

NUOVI ASPETTI IMMUNOLOGICI DEL TRAPIANTO DI RENE IN ETÀ PEDIATRICA

Francesca D'Addio¹, Andrea Vergani^{1,2}, Raffaele Di Fenza¹, Sara Tezza², Roberto Bassi¹, Paolo Fiorina^{1,2}

¹Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

²Transplantation Research Center (TRC), Nephrology Division, Children's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA - USA

Novel immunological aspects of pediatric kidney transplantation

Pediatric kidney transplantation has been a serious challenge from the outset. The main reason lies in the immune system of children, which presents significant differences in terms of lymphocyte subpopulation distribution and alloimmune response activation from the adult immune system. These differences are greatest between neonates and adults, while they decrease in a linear and age-dependent fashion. In the past, kidney transplantation in children was a courageous initiative, given the poorer outcomes compared with adult recipients. Today, thanks to advances in therapy protocols and a better knowledge of the pediatric immune system, graft survival in pediatric patients has significantly improved and transplantation is the standard of care for the treatment of chronic organ failure in children. Moreover, there is growing interest in the field of pediatric transplantation because of the recipients' peculiar infective risk profile, the underestimated cardiovascular risk, and the necessity to identify both new non-invasive diagnostic techniques and the characteristics that make the pediatric immune system so peculiar. Acquiring new knowledge in those fields may slow down the adoption of new therapies but, on the other hand, it may represent a starting point to provide pediatric allograft recipients with diagnostic and therapeutic advantages and ultimately achieve allograft tolerance.

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Pediatric immune system, Immunosuppressive strategies, Immune tolerance, Kidney transplant

PAROLE CHIAVE:

Sistema immune pediatrico, Terapia immunosoppressiva, Tolleranza, Trapianto di rene

Indirizzo degli Autori:

Paolo Fiorina, MD PhD
Transplantation Research Center (TRC)
Division of Nephrology
Children's Hospital/Harvard Medical School
221 Longwood Avenue
Boston, MA 02115 - USA
e-mail: paolo.fiorina@childrens.harvard.edu
Medicine
Istituto Scientifico San Raffaele
Via Olgettina 60
20132 Milano
e-mail: paolo.fiorina@hsr.it

INTRODUZIONE

La gestione clinica del paziente trapiantato in età pediatrica e adulta per molti aspetti è piuttosto simile (1-3). La terapia immunosoppressiva utilizza i medesimi farmaci e lo stesso regime di somministrazione. Anche lo screening funzionale del rene trapiantato si basa principalmente sul dosaggio della creatininemia e sulla valutazione del GFR in entrambi i casi, e la diagnosi di rigetto acuto è prevalentemente su base istologica, secondo i criteri di Banff (4). Il rigetto dell'organo trapiantato ha meccanismi simili in entrambi i gruppi di pazienti che sono già stati ampiamente descritti in letteratura (5, 6). Vi è, però, tutta una serie di specificità da considerare nel trapianto in età pediatrica: 1) le cause di insufficienza renale sono diverse da quelle degli adulti, 2) lo stato di immunizzazione pre-trapianto è diverso, 3) le strategie di allocazione dell'organo in caso di donatore cadavere sono differenti, 4) la tecnica chirurgica adottata nei soggetti in età infantile è ra-

dicalmente diversa, 5) l'età del donatore è spesso più elevata rispetto a quella del ricevente ma, allo stesso tempo, causa la giovane età del ricevente, all'organo trapiantato è richiesta una sopravvivenza molto elevata, 6) il metabolismo dei farmaci non è paragonabile a quello di un adulto, 7) vi è un'aumentata incidenza di infezioni virali e delle loro complicanze legate alla mancanza di una precedente esposizione agli antigeni, 8) sono presenti accrescimento staturale e sviluppo somatico e 9) è necessario educare il paziente al delicato passaggio a regimi di assistenza e di cura non pediatrici. In un bambino, la perdita della funzione renale è causata principalmente da anomalie congenite, come l'ipoplasia renale, da uropatie ostruttive e da glomerulopatie acquisite, come la glomerulosclerosi focale e segmentaria e la nefrite lupica. Nell'adulto, invece, di maggiore importanza sono la nefropatia diabetica, la nefropatia ipertensiva e la malattia policistica renale.

