

บทความพื้่นวิชา

Unrelated Umbilical Cord Blood Transplantation

ปรีดา วาณิชยเศรษฐกุล

หน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วัตถุประสงค์

1. ทราบถึงปัจจัยที่มีผลต่อการรักษาด้วยการปลูกถ่าย unrelated cord blood
2. ทราบถึงการฟื้นฟูสภาพทางระบบภูมิคุ้มกันหลังการปลูกถ่าย unrelated cord blood
3. ทราบถึงข้อบ่งชี้ในการพิจารณาเลือกการปลูกถ่าย unrelated cord blood

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับผลการรักษาด้วย unrelated cord blood transplantation

เนื่องจากมีการปลูกถ่าย unrelated cord blood เพิ่มมากขึ้นในสถาบันการแพทย์ทั่วโลก จึงมีการศึกษาวิเคราะห์ปัจจัยที่สัมพันธ์กับผลการรักษา รายงานการแพทย์ที่ผ่านมา พบว่า ภาวะแทรกซ้อนส่วนใหญ่เกิดภายใน 6 เดือนแรก ส่วนผลในระยะยาวพบว่า อัตราการตายจากการติดเชื้อ จากภาวะ chronic GVHD และการ relapse ก่อนข้างต่ำ ตัวอย่างการศึกษาหนึ่ง¹³ ทำในผู้ป่วย 690 รายที่ได้รับการปลูกถ่ายแบบ unrelated cord blood เป็นเด็ก 487 ราย (ร้อยละ 71) เป็นผู้ใหญ่ 203 ราย (ร้อยละ 29) ผู้ป่วยเป็นโรค acute leukemia ร้อยละ 69; เป็นโรคมะเร็งอื่นๆ ร้อยละ 11; เป็นโรค immune deficiencies หรือความผิดปกติทาง metabolic ร้อยละ 13; เป็นโรคในกลุ่ม bone marrow failure ร้อยละ 7 จำนวน median number ของ nucleated cell ที่ให้ผู้ป่วยเท่ากับ 3.5×10^7 /กิโลกรัม การปลูก

ถ่ายเป็นแบบ HLA-mismatch 1 ตำแหน่งร้อยละ 43; 2 ตำแหน่งร้อยละ 40; 3-4 ตำแหน่งร้อยละ 6 ผู้ป่วยร้อยละ 44 มี HLA class I mismatch 1 หรือ 2 ตำแหน่ง ร้อยละ 18 มี HLA class II mismatch 1 หรือ 2 ตำแหน่ง และร้อยละ 27 มี HLA ทั้ง class I และ II mismatch Cumulative incidence ของ neutrophil engraftment ที่ 60 วันเท่ากับร้อยละ 72 Cumulative incidence ของ platelet recovery ที่ 6 เดือนเท่ากับร้อยละ 50 ในการศึกษาแบบ multivariate พบว่าปัจจัยที่สัมพันธ์กับการฟื้นตัวของเซลล์เม็ดโลหิตคือ

1. จำนวน nucleated cell dose ที่มากกว่า 4.6×10^7 /กิโลกรัม ได้ผลดีกว่า dose ที่น้อยกว่า
2. โรคที่วินิจฉัย เช่น ผู้ป่วยโรคไขกระดูกฝ่อ มีโอกาสเกิด rejection สูงกว่าโรคอื่น
3. การเข้ากันได้หรือตรงกันของ HLA การที่มี HLA class I mismatch ยังได้ผลในการ engraftment ดีกว่า class II mismatch หรือทั้ง class I กับ II mismatch
4. การตรงกันของหมู่เลือดแดง ABO การที่มี ABO-match จะมี engraftment ดีกว่า

ได้รับต้นฉบับ 26 พฤษภาคม 2548 ให้ลงตีพิมพ์ 8 มิถุนายน 2548
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นพ.ปรีดา วาณิชยเศรษฐกุล ภาควิชา
กุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขต
ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

Cumulative incidence ของ acute GVHD grade >II เท่ากับร้อยละ 35 แต่ไม่พบ correlation ระหว่างจำนวนตำแหน่งของ HLA-mismatch กับการเกิด GVHD Cumulative incidence ของ treatment-related mortality (TRM) ณ วันที่ 100 เท่ากับร้อยละ 34 ในการวิเคราะห์แบบ multivariate ของปัจจัยที่สัมพันธ์กับ TRM พบว่า การที่มี HLA-mismatch, การเป็นโรคไขกระดูกฝ่อ และจำนวน nucleated cell ที่ให้ผู้ป่วย มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อการพยากรณ์โรค

โอกาสของ overall survival สำหรับผู้ป่วยเด็ก เท่ากับร้อยละ 46 และผู้ป่วยผู้ใหญ่เท่ากับร้อยละ 26 ผลการวิเคราะห์แบบ multivariate ของปัจจัยที่มีผลต่อการมี 2-year survival ลดลง คือ

