

IMMUNOABLAZIONE SEGUITA O MENO DA CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE (CSE) COME TERAPIA INTENSA DI MALATTIE AUTOIMMUNI GRAVI

*Alberto M. Marmont
Dipartimento di Ematologia (DEMA)
Ospedale S.Martino, Genova*

Introduzione

La terapia delle malattie autoimmuni gravi (MAI) è stata recentemente rivitalizzata dall'introduzione di procedure di immunosoppressione intensa ad intento immunoablattivo, seguite da vero e proprio trapianto di CSE allogeniche, da rescue autostaminale, oppure senza "soccorso" ematopoietico alcuno. Tali nuovi indirizzi sono nati da una serie di brillanti risultati ottenuti in patologia sperimentale, e da alcune proposte cliniche (1,2). Da allora l'esperienza clinica si è enormemente sviluppata, e per quanto riguarda l'autotrapianto è sorto un Working Party dell'EBMT coordinato da Tyndall che include studi clinici in fase I/II. Numerosi altri studi sono in corso, ed esiste ormai un grande numero di piccole casistiche od anche di casi singoli. Poiché qui non si potrà che dare un profilo generale della situazione, si rimanda alle riviste sintetiche più recenti, sia sperimentali (3,4) che cliniche (5-13).

La prevalenza delle MAI è stimata dal 3 al 6-7% della popolazione dei Paesi occidentali. La complessità dei rapporti fra eziologia intrinseca, su base genetica ("autogeni"), ed estrinseca è ulteriormente complicata dalle diversità fra le singole MAI, e persino anche fra i sottipi di una determinata malattia. La questione se la reazione anticorpale nelle MAI sistemiche sia antigene-diretta, per cui un sistema immune "normale" reagisce a proteine "self" divenute autoantigeniche (14), o se siano MAI sostenute da una disfunzione primitiva del sistema immunologico (15), è tuttora irrisolta (12,13). E' fondamentale rendersi conto che entrambe tali ipotesi non sono mutuamente esclusive. La maggioranza delle MAI è controllata, più o meno soddisfacentemente, dalle manipolazioni consuete del sistema immune, ma esiste uno zoccolo duro di MAI refrattarie/ricadenti per le quali è stata proposta la definizione pienamente appropriata, di "autoimmunità maligna" (16). Come osservano recentemente Mackay e Rose (17) il Santo Graal del trattamento dovrebbe consistere in una terapia mirata in grado di distruggere specificamente (ed esclusivamente) i cloni immunocitari patogeni responsabili della MAI. Ma anche se ciò fosse possibile –e l'argomento di questa relazione investe solidamente questo tema- il secondo e non meno importante obiettivo consiste nell'evitare una ri-autoimmunizzazione, ossia il conseguimento dell'autotolleranza specifica.

Ricerche in modelli animali

Sostanzialmente esistono due tipi di MAI animali: nel primo tipo la malattia insorge spontaneamente a causa di combinazioni genetiche specifiche, mentre nel secondo la stimolazione antigenica è fondamentale. Si parla pertanto di forma ereditarie o indotte. Nel 1974 Morton e Siegel trasferirono il LES murino in topi BALB / C H-2^d compatibili irradiati trapiantando midollo intiero da topi affetti (18). Tale trasferimento adottivo fu poi riprodotto in altre forme di LES murino, sindrome antifosfolipidica, diabete mellito insulino-dipendente (IDDM), encefalomielite autoimmune sperimentale (EAE) ed artrite da adiuvante, considerate entrambe modelli sperimentali della sclerosi multipla (MS) e dell'artrite reumatoide (AA) umane. I particolari di tali sperimentazioni sono riportati altrove (19,12). L'identità degli elementi cellulari veicolanti l'informazione autoimmune è discussa: sicuramente linfociti di pazienti autoimmuni sono in grado di riprodurre la malattia nei topi NOD/SCID (20), ma nella sperimentazione fra animali hanno assunto importanza fondamentale le CSE (lett. In 19,3,5,6). In una estesa serie di ricerche Ikehara e coll. hanno trovato che le MAI possono essere trasferite con CSE purificate, che queste sono capaci di proliferare anche in microambienti MHC-mismatched, e che le cellule stromatiche "le abbracciano come madri con i loro bambini" (4,21). Ikehara ha pertanto definito le MAI (sperimentali) quali "malattie policlonali delle CSE".

In via bidirezionale le stesse MAI sperimentali che si sono dimostrate trasferibili con il trapianto sono state guarite mediante trapianti da congeneri sani. Si poté dimostrare che MAI anche avanzate potevano essere curate a seguito di irradiazione e trapianto di CSE (2-4). Altre ricerche sperimentali hanno dimostrato non solo un effetto del tipo Graft-versus-Autoimmunity nei topi NOD, ma anche un effetto terapeutico del chimerismo misto, nonostante la persistenza delle cellule T endogene (lett. In 22). Tale ultimo aspetto mette in discussione fenomeni di soppressione e/o di veto (23), e sta alla base dell'impiego di procedure nonmieloablative anche nel campo delle MAI (22). Infine la dimostrazione dell'effetto terapeutico del trapianto autologo/pseudoautologo nell'artrite da adiuvante e parzialmente anche nell'EAE (24,25) ha contribuito in maniera fondamentale all'attuale estesa sperimentazione clinica.