RISULTATI

La sopravvivenza del rene trapiantato in un ricevente pediatrico è aumentata progressivamente con gli anni (7). Questo miglioramento è visibile sia nel trapianto da donatore vivente sia in quello da cadavere ed è attribuibile a vari fattori: miglioramento nella preparazione pre-trapianto (7), ottimizzazione delle tecniche chirurgiche (8), farmaci immunosoppressivi più potenti (7, 9) e, infine, migliore controllo delle infezioni (10). Il trapianto in riceventi di età inferiore ai due anni ha mostrato i progressi maggiori, passando dall'essere la categoria con peggiore sopravvivenza all'essere quella con la maggiore sopravvivenza a lungo termine in caso di donatore vivente (96%) (7). Gli adolescenti, invece, continuano a essere il gruppo con la peggiore sopravvivenza del trapianto in assoluto, sia tra tutti i soggetti di età pediatrica sia rispetto ai riceventi adulti. A spiegazione di questo paradosso dell'età del ricevente, sta soprattutto la peggiore adesione alla terapia (11, 12). I tassi di rigetto acuto nel bambino sono simili a quelli dell'adulto (7, 13).

STUDI CLINICI

Un importante passo avanti nello studio del trapianto in età pediatrica è stato rappresentato dall'attivazione di nuovi protocolli di studio clinici e multicentrici, in considerazione del basso numero di pazienti che afferiscono alle singole strutture. Tale organizzazione era, in passato, finalizzata esclusivamente alla realizzazione di registri (come il NAPRTCS, esclusivamente pediatrico, oppure UNOS, USRDS, CTS e ANZDATA, tutti con casistiche miste). Negli ultimi vent'anni, invece, diversi studi clinici multicentrici prospettici (IN01, SW01, PC01, SRL01, SNS01), finanziati dal NIAID, hanno fornito dati importanti sul trapianto di rene in età pediatrica. Tra le importanti scoperte emerse da questi studi, si segnala l'emivita più breve della ciclosporina A nel bambino rispetto all'adulto, tanto che necessita, nel primo caso, di una tripla somministrazione giornaliera (14). Più di recente, si è visto che anche il sirolimus ha un'emivita più breve nel bambino rispetto all'adulto e che richiede un aumento della dose somministrata (15-17) o, ancora, che esiste per il micofenolato un diverso metabolismo epatico nei bambini (17).

L'UNICITÀ DEL SISTEMA IMMUNE PEDIATRICO

Circa vent'anni fa, Ettenger propose di collocare i bambini, specialmente quelli più piccoli, in un sottogruppo distinto e immunologicamente definito nell'ambito dei riceventi di trapianto di rene (18). Tale invito nasceva dall'osservazione dell'imaturità del sistema

immune in età pediatrica, che può influenzare non poco i meccanismi della risposta alloimmune e dell'immunosoppressione. Attualmente, quello pediatrico è il sottogruppo di riceventi con migliore sopravvivenza del rene trapiantato, contrariamente a quanto riportato in passato (19). A partire dalla nascita e fino al raggiungimento dell'età adulta, il sistema immunitario si modifica sostanzialmente, con importanti cambiamenti nel numero assoluto e nelle percentuali dei vari sottotipi di linfociti T e B (20) circolanti. La pubertà ha, allo stesso modo, un impatto importante sul sistema immunitario, a causa dell'effetto degli ormoni sessuali (21). L'età pediatrica è caratterizzata da uno stato di immaturità iniziale del sistema immune che, progressivamente, acquisisce la capacità di attivare la risposta immune contro antigeni specifici (20). Nell'infanzia, questa condizione è mantenuta dal timo che genera e rilascia in periferia soprattutto linfociti T *naïve*, mentre scompare con l'atrofia del timo stesso nell'età adulta (22). Questo evento, associato a una maggiore esposizione ad allo antigeni nell'età adulta, determina un progressivo *shift* da cellule T *naïve* a cellule T di memoria (22).

