

母子間免疫寛容理論に基づく同種造血幹細胞移植

松岡賢市^a, 青山一利^{a,b}, 小山幹子^{a,b}, 橋本大吾^b, 朝倉昇司^c, 一戸辰夫^d,
谷本光音^a, 豊嶋崇徳^{b*}

^a岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学, ^b九州大学病院 遺伝子細胞療法部,

^c国立病院機構岡山医療センター 血液内科, ^d京都大学大学院医学研究科 血液腫瘍内科学

キーワード：同種造血幹細胞移植, 移植片対宿主病, HLA 不適合移植, 非遺伝母 HLA 抗原, 母子間免疫寛容

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-haploidentical related donor based on feto-maternal tolerance

Ken-ichi Matsuoka^a, Kazutoshi Aoyama^{a,b}, Motoko Koyama^{a,b}, Daigo Hashimoto^b, Shoji Asakura^c,
Tatsuo Ichinohe^d, Mitsune Tanimoto^a, Takanori Teshima^{b*}

^aDepartment of Hematology, Oncology and Respiratory medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Science, ^bCenter for Cellular and Molecular Medicine, Kyusyu University Hospital, ^cDepartment of Hematology, National Hospital Organization Okayama Medical Center, ^dDepartment of Hematology and Oncology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

はじめに

同種造血幹細胞移植 (Hematopoietic Stem Cell Transplantation; HSCT) は, 血液悪性腫瘍, 造血不全, 先天性代謝・免疫疾患に対する根治的治療法である。主要組織適合性抗原 (Major Histocompatibility Complex; MHC) の発見, サイクロスポリンなどの免疫抑制剤の開発, さらに顆粒球コロニー刺激因子 (Granulocyte-Colony Stimulating Factor; G-CSF) や各種抗生物質などの支持療法の進歩により, 今日では標準的治療として一般診療に定着するまでになった。

しかし, いまなお, 移植されたドナー免疫細胞が,

患者の体細胞を「異物」と認識して攻撃する移植片対宿主病 (Graft-versus-Host disease; GVHD) は, いったん発症すると制御が困難となり致死的となりうる重篤な合併症である。この予防のためには, ヒトの MHC であるヒト白血球型抗原 (Human Leukocyte Antigen; HLA) の適合するドナーを得ることが求められるが, 移植適応症例の急速な拡大に加え, 昨今の少子化などの影響により, 移植が必要な時期に HLA 適合ドナーを得ることができないケースが増えている。

HLA 不適合血縁者間造血幹細胞移植は, このようなドナー不足に悩む臨床移植の現場からその実施可能性が模索されてきた。哺乳類は, 子を一定の段階まで母胎内で生育させ, さらに出生後, 母の免疫細胞を含む母乳を経口摂取させるという, 特殊な生育システムを持つ。子と母は, 通常, HLA が不適合であり, 免疫学的拒絶の対象となるはずであるが, 妊娠から出産, 母乳栄養にかけて, 子と母は, 互いを拒絶せずに受け

平成20年2月受理

*〒812-8582 福岡市東区馬出3-1-1

電話: 092-642-5947 FAX: 092-642-5951

E-mail: tteshima@cancer.med.kyushu-u.ac.jp

プロフィール



松岡 賢市

岡山大学医学部卒業。鉄蕉会亀田総合病院, 岡山大学病院にて, 一般内科および血液腫瘍内科臨床研修。その後, 同学大学院にて, 血液・腫瘍・呼吸器内科 谷本光音教授, 豊嶋崇徳先生の指導の下, 実験的母子間骨髄移植における免疫寛容の研究で学位取得。平成18年11月より, 米国ダナファーマー癌研究所血液腫瘍部門研究員。臨床 GVHD の研究に, 目下奮闘中。

入れる「寛容」の状態にある。これまで臨床移植の後方視的解析から、この寛容が出生後も維持されていることが示唆されてきたが、近年、マウスモデルを用いた研究により、この寛容に関わるさまざまな免疫学的機序が明らかになりつつある。