1. ผู้ป่วยอายุมากกว่า 15 ปี
2. ผู้ป่วยมี Positive CMV serology
3. การปลูกถ่าย cord blood ที่กระทำก่อนปี ค.ศ. 1998
4. Cell dose ที่ให้น้อยกว่า 3.7×10^7 /กิโลกรัมของน้ำหนักตัวผู้ป่วย

จำนวนตำแหน่งและ class ของ HLA-mismatch ไม่มีผลกระทบต่อ survival TRM ในผู้ป่วยผู้ใหญ่เท่ากับร้อยละ 72 และ 44 ก่อนและหลังปี 1998 ตามลำดับ แสดงถึงการคัดสรรผู้ป่วยและผู้บริจาคที่ดีขึ้น การพัฒนาผลการปลูกถ่ายในศูนย์การปลูกถ่ายทุกแห่งที่ดีขึ้น เช่นกัน

จากการศึกษาของ Wagner และคณะ⁴⁶ ในปี 2002 ค่า CD34+ cells ใน cord blood มี positive impact ต่อ engraftment และ survival ผู้ป่วยที่ได้รับ graft ที่มี CD34+ 1.7×10^6 cells/กิโลกรัม ได้ผลการรักษาดีกว่าผู้ป่วยที่ได้ graft ที่มี CD34+ น้อยกว่า 1.7×10^6 cells/กิโลกรัม

ประสบการณ์ของการทำ unrelated cord blood transplantation ในประเทศไทย

นพ.ปรีดา วาณิชเศรษฐกุล และคณะ ที่โรงพยาบาล

จุฬาลงกรณ์ ได้ทำการปลูกถ่าย unrelated cord blood ในผู้ป่วยเด็กโรค Wiskott-Aldrich syndrome เมื่อปี 2002 และผู้ป่วยเด็กโรค Beta-thalassemia/hemoglobin E เมื่อปี 2004 ได้ผลการรักษาดี ปลูกถ่ายสำเร็จทั้งสองราย และทำให้ผู้ป่วยหายขาดจากโรค แต่อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วย Beta-thalassemia/hemoglobin E ยังมี recurrent chronic cutaneous GVHD grade II เป็นระยะๆ จึงต้องรักษาด้วย oral immunosuppressive therapy อยู่นานประมาณ 1 ปี

Immune reconstitution หลังการทำ cord blood transplantation

สิ่งที่ต้องตระหนักในแง่ของการปลูกถ่าย cord blood คือความสามารถในการฟื้นฟูระบบภูมิคุ้มกันของผู้รับ จะดีพอหรือไม่ เพราะเหตุที่ cord blood มีจำนวนเม็ดเลือดขาว lymphocyte ต่ำ และเป็นลักษณะ immature และเหตุที่การปลูกถ่ายมักเป็นแบบ HLA-mismatch รายงานผลการศึกษาส่วนใหญ่มักแสดงผลว่า มีความล่าช้าของ immune reconstitution ต่อการติดเชื้อที่รุนแรง แต่ถ้าติดตามไปในระยะยาว Immune reconstitution มักจะเกิดขึ้นสมบูรณ์

ในการศึกษาของ Eurocord โดย Niehues และคณะ⁷ ในปี 2001 ทำในผู้ป่วยเด็ก 63 รายที่ได้รับการปลูกถ่าย cord blood จากทั้ง related หรือ unrelated donorระยะเวลา median time ที่มี lymphocyte reconstitution เท่ากับ 3 เดือนสำหรับ NK cells, 6 เดือนสำหรับ B cells, และ 8 เดือนสำหรับ CD8+ cells ขณะที่ยังมีระยะเวลาเท่ากับ 11.7 เดือนสำหรับ CD3+ กับ CD4+ lymphocyte ในการวิเคราะห์แบบ multivariate พบว่า ปัจจัยที่สนับสนุนการฟื้นตัวของ T-cell คือ related donor ($p = .002$), จำนวน nucleated cells ที่ให้ปริมาณสูง ($p = .005$), และผู้รับมี CMV seropositivity ($p = .04$) สภาพที่มี GVHD จะทำให้การฟื้นตัวของ T-cell ล่าช้า ($p = .04$) ซึ่งผลการวิเคราะห์ก็ไม่แตกต่างจากผลของการปลูกถ่ายไขกระดูกแบบ allogeneic ยิ่งไป

กว่านั้น มีการประเมิน T-cell reconstitution โดยใช้วิธี phenotyping และวิเคราะห์ T-cell receptor (TCR) diversity และประมวล ex vivo thymic function โดยการวัด TCR rearrangement excision circles (TRECs)