A conferma di ciò, nei soggetti di età compresa tra la nascita e i 3 mesi, i linfociti T *naïve* CD45RA⁺ rappresentano il 90% dei linfociti circolanti, mentre, in una popolazione di età compresa tra i 12 e i 18 anni, diventano il 50% (20). Al contrario, la popolazione di linfociti T alloreattivi CD4⁺CD45RO⁺ costituisce il 10% dei linfociti circolanti tra i 3 e i 6 mesi di vita e raggiunge il 30% tra i 12 e i 18 anni (20). Inoltre, alla nascita, i linfociti T γ/δ , che non richiedono la presentazione dell'antigene sui complessi MHC, sono principalmente cellule *naïve* e mostrano solo tardivamente segni di attivazione e immunocompetenza (23). Altri importanti aspetti del sistema immunitario pediatrico che possono influenzare la risposta immunitaria sono: (i) la bassa espressione del fattore di co-stimolazione CD40L sui linfociti T, che poi aumenta in modo progressivo durante l'età infantile (24), (ii) il basso numero di linfociti T precursori antigene-specifici rispetto agli adulti, (iii) l'elevato livello di IL-10 e il basso livello di IFN- γ , possibile segno di uno sbilanciamento del sistema immunitario pediatrico in senso Th2 (25, 26), (iv) la funzione ridotta dei linfociti T effettori, (v) l'aumentata percentuale di cellule dendritiche plasmacitoidi (CD11c⁺CD44^{hi}CD123^{hi}CD40^{lo}CD86^{lo}) (27), che sembra abbiano proprietà tollerogeniche (28, 29), (vi) la ridotta presenza di anticorpi anti-HLA nell'età pediatrica (14%) rispetto all'adulto (30%), riconducibile alla mancanza di una precedente immunizzazione (30, 31) e (vii) la minore immunogenicità di organi provenienti da donatori giovani rispetto a donatori anziani (32).

TOLLERANZA E APPROCCI TERAPEUTICI PERSONALIZZATI NEI TRAPIANTATI DI RENE PEDIATRICI

Il tentativo di proporre nel trapianto pediatrico una terapia immunosoppressiva specializzata deve tenere presente i seguenti fattori: (i) i bambini sono sottoposti a un'immunosoppressione più prolungata nel tempo rispetto agli adulti e sono più frequentemente sieronegativi per EBV, quindi con un maggior rischio di sviluppare PTLD, (ii) vanno evitati o ridotti il più possibile farmaci che interferiscono con i processi di accrescimento, come gli steroidi e (iii) in considerazione dello stato *naïve* del sistema immunitario del bambino e della scarsa presenza di linfociti T effettori e di memoria, vanno evitati regimi immunosoppressivi altamente depletanti (33). Ancora oggi, la maggior parte dei regimi di terapia immunosoppressiva è rappresentata dagli stessi utilizzati nei soggetti adulti, adattati solamente in base al peso corporeo. McDonald et al., insieme al gruppo CCTPT, utilizzando un regime di immunosoppressione ad alto grado (basiliximab, inibitori delle calcineurine, sirolimus e steroidi), hanno registrato una ridotta percentuale di rigetto rispetto ai regimi convenzionali, ma un significativo aumento dell'incidenza di PTLD (50%) (34). Il 30% dei soggetti reclutati era sieronegativo per EBV, una percentuale maggiore rispetto al 5-10% che si osserverebbe in una popolazione adulta: questo dato potrebbe essere sufficiente a spiegare l'aumentata incidenza di PTLD in questo gruppo di riceventi (35). Il TWIST è il più grande studio randomizzato multicentrico comparativo ad aver esaminato gli effetti sull'accrescimento dell'interruzione precoce della terapia steroidea nel trapianto di rene in età pediatrica (36). In questo studio, è stato osservato un significativo miglioramento in termini di crescita nei pazienti trattati con terapia steroidea solo per 4 giorni rispetto alla terapia cronica, dimostrando, quindi, che il semplice aggiustamento della terapia immunosoppressiva adottato negli adulti non può essere risolutivo nell'identificazione di un regime di immunosoppressione specifico per l'età pediatrica (36). Finora, gli studi volti a identificare strategie tollerogeniche, finalizzate all'ottenimento di uno stato di iporesponsività donatore-specifica in assenza di un'immunosoppressione cronica, sono stati appannaggio esclusivo dell'ambito preclinico e del trapianto nell'adulto (37, 38). È, quindi, nata l'esigenza di disegnare protocolli per l'induzione di una tolleranza al trapianto anche in campo pediatrico. Lo studio clinico RESTAART, che ha preso il via recentemente al MGH, si propone di stabilire se la combinazione di ATG e Rituximab sia in grado di ridurre la necessità della terapia immunosoppressiva a lungo termine. I dati emersi dal PC-01 confermano la necessità di una terapia di mantenimento più blanda nei riceventi in età pediatrica (39).