本稿では、母子間の免疫寛容に新たな移植免疫の可能性を探る取り組みについて、臨床、基礎両面の研究を紹介したい。

母子間免疫寛容理論と臓器・造血幹細胞移植の成績

HLA 遺伝子は、父親と母親から1組ずつ遺伝する。1人の子供は、父親と母親のもつ2組の HLA の組み合わせのうち1組だけを遺伝している。すなわち、母の HLA ハプロタイプを a/b、父を c/d とするとき、同胞には a/c、a/d、b/c、b/d の4種類のハプロタイプが同確率で出現する(図1)。ここで、母親の HLA のうち、子供に遺伝しなかった HLA を、非遺伝母由来 HLA 抗原(Non-Inherited Maternal Antigens ; NIMA)、父親の HLA のうち、子供に遺伝した HLA を、遺伝父由来 HLA 抗原(Inherited Paternal Antigens ; IPA)と呼ぶ。例えば、子 a/c からみて、母の b 抗原は NIMA、父の c 抗原は IPA である。NIMA、IPA はそれぞれ、子、母の免疫系にとって拒絶の対象となるはずの不適合 HLA であるが、免疫学的寛容が成立し、妊娠は維持される。

妊娠中に母子間あるいは双生児間に成立した免疫寛容は出生後も維持されているのではないかとする観察は古くからあったが¹⁾、これを HLA の概念で捉えなおしたのが、オランダ・ライデン大学のグループであ

る。彼らは、頻回の輸血により HLA 抗体を産生した患者の抗体特異性を解析したところ、NIMA に対しては抗体が産生されにくい傾向があることを発見し、1988年に Science 誌に報告した²⁾。これをうけて1990年代後半以降、臨床移植の現場から、対 NIMA 寛容の存在を支持するエビデンスが相つぐ。まず、これまで HLA 不適合移植が常態的に施行されてきた腎臓移植から、不適合 HLA が NIMA である場合は生着率が高いことが報告された³⁾。さらに、van Rood らは、HLA 不適合同胞をドナーとする骨髄移植を後方視的に解析し、不適合 HLA が NIMA であった症例では、急性 GVHD および移植関連死亡の発症率が有意に低かったことを報告した⁴⁾。

本邦でも、複数のグループによって精力的に臨床研究が進められ、母子間免疫寛容に基づく造血幹細胞移植が実施可能であるエビデンスが示されてきた⁵⁻⁷⁾。現在、前向き臨床試験が進行中であり、その進展が期待されている。

母子間移植における寛容機序

これまで母子間移植の寛容効果は、臨床現場からの報告が主であったが、近年の動物モデルでの研究により、この寛容に関わる免疫メカニズムが明らかになってきている⁸⁻¹¹⁾。

妊娠中に母体の NIMA はさまざまなかたちで、経胎盤的に、子の免疫系に曝露されると考えられる。また母乳には豊富な可溶性 HLA クラス I 分子が存在していることが知られており¹²⁾、子は授乳を介して誕生後も経口的に NIMA に曝露される。未成熟で可塑性に富んだ胎児期および新生児期の子の免疫系は、いくつかの機構を作動させて、この大量の同種抗原(NIMA)の曝露に対応する。誕生後、長期を経た後にも、子の母に対する移植免疫寛容が見られることは、胎児期、新生児期に獲得された NIMA に対する免疫学的調節機構がその後も個体内で維持されていることを示唆する。動物モデルから提案されているいくつかの機序を以下に挙げる。

1. NIMA 反応性 T 細胞除去

母子間での臓器移植をマウスモデルで解析した最初の報告は、Zhang と Miller が1994年に発表した F1xP backcross モデルである¹³⁾。このモデルでは、雌 B6D2F1マウス (H-2^{b/d}) と雄 B6 マウス (H-2^{b/b}) を交配させて得られる子マウス (H-2^{b/b}) を NIMA 曝

