

Intrauterine fetale Stammzelltransplantation: Gegenwärtiger Stand und Zukunftsperspektiven

Helmut Pschera

Korrespondenzadresse: Prim. Univ.Doiz. DDr. Helmut Pschera, Frauenklinik, Landeskrankenhaus, Vordernbergerstr.42, A- 8700 Leoben / Österreich; Tel.: (+43) 3842 401 2382; Fax: (+43) 3842 401 2469

Zusammenfassung

Die intrauterine fetale Stammzelltransplantation ist eine neue experimentelle Therapiemöglichkeit für Krankheiten, die mit dem hämatopoetischen System zusammenhängen. Bis jetzt sind in der Literatur insgesamt 11 Fälle beschrieben: in 6 Fällen handelte es sich um Hämoglobinopathien, in 3 Fällen um schwere Immundefizienzkrankheiten und in 2 Fällen um Speicherkrankheiten. Ein Transplantationserfolg wurde nur bei Vorliegen von immunologischen Störungen sowie in einem Fall mit β -Thalassämie beobachtet. Die folgende Übersicht setzt sich mit immunologischen und strategischen Überlegungen sowie den mit einer fetalen Therapie verbundenen ethischen Fragen auseinander. Eine Herausforderung für die Zukunft wird es sein, Voraussetzungen für eine breite und sichere Anwendung dieser Methode zu schaffen. In erster Linie betrifft dies die Etablierung von zentralen Zellbanken und geeigneten Strategien zum besseren Einwachsen der Spenderzellen, aber auch die Selektion von Patienten, die am ehesten von dieser neuen Methode profitieren.

Schlagwörter: Fetale Stammzellen, fetale Transplantation, fetale Therapie

Einleitung

Mit der Möglichkeit einer immer früheren pränatalen Diagnostik ist auch das Interesse für eine Therapie im fetalen Stadium in den Vordergrund gerückt (1). Eine pränatale Zelltherapie mit Stammzellen stellt dabei ein neues, derzeit noch experimentelles Behandlungskonzept auf dem Gebiet der Fetalmedizin dar. Die speziellen Eigenschaften fetalen Gewebes wie die Fähigkeit zur Differenzierung, zur Reifung, zu Wachstum und Proliferation sowie der Vorteil einer niedrigen Antigenität machen dieses für Transplantationszwecke besonders geeignet (2). 1989 hat erstmalig die Arbeitsgruppe um Touraine über eine erfolgreiche intrauterine fetale Stammzelltransplantation in einem Fall mit Immundefekt berichtet (3). In weiterer Folge konnte gezeigt werden, daß bei Erkrankungen, die mit dem hämatopoetischen System zusammenhängen, eine pränatal so früh wie möglich durchgeführte Behandlung imstande ist, die Prognose zu verbessern oder den Krankheitsverlauf im Vergleich zu einer postnatal durchgeführten Behandlung zumindest vorteilhaft zu beeinflussen (4).

Hämatopoetische Stammzellen und klinische Relevanz

Bereits Ende der 50er Jahre konnte in Tierversuchen gezeigt werden, daß bei der Wiederherstellung des hämatologischen

Summary

In utero fetal stem cell transplantation represents a new and experimental therapeutic strategy for diseases related to the hemato-poietic system. To date, 11 cases have been published in the literature: 6 cases with hemoglobinopathies, 3 cases with severe immunodeficiencies and 2 cases with metabolic disorders. Success has been limited to cases with immunodeficiency diseases and to one case with β -thalassemia. In this review special reference is given to immunological and strategical considerations as well as to ethical implications based on the use of fetal cells. Future challenges will have to focus on appropriate prerequisites for a broad and safe application. Clearly, this includes the establishment of central tissue banks, development of strategies to enhance engraftment but also identification of recipients who most likely will benefit from this new approach.