Il Belatacept e l'Abatacept, anticorpi monoclonali che bloccano la via di costimolazione B7.1/B7.2-CD28 potrebbero costituire soluzioni importanti nei bambini trapiantati di rene, ma non sono ancora stati testati in soggetti pediatrici. In uno studio partito anch'esso nel 2008, cinque pazienti sono stati sottoposti a trapianto combinato di midollo osseo e rene da donatore vivente con singolo *mismatch* allelico HLA, con un regime di condizionamento non mieloablativo e la sospensione della terapia immunosoppressiva a 9-14 mesi dopo il trapianto (40). Questi pazienti hanno mantenuto una funzione renale stabile e hanno sviluppato uno stato di iporesponsività immunologica donatore-specifica (40). Gli schemi di condizionamento utilizzati in questo studio non sembrano comunque adatti alla traslazione di questo approccio nel trapianto in età pediatrica. Un approccio terapeutico alternativo è la mobilitazione di cellule staminali ematopoietiche autologhe, già sperimentata in uno studio preclinico su un modello di rigetto nel trapianto di isole e in uno studio clinico in pazienti con diabete di tipo 1 (41, 42). Una diversa opzione terapeutica per il raggiungimento della tolleranza nel trapianto è rappresentata dalla generazione di cellule T_{REG} , di cui esistono diversi sottotipi: le *naturally occurring* T_{REG} (CD4+CD25+Foxp3+), le T_{H1} (43) (Treg indotte con IL-10) e le T_{REG} CD8+ (44). Il *The ONE* è uno studio appena iniziato e finanziato dall'UE, in cui saranno testati diversi sottotipi di T_{REG} su soggetti adulti trapiantati di rene da donatore vivente, per identificare il sottogruppo di T_{REG} capace di indurre uno stato di tolleranza stabile nei confronti dell'organo trapiantato.

CONCLUSIONI

Il trapianto di organo solido in età pediatrica potrebbe, quindi, beneficiare in modo significativo delle nuove acquisizioni in campo immunologico sia in relazione al ruolo del sistema immunitario sia in funzione della terapia immunosoppressiva da somministrare. Lo stato di immaturità del sistema immunitario infantile lascia ampi spazi per l'utilizzo di nuove strategie terapeutiche volte a prolungare la sopravvivenza dell'organo trapiantato e a favorire l'induzione della tolleranza. Allo stesso tempo, è importante considerare che gli effetti dell'immunosoppressione a lungo termine nei riceventi in età infantile possono determinare nel tempo importanti complicanze metaboliche e cardiovascolari. Possiamo, quindi, concludere che il ricevente di trapianto di organo solido in età infantile rappresenta il candidato ideale per lo studio dei meccanismi di risposta alloimmune e di nuovi regimi terapeutici di tolleranza immunologica, ma richiede un approccio personalizzato per l'unicità delle caratteristiche del suo sistema immunitario.

RIASSUNTO

Il trapianto di rene in ambito pediatrico ha rappresentato, fin dai suoi esordi, una sfida importante. Questo perché il sistema immunitario del bambino, se paragonato a quello dell'adulto, presenta notevoli differenze sia nella distribuzione delle sottopopolazioni linfocitarie sia nell'attivazione della risposta alloimmune. Queste differenze raggiungono il massimo grado se si confrontano un neonato e un adulto e si azzerano in modo lineare età-dipendente nell'arco di pochi anni.