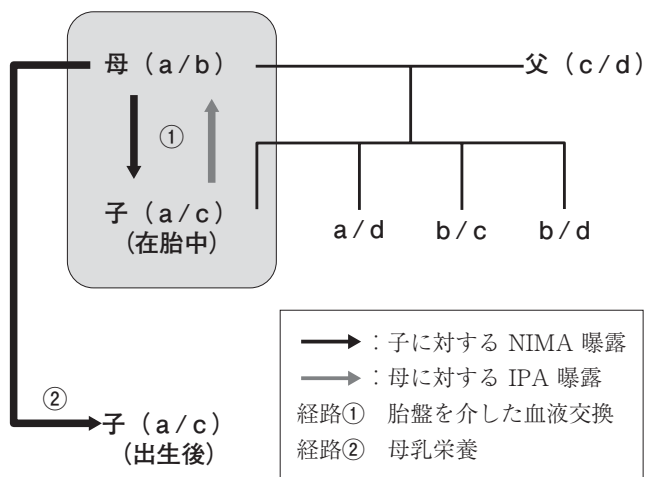


図1 家族における HLA の関係

露マウス，雌 B6 マウス (H-2^{b/b}) と雄 B6D2F1 マウス (H-2^{b/d}) を交配させて得られる子マウス (H-2^{b/b}) を対照マウスとし，それぞれの NIMA (H-2^d) に対する同種反応性を皮膚移植の系で検討した。その結果，NIMA 曝露は移植片の生着を延長させることが確認され，さらにこの効果は，レシピエントにおける母由来細胞のマイクロキメリズムの程度と関連していた。

ウイスコンシン大学のグループは，同じモデルを用いて心臓移植および皮膚移植をおこない，それぞれにおいて NIMA 効果が移植片の生着を促進することを確認した¹⁴。彼らは，NIMA 曝露マウスの脾臓細胞から抽出した CD4 陽性 T 細胞は，NIMA に対して IFN- γ や IL-2 といったサイトカインを産生する T_H1 細胞の頻度が低下していることを示し，経胎盤的に子に移行した NIMA 抗原が胸腺に提示されることにより，これに反応する T 細胞クローンが中枢性に除去される機序の存在を示唆した。

2. NIMA 反応性 B 細胞除去

パリのグループからは NIMA 曝露の及ぼす B 細胞反応性への影響について興味深い報告がされた。彼らは，ホストに対して親和性の異なる 2 つの抗原を NIMA として経胎盤的に曝露し，この抗原に特異的に反応する B 細胞の産生を調べたところ，ホストに対して親和性の高い抗原を NIMA とした場合は，特異的反応性 B 細胞は除去されており，寛容が確認されたものの，ホストに対して親和性の低い抗原を NIMA とした場合は，むしろこれに対する特異的 B 細胞産生が増強される傾向があることが分かった¹⁵。これは，臨床移植において，NIMA 効果が高い生着率や GVHD 抑制効果を示す一方で，一部の症例では，急性拒絶や重篤な GVHD が出現するといった相反する結果がみられている^{3,4} ことに関係している可能性があり，今後の研究が期待される。

3. Th2 シフト

ハーバード大学のグループは T 細胞免疫応答の Th2 シフトの可能性を示唆している¹⁶。彼らは，transgenic マウスを用いた NIMA 不一致の心臓移植モデルを作成し，NIMA 曝露マウスから得られた CD4 陽性 T 細胞は，NIMA 刺激に対して IL-4 を産生する Th2 細胞の頻度が増加していることを示した。以前から妊娠中に母体の免疫系は Th2 に傾いていることが分かっており，彼らの報告からはこの機構が長期を経た後も維持されていることが示唆される。