Keywords: fetal stem cells, fetal transplantation, fetal therapy

Systems fetale Leberstammzellen konventionellem Knochenmark überlegen waren (5). Fetale Stammzellen sind schon deshalb für die Wiederherstellung der Hämatopoese geeignet, weil die fetale Leber von der 7. postkonzeptionellen Woche an und bis zur ca. 18./19. Woche das vorherrschende Organ der Blutbildung darstellt, 60% der Leberfunktion sind mit der Blutbildung beschäftigt. Nach diesem Zeitpunkt besiedeln die primitiven Stammzellen das Knochenmark (6). Pluripotente hämatopoetische Stammzellen können in Vorläuferzellen für verschiedene Zelllinien und letztendlich in Erythrozyten, Thrombozyten, Granulozyten, Makrophagen und Lymphozyten ausdifferenzieren. Im Zuge dieser Ausdifferenzierung geht Schritt für Schritt die Fähigkeit zur Selbsterneuerung der Zelle verloren. Die allerprimitivsten und aus Transplantations-sicht am wertvollsten hämatopoetischen Stammzellen sind Zellen mit dem Oberflächenantigen CD34 (7, 8).

Dieser koordinierte Ablauf, der den menschlichen Fetus während dieser frühen Entwicklungsperiode schon physiologisch gut für die Aufnahme von normal vorkommenden Stammzellen vorbereitet, prädestiniert den Fetus auch als idealen Empfänger für von außen zugeführte Stammzellen. Gesunde Spenderzellen, die einen normalen Hämoglobingehalt und eine normale Enzymproduktion aufweisen wie auch immunologisch intakt sind, können – vorausgesetzt die Zellen werden vom Empfänger akzeptiert – zur Behandlung von Krankheiten, die mit dem hämatopoetischen System zusammenhängen, herangezogen werden (9). Zu diesen Krankheiten zählen

angeborene Hämoglobinopathien, Speicherkrankheiten und erbliche Immunschwächen. Eine Auswahl über bisher mittels postnataler Knochenmarktransplantation erfolgreich behandelte, häufiger und für eine intrauterine Stammzelltransplantation potentiell in Frage kommender Erkrankungen ist in **Tabelle 1** dargestellt (10).

Tabelle 1: Beispiele für eine intrauterine Stammzelltransplantation potentiell in Frage kommender Erkrankungen

Hämoglobinopathien
α-Thalassämie
β-Thalassämie
Sichelzellenanämie
Blackfan-Diamond-Anämie
Fanconi-Anämie
Immunkrankheiten
Schwerer kombinierter Immundefekt (SCID)
Schwere Immundefizienz (BLS)
Wiskott-Aldrich-Syndrom
Chediak-Higashi-Syndrom
Kostmann-Syndrom
septische Granulomatose
DiGeorge-Syndrom
Lysosomale Speicherkrankheiten
Hurler-Pfaundler-Krankheit
Hunter-Krankheit
Adrenoleukodystrophie
Maroteaux-Lamy-Syndrom
Metachromatische Leukodystrophie
Gaucher-Krankheit
Niemann-Pick-Krankheit
SCID = severe combined immunodeficiency; BLS = bare lymphocyte syndrome

Die Herkunft der für eine fetale Transplantation verwendeten Zellen können fetale Leber, reifes Erwachsenenknorpelmark oder Nabelschnurblut sein. Die Wahrscheinlichkeit eines Transplantationserfolges scheint bei der Verwendung fetaler Zellen größer zu sein als bei Verwendung von Erwachsenenknorpelmark (11). Letzteres steht relativ einfach zur Verfügung, vor allem wenn es sich beim Spender um einen der Elternteile handelt. Die Notwendigkeit der Entfernung von T-Zellen, um einer Transplantat-Wirt-Reaktion auszuweichen, verringert jedoch die Wahrscheinlichkeit eines Therapieerfolges (12, 13). Dessen ungeachtet gibt es praktische Vorteile, die für Nabelschnurblut oder Knochenmark sprechen. Die Verwendung von fetalen Zellen, die im Zusammenhang mit legalen Schwangerschaftsabbrüchen gewonnen wurden, ist wiederum in erster Linie mit ethischen Problemen verbunden.

