (Editorial). *Exp Hematol* 2004;32:412–413.
- Pettengell R, Luft T, Henschler R, Hovs JM, Dexter TM, Ryder D, Testa NG: Direct comparison by limiting dilution analysis of long-term culture-initiating cells in human bone marrow, umbilical cord blood, and blood stem cells. *Blood* 1994;84:3653–3659.

- 27 Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD: Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from a HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321:1174-1178.
- 28 Gluckman E, Rocha V, Boyer-Chamard A, Locatelli F, Arcese W, Pasquini R, Ortega J, Souillet G, Ferreira E, Laporte JP, Fernandez M, Chastang C: Outcome of cord-blood transplantation from related and unrelated donors. *N Engl J Med* 1997; 337:373-381.
- 29 Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A, Kurtzberg J, Adamson J, Migliaccio AR, Berkowitz RL, Cabbad M, Dobrila NL, Taylor PE, Rosenfield RE, Stevens CE: Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. *N Engl J Med* 1998;339:1565-1577.
- 30 Benito AI, Diaz MA, Gonzalez-Vicent M, Sevilla J, Madero L: Hematopoietic stem cell transplantation using umbilical cord blood progenitors: review of current clinical results. *Bone Marrow Transplant* 2004;33:675-690.
- 31 Larochelle A, Vormoor J, Hanenberg H, Wang JC, Bhatia M, Lapidot T, Moritz T, Murdoch B, Xiao XL, Kato I, Williams DA, Dick JE: Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy. *Nat Med* 1996;2: 1329-1337.
- 32 Eichler H, Beck C, Schröder B, Nguyen XD, Klüter H: NOD/SCID mice transplantation of volume reduced and thawed umbilical cord blood transplants following closed system immunomagnetic cell selection. *Transfusion* 2002;42:1285-1292.
- 33 Eichler H, Kern S, Beck C, Zieger W, Klüter H: Engraftment capacity of umbilical cord blood cells processed by either whole blood preparation or filtration. *Stem Cells* 2003;21:208-216.
- 34 Wang JCY, Doedens M, Dick JE: Primitive human hematopoietic cells are enriched in cord blood compared with adult bone marrow or mobilized peripheral blood as measured by the quantitative in vivo SCID-repopulating cell assay. *Blood* 1997;89: 3919-3924.
- 35 Lewis ID, Almeida-Porada G, Du J, Lemischka IR, Moore KA, Zanjani ED, Verfaillie CM: Umbilical cord blood cells capable of engrafting in primary, secondary, and tertiary xenogeneic hosts are preserved after ex vivo culture in a noncontact system. *Blood* 2001;97:3441-3449.
- 36 Broxmeyer HE, Srouf EF, Hangoc G, Cooper S, Anderson SA, Bodine DM: 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* 2003;100: 645-650.
- 37 Rubinstein P, Rosenfield RE, Adamson JW, Stevens CE: Stored placental blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Blood* 1993;81:1679-1690.
- 38 Rubinstein P, Taylor PE, Scaradavou A, Adamson JW, Migliaccio G, Emanuel D, Berkowitz RL, Alvarez E, Stevens C: Unrelated placental blood for bone marrow reconstitution: organisation of the placental blood program. *Blood Cells* 1994;20: 587-600.
- 39 Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML, Smith C, Olson JF, Halperin EC, Ciocci G, Carrier C, Stevens CE, Rubinstein P: Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med* 1996; 335:157-166.
- 40 Wagner JE, Kernan NA, Steinbuch M, Broxmeyer HE, Gluckman E: Allogenic sibling umbilical cord blood transplantation in children with malignant and non-malignant disease. *Lancet* 1995;346:214-219.
- 41 Wagner JE, Rosenthal J, Sweetman R, Shu XO, Davies SM, Ramsay NKC, McGlave PB, Sender L, Cairo MS: Successful transplantation of HLA-matched and HLA-mismatched umbilical cord blood from unrelated donors: analysis of engraftment and acute graft-versus-host disease. *Blood* 1996;88:795-802.
- 42 Eichler H, Beck C, Bernhard F, Bugert P, Klüter H: Use of recombinant human DNase for processing of a thawed umbilical cord blood transplant in a patient with relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Ann Hematol* 2002;81:170-173.
- 43 Gluckman E: The therapeutic potential of fetal and neonatal hematopoietic stem cells (Editorial). *N Engl J Med* 1996;335:1839-1840.