4. 制御性 T 細胞

これまでの NIMA 動物実験モデルは，皮膚ないし心臓といった臓器移植のモデルであり，HSCT で GVHD を抑制する NIMA モデルはなかった。われわれは，Zhang と Miller の実験を応用して NIMA 骨髄移植モデルを作成し，その効果を検証した¹⁷。その結果，NIMA 曝露マウスは，コントロールに比べて，GVHD の重症度，および生存率で有意差をもって，優れており，寛容効果が HSCT においても発現しうることが証明された。この効果は，第三者のハプロタイプを有するレシピエントでは観察されず，NIMA に対して抗原特異的であることが示唆された。

われわれは，この NIMA 寛容に関与する末梢性機序として，CD4 + CD25 + 制御性 T 細胞 (Treg) に着目した。最近の研究で，妊娠中の母体では末梢血や胎盤において Treg プールが増加しており，対胎児寛容に機能していることが分かっている^{18,19}。興味深いことに，可溶性同種 MHC クラス I 分子も，Treg を活性化し，移植寛容を導きうるといふ報告もある²⁰。これらのデータは NIMA 寛容における Treg の関与を強く示唆する。

われわれは，移植片を脾臓細胞から CD4 陽性 T 細胞に限定して移植をしても対 NIMA 寛容効果は同様に確認できたが，この移植片から Treg 分画を除去して移植をおこなったところ，寛容効果は消失した。この結果から，NIMA 効果には中枢性クローン除去だけでは成立せず，Treg が必要であることが示唆された。

Treg の作用は元来，抗原非特異的とされてきたが，われわれの実験結果からは，NIMA 効果にある程度の抗原特異性がみられた。最近の研究では抗原特異的な Treg の存在が示されている^{21,22}。抗原特異的 Treg の出現には，T 細胞減少環境で IL-2 存在下に抗原を曝露することが必要とされており²³，HSCT 後の高度のリンパ球減少期における NIMA 再曝露は，NIMA 特異的 Treg の活性化と増殖を可能にする可能性も考えられる。

次に，本モデルを用いて NIMA 効果の移植片対腫瘍効果 (Graft-versus-Leukemia effect ; GVL) に対する影響を検討した。意外なことに，NIMA 効果による GVL 効果の減弱は観察されなかった。この結果はしかし，レシピエント特異的な Treg は GVHD の抑制効果を有しているにもかかわらず，GVL 効果の抑制は比較的軽いという報告と合致する²⁴。

われわれは、さらに、対 IPA 寛容効果も検証した。IPA 曝露マウスは、雄 B6D2F1 マウス (H-2^{b/d}) と交配させた雌 B6 マウス (H-2^{b/b}) を用いた。この雌 B6 マウスは、H-2^{b/d} を MHC に持つ胎児を懐妊するため、この胎児より IPA (H-2^d) の曝露を受ける。IPA 曝露マウスからの移植では、GVHD 重症度および生存率においてコントロール群と有意差を認めなかった。これにはいくつかの理由が考えられる。第 1 に、NIMA が免疫系が未成熟で可塑性の高い胎児期に大量に曝露されるのに対し、IPA は成熟した免疫系に相対的には少量のみ曝露されるため、免疫感作に傾くことが予想されること。第 2 に、NIMA は経胎盤経路だけでなく、母乳を通じて、経口的経路でも曝露されるが、IPA 曝露にはそれがないこと。第 3 に、妊娠時に父由来マイナー抗原に感作される可能性があること²⁵⁾。これらの複合的要因により、IPA 曝露は効率的に寛容を導入し得ないものと考えられる。IPA 曝露が予想されていたよりも寛容導入効果が低いことは臨床での報告とも合致しており^{4,7)}、今後の慎重な検討が必要と思われる。

現在、われわれは、母乳栄養が“子→母”骨髄移植に及ぼす影響について、検討中である。母乳には大量の母免疫細胞が含まれており、子は在胎時だけでなく、出生後も母由来細胞の曝露を受ける¹²⁾。これまでの研究で、“子→母”移植における寛容効果が最大限に発揮されるためには母乳栄養が必要であること、またこの効果の発現は、母乳栄養期間中の Treg の活性化に依存している可能性があることが分かった²⁶⁾ (投稿準備中)。これらの知見は、移植免疫学の領域にとどまらず、未知の部分が多い Treg の分化と維持に関する基礎的メカニズムにも示唆を与えるものと考えられる。