Il trapianto in ambito pediatrico deve, quindi, tenere conto, oltre che delle differenze immunologiche del bambino rispetto all'adulto, anche di quelle tra soggetti pediatrici di diversi gruppi di età. In passato, il trapianto in età pediatrica rappresentava una sfida molto coraggiosa e i risultati ottenuti erano spesso molto inferiori rispetto all'outcome registrato nell'adulto. Oggi, invece, la sopravvivenza dell'organo trapiantato in età infantile è migliorata in modo significativo grazie ai progressi terapeutici e a una maggiore conoscenza del

sistema immune pediatrico, tanto da rendere il trapianto lo standard di riferimento per il trattamento dell'insufficienza d'organo nel soggetto in età infantile. Un nuovo interesse sta, tuttavia, crescendo per il trapianto in età pediatrica in relazione al peculiare profilo di rischio infettivo di questi riceventi, al rischio cardiovascolare ancora sottostimato e alla necessità di individuare nuove tecniche diagnostiche non invasive e di identificare le caratteristiche che rendono il sistema immunitario del bambino così peculiare. La necessità di acquisire nuove conoscenze in questo senso, da un lato può rallentare inizialmente l'adozione di nuove strategie terapeutiche mentre, dall'altro, rappresenta la base per poter fornire ai riceventi di trapianto in età pediatrica nuovi vantaggi in campo diagnostico, terapeutico e, non ultima, la possibilità di raggiungere la tolleranza al trapianto stesso.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

- Filler G. Challenges in pediatric transplantation: The impact of chronic kidney disease and cardiovascular risk factors on long-term outcomes and recommended management strategies. *Pediatr Transplant* 2011; 15: 25-31.
- KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients. *Am J Transplant* 2009; 9: S1-155.
- Callaghan CJ, Bradley JA. Current status of renal transplantation. *Methods Mol Biol* 2006; 333: 1-28.
- Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008; 8: 753-60.
- Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N Engl J Med* 2010; 363: 1451-62.
- Sayegh MH, Turka LA. The role of T-cell costimulatory activation pathways in transplant rejection. *N Engl J Med* 1998; 338: 1813-21.
- NAPRTCS. NAPRTCS 2010 Annual Transplant Report 2010.
- Salvatierra O Jr, Millan M, Concepcion W. Pediatric renal transplantation with considerations for successful outcomes. *Semin Pediatr Surg* 2006; 15: 208-17.
- Ciancio G, Miller J, Gonwa TA. Review of major clinical trials with mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Transplantation* 2005; 80: S191-200.
- Comoli P, Ginevri F. Monitoring and managing viral infections in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol* 2011.
- Dobbels F, Ruppert T, De Geest S, Decorte A, Van Damme-Lombaerts R, Fine RN. Adherence to the immunosuppressive regimen in pediatric kidney transplant recipients: a systematic review. *Pediatr Transplant* 2010; 14: 603-13.
- Hsu DT. Biological and psychological differences in the child and adolescent transplant recipient. *Pediatric transplantation* 2005; 9: 416-21.
- Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 2004; 4: 378-83.
- Cooney GF, Habucky K, Hoppu K. Cyclosporin pharmacokinetics in paediatric transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32: 481-95.
- Schachter AD, Benfield MR, Wyatt RJ, et al. Sirolimus pharmacokinetics in pediatric renal transplant recipients receiving calcineurin inhibitor co-therapy. *Pediatr Transplant* 2006; 10: 914-9.
- Forbes N, Schachter AD, Yasin A, Sharma AP, Filler G. Limited sampling strategies for sirolimus after pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant* 2009; 13: 1020-6.
- Filler G, Bendrick-Pearl J, Strom T, Zhang YL, Johnson G, Christians U. Characterization of sirolimus metabolites in pediatric solid organ transplant recipients. *Pediatr Transplant* 2009; 13: 44-53.
- Ettenger RB. Age and the immune response in pediatric renal transplantation. *Eur J Pediatr* 1992; 151 (Suppl. 1): S7-8.
- Gjertson DW, Cecka JM. Determinants of long-term survival of pediatric kidney grafts reported to the United Network for Organ Sharing kidney transplant registry. *Pediatr Transplant* 2001; 5: 5-15.
- Shearer WT, Rosenblatt HM, Gelman RS, et al. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 973-80.
- Jaspan HB, Lawn SD, Safrit JT, Bekker LG. The maturing immune system: implications for development and testing HIV-1 vaccines for children and adolescents. *AIDS* 2006; 20: 483-94.
- McFarland RD, Douek DC, Koup RA, Picker LJ. Identification of a human recent thymic emigrant phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 4215-20.
- De Rosa SC, Andrus JP, Perfetto SP, Mantovani JJ, Herzenberg LA, Roederer M. Ontogeny of gamma delta T cells in humans. *J Immunol* 2004; 172: 1637-45.
- Brugnoni D, Airo P, Graf D, et al. Ontogeny of CD40L [corrected] expression by activated peripheral blood lymphocytes in humans. *Immunol Lett* 1996; 49: 27-30.