Immunologische Konsequenzen

Präimmunes fetales Gewebe ist aus immunologischer Sicht ein ideales Transplantat. Nachdem Transplantationsantigene nicht vor Ende des ersten Trimesters voll zum Ausdruck kommen und Fremdantigene bis zur 18. Woche toleriert werden, können Transplantate einwachsen (14, 15). Ziel einer frühen

fetalen Transplantation ist es, die Immuntoleranz des Feten auszunützen, sodaß der Empfänger nach der Transplantation zwei Zelllinien aufweist, mit anderen Worten dauerhaft chimär wird. In einer Reihe von Tierversuchen wurde bei einer Stammzelltransplantation von Fetus zu Fetus ein dauerhafter Blutchimärismus erreicht (16, 17). Auch in dizygoten bovinen Zwillingen mit fetoplazentaren Gefäßanastomosen wurde ein dauerhafter Blutchimärismus beobachtet (18). Einen weiteren Beweis in diese Richtung liefern Nachuntersuchungen bei intrauterin transfundierten Kindern, bei denen in ca. 10% der Fälle noch nach einem Jahr persistierende Spenderzellen nachgewiesen werden konnten (19).

Welcher Grad an Chimärismus erforderlich ist, um einen Einfluß auf eine Krankheit auszuüben, hängt von der jeweiligen Art der Erkrankung ab. Bei Vorliegen eines Immundefektes werden möglicherweise nur wenige Zellen benötigt, weil die Wirtszellen vollständig funktionsuntauglich sind und Spenderzellen sich folglich umso leichter entwickeln können. Bei lysosomalen Speicherkrankheiten dürfte es sich ähnlich verhalten, weil die Pathophysiologie der defekten Enzyme wahrscheinlich dosisabhängig ist. So hat sich bei Mb. Gaucher eine Knochenmarktransplantation schon als erfolgreich erwiesen, obwohl nur 30% der Blutzellen vom Spender stammten (20). Daraus läßt sich schließen, daß im Falle von Hämoglobinopathien womöglich eine auch nur teilweise Wiederherstellung des Blutbildes zur Besserung der klinischen Symptome ausreichend ist (21).

Die immunologische Unreife hebt die Forderung nach immunologischer Gleichheit zwischen Spender und Empfänger auf mit der Konsequenz, daß im Prinzip jeder gesunde Embryo als Spender dienen kann. Vergleichsweise haben nur 30% der Patienten, die eine Knochenmarktransplantation benötigen, einen immunologisch, d.h. HLA-identischen Spender (11, 22). Bei einer Transplantation vor Expression von HLA-Antigenen ist auch keine Immunsuppression notwendig, weder vor noch nach der Transplantation (23). Von Vorteil ist außerdem, daß die Methode eine Behandlung zu einem Zeitpunkt zuläßt, bevor der Fetus Symptome der Grundkrankheit aufweist, was besonders bei angeborenen Stoffwechselerkrankungen bedeutungsvoll ist, bei denen sich eine frühe Knochenmarktransplantation als am effektivsten erwiesen hat (24).

Beurteilung bisher erzielter Resultate

Bis jetzt ist – soweit bekannt – in 11 Fällen eine intrauterine Transplantation mit fetalen Zellen als therapeutische Alternative durchgeführt worden: in 6 Fällen handelte es sich um Hämoglobinopathien (α- bzw. β-Thalassämie), in 3 Fällen um eine schwere Immundefizienz und in 2 Fällen um Speicherkrankheiten (**Tabelle 2**).