ここに挙げた機序以外にも、妊娠における母子免疫寛容に関与されているとされる古典的 HLA²⁷⁾、NK 細胞²⁸⁾ など、複数の機序が母子間移植の寛容の諸相に相補的に働いているものと考えられる。NIMA 効果におけるこれらの機序の関与も検討する必要がある。

今後の展開

われわれはマウス骨髄移植モデルで Treg による NIMA 寛容機序を示したが、最近、ウイスコンシン大学のグループも、子の発達段階における母抗原曝露によって誘導される Treg がマウス母子間心臓移植モデル

の生着促進に働いていることを報告した²⁹⁾。しかしながら、このような動物実験で確認された NIMA 寛容における Treg のはたらきが、臨床移植でも同様に確認できるかどうかについては慎重な検討が必要である。というのも、現在の臨床 HSCT では、IL-2 を阻害し、Treg の回復を抑制するカルシニューリン阻害薬を使用することが必須であり、GVHD 予防をしない動物モデルとは異なるからである。実際、臨床腎移植での NIMA 効果もサイクロスポリンの登場以降は見られていない³⁾。この点において、Treg の回復を阻害しない特徴を持つ Rapamycin や Mycophenolate mofetil といった新規免疫抑制剤の登場は期待に値する³⁰⁻³²⁾。母子間移植の寛容が通常の移植以上に、Treg に依存するものであるならば、これらの新規薬の使用のもとで、その効果を再評価する意義はあるかもしれない。

また、近年、臍帯血バンクの整備がすすみ、臍帯血移植が爆発的に増加している。臍帯血は母子間寛容機序がもっとも維持されていると考えられる造血幹細胞源であるが、臍帯血そのものの HLA だけでなく、その母の HLA も同時に検索できるようになれば、より適切なドナーを選択するための材料が増える可能性もあり、検討する価値もあるのではないだろうか。

終わりに

公的幹細胞バンクの急速な充実により、HLA 不適合血縁ドナーの必要性は一時期に比較して少なくなっているものの、その availability の高さは、適時的な移植が必須である臨床現場において、これからもオプションのひとつであり続けるであろう。

HSCT は、単に破綻した造血器を正常なものに取り替えるということだけでなく、新たに患者に構築される免疫系が、同種免疫反応により、腫瘍を駆逐し、再発をモニタリングするものであり、生来有している免疫機構を治療に利用することに成功した最初の例である。この「生来有している」免疫機構が、さらにより効果的に発揮されるためのヒントが、母子間移植をめぐる基礎・臨床の研究から得られることを期待したい。

文 献

- 1) Owen RD: Immuno-genetic Consequences of Vascular Anastomoses between Bovine Twins. Science (1945)