- 44 Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, Jacobsen N, Ruutu T, de Lima M, Finke J, Frassoni F, Gluckman E; Acute Leukemia Working Party of European Blood and Marrow Transplant Group; Eurocord-Netcord Registry: Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med* 2004;351:2276-2285.
- 45 Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, Wagner JE, Zhang MJ, Champlin RE, Stevens C, Barker JN, Gale RP, Lazarus HM, Marks DI, van Rood JJ, Scaradavou A, Horowitz MM: Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med* 2004;351:2265-2275.
- 46 Ottinger HD, Albert E, Arnold R, Beelen DW, Blasczyk R, Bunjes D, Burdach S, Ebell W, Ehninger G, Einsele H, Enczmann J, Fauser A, Friedrich W, Finke J, Gobel U, Goldmann SF, Gramatzki M, Helbig W, Kanz L, Klingebiel T, Kolb HJ, Kuhl P, Loliger C, Muller CR, Grosse-Wilde H: German consensus on immunogenetic donor search for transplantation of allogeneic bone marrow and peripheral blood stem cells. *Bone Marrow Transplant* 1997;20:101-105.
- 47 Aversa F, Tabilio A, Terenzi A, Velardi A, Falzetti F, Giannoni C, Iacucci R, Zei T, Martelli MP, Gamberlunge C: Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow. *Blood* 1994;84:3948-3955.
- 48 Zix-Kieffer I, Langer B, Eyer D, Acar G, Racadot E, Schlaeder G, Oberlin F, Lutz P: Successful cord blood stem cell transplantation for congenital erythropoietic porphyria (Gunther's disease). *Bone Marrow Transplant* 1996;18:217-220.
- 49 Bugert P, Zieger W, Klüter H, Eichler H: Prenatal HLA typing by PCR-SSP of uncultured amniocytes prior to the collection of related allogeneic cord blood. *Tissue Antigens* 2001;58:103-106.
- 50 Rocha V, Wagner JE, Sobocinski KA, Klein JP, Zhang MJ, Horowitz MM, Gluckman E: Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 2000;342: 1846-1854.
- 51 Reed W, Smith R, Dekovic F, Lee JY, Saba JD, Trachtenberg E, Epstein J, Haaz S, Walters MC, Lubin BH: Comprehensive banking of sibling donor cord blood for children with malignant and nonmalignant disease. *Blood* 2003;101:351-357.
- 52 Thomson BG, Robertson KA, Gowan D, Heilman D, Broxmeyer HE, Emanuel D, Kotlyo P, Brahm Z, Smith FO: Analysis of engraftment, graft-versus-host disease, and immune recovery following unrelated donor cord blood transplantation. *Blood* 2000;96:2703-2710.
- 53 Cardoso AA, Li ML, Batard P, Hatzfeld A, Brown EL, Levesque JP, Sookdeo H, Panterne A, Sansilvestri P, Clark SC, Hatzfeld J: Release from quiescence of CD34+CD38- human umbilical cord blood cells reveals their potentiality to engraft adults. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:8707-8711.
- 54 Gonzalez-Barca E, Querol S, Granene A, Sarra J, Sircchia G, Garcia J: Umbilical cord blood transplantation from related donors in an adult weighing 90 kilograms. Role of immunosuppression in engraftment. *Bone Marrow Transplant* 1997;20:333-336.
- 55 Rubinstein P, Carrier C, Dobrila L, Scaradavou A, Stevens CE: HLA in unrelated placental/umbilical cord blood transplantation. Recent Developments in Cord Blood Stem and Progenitor Cell Transplantation: 3rd International Indianapolis Conference, 2001.
- 56 Abecasis MM, Machado AM, Boavida G, Silva MG, Lucio P, Ambrosio A, Jorge ML: Haploidentical cord blood transplant contaminated with maternal T cells in a patient with advanced leukaemia. *Bone Marrow Transplant* 1996;17:891-895.
- 57 Katzenstein HM, Morgan ER, Olsewski M, Danner-Koptik K, Kletzel M: Haploidentical related umbilical cord blood stem cell transplant in a child with acute non-lymphocytic leukemia. *Bone Marrow Transplant* 1997;19:765-769.
- 58 Steinbrook R: The cord-blood-bank controversies. *N Engl J Med* 2004;351:2255-2257.
- 59 Fernandez CV, Gordon K, Van den Hof M, Taweel S, Baylis F: Knowledge and attitudes of pregnant women with regard to collection, testing and banking of cord blood stem cells. *CMAJ* 2003;168: 695-698.