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist aufgrund der geringen Anzahl durchgeführter Transplantationen, der verschiedenen zugrundeliegenden Erkrankungen sowie unterschiedlichen Transplantationsprotokolle nicht möglich, die Wirksamkeit

Tabelle 2: Resultat bisher durchgeführter fetaler intrauteriner Stammzelltransplantationen

Indikation	SSW	Gewebe	Erfolg	Kommentar	Ref
Hämoglobinopathien					
α -Thalassämie	15 + 31	Leber * i.p. + i.v.	-	transfusionsabhängig	[26]
β -Thalassämie	14	Leber i.p.	+	30% HbA, DNA-PCR	[4]
β -Thalassämie	19	Leber + Thymus i.v.	?	IUFT	[4]
β -Thalassämie	14	Leber i.p.	?	septischer Abort < 24h	[11]
β -Thalassämie	18	Leber * i.v.	-	transfusionsabhängig	[26]
Sichelzellenanämie	13	Leber * i.p.	-	transfusionsabhängig	[26]
Immunschwächen					
BLS	30	Leber + Thymus i.v.	+	10-26% Chimärismus HLA-Klasse I	[4]
SCID	28	Leber + Thymus i.v.	+	DNA-PCR	[4]
Chron. Granulomatose	17 + 21	Leber i.p. + i.v.	?	IUFT	[25]
Speicherkrankheiten					
Hurler-Pfaundler-Krankheit	14	Leber i.p.	-	Keine Enzymaktivität 1 Jahr nach Transplant.	[11]
Niemann-Pick Krankheit	14 + 16	Leber i.p.	-	Kind lebt	[25]

intrauteriner Transplantationen sicher zu beurteilen. Es ist aber zumindest der Beweis erbracht worden, daß eine Transplantation nicht nur möglich, sondern auch relativ sicher ist. Ein Transplantationserfolg wurde allerdings nur mit frischen Leberzellen beobachtet. Selbst bei Einsatz der sensitivsten Methode (PCR-Technik) zum Nachweis eines gemischten Blutchimärismus konnte bei Transplantationen mit gefriererhaltenen und wiederaufgetauten Zellen kein Erfolg registriert werden (26). Dies steht im Gegensatz zu Beobachtungen, daß eine Gefriererhaltung von fetalen Zellen in flüßigem Stickstoff weder die CD34+ Subpopulation noch die Viabilität der Stammzellen, gemessen an der Koloniebildung, die als der beste In-vitro-Test für die hämatopoetische Zellfunktion angesehen wird, vermindert (27).

Bei vorliegenden immunologischen Störungen scheint selbst eine spät während der Schwangerschaft durchgeführte Transplantation die Manifestation schwerer Immundefizienzen zu verhindern, wie dies von Touraine mit den beiden in der 28. bzw. 30. Woche transplantierten Fällen gezeigt werden konnte (3, 4).

Unter den Hämoglobinopathien wurde nur ein einziger sicherer Transplantationserfolg bei β -Thalassämie registriert (4). Obwohl in diesem Fall nach der Geburt ein Engraftment nachgewiesen werden konnte, war das Blutbild nicht vollständig rekonstituiert. Bei der derzeitigen Standardtherapie von Thalassämie-Patienten, einer kontinuierlichen Transfusionsbehandlung vom frühen Kindesalter an, wird die Aufrechterhaltung eines Hb-Spiegels um 90 g/l als notwendig erachtet. Obwohl dieses Hb-Niveau über dem experimentell erreichten liegt – im Beispiel von Touraine maximal 30 % Spender

Hb – haben diese normalen Zellen einen entscheidenden Überlebensvorteil, weil der Großteil der Wirtszellen im Falle der Thalassämie das Knochenmark nicht verläßt und die periphere Lebensdauer der restlichen Zellen verkürzt ist (2).

Bei Speicherkrankheiten wie z. B. der Hurler'schen Erkrankung hat sich gezeigt, daß eine frühzeitige Knochenmarktransplantation die Auswirkungen des Enzymdefektes vermindern und damit eine Störung der geistigen Entwicklung verringern kann. Da in diesen Fällen die neurologische Schädigung wahrscheinlich schon vor der Geburt beginnt, können dadurch bereits bestehende neurologische Schäden nicht eliminiert werden. Auf der Überlegung, daß die postnatale Reifung der Blut-Hirn-Schranke den Zugang transplantierte Zellen zum ZNS erschwert, beruht die Bedeutung einer pränatalen Therapie als notwendige Voraussetzung einer Heilung – vorausgesetzt, die von den Stammzellen hergeleiteten mikroglialen Elemente besiedeln das ZNS und ermöglichen damit die notwendige metabolische Korrektur innerhalb der Blut-Hirn-Schranke. Die Komplexität dieser Verhältnisse legt nahe, daß diese Gruppe von Erkrankungen möglicherweise weniger gut für eine fetale Transplantation geeignet ist (2).