การศึกษาโดย Talvensaari และคณะ⁹ ในปี 2002 เปรียบเทียบกลุ่มผู้ป่วยโรคทางโลหิตวิทยาที่มีความเสี่ยงสูง 10 รายที่ได้รับการปลูกถ่าย cord blood กับ 19 รายที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกแบบ non-T-depleted จาก HLA-identical sibling donor พบว่า ค่า TREC สอดคล้องกับจำนวนลิมโฟไซต์ของ naïve T cells และกับ TCR repertoire polyclonality ในช่วง 1 ปีแรก หลังการปลูกถ่าย TCR repertoire จะมีค่าสูงผิดปกติ และค่า TREC จะต่ำในทั้ง 2 กลุ่ม แต่ทว่าเมื่อถึง 2 ปี หลังการปลูกถ่าย ค่า TREC และ TCR diversity จะสูงในในกลุ่มผู้รับ cord blood กว่ากลุ่มผู้รับไขกระดูก นี่แสดงว่าต้องมี thymic regeneration pathway ที่มีประสิทธิภาพเพียงพอจาก cord blood lymphoid progenitors ถึงแม้ว่าจำนวนเซลล์จาก cord blood ที่ให้ ผู้รับจะน้อยกว่าเซลล์จากไขกระดูก ทำให้มีการฟื้นตัวของระบบภูมิคุ้มกันเกิดขึ้นได้โดยสมบูรณ์ในที่สุด

วิจารณ์

การวิเคราะห์ผลการศึกษาเกี่ยวกับการปลูกถ่าย cord blood ในสถาบันต่างๆ นำไปสู่แนวคิดของการจัดตั้ง Cord blood bank ที่มีมาตรฐาน เพื่อเป็นประโยชน์ทางคลินิก มีหลายคำถามที่เกิดขึ้น และได้รับทราบคำตอบแล้ว แต่ก็ยังมีอีกหลายคำถาม ยังต้องรอการพิสูจน์สอบสวน

ในแง่ของ engraftment หลังการปลูกถ่าย cord blood การฟื้นตัวของ Neutrophil และ platelet มีความล่าช้า แต่ long-term engraftment จะเหมือนกับหลังการปลูกถ่ายไขกระดูก จำนวน cord blood nucleated cell dose ที่มากกว่า 3.7×10^7 /กิโลกรัม จะ

ช่วยเพิ่มอัตราและโอกาสที่การปลูกถ่ายติดสำเร็จ สาเหตุที่การปลูกถ่ายติดล่าช้าน่าจะเป็นเพราะจำนวนเซลล์ที่ให้น้อยเกินไป หรือเพราะเหตุอื่นเช่น ภาวะ immaturity ของ stem cells ซึ่งอาจจะต้องมีการแบ่งตัว (cell divisions) มากขึ้นก่อนที่จะมี differentiation ไปเป็น progenitors ในไขกระดูก สภาพที่ขาด subpopulations ที่ช่วยในการ engraftment, หรือภาวะของ homing defect มีความพยายามดำเนินหลายวิธีการเพื่อช่วยเร่งอัตราการปลูกถ่ายติดสำเร็จหลังการปลูกถ่าย cord blood เช่น ex vivo expansion of cord blood stem cells, two-unit cord blood infusion, etc ซึ่งต้องรอดูข้อมูลและเรียบเรียงผลการศึกษาให้มากขึ้นก่อน จึงจะตัดสินว่าจะยึดเป็นแนวปฏิบัติหรือไม่ อย่างไรก็ตาม สิ่งที่น่าสนใจคือ จำนวนของเซลล์ของ cord blood ที่ให้แก่ผู้รับนั้น มีค่า 1 log น้อยกว่าจำนวนเซลล์ที่ให้ในมาตรฐานการปลูกถ่ายไขกระดูกแบบ allogeneic และน้อยกว่าการปลูกถ่าย allogeneic peripheral blood stem cell ถึง 10 เท่า

มีปัจจัยอื่นอีกที่มีผลรบกวนการปลูกถ่ายติดสำเร็จ เช่น โรคที่วินิจฉัย ความแตกต่างของ HLA ระหว่างผู้ให้และผู้รับ และ major ABO incompatibility ผู้ป่วยที่เป็นโรค severe aplastic anemia มีอุบัติการณ์ของ engraftment ต่ำกว่าผู้ป่วยโรค leukemia หรือ inborn errors ที่เป็นเช่นนี้ น่าจะเป็นเพราะผู้ป่วยโรคไขกระดูกฝ่อมักจะได้รับเลือด หรือเกร็ดเลือดมาจำนวนหลายครั้งก่อนปลูกถ่าย จนเกิด transfusion immunization และ conditioning regimen ที่ใช้กับผู้ป่วยก็มักเป็น reduced intensity สำหรับการที่มี HLA incompatibility มีผลเสียต่อ engraftment และ treatment-related mortality ในระยะแรก แต่ไม่สัมพันธ์กับการเกิด GVHD และ survival ในระยะยาว