- 102, 400-405.
- 2) Claas FH, Gijbels Y, van der Velden-de Munck J, van Rood JJ : Induction of B cell unresponsiveness to noninherited maternal HLA antigens during fetal life. *Science* (1988) 241, 1815-1817.
 - 3) Burlingham WJ, Grailer AP, Heisey DM, Claas FH, Norman D, Mohanakumar T, Brennan DC, de Fijter H, van Gelder T, Pirsch JD, Sollinger HW, Bean MA : The effect of tolerance to noninherited maternal HLA antigens on the survival of renal transplants from sibling donors. *N Engl J Med* (1998) 339, 1657-1664.
 - 4) van Rood JJ, Loberiza FR Jr, Zhang MJ, Oudshoorn M, Claas F, Cairo MS, Champlin RE, Galc RP, Ringdén O, Hows JM, Horowitz MH : Effect of tolerance to non-inherited maternal antigens on the occurrence of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation from a parent or an HLA-haploidentical sibling. *Blood* (2002) 99, 1572-1577.
 - 5) Tamaki S, Ichinohe T, Matsuo K, Hamajima N, Hirabayashi N, Dohy H : Superior survival of blood and marrow stem cell recipients given maternal grafts over recipients given paternal grafts. *Bone Marrow Transplant* (2001) 28, 375-380.
 - 6) Shimazaki C, Ochiai N, Uchida R, Okano A, Fuchida S, Ashihara E, Inaba T, Fujita N, Maruya E, Nakagawa M : Non-T-cell-depleted HLA haploidentical stem cell transplantation in advanced hematologic malignancies based on the feto-maternal microchimerism. *Blood* (2003) 101, 3334-3336.
 - 7) Ichinohe T, Uchiyama T, Shimazaki C, Matsuo K, Tamaki S, Hino M, Watanabe A, Hamaguchi M, Adachi S, Gondo H, Uoshima N, Yoshihara T, et al. : Feasibility of HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation between noninherited maternal antigen(NIMA)-mismatched family members linked with long-term fetomaternal microchimerism. *Blood* (2004) 104, 3821-3828.
 - 8) Ichinohe T, Teshima T, Matsuoka KI, Maruya E, Saji H : Fetal-maternal microchimerism : impact on hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol* (2005).
 - 9) Teshima T, Matsuoka K, Ichinohe T : Impact of fetal-maternal tolerance in hematopoietic stem cell transplantation. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* (2006) 54, 165-172.
 - 10) van den Boogaardt DE, van Rood JJ, Roelen DL, Claas FH : The influence of inherited and noninherited parental antigens on outcome after transplantation. *Transpl Int* (2006) 19, 360-371.
 - 11) Molitor ML, Burlingham WJ : Immunobiology of exposure to non-inherited maternal antigens. *Front Biosci* (2007) 12, 3302-3311.
 - 12) Molitor ML, Haynes LD, Jankowska-Gan E, Mulder A, Burlingham WJ : HLA class I noninherited maternal antigens in cord blood and breast milk. *Hum Immunol* (2004) 65, 231-239.
 - 13) Zhang L, Miller RG : The correlation of prolonged survival of maternal skin grafts with the presence of naturally transferred maternal T cells. *Transplantation* (1993) 56, 918-921.
 - 14) Andrassy J, Kusaka S, Jankowska-Gan E, Torrealba JR, Haynes LD, Marthaler BR, Tam RC, Illigens BM, Anosova N, Benichou G, Burlingham WJ : Tolerance to noninherited maternal MHC antigens in mice. *J Immunol* (2003) 171, 5554-5561.
 - 15) Vernochet C, Caucheteux SM, Gendron MC, Wantyghem J, Kanellopoulos-Langevin C : Affinity-dependent alterations of mouse B cell development by noninherited maternal antigen. *Biol Reprod* (2005) 72, 460-469.
 - 16) Akiyama Y, Caucheteux SM, Iwamoto Y, Guimezanes A, Kanellopoulos-Langevin C, Benichou G : Effects of noninherited maternal antigens on allotransplant rejection in a transgenic mouse model. *Transplant Proc* (2005) 37, 1940-1941.
 - 17) Matsuoka K, Ichinohe T, Hashimoto D, Asakura S, Tanimoto M, Teshima T : Fetal tolerance to maternal antigens improves the outcome of allogeneic bone marrow transplantation by a CD4+ CD25+ T-cell-dependent mechanism. *Blood* (2006) 107, 404-409.
 - 18) Aluvihare VR, Kallikourdis M, Betz AG : Regulatory T cells mediate maternal tolerance to the fetus. *Nat Immunol* (2004) 5, 266-271.
 - 19) Kallikourdis M, Andersen KG, Welch KA, Betz AG : Alloantigen-enhanced accumulation of CCR5+ 'effector' regulatory T cells in the gravid uterus. *Proc Natl Acad Sci USA* (2007) 104, 594-599.
 - 20) Jankowska-Gan E, Rhein T, Haynes LD, Geissler F, Mulder A, Kalavoğlu M, Sollinger H, Burlingham WJ : Human liver allograft acceptance and the "tolerance assay". II. Donor HLA-A, -B but not DR antigens are able to trigger regulation of DTH. *Hum Immunol* (2002) 63, 862-870.
 - 21) Trenado A, Charlotte F, Fisson S, Yagello M, Klatzmann D, Salomon BL, Cohen JL : Recipient-type specific CD4+ CD25+ regulatory T cells favor immune reconstitution and control graft-versus-host disease while maintaining graft-versus-leukemia. *J Clin Invest* (2003) 112, 1688-1696.
 - 22) Albert MH, Liu Y, Anasetti C, Yu XZ : Antigen-dependent suppression of alloresponses by Foxp3-induced regulatory T cells in transplantation. *Eur J Immunol* (2005) 35, 2598-2607.
 - 23) Nishimura E, Sakihama T, Setoguchi R, Tanaka K, Sakaguchi S : Induction of antigen-specific immunologic tolerance by in vivo and in vitro antigen-specific expansion of naturally arising Foxp3+ CD25+ CD4+ regulatory T