Praktische und ethische Probleme

Für die Etablierung eines Transplantationsprogrammes ist die Lösung verschiedener Probleme, angefangen von der sorgfältigen Auswahl geeigneter Spender, der Dissektion von fetalem Gewebe und Isolierung von hämatopoetischen Stammzellen, der Kryoverwahrung der Zellen, Viabilitätsstudien, der Technik für fetale Diagnostik und Therapie sowie Wahl der

geeignetsten Verabreichungsform bis hin zur Überwachung der transplantierten Feten, notwendig. Grundvoraussetzung ist die Errichtung einer Zellbank, in der die identifizierten gesunden fetalen Stammzellen durch Gefrierverwahrung gelagert werden (28).

Durch eine sorgfältige Auswahl geeigneter Spender und ein umfassendes Screeningprogramm hinsichtlich bakterieller oder viraler Bestandteile sowie auf Chromosomenveränderungen ist die Verwendung von fetalen Zellen als sicher und unbedenklich anzusehen (29). Mit Vorteil können ausschließlich Zellen des entgegengesetzten Geschlechts für eine Transplantation benützt und damit das Geschlechtschromosom als Marker für einen Transplantationserfolg verwendet werden.

Bei einer fetalen Transplantation scheint die intravaskuläre Verabreichung gegenüber der intraperitonealen von Vorteil zu sein, wie dies nach Verabreichung von radioaktiv markierten Stammzellen gezeigt werden konnte, die in den blutbildenden Organen wie Leber, Milz und Thymus in erhöhtem Ausmaß gefunden wurden (30).

Verschiedene Zytokine haben sich als nützlich erwiesen, um die Chancen für eine erfolgreiche Stammzelltransplantation zu verbessern. Eine Anreicherung an CD34+ Zellen scheint aber nur wenig sinnvoll, nachdem auch die CD34-negative Fraktion Zellen mit der Fähigkeit zur Koloniebildung beinhaltet (31). Jede Zellreinigung ist zudem unweigerlich mit einem Zellverlust verbunden wie auch das Reinigen an sich Langzeitauswirkungen auf die Zelleigenschaften *in vivo* haben kann. Möglicherweise führt eine Zytokinanwendung auch Nachteile mit sich insofern, als sie durch Proliferation und Differenzierung den Stammzellpool erschöpft. Deshalb wurde von einigen Autoren die gleichzeitige Anwendung von sowohl unstimulierten als zytokinstimulierten Zellen für Transplantationszwecke vorgeschlagen (32, 33).

Die experimentelle und klinische Forschung und Nutzung von fetalem Gewebe ist mit ethischen und rechtlichen Problemen behaftet, vor allem wenn die hierfür verwendeten Zellen aus einem Schwangerschaftsabbruch stammen. Richtlinien für den Umgang mit fetalem Gewebe wurden von internationalen Organen wie der WHO erarbeitet. Das ethische Komitee an der Stanford Universität in den USA sieht z.B. nur die Verwendung von fetalen Zellen, die von Fehlgeburten und nicht von provozierten Schwangerschaftsabbrüchen stammen, als unbedenklich an (34). Dies ist aus medizinischer Sicht in Frage zu stellen, weil sowohl Infektionen als chromosomale Aberrationen eine häufige Fehlgeburtenursache darstellen und die Verwendung solcher Zellen zur Behandlung von Krankheiten aus diesem Grund als ungeeignet angesehen werden muß (35).

Mit der ethischen Problematik sind nicht nur die abortsuchende Frau sondern auch die werdenden Eltern konfrontiert. Die Einholung der mütterlichen Zustimmung nach Aufklärung über die Nutzung fetalen Gewebes ist erst zulässig, wenn der Entschluß zum Schwangerschaftsabbruch endgültig ist. Für die werdenden Eltern gilt es drei Alternativen –

einen Schwangerschaftsabbruch, eine fetale Transplantation mit einem unsicheren Erfolg sowie eine eventuelle Transplantation nach der Geburt – gegeneinander abzuwägen. Erschwerend bei der Entscheidung zugunsten einer fetalen Transplantation wirken die lange Latenzzeit bis zu einem eventuellen Engpfaß und die damit verbundenen Schwierigkeiten in der Kontrolle eines Therapieerfolges. Deshalb sollte eine solche erst angeboten werden, wenn der Wille zum Fortsetzen der Schwangerschaft gegeben ist.

Abschließende Bemerkungen und Zukunftsperspektiven

Eine fetale Transplantation mit fetalen hämatopoetischen Stammzellen stellt eine interessante Alternative zur Knochenmarktransplantation dar. Da das Knochenmark des Empfängers im vierten Monat noch nicht endgültig mit eigenen Stammzellen besiedelt ist, können sich ohne dessen partielle Zerstörung fremde Vorläuferzellen dort einnisten. Das rasche Wachstum des Feten könnte für eine Ausbreitung der Zellen und einen Transplantationserfolg bei einer Reihe von Erkrankungen, die mit dem hämatopoetischen System zusammenhängen, von Vorteil sein. Die Hauptargumente für eine fetale Transplantation beruhen aber auf immunologischen Überlegungen. Der Zeitpunkt einer Transplantation ist allerdings nur auf eine kurz begrenzte Periode in der fetalen Entwicklung beschränkt – nach Vorliegen der Resultate der genetischen Untersuchung aber noch bevor Stammzellen das Knochenmark besiedeln und damit das Knochenmark zum Sitz der Blutbildung wird. Diese ontogenetisch günstigste Periode liegt zwischen der 12. und 14. Schwangerschaftswoche, da nach diesem Zeitpunkt das Vorhandensein von immunologisch kompetenten Lymphozyten im fetalen Thymus sowie reifen T-Lymphozyten im peripheren fetalen Blut für eine Besserung der fetalen immunologischen Unreife und damit auch für die Fähigkeit des Fetus zu einer Abstoßungsreaktion sprechen (2, 36).

Obwohl dieser neuen Technik eine große therapeutische Bedeutung zukommt, ist es noch zu früh, den klinischen Wert zu beurteilen. Welches Maß an Transplantationserfolg notwendig ist, um ein Krankheitsbild klinisch zu beeinflussen, hängt letztendlich auch von der Art der Erkrankung ab. Falls sich die vorliegenden Resultate bestätigen, bietet sich eine neue Möglichkeit zu einer effektiven Behandlung *in utero* in Fällen mit Hämoglobinopathien, Immunschwächen und angeborenen Stoffwechselerkrankungen. Eine experimentelle Herausforderung wird es sein, Voraussetzungen für eine breite und sichere Anwendung zu schaffen. Das klinische Potential für diese neue Therapiemethode ist enorm. So werden laut WHO-Schätzungen jährlich mehr als 250.000 Kinder mit schweren Hämoglobinopathien geboren, die ein großes medizinisches und auch sozioökonomisches Problem darstellen (37). Eine klinische Herausforderung wird die Selektion von Patienten sein, die am ehesten von dieser neuen Methode profitieren. Mit besserem Verständnis der Biologie der fetalen Blutstammzellen könnten diese Zellen in Zukunft auch für einen Gentransfer eingesetzt werden.