ในความพยายามที่จะเพิ่มอัตราการปลูกถ่ายติดสำเร็จ ได้มีการศึกษาถึงกระบวนการหลายอย่าง รวมถึงการใช้ hematopoietic growth factors เช่น G-CSF,

stem cell factor หรือ thrombopoietin (TPO) ซึ่งถึงขณะนี้ ยังไม่มีข้อพิสูจน์ถึงประโยชน์ของมัน บางกรรมวิธีใช้ co-infusion ของ mesenchymal stem cells, co-infusion ของ related HLA-mismatched PBSC⁹, และ ex vivo expansion ของ cord blood progenitors เพื่อปรับปรุงให้เกิด engraftment ในระยะสั้นดีขึ้น^{10,11} บางการศึกษาวิจัย ใช้ cord blood หลาย unit พร้อมกันเพื่อปลูกถ่าย¹² ด้วยหวังจะเพิ่ม stem cell yield ผลออกมาว่า มีเพียง 1 unit เท่านั้นที่ปลูกติด unit อื่นๆ จะถูก rejected จากผลการศึกษาวิจัยเหล่านี้ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของ stem cell dose เมื่อนำความรู้มาประยุกต์กับการจัดตั้ง umbilical cord blood banks ที่มีคุณภาพ การ collection ของ cord blood ต้องเก็บจำนวนเซลล์ให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ ต้องพัฒนากระบวนการและเทคนิคการ volume reduction เพื่อเพิ่มค่า nucleated cell dose ในทุก unit ที่ถูกเก็บแช่แข็งสะสมไว้

มีความพะวงอย่างหนึ่งในการปลูกถ่าย cord blood คือ ความเป็นไปได้ที่อาจจะปลูกถ่าย cells of maternal origin โดยไม่ได้ตั้งใจ มีรายงาน¹³ แสดงถึงว่า maternal cells มีอยู่เสมอใน cord blood แต่มีจำนวนไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิด GVHD การตรวจหา maternal cells ใน cord blood สามารถทำได้โดยวิธี high-resolution molecular typing ในเรื่องของ การเกิด GVHD ก็เกิดขึ้นได้แต่แม่ไม่ค่อยรุนแรง มีอุบัติการณ์ของ chronic GVHD ต่ำแม่จะเป็นการปลูกถ่าย cord blood แบบ HLA-mismatched ที่ไม่ได้ทำ T-cell depletion อุตบัติการณ์ของทั้ง acute และ chronic GVHD ตามหลังการปลูกถ่าย cord blood แบบ related HLA-identical จะต่ำกว่าหลังการปลูกถ่ายไขกระดูก ในการปลูกถ่ายแบบ unrelated เพื่อรักษา acute leukemia ในเด็ก อุตบัติการณ์ของ acute GVHD grade >II ตามหลังการปลูกถ่าย cord blood แบบ HLA-mismatched จะต่ำกว่าหลังการปลูกถ่ายไขกระดูกอย่างมาก ส่วนอุบัติการณ์ของ chronic GVHD ตามหลังการปลูกถ่าย cord blood จะ

เท่ากับหลังการปลูกถ่ายไขกระดูกแบบ T-cell depleted unrelated แต่จะต่ำกว่าหลังการปลูกถ่ายไขกระดูกแบบ unmanipulated unrelated อย่างมาก อุตบัติการณ์และความรุนแรงที่ลดลงของทั้ง acute และ chronic GVHD นี้ พบในผู้ป่วยผู้ใหญ่หลังการปลูกถ่ายแบบ HLA-mismatched unrelated cord blood ด้วย ดังนั้น สมมติฐานที่ว่า umbilical cord blood มี alloreactive potential ที่แตกต่างจากไขกระดูก น่าจะเป็นความจริง สัดส่วนของ subset ต่างๆของ lymphoid cells อย่าง T, B, และ NK cells ก็น่าจะมีจำนวนต่ำกว่าเนื่องจาก cell dose ใน cord blood grafts ต่ำกว่าในไขกระดูก

จำนวน T-cell ใน cord blood มีค่าประมาณ 8×10^6 /กิโลกรัม จากการศึกษาที่ผ่านมา ทราบกันว่า GVHD สามารถเกิดขึ้นได้แม้ได้รับ CD3+ cells น้อยๆ เพียงแค่ 1×10^5 /กิโลกรัม ในการปลูกถ่ายไขกระดูกจาก HLA-identical sibling หรือได้รับ CD3+ cells เพียงแค่ 1×10^4 /กิโลกรัม ในการปลูกถ่ายแบบ HLA-mismatched เนื่องจาก acute GVHD เป็นผลจากการ activation, clