

DISS. ETH NO. 17736

**MISMATCHED HAEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION AS A
MODEL FOR TOLERANCE AND ENDOTHELIAL CELL DEVELOPMENT**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

REGULA JULIE MUELLER

Drs. Radboud University Nijmegen

born 13.04.1976

citizen of Roggwil TG

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Annette Oxenius, examiner
Prof. Dr. Hans Hengartner, co-examiner
Prof. Dr. Jörg D. Seebach, co-examiner

2008

1. Summary

In contrast to solid organ transplantation, ABO blood group incompatibility is of minor importance for haematopoietic stem cell transplantation. Patients receiving ABO-incompatible haematopoietic stem cell transplantation do not have a worse overall survival or increased transplant-related mortality. In this thesis, ABO-incompatible haematopoietic stem cell transplantation was used as an *in vivo* model to study the immune mechanisms of antigen-mismatched transplantation. Because most patients are pretreated with intensive conditioning chemo-and radiotherapy, the recipient organs are consequently in high need of repair. Whether donor-derived cells contribute to such regenerative organ repair, was analysed with the focus on the endothelium. Furthermore, mismatched ABO histo-blood group antigens, expressed on endothelial cells, may represent a target for graft-versus-host disease (GvHD). However, in a multi-centre study involving over 3000 patients, no significant correlation between ABO incompatibility and the incidence of GvHD was found. Replacement of recipient-type endothelial cells by donor-type bone marrow-derived cells could thereby represent a potential mechanism of tolerance.

The aims of this thesis were 1) to investigate whether the full haematopoietic chimerism observed after haematopoietic stem cell transplantation extends to endothelial cells and whether donor-derived endothelial cells contribute to *in vivo* blood vessel formation and 2) analyse a putative B cell-tolerance after minor ABO-incompatible haematopoietic stem cell transplantation by measurement of the antibody production, determination of anti-host A/B antibody-producing B cells and finally, measurement of the antibody and complement deposition. Endothelial cells in skin biopsies, autopsy-derived heart, skin and bone marrow and tumour biopsies from over 50 recipients before and at various time points after haematopoietic stem cell transplantation were analysed in both, a prospective and retrospective manner. The results of this thesis provide clear evidence that endothelial cell replacement by bone marrow-derived donor cells did not occur routinely after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation, donor bone marrow-derived endothelial cells did not contribute to *in vivo* blood vessel formation and could not explain ABO-tolerance after ABO-incompatible haematopoietic stem cell transplantation. Instead, the finding, that donor B lymphocytes do not produce anti-recipient antibodies after transplantation across the ABO barrier may be a more probable explanation for ABO-tolerance. Furthermore, these data are of general interest indicating local endothelial cell proliferation rather than replacement by circulating endothelial progenitor cells as responsible repair of endothelial damage.

2. Zusammenfassung

Im Gegensatz zur Organtransplantation spielt die Konstellation von ABO-Blutgruppen in der hämatopoetischen Stammzelltransplantation eine geringere Rolle. Die ABO-inkompatible hämatopoetische Stammzelltransplantation verzeichnet keine generelle und keine erhöhte Transplantat-assoziierte Sterblichkeit. Die hämatopoetische Stammzelltransplantation diente in dieser Dissertation als *in vivo* Modell, um immunologische Mechanismen der Antigeninkompatiblen Transplantation zu analysieren. Da die meisten Patienten vor der Transplantation mit einer intensiven Chemo- und/oder Radiotherapie vorbehandelt werden, sind die Organe des Empfängers in Folge auf eine Gewebsregeneration angewiesen. Es wurde analysiert, ob die Zellen des Spenders solche Reparationsmechanismen, insbesondere die Reparatur allfälliger Gefässchädigungen, übernehmen können. ABO inkompatible Gewebeantigene, die auf Endothelzellen exprimiert werden, könnten ein mögliches Ziel einer sogenannten Graft-versus-Host Erkrankung (GvHD) sein. In einer Multizenter-Studie mit über 3000 Patienten wurde jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen ABO-Inkompatibilität und dem Auftreten einer GvHD gefunden. Der Austausch von Endothelzellen des Empfängers mit Zellen des Spenders könnte dabei ein möglicher Toleranzmechanismus darstellen. Die Ziele dieser Dissertation waren: 1) die Ermittlung des möglichen Vorhandenseins eines endothelialen Zellchimärismus neben dem vollständigen hämatopoetischen Zellchimärismus und die Analyse einer möglichen Rolle der transplantierten Spenderzellen bei der Blutgefässneubildung *in vivo* und 2) die Analyse einer möglichen B-Zell-vermittelten Toleranz nach minor ABO-inkompatibler hämatopoetischer Stammzelltransplantation mittels einer Messung der Antikörperproduktion und einer Bestimmung von Antikörper-produzierenden B-Zellen, die spezifisch gegen den Empfänger gerichtet sind und schlussendlich die Messung der Antikörper- und Komplement Ablagerung. Endothelzellen in normalen Hautbiopsien, aber auch im Autopsiegewebe von Herz, Haut und solidem Knochenmark und in Tumorbiopsien von total über 50 Patienten wurden in einer prospektiven wie auch retrospektiven Studie untersucht. Die Resultate dieser Dissertation weisen deutlich darauf hin, dass Endothelzellen nach einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation nicht routinemässig durch Spenderzellen ersetzt werden, dass Endothelzellen aus dem Knochenmark des Spenders nicht zur *in vivo* Blutgefässneubildung beitragen und deshalb auch nicht verantwortlich für die ABO-Toleranz sein können. Stattdessen dürfte die Erkenntnis, dass Spender B-Lymphozyten nach einer Transplantation über die Blutgruppenschanke hinweg keine anti-Empfänger Antikörper produzieren eine

wahrscheinliche Erklärung für die ABO-Toleranz sein. Diese Daten sind von generellem Interesse, da sie darauf hinweisen, dass die lokale endotheliale Zellproliferation und nicht der Einbau von zirkulierenden endothelialen Progenitorzellen für die Reparatur beschädigter Gefäße verantwortlich ist.