- 60 Surbek DV, Islebe A, Schonfeld B, Tichelli A, Gratwohl A, Holzgreve W: Umbilical cord blood transplantation: acceptance of umbilical cord blood donation by pregnant patients. *Schweiz Med Wochenschr* 1998;128:689-695.
- 61 European Group on Ethics in Science and New Technologies: Ethical aspects of umbilical cord blood banking. Opinion of the European Group on Ethics in Science and New Technologies to the European Commission. 16th March 2004. Available.
- 62 Annas GJ: Waste and longing - the legal status of placental-blood banking. *N Engl J Med* 1999;340: 1521-1524.
- 63 Hough EH, Barker JN, Wagner JE: Innovation in umbilical cord blood transplantation; in Broxmeyer HE (ed): *Cord Blood: Biology, Immunology, Banking, and Clinical Transplantation*. Bethesda, AABB Press, 2004, pp 337-380.
- 64 Greaves MF, Wiemels J: Origins of chromosome translocations in childhood leukaemia. *Nat Rev Cancer* 2003;3:639-649.
- 65 Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, Prentice R, Fefer A, Buckner CD, Storb R: Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. *N Engl J Med* 1979;300:1068-1073.
- 66 Eichler H, Lese A, Meckies J, Zieger W, Klüter H, Bugert P: Prenatal HLA genotyping of uncultured amniotic fluid samples contaminated with maternal blood. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:1366-1371.
- 67 Orkin SH: Stem cell alchemy. *Nat Med* 2000;6: 1212-1213.



- 68 Giarratana MC, Kobari L, Lapillone H, Chalmers D, Kiger L, Cynober T, Marden MC, Wajcman H, Douay L: Ex vivo generation of fully mature human red blood cells from hematopoietic stem cells. *Nat Biotechnol* 2005;23:69–74.
- 69 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143–147.
- 70 Lee KD, Kuo TK, Whang-Peng J, Chung YF, Lin CT, Chou SH, Chen JR, Chen YP, Lee OK: In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology* 2004;40:1275–1284.
- 71 Lee OK, Kuo TK, Chen WM, Lee KD, Hsieh SL, Chen TH: Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Blood* 2004;103:1669–1675.
- 72 Kögler G, Sensken S, Airey JA, Trapp T, Muschen M, Feldhahn N, Liedtke S, Sorg RV, Fischer J, Rosenbaum C, Greschat S, Knipper A, Bender J, Degistirici O, Gao J, Caplan AI, Colletti EJ, Almeida-Porada G, Muller HW, Zanjani E, Wernet P: A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med* 2004;200:123–135.
- 73 Bieback K, Kern S, Klüter H, Eichler H: Evaluation of critical parameters for efficient isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood. *Stem Cells* 2004;22:625–634.
- 74 Lee MW, Choi J, Yang MS, Moon YJ, Park JS, Kim HC, Kim YJ: Mesenchymal stem cells from cryopreserved human umbilical cord blood. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;320:273–278.
- 75 In't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, de Groot-Swings GM, Claas FH, Fibbe WE, Kanhai HH: Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem Cells* 2004;22:1338–1345.
- 76 In't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, Noort WA, Claas FH, Willemze R, Fibbe WE, Kanhai HH: Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. *Blood* 2003;102:1548–1549.
- 77 Jeong JA, Hong SH, Gang EJ, Ahn C, Hwang SH, Yang IO, Han H, Kim H: Differential gene expression profiling of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells by DNA microarray. *Stem Cells* 2005;23:584–593.
- 78 Feldmann RE, Bieback K, Maurer MH, Kalenka A, Bürgers HF, Gross B, Hunzinger C, Klüter H, Kuschinsky W, Eichler H: Stem cell proteomes: a profile of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord blood. *Electrophoresis* 2005;26:2749–2758.
- 79 In't Anker PS, Noort WA, Kruijselbrink AB, Scherjon SA, Beekhuizen W, Willemze R, Kanhai HH, Fibbe WE: Nonexpanded primary lung and bone marrow-derived mesenchymal cells promote the engraftment of umbilical cord blood-derived CD34+ cells in NOD/SCID mice. *Exp Hematol* 2003;31:881–889.
- 80 Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Gotherstrom C, Hassan M, Uzunel M, Ringden O: Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004;363:1439–1441.