- cells. *Int Immunol* (2004) 16, 1189–1201.
- 24) Edinger M, Hoffmann P, Ermann J, Drago K, Fathman CG, Strober S, Negrin RS : CD4(+) CD25(+) regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Nat Med* (2003) 9, 1144–1150.
 - 25) van Kampen CA, Versteeg-van der Voort Maarschalk MF, Langerak-Langerak J, van Beelen E, Roelen DL, Claas FH : Pregnancy can induce long-persisting primed CTLs specific for inherited paternal HLA antigens. *Hum Immunol* (2001) 62, 201–207.
 - 26) Aoyama K, Matsuoka K, Hashimoto D, Ichinohe T, Harada M, Tanimoto M, Teshima T : Breast-Feeding Mediates Feto-Maternal Tolerance and Improves Outcome of Allogeneic Bone Marrow Transplantation. *Blood* (ASH Annual Meeting Abstracts) (2007) 110, 2165.
 - 27) Rouas-Freiss N, Naji A, Durrbach A, Carosella ED : Tolerogenic functions of human leukocyte antigen G : from pregnancy to organ and cell transplantation. *Transplantation* (2007) 84, S21–25.
 - 28) Manaster I, Mandelboim O : The unique properties of human NK cells in the uterine mucosa. *Placenta* (2007).
 - 29) Molitor-Dart ML, Andrassy J, Kwun J, Kayaoglu HA, Roenneburg DA, Haynes LD, Torrealba JR, Bobadilla JL, Sollinger HW, Knechtle SJ, Burlingham WJ : Developmental exposure to noninherited maternal antigens induces CD4+ T regulatory cells : relevance to mechanism of heart allograft tolerance. *J Immunol* (2007) 179, 6749–6761.
 - 30) Zeiser R, Nguyen VH, Beilhack A, Buess M, Schulz S, Baker J, Contag CH, Negrin RS : Inhibition of CD4+ CD25+ regulatory T-cell function by calcineurin-dependent interleukin-2 production. *Blood* (2006) 108, 390–399.
 - 31) Coenen JJ, Koenen HJ, van Rijssen E, Kasran A, Boon L, Hibrands LB, Joosten I : Rapamycin, not cyclosporine, permits thymic generation and peripheral preservation of CD4+ CD25+ FoxP3+ T cells. *Bone Marrow Transplant* (2007) 39, 537–545.
 - 32) Cutler C, Li S, Ho VT, Koreth J, Alyea E, Soiffer RJ, Antin JH : Extended follow-up of methotrexate-free immunosuppression using sirolimus and tacrolimus in related and unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* (2007) 109, 3108–3114.