Esperienza clinica

Autoimmunità post-trapiantologica. Il termine di "autoimmunità adottiva" fu proposto da me nel 1992 per indicare il trasferimento di una MAI da un donatore di CSE ad un ricevente (26). Se è dimostrabile un trasferimento diretto o di linfociti patogeni o di CSE in grado di generarli la patogenesi è chiara. Ma ci sono anche casi in cui, anche senza tale dimostrazione, l'ipotesi di autoimmunità adottiva non può essere né criticata né respinta, come nei casi di trasmissione post-trapiantologica di morbo celiaco (27) che di psoriasi

pustolosa palmoplantare con simultanea guarigione di AML del ricevente (28). Tuttavia altri casi possono essere attribuiti allo squilibrio immunologico che si verifica dopo allotrapianto: è la teoria del “caos immunologico” di Sherer e Shoenfeld (29). Tale interpretazione è rafforzata dall'emergenza di anticorpi autoreattivi e da una sequela di complicazioni autoimmuni multiple che tennero dietro ad autotrapianti (30,31).

Le casistiche più importanti di autoimmunità adottiva sono state osservate a carico della tiroide, con frequente ipotiroidismo ma anche con 8 casi di ipertiroidismo pubblicati (32), diabete mellito insulino-dipendente IDDM e miastenia grave, una situazione molto particolare. Tali aspetti sono approfonditi altrove (6,13,26). Ma deve essere ricordato che non vi fu trasmissione di malattia in 2 pazienti leucemici trapiantati da donatori affetti da RA e LES (33)

Risoluzione di MAI pre-esistenti a seguito di trapianto allogenico. Si tratta di situazioni morbose cosiddette coincidentali, largamente discusse altrove (6,13). La casistica più numerosa è quella di RA trapiantati a causa di anemia aplastica severa (SAA) iatrogena (6,13,35,36,37). La perplessità maggiore deriva dalle ricadute nonostante un chimerismo completo (36,37). Sei casi con malattia di Crohn e leucemia ricevettero trapianti allogenici a Seattle (38). Dei 5 pazienti valutabili 4 non ebbero segni di malattia anche a 15 anni post-trapianto.

La sindrome di Evans è una emopatia grave (39). Un bambino di 5 anni tenacemente refrattario andò in remissione completa dopo trapianto cordonale (40). Un altro caso adulto è in remissione completa dopo trapianto allogenico (R.K. Burt, comunicazione personale).

Trapianti autologhi. Il trapianto di CSE autologhe, da midollo ma sempre più frequentemente dal sangue, viene impiegato molto più estesamente per due motivi fondamentali: gli incoraggianti risultati di Rotterdam (41,42) e la maggiore sicurezza del procedimento autologo (6,26,35,43). Tuttavia nello studio europeo la TRM a 2 anni fu accertata a $8\pm 6\%$, mortalità che viene paragonata a quella corrispondente per i linfomi non-Hodgkin. E' questione di sensibilità giudicare se tale paragone sia incoraggiante o meno, come sarà discusso più oltre.

La MS è diventata l'indicazione clinica principale grazie alle ricerche cliniche pionieristiche di A.Fassas (44) e di altri (45). Uno studio controllato collaborativo neurologico-GITMO sta trattando pazienti affetti da MS primaria e secondaria progressiva con valutazione clinica, biologica e di RMN. La mobilitazione delle CSE viene compiuta con CY 4g/mg + G-CSF, ed il condizionamento con il protocollo BEAM di Fassas (44), ormai impiegato a livello europeo. In tutta questa vasta casistica si è costantemente verificato un significativo miglioramento clinico, che non è possibile analizzare qui. Ma uno dei risultati più interessanti (ed incoraggianti) è stata la regressione, spesso completa, delle lesioni neurologiche già dopo la mobilitazione con CY,

dimostrando così la capacità dei metaboliti oxazaforinici di penetrare nelle lesioni, forse anche grazie all'alterazione della barriera emato-encefalica operata dalla malattia.

Nelle aree delle malattie reumatiche 10 pazienti con RA hanno ricevuto autotrapianti a Sidney senza particolare tossicità (36). Tuttavia in uno studio prolungato su 4 pazienti le remissioni furono seguite da ricadute dopo 8-24 mesi, così che si è già pensato al duplice autotrapianto (46). Nell'artrite reumatoide giovanile (JCA) grave e refrattaria sono stati pubblicati 4 casi (47), ma altri 6 sono già stati effettuati (N. Wulfraat, comunicazione personale). Il regime di condizionamento fu molto intenso (ATG, CY 200 mg/kg, TBI 46y), le remissioni furono buone, ma ci furono 2 casi di TRM tardiva. L'aggressività della JCA fu anche dimostrata dal fatto che nella stessa si verificarono le ricadute più precoci (48).

Come preconizzato nel 1993 (49), il LES refrattario/ricorrente sta divenendo un'indicazione maggiore per IS ad alte dosi e rescue con CSE autologhe. Una discussione approfondita dell'argomento è stata pubblicata molto recentemente (50), e si rimanda alla stessa per maggiori particolari. In 4 casi di LES e neoplasia (NHL, CML) si ebbero risultati variabili, con talora una ricaduta del LES più precoce di quella del NHL. Per quanto riguarda il LES isolato, ci sono 7 casi pubblicati di pazienti trattati con autotrapianti. Nel primo caso si è verificata una ottima remissione parziale (51), ma dopo 40 mesi dal trapianto si è accertata una modica risalita degli ANA. Una donna con LES grave complicato da glomerulonefrite proliferativa focale è in remissione completa corticoindipendente un anno dopo il trapianto (52). Un caso complicato da sindrome di Evans (ES) è anche in remissione completa (53). Quattro casi sono stati autotrapiantati a Chicago, e con un FU mediano di 17 mesi sono in remissione completa corticoindipendente (54).

La sclerosi sistemica (SSc) può essere una malattia gravissima, in cui la fibrosi polmonare interstiziale è la più frequente causa di morte. Oltre a casi sporadici discussi altrove (6,13) ed alla casistica del Registro dell'EBMT, sono da ricordare 5 casi trattati a Seattle con CY 120mg/kg, TBI 8 Gy ed ATG 90mg/kg, seguiti da CD34⁺ autologhe selezionate (55). Un certo grado di miglioramento, con arresto di progressione di malattia, fu ottenuto in tutti. Ma il risultato più brillante è quello che si è ottenuto recentemente in una paziente di 13 anni con coinvolgimento polmonare grave e progressivo, che ricevette CD34⁺ selezionate dopo mobilizzazione con CY 4g/mg e C-CSF e fu condizionata ancora con CY, 200mg/kg. Due anni dopo il trapianto le immagini polmonari a vetro smerigliato sono scomparse, la paziente è corticoindipendente, ed è stata accertata una normalizzazione della crescita (56). In contrasto, il titolo degli ANA e degli anti-Scl-70 è rimasto sostanzialmente invariato.

Quattro casi di trombocitopenia autoimmune (AITP) refrattaria anche dopo splenectomia sono stati trattati con IS intensa seguita da CSE autologhe. Nei primi 2 casi si ebbero remissioni piastriniche complete corticoindipendenti (57), ma successivamente si verificarono ricadute (S. Lim, comunicazione

personale). In altri 2 casi vi fu una totale refrattarietà (58,59). Un commento più esteso è stato pubblicato altrove (39).

Immunosoppressione intensa senza rescue di CSE. Il trattamento con dosi elevate di CY (200mg/kg) è stato impiegato presso il Johns Hopkins di Baltimore alcuni anni fa per la SAA (60), ed è stato recentemente esteso ad uno spettro di MAI gravi, includenti la sindrome di Felty, l'AITP e la ES (61). La ricostituzione ematologica non si diversificò da quella che si verifica dopo autotrapianto. Ciò fu attribuito al fatto che le CSE molto immature esprimono livelli elevati di aldeide deidrogenasi, un enzima considerato responsabile per la resistenza cellulare alla CY (62).

Nella messa a punto più recente sono stati così trattati 27 pazienti con una varietà di MAI (12 LES, 5 neutropenia autoimmune, 3 polineuropatia, 2 miastenia grave, 2 AIHA, 1 AITP, 1 ES, 1 pemfigo). Tredici pazienti sono in remissione completa, clinica e sierologica, con un FU mediano di 9 mesi (63). Le dosi elevate di CY producono chiaramente remissioni a lungo termine, come è stato anche osservato in un caso di LES avente ricevuto per errore una dose unica di 5g di CY (64).

T deplezione. Nelle MAI attive i pazienti non sono mai in remissione completa prima dell'autotrapianto, per cui una deplezione dei T linfociti autoreattivi contenuti nella massa dei T linfociti è considerata "obbligatoria" da van Bekkum (9). La maggioranza delle MAI è T mediata, e nelle B-mediate (20) esiste una preminente dipendenza T, talchè la deplezione può essere focalizzata sui linfociti T. Questa può essere ottenuta mediante selezione positiva delle CD34⁺, mediante TCD immunologica, e mediante la combinazione di entrambi i procedimenti. Inoltre si ottiene una TCD in vivo somministrando ATG ai riceventi (44,45,54). Si è generalmente impiegata una deplezione di 3 log, ma questo livello è stato superato per un caso di LES (52). E' peraltro noto che una TCD eccessivamente spinta può essere poi seguita da complicazioni virali e fungine, nonché da malattie linfoproliferative. E' palese che non si può confidare nelle DLI nel setting autologo. Come è stato detto recentemente, non ha molto senso curare una MAI solo per sostituirla con una IS profonda e permanente (65).

La ricostituzione immunologica. La ricostituzione del sistema immune è stata studiata estesamente sia dopo trapianto allogenico che autologo. La letteratura è profusa, e si rimanda a due ottime riviste sintetiche recenti (66,67). La caratteristica più significativa consiste nella depressione profonda e prolungata del subset CD34⁺ (50,51,66,67). Uno studio dopo autotrapianto di CD34⁺ FACS-selezionate ha suggerito una predominante produzione di CD8⁺ in siti extratimici che favoriscono le CD8⁺ sulle CD4⁺ (68). Il prolungato fenotipo immunosoppresso, che si trova dopo trapianto allogenico/autologo tanto per malattie neoplastiche che autoimmuni, è caratterizzato dall'inversione del rapporto CD4⁺/CD8⁺, e dal predominio iniziale di linfociti memoria

CD45RO, seguito dopo molti mesi ed anche anni dalla ricomparsa di linfociti naive CD45RA. Il marker di attivazione T CD69, che era altamente espresso in pazienti di LES prima dell'autotrapianto, declinò significativamente dopo lo stesso, con una deviazione della produzione di citochine come da un fenotipo Th1/Th2 più vicino alla normalità (54).