Literatur

- 1 Connor JM: Compendium of prenatally diagnosable diseases. In: Diseases of the Fetus and Newborn. Eds.: Reed GB, Claireaux AE, Cockburn F. London: Chapman & Hall 1995, 1197-1236
- 2 Flake AW, Zanjani ED: Cellular therapy. *Obstet Gynecol Clin North Am* 24 (1997) 159-177
- 3 Touraine JL, Raudrant D, Royo C, Rebaud A, Roncarolo MG, Souillet G, Philippe N, Touraine F, Bétuel H: In utero transplantation of stem cells in bare lymphocyte syndrome. *Lancet i* (1989) 1382
- 4 Touraine JL, Roncarolo MG, Bacchetta R, Raudrant D, Rebaud A, Laplace S, Cesbron P, Gebuhrer L, Zobot MT, Touraine F: Fetal liver transplantation: biology and clinical results. *Bone Marrow Transpl* 11 (1993) 119-122
- 5 Uphoff DE: Preclusion of secondary phase of irradiation syndrome by inoculation of fetal hematopoietic tissue following lethal total-body irradiation. *J Nat Cancer Institute* 20 (1958) 625-632
- 6 Tavassoli M: Embryonic and fetal hematopoiesis: An overview. *Blood Cells* 1 (1991) 269-281
- 7 Spangrude GJ: Biological and clinical aspects of hematopoietic stem cells. *Annu Rev Med* 45 (1994) 93-104
- 8 DiGiusto D, Chen S, Combs J, Webb S, Namikawa R, Tsukamoto A, Chen BP, Galy AH: Human fetal bone marrow early progenitors for T, B, and myeloid cells are found exclusively in the population expressing high levels of CD34. *Blood* 84 (1994) 421-432
- 9 Groth CG, Ringdén O: Transplantation in relation to the treatment of inherited disease. *Transplant* 38 (1984) 319-327
- 10 Flake AW: In utero hematopoietic stem cell transplantation. In: Diseases of the Fetus and Newborn. Eds.: Reed GB, Claireaux AE, Cockburn F. London: Chapman & Hall 1995, 1331-1336
- 11 Cowan MJ, Golbus M: In utero hematopoietic stem cell transplants for inherited diseases. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 16 (1994) 35-42
- 12 Linch DC, Rodeck CH, Jones HM, Brent L: Attempted bone-marrow transplantation in a 17-week fetus. *Lancet ii* (1986) 1453
- 13 Touraine JL, Raudrant D, Royo C, Rebaud A, Barbier F, Roncarolo MG, Touraine F, Laplace S, Gebuhrer L, Bétuel H, Frappaz D, Freycon F, Vullo C: In utero transplantation of hematopoietic stem cells in humans. *Transplant Proc* 23 (1991) 1706-1708
- 14 Gabbianelli M, Boccoli G, Cianetti L, Russo G, Testa U, Peschle C: HLA expression in hemopoietic development. Class I and II antigens are induced in the definitive erythroid lineage and differentially modulated by fetal liver cytokines. *J Immunol* 144 (1990) 3354-3360
- 15 Crombleholme TM, Langer JC, Harrison MR, Zanjani ED: Transplantation of fetal cells. *Am J Obstet Gynecol* 164 (1991) 218-230
- 16 Harrison MR, Slotnick RN, Crombleholme TM, Golbus MS, Tarantal AF, Zanjani ED: In utero transplantation of fetal liver haemopoietic stem cells in monkeys. *Lancet ii* (1989) 1425-1427
- 17 Pearce RD, Kiehm D, Armstrong DT, Little PB, Callahan JW, Klunder LR, Clarke JTR: Induction of hemopoietic chimerism in the caprine fetus by intraperitoneal injection of fetal liver cells. *Experientia* 45 (1989) 307-308
- 18 Owen RD: Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins. *Science* 102 (1945) 400-401
- 19 Turner JH, Hutchinson DL, Petricciani JC: Chimerism following fetal transfusion. Report of leucocyte hybridization and infant with acute lymphocytic anemia. *Scand J Haematol* 10 (1973) 358-366
- 20 Ringdén O, Groth CG, Erikson A, Granqvist S, Mansson JE, Sparrelid E: Ten year's experience of bone marrow transplantation for Gaucher disease. *Transplant* 59 (1995) 864-870