25. Barsness KA, Bensard DD, Partrick DA, Calkins CM, Hendrickson RJ, McIntyre RC Jr. Endotoxin induces an exaggerated interleukin-10 response in peritoneal macrophages of children compared with adults. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 912-5.
26. Hanna-Wakim R, Yasukawa LL, Sung P, et al. Age-Related Increase in the Frequency of CD4+ T Cells That Produce Interferon- γ in Response to Staphylococcal Enterotoxin B during Childhood. *Journal of Infectious Diseases* 2009; 200: 1921-7.
27. Hochrein H, O'Keeffe M, Wagner H. Human and mouse plasmacytoid dendritic cells. *Hum Immunol* 2002; 63: 1103-10.
28. Gupta A, Kumar CA, Ningappa M, et al. Elevated myeloid: plasmacytoid dendritic cell ratio associates with late, but not early, liver rejection in children induced with rabbit anti-human thymocyte globulin. *Transplantation* 2009; 88: 589-94.
29. Gupta A, Ashokkumar C, Ningappa M, et al. Elevated myeloid: plasmacytoid dendritic cell ratio associates with early acute cellular rejection in pediatric small bowel transplantation. *Transplantation* 2010; 89: 55-60.
30. Verghese PS, Smith JM, McDonald RA, Schwartz SM, Nelson KA, Warner PR. Impaired graft survival in pediatric renal transplant recipients with donor-specific antibodies detected by solid-phase assays. *Pediatr Transplant* 2010; 14: 730-4.
31. Gupta A, Iveson V, Varagunam M, Bodger S, Sinnott P, Thuraisingham RC. Pretransplant donor-specific antibodies in cytotoxic negative crossmatch kidney transplants: are they relevant? *Transplantation* 2008; 85: 1200-4.
32. Reutzel-Selke A, Jurisch A, Denecke C, et al. Donor age intensifies the early immune response after transplantation. *Kidney Int* 2007; 71: 629-36.
33. Moudgil A, Puliyananda D. Induction therapy in pediatric renal transplant recipients: an overview. *Paediatr Drugs* 2007; 9: 323-41.
34. McDonald RA, Smith JM, Ho M, et al. Incidence of PTLD in pediatric renal transplant recipients receiving basiliximab, calcineurin inhibitor, sirolimus and steroids. *Am J Transplant* 2008; 8: 984-9.
35. Pereira MS, Blake JM, Macrae AD. EB virus antibody at different ages. *Br Med J* 1969; 4: 526-7.
36. Grenda R, Watson A, Trompeter R, et al. A randomized trial to assess the impact of early steroid withdrawal on growth in pediatric renal transplantation: the TWIST study. *Am J Transplant* 2010; 10: 828-36.
37. Morelli AE, Thomson AW. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 610-21.
38. Golshayan D, Pascual M. Tolerance-inducing immunosuppressive strategies in clinical transplantation: an overview. *Drugs* 2008; 68: 2113-30.
39. www.clinicaltrial.gov.
40. Kawai T, Cosimi AB, Spitzer TR, et al. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression. *N Engl J Med* 2008; 358: 353-61.
41. Fiorina P, Jurewicz M, Vergani A, et al. Targeting the CXCR4-CXCL12 axis mobilizes autologous hematopoietic stem cells and prolongs islet allograft survival via programmed death ligand 1. *J Immunol* 2011; 186: 121-31.
42. Voltarelli JC, Couri CE, Stracieri AB, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2008; 1150: 220-9.
43. Gagliani N, Jofra T, Stabilini A, et al. Antigen-specific dependence of Tr1-cell therapy in preclinical models of islet transplant. *Diabetes* 2010; 59: 433-9.
44. Kim HJ, Verbinen B, Tang X, Lu L, Cantor H. Inhibition of follicular T-helper cells by CD8(+) regulatory T cells is essential for self tolerance. *Nature* 2010; 467: 328-32.