Discussione

E' noto che l'autoimmunità è multifattoriale (69,70): fattori genetici, immuni, ormonici ed ambientali concorrono tutti nell'uomo, a differenza di molti modelli animali, nel determinismo delle singole autoimmunopatie (13). Le concezioni predominanti sull'autoimmunità predicono che guarigioni stabili sono in via teorica ottenibile a tre condizioni:

1. Eradicazione delle cellule immunocompetenti del paziente.
2. Loro sostituzione da parte di cellule istocompatibili sane.
3. Non suscettibilità delle stesse a "whatever breaks tolerance", come concisamente ma competentemente scritto da van Bekkum (9).

Dei tre approcci che sono stati discussi, e cioè 1) il trapianto di CSE allogeniche, 2) il rescue con CSE autologhe dopo immunosoppressione intensa, e 3) IS intensa da sola non c'è dubbio che il primo approccio si presenti come il più promettente. Come si è visto, i trapianti allogenici sono stati generalmente seguiti da remissioni prolungate, anche se non possiamo (ancora?) parlare di guarigioni. Tuttavia un primo svantaggio è la TRM, che pur decrescendo costantemente negli ultimi anni nelle leucemie (71), è tuttora inaccettabile nelle MAI. Inoltre la fiducia nell'allotrapianto non può non essere scossa dai casi di RA ricaduti nonostante la ricostituzione immunologica del donatore (35,36). La ricaduta leucemica nelle cellule del donatore è un evento conosciuto, ma segnalato sempre meno recentemente; tuttavia nel caso delle MAI è difficile non ipotizzare come causa più probabile una risensibilizzazione, tanto più che si tratta nella grande maggioranza di patologie antigene-dirette (14), e che l'istotipo HLA del donatore è nella grande maggioranza identico a quello del ricevente. Se si dovessero riscontrare altri casi del genere nel futuro, il gradiente di vantaggio bioimmunologico della procedura allogenica nei confronti dell'autologa ne sarebbe considerevolmente indebolito (72). Di fronte a tali considerazioni negative sorge peraltro la recente acquisizione dei nuovi regimi di condizionamento non mieloablativi (73,74,75), noti anche come "transplant-lite" (74) e trapianti "metakinici" (76). Se si confermasse l'esistenza di un effetto GVA anche in clinica, così come è stato osservato negli esperimenti sui topi NOD (), esso potrebbe forse ovviare al problema della ricapitolazione non solo dell'immunità ma, quello che più conta, dell'autoimmunità. E' vero

che il chimerismo misto può avere ragione di sindromi disimmuni quali la linfocitosi emofagocitica familiare (77), e che è stato postulato che possa essere efficace anche nelle MAI (75), ma questa è per ora solo una speranza.

Nei rari casi di gemelli identici nonconcordanti per malattia si potrebbero prendere in considerazione anche i trapianti singenici. Nel caso del LES, ad esempio, solo il 23% di 66 gemelli monozigoti fu trovato concordante per la malattia (78), anche se sono state segnalate concordanze più elevate (79). Anche l'utilizzazione di sangue cordonale è suscettibile di divenire un'opzione interessante per pazienti pediatrici, come è stato effettuato nel caso di ES già ricordato (40).

Attualmente, comunque, il trapianto autologo viene prospettato come una soluzione possibile per MAI gravi e refrattarie alle terapie convenzionali soprattutto in considerazione della minore TRM e della maggiore fattibilità (5-8,13,35,43,80). Nel Registro dell'EBMT la probabilità di sopravvivenza globale ($\pm 95\text{CI}$) a 2 anni fa $89\pm 7\%$, ed il rischio di TRM $8\pm 6\%$, che è paragonabile a quello per malattie maligne (48). Nonostante tale equivalenza, che è stata definita "incoraggiante", essa non è poi tanto soddisfacente, ed è legittimamente prevedibile che non possa essere ulteriormente ridotta mediante una più accurata selezione dei pazienti ed una migliore interazione fra i vari specialisti. Le CSE periferiche sono ormai preferite a quelle midollari in pressochè tutte le condizioni morbose (81), ma dosi eccessivamente elevate di CY per la mobilitazione, come quelle utilizzate nelle emoblastosi, vanno decisamente scoraggiate. Non si ripeterà mai a sufficienza ai trapiantisti che i pazienti affetti da MAI sono quasi sempre più fragili e con maggiori danni d'organo diffusi degli emopatici. Il dosaggio di 4g/mg (con G-CSF) assicura una buona mobilitazione e di per sé esercita un effetto terapeutico preliminare, come abbiamo chiaramente dimostrato nella MS. Ma l'essenza del problema risiede nel fatto se l'IS intensa seguita da ASCT sia veramente in grado di indurre l'autotolleranza, o, se vogliamo, l'eradicazione dell'autoimmunità. Si è visto che ciò è stato ottenuto in patologia sperimentale, ma in clinica questo ambizioso obiettivo ("reprogramming the immune system", Waldmann 82) è ancora lontano. Ben più probabile appare una riduzione anche prolungata del potenziale autoimmune: un caso paradigmatico è quello del primo caso di LES autotrapiantato a Genova (51), nel quale solo dopo 40 mesi si assiste ad un graduale simultaneo incremento degli ANA e dei CD4+. Ma se l'effetto principale è indotto dalla IS intensa, allora la metodica del Johns Hopkins (60,61) appare la più razionale, anche perché elimina totalmente la reinfusione di linfociti autoreattivi. Tuttavia la criopreservazione delle CSE è un procedimento di sicurezza che sembra irrinunciabile.

Non si può trascurare il problema dell'oncogenicità tardiva, come in particolare nei bambini affetti da JCA, che ricevono una combinazione di TBI (4 Gy) e di CY (200mg/kg). E' noto che il rischio oncogeno, sia di tumori solidi che di emoblastosi (leucemie e mielodisplasie) è più elevato dopo terapie con

modalità combinate (83). E' importante che si cerchi con ogni mezzo di prevenire o diminuire il rischio dell'oncogenicità tardiva.

Infine sono necessari studi comparativi, possibilmente per mezzo di studi prospettici randomizzati. Si possono già proporre alcuni orientamenti. Per quanto riguarda la RA, i risultati estremamente incoraggianti che vengono riportati con l'Etanercept (una proteina di fusione umana coinvolgente il ricettore per il TNF; 84) possono essere confrontati con quelli delle procedure immunosoppressive intense. Per la JCA, oltre all'Etanercept, il paragone può essere effettuato con la procedura, in realtà consimile, di CY a boli prolungata nel tempo (85). Ma è anche possibile modificare gli algoritmi e, per fare un esempio, programmare un mantenimento con IFN- β (86) dopo aver ottenuto la remissione con l'IS intensa nei pazienti con sclerosi multipla

Anche se l'ASCT non è stato in grado di riprodurre risultati sovrapponibili a quelli così brillanti dell'immunopatologia sperimentale, alcuni benefici significativi sono stati e si vanno ottenendo, ed una più intelligente ed approfondita collaborazione interdisciplinare ne è già un risultato importante (6,9).

CONCLUSIONI RIASSUNTIVE

La terapia immunosoppressiva ad alta intensità ha modificato significativamente in meglio il decorso clinico delle malattie autoimmuni gravi, costantemente recidivanti e refrattarie. Riassumendo la considerevole mole di lavoro che è stata effettuata negli ultimi anni, si può affermare che le procedure sono essenzialmente tre, cioè immunosoppressione intensa seguita da trapianto allogenico, da trapianto autologo e senza rescue staminale di qualsiasi genere. La procedura allogenica, sinora impiegata esclusivamente per malattie coincidentali, potrà forse trovare un'applicazione più vasta utilizzando le tecnologie nonmieloablative. Il problema reale è il conseguimento della tolleranza, talora negato dall'evenienza dell'autosensibilizzazione agli autoantigeni. Il trapianto autologo trova attualmente una larga diffusione internazionale. I risultati migliori sono stati conseguiti sinora nella sclerosi multipla, ma anche molte malattie autoimmuni "reumatiche" ne hanno tratto giovamento. E' più verosimile che si tratti di remissioni, talora anche a lungo termine, che non di guarigioni autentiche; tuttavia ciò non significa che si tratti di risultati non importanti. L'immunosoppressione con dosi elevate (200mg/kg) di ciclofosfamide senza supporto staminale di sorta sta fornendo risultati incoraggianti presso il Johns Hopkins di Baltimore, USA.

Una conclusione generale è che molte malattie autoimmuni gravi si giovano di indirizzi terapeutici non sospettati alcuni anni fa. Inoltre l'impiego sempre più esteso di tali metodiche promuove un'intesa fra specialisti su

comuni basi biologiche che non può non essere fruttifera per le scienze biomediche e per i pazienti.

BIBLIOGRAFIA

1. Marmont AM. Perspective: Immune ablation with stem cell rescue: a possible cure for systemic lupus erythematosus; *Lupus* 1993; **2**: 151-6
2. Slavin S. 1993. Treatment of life-threatening autoimmune diseases with myeloablative doses of immunodepressive agents: experimental background and rationale for ABMT. *Bone Marrow Transplant*; 1993;**12**: 201-10
3. Van Bekkum DW. Review: BMT in experimental autoimmune diseases. *Bone Marrow Transplant* 1993; **11**: 183-7
4. Ikehara S. Bone marrow transplantation for autoimmune diseases. *Acta Haematol.* 1998; **99**: 116-132
5. Snowden JA, Brooks PM, Biggs JC. Haemopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases; *Br. J Haematol.* 1997; **99**: 9-22
6. Marmont AM. Stem cell transplantation for severe autoimmune diseases: progress and problems; *Haematologica* 1992; **83**: 733-743
7. Sherer Y, Shoenfeld Y. Stem cell transplantation - a cure for autoimmune diseases; *Lupus* 1998; **7**: 137-140
8. Burt RK, Traynor A. Hematopoietic stem cell therapy of autoimmune diseases. *Current Opinion in Hematology* 1998; **5**: 472-77
9. Van Bekkum D.W. Short analytical review. New opportunities for treatment of severe autoimmune diseases: bone marrow transplantation. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1998; **89**: 1-10
10. Slavin S. Autologous and allogeneic stem cell transplantation for the treatment of autoimmune diseases as a potential new approach. In *The decade of autoimmunity*, ed Y Shoenfeld; 1999 399-408, Amsterdam, Elsevier
11. Marmont AM: Severe autoimmune diseases, intense immunosuppression and stem cells: onwards to Y2K. Educational Book, 25th Annu Meet EBMT 1999: 57-63
12. Tyndall A, Gratwohl A: Hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases. In Thomas ED, Blume KG, Forman SJ (eds): Hematopoietic cell transplantation. Blackwell Science, Oxford, 1999: 1117-1122
13. Marmont AM: New horizons in the treatment of autoimmune diseases: immunoablation and stem cell transplantation. *Ann. Rev. Med.* 2000; **51**, in press
14. Tan EM. Autoantibodies and autoimmunity: a three-decade perspective. In *B lymphocytes and autoimmunity*, ed N. Chiorazzi, RG Lahita, K. Pavelka, M. Ferrarini, *Ann. NY Acad. Sci* 1997; **815**: 1-14
15. Coutinho A. An outsider's view on SLE research. *Lupus* 1999; **8**: 171-3

- 16 Lafferty KL, Gazda LS. Costimulation and the regulation of autoimmunity. *The autoimmune diseases*, ed NR Rose, IR Mackay San Diego 1998; Academic Press 59-74
- 17 Mackay IR, Rose NR. Autoimmunity yesterday, today and tomorrow, In *The autoimmune diseases*, ed NR Rose, IR Mackay,. San Diego 1998; Academic Press 849-872
- 18 Morton JL, Siegel BV. Transplantation of autoimmune potential. Development of antinuclear antibodies in H-2 histocompatible recipients of bone marrow from New Zealand Black mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1974; **71**: 2162-6
- 19 Marmont AM Stem cell transplantation for severe autoimmune disorders, with special reference to rheumatic diseases. *J. Rheumatol* 24 (suppl. 48) 1997; 13-18
- 20 Boitard C. B cells and autoantibody productions in autoimmune diseases. Heidelberg: Springer-Landes; 1996
- 21 Ikehara S. Autoimmune diseases at stem cell disorders: Normal stem cell transplant for their treatment (review); *Int. J Molec. Med.* 1998; **1**: 5-16
- 22 Marmont AM: Severe autoimmune diseases, intense immunosuppression and stem cells: will there be a place for cellular therapy? *Progr. Ematol. Clin. (Pavia)* 1999; **18**:191-194
- 23 Sykes M, Strober S: Mechanisms of tolerance. In Thomas ED, Blume KG, Forman SJ (eds): Hematopoietic stem cell transplantation. *Blackwell Science*, Oxford, 1999; 264-286
- 24 Knaan-Shanzer S., Houben P., Kinwel-Bohrè EBM et al Remission induction of adjuvant arthritis in rats by total body irradiation and autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1992; **8**: 333-8
- 25 Van Gelder M., Van Bekkum D.W. Effective treatment of relapsing autoimmune encephalomyelitis with pseudoautologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1996; **18**: 1029-34
- 26 Marmont AM. Autoimmunity and bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1992; **9**: 1-3.
- 27 Bargetzi MJ, Schoenberg A, Tichelli A, et al. Celiac disease transmitted by allogeneic non T-depleted bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1997; **20**: 607-9.
- 28 Kishimoto Y, Yamamoto Y, Ito T et al. Transfer of autoimmune thyroiditis and resolution of palmoplantar pustular psoriasis following allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1997; **19**: 1041-43
- 29 Sherer Y, Shoenfeld Y. Autoimmune diseases and autoimmunity post-bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1998; **22**: 873-881
- 30 Ishikawa F, Shigematsu H, Gondo H et al. Autoreactive antibodies following autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1998; **22**: 729-731

- 31 Lambertenghi Delilieri G, Annaloro C et al. Multiple autoimmune events after autologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1997; **19**: 745-7
- 32 Berisso GA, Van Lint MT, Bacigalupo et al. Adoptive autoimmune hyperthyroidism following allogeneic stem cell transplant from an HLA-identical sibling with Graves disease. *Bone Marrow Transplantation* 1999; **24**: in press
- 33 Snowden JA, Atkinson K, Kearney P. et al. Allogeneic bone marrow transplantation from a donor with severe active rheumatoid arthritis not resulting in adoptive transfer of disease to recipient. *Bone Marrow Transplantation* 1997; **20**: 71-3
- 34 Sturfelt G, Lenhoff S., Salfors B., .et al. Transplantation with allogeneic bone marrow transplantation from a donor with systemic lupus erythematosus (SLE): successful outcome in the recipient and induction of an SLE flare in the donor. *Ann. Rheum. Dis.* 1996; **55**: 638-41
- 35 Tyndall A., Milliken S. Bone marrow transplantation for rheumatoid arthritis. In Established rheumatoid arthritis, ed Van Riel & Bresnihan. *Baillere's Clinical Rheumatology* 1999; in press
- 36 Snowden JA, Kearney P, Kearney A., et al. Long-term outcome of autoimmune disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Arthritis Rheumatism* 1998; **41**: 453-9
- 37 Mc Kendry RJR, Huebsch L, Le Clair B. Progression of rheumatoid arthritis following bone marrow transplantation: a case report with a 13-years follow-up. *Arthritis Rheumatism* 1996; **39**: 1246-53
- 38 Lopez Cubero SO, Sullivan KM, Mc Donald GB. Course of Crohn's disease after allogeneic bone marrow transplantation: report of 6 cases. *Gastroenterology* 1998; **114**: 433-40
- 39 Marmont AM. Editorial. Immune ablation and stem cell transplantation for severe Evans syndrome and thrombocytopenic purpura. *Bone Marrow Transplantation* 1999; **23**:1215-1216
- 40 Raetz E, Beatty PG, Rose J. Treatment of severe Evans syndrome with an allogeneic cord blood transplant. *Bone Marrow Transplantation* 1997; **20**: 427-9
- 41 Van Bekkum DW. Review: BMT in experimental autoimmune diseases. *Bone Marrow Transplant.* 1993; **11**: 183-7
- 42 Van Gelder M., Van Bekkum D.W. Effective treatment of relapsing autoimmune encephalomyelitis with pseudoautologous bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1996; **18**: 1029-34
- 43 Tyndall A. Gratwohl A. Blood and marrow stem cell transplantation in autoimmune diseases: a consensus report written on behalf of European League against Rheumatism (EULAR) and the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 1997; **19**: 643-5

- 44 Fassas A, Anagnostopoulos A, Kazis et al. Peripheral blood cell transplantation in the treatment of progressive multiple sclerosis: first results of a pilot study. *Bone Marrow Transplantation* 1997; **20**: 631-8
- 45 Burt RK, Traynor A, Pope R et al. Treatment of autoimmune disease by intense immunosuppressive conditioning and autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 1998; **92**: 3505-3514
- 46 Cooley HM, Snowden JA, Grigg AP et al. Outcome of rheumatoid arthritis and psoriasis following autologous stem cell transplantation for hematologic malignancy. *Arthritis Rheumatism* 1997; **40**: 1712-5
- 47 Wulfraat N, van Royen A, Biering M et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation in four patients with refractory juvenile chronic arthritis. *Lancet* 1999; **353**: 550-3
- 48 Passweg J, Tyndall A. Autologous stem cell transplantation for autoimmune disease. *Bone Marrow Transplantation* 1999; **23** (S35 Abstr)
- 49 Marmont AM. Perspective: Immune ablation with stem cell rescue: a possible cure for systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1993; **2**: 151-6
- 50 Marmont AM: Intense immunosuppression and stem cell transplantation or rescue for severe systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1999; **8**: 256-257
- 51 Marmont AM, Van Lint MT, Gualandi F et al. Autologous marrow stem cell transplantation for systemic erythematosus of long duration. *Lupus* 1997; **2**: 151-6
- 52 Fouillard L, Gorin NC, Laporte JPh et al. Control of severe systemic lupus erythematosus after high-dose immunosuppressive therapy and transplantation of CD34+ purified autologous stem cells from peripheral blood. *Lupus* 1999; **8**: 320-323
- 53 Musso M, Porretto F, Crescimanno A et al. Autologous peripheral blood stem and progenitor (CD34+) cell transplantation for systemic lupus erythematosus complicated by Evans syndrome. *Lupus* 1998; **7**: 492-4
- 54 Traynor A, Schroeder J, Rosa RM et al. Treatment of severe systemic lupus erythematosus by dose-intense immunosuppressive therapy and autologous hematopoietic stem cell support. *New England J. Med.* 1999; in press
- 55 McSweeney PA, Furst DE, Storek J et al. High-dose immunosuppressive therapy (HDIT) using total body irradiation (TBI), cyclophosphamide (CY) and ATG with autologous CD34+ selected peripheral blood stem cell (PBSC) rescue as treatment for severe systemic sclerosis. *Blood* 1998; **92** (Suppl): 295 (abstract)
- 56 Martini A, Maccario R, Ravelli A et al. Marked and sustained improvement two years after autologous stem cell transplantation in a girl with systemic sclerosis. *Arthritis Rheumatism* 1999; **42**: 807-811
- 57 Lim SH, Kell J, Al-Sabah A. et al. Peripheral blood stem-cell transplantation for refractory autoimmune thrombocytopenia. *Lancet* 1997; **340**: 475 (letter)

- 58 Skoda RC, Tichelli A, Tyndall A. et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with chronic autoimmune thrombocytopenia. *Br. J. of Haematol.* 1997; **99**: 57.
- 59 Marmont AM, Van Lint MT, Occhini D. et al. Failure of autologous stem cell transplantation in refractory thrombocytopenic purpura. *Bone Marrow Transplantation* 1998; **22**: 827-8
- 60 Brodsky RA, Sensenbrenner LL, Jones RL. Complete remission in severe anemia after high dose cyclophosphamide without bone marrow transplantation. *Blood*;1996 **87**: 491-4
- 61 Brodsky RA, Petri M, Douglas et al. Immunoablative high-dose cyclophosphamide without stem-cell rescue for refractory, severe autoimmune disease. *Ann Intern Med* 1998; **129**: 1031-35
- 62 Jones RJ, Collector MI, Barber JP. et al. Characterisation of mouse lymphohematopoietic stem cells lacking spleen colony-forming activity. *Blood* 1996; **9**: 1017-21
- 63 Brodsky RA, Petri M, Smith BD. et al. High-dose cyclophosphamide (CY) without bone marrow transplantation (BMT) for refractory severe autoimmune diseases (SADs). *Exp. Hematol* 1999; (Suppl).
- 64 Mittal G, Balarishna C, Mangat G et al. "Sustained remission" in a case of SLE following megadose cyclophosphamide. *Lupus* 1998; **8**: 77-80
- 65 Krance R, Brenner M. BMT beats autoimmune disease. *Nature Medicine* 1998; **4**:153-55
- 66 Guillaume T, Rubinstein DB, Symann M. Review article. Immune reconstitution and immunotherapy after autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 1998; **92**:1471-1490
- 67 Pagnucco G, Vanelli L, Alessandrino EP et al: La ricostituzione immunologica dopo trapianto di cellule staminali ematopoietiche. *Progr. Ematol. Clin.* 1999; **18**:23-40
- 68 Bomberger C, Singh-Jairam M, Rodey G, et al. Lymphoid reconstitution after autologous PBSC transplantation with FACS-sorted CD34+ hematopoietic progenitors. *Blood* 1998; **91**: 2588-2600
- 69 Shoenfeld Y, Isenberg O. The mosaic of autoimmunity. Amsterdam, 1989 Elsevier
- 70 Shoenfeld Y: Mechanism of autoimmunity: which targets for immunoablative approaches. *Exp Hematol* 1999, in press
- 71 Frassoni F, Labopin M, Gluckman E. et al. Results of allogeneic bone marrow transplantation for acute leukaemia have improved overtime in Europe. *Bone Marrow Transplantation* 1996; **17**: 13-18
- 72 Marmont AM, van Bekkum DW. Stem cell transplantation for severe autoimmune diseases: new proposals but still unanswered questions. *Bone Marrow Transplantation* 1995; **16**: 407-8
- 73 Slavin S, Nagler A, Naparstek E et al. Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and non malignant hematologic disease. *Blood* 1998; **91**: 756-63

- 74 Khouri IF, Keating M, Korbling M et al. Transplant-lite induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies. *J. Clin. Oncol.* 1998; **16**: 2817-24
- 75 Storb R. Nonmyeloablative preparative regimens: experimental data and clinical practice. *Amer Soc. Clin. Oncol. Educational Book* 1999; 241-49
- 76 Ehninger, Bornhauser M, Thiede C et al: Allogeneic blood stem cell transplants from related and unrelated donors after less intense conditioning therapy. *Bone Marrow Transplantation* 1999; 23(suppl3):53(abstract)
- 77 Landman-Parker J, Le Deist F, Blaise A et al: Partial engraftment of donor bone marrow cells associated with long-term remission of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 1993; **85**:37-41
- 78 Deapen DM, Escalante A, Weintraub L. et al. A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatism* 1992; **35**: 311-8
- 79 Arnett FC.. The genetics of human lupus. In *Dubois' lupus erythematosus* 1997; ed DJ Wallace, BH Hahn, Baltimore, Williams Wilkins: 77-117
- 80 Tyndall A, Fassas A, Passweg J et al. Autologous stem cell transplants for autoimmune disease-feasibility and transplant-related mortality . *Bone Marrow Transplantation* 1999; in press
- 81 Reiffers J, Goldman J, Armitage JO. Ed, *Blood stem cell transplantation*. 1998; London, Martin Dunitz
- 82 Waldmann H, Cobbold S. Reprogramming the immune system. In *Autoimmune disease. Aethopathogenesis, diagnosis and treatment* 1994; ed BM Lydyard, J. Brostol: 164-5 Oxford, Blackwell
- 83 Deeg HJ: Delayed complications after hematopoietic cell transplantation. In Thomas ED, Blume KG, Forman SJ (eds) *Hematopoietic cell transplantation*. Blackwell Science, Oxford, 1999: 776-788
- 84 Moreland LW, Shciff MH, Baumgartner SW et al: Etanercept therapy in rheumatoid arthritis. A randomized, controlled trial. *Ann. Intern. Med.* 1999;130:478-486
- 85 Wallace C, Sherry DD. Trial of intravenous pulse cyclophosphamide and methylprednisolone in the treatment of severe systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatism* 1997; **40**: 1852-5
- 86 PRIMS Study Group. Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. *Lancet* 1998; **352**:1491-7

Didascalie delle figure

Fig.1 Raffigurazione simbolica delle possibili indicazioni e delle patologie trattate con immunoablazione e rescue autostaminale

Fig.2 Nuove terapie intensive per le malattie autoimmuni gravi