- 21 Flake AW, Harrison MR, Adzick NS, Zanjani ED: Transplantation of fetal hematopoietic stem cells in utero: the creation of hematopoietic chimeras. *Science* 233 (1986) 776-778
- 22 Tabbara IA: Allogenic bone marrow transplantation. *South Med J* 89 (1996) 857-868
- 23 Ek S, Ringdén O, Markling L, Westgren M: Immunological capacity of human fetal liver cells. *Bone Marrow Transpl* 14 (1994) 9-14
- 24 Hugh-Jones K, Hobbs JR, Vellodi A, Hancock M, Sheldon J, Jones S: Long-term follow-up of children with Hurler's disease treated with bone marrow transplantation. In: Correction of certain genetic diseases by transplantation. Ed.: Hobbs JR. London: Cogent 1989, 103-111
- 25 Touraine JL: In utero transplantation of fetal liver stem cells into human fetuses for immunodeficiency and thalassemia treatment. In: Ontogeny of hematopoiesis. Aplastic anemia, Eds.: Gluckman E, Coulombel L. Paris: Colloque INSERM/John Libbey Eurotext 1995, 169-176
- 26 Westgren M, Ringdén O, Eik-Nes S, Ek S, Anvret M, Brubakk AM, Bui TH, Giambona A, Kiserud T, Kjaeldgaard A, Maggio A, Markling L, Seiger A, Orlandi F: Lack of evidence of permanent engraftment after in utero fetal stem cell transplantation in congenital hemoglobinopathies. *Transplant* 61 (1996) 1176-1179
- 27 Ek S, Ringdén O, Markling L, Dahlberg N, Pschera H, Seiger A, Sundström E, Westgren M: Effects of cryopreservation on subsets of fetal liver cells. *Bone Marrow Transplant* 11 (1993) 395-398
- 28 Westgren M, Ek S, Bui TH, Hagenfeldt L, Markling L, Pschera H, Seiger A, Sundström E, Ringdén O: Establishment of a tissue bank for fetal stem cell transplantation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 73 (1994) 385-388
- 29 Ek S, Westgren M, Pschera H, Seiger A, Sundström E, Bui TH, Ringdén O: Screening of fetal stem cells for infection and cytogenetic abnormalities. *Fetal Diagn Ther* 9 (1994) 357-361
- 30 Westgren M, Ek S, Bui TH, Jansson B, Kjaeldgaard A, Markling L, Nennesmo I, Seiger A, Sarby B, Thornstrom S, Ringdén O: Tissue distribution of transplanted fetal liver cells in the human fetal recipient. *Am J Obstet Gynecol* 176 (1997) 49-53
- 31 Ek S, Westgren M, Markling L, Kjaeldgaard A, Ringdén O: Cytokine stimulation of human fetal hematopoietic cells. *Fetal Diagn Ther* 11 (1996) 318-325
- 32 Egeland T, Tjonnfjord G, Steen R, Gaudernack G, Thorsby E: Positive selection of bone marrow-derived CD-34 positive cells for possible stem cell transplantation. *Transplant Proc* 25 (1993) 1261-1263
- 33 Srour EF, Zanjani ED, Brandt JE, Leemhuis T, Briddel RA, Heerema NA, Hoffman R: Sustained human hematopoiesis in sheep transplanted in utero during early gestation with fractionated adult human bone marrow cells. *Blood* 79 (1992) 1404-1412
- 34 Greely HT, Hamm T, Johnson R, Price CR, Weingarten R, Raffin T: The ethical use of human fetal tissue in medicine. *N Eng J Med* 16 (1989) 1093-1096
- 35 Branch DW, Ducat L, Fantel A, Low WC, Zhou FC, Dayton DH, Gill TJ: Suitability of fetal tissues from spontaneous abortions and from ectopic pregnancies for transplantation. *JAMA* 273 (1995) 66-68
- 36 Lansdorp PM: Developmental changes in the function of hematopoietic stem cells. *Exp Hematol* 23 (1995) 187-191
- 37 Weatherall DJ: Prenatal diagnosis of haematological disorders. In: Fetal and Neonatal Hematology. Eds.: Hann IM, Gibson BES, Letsky EA. London: Baillière Tindall 1991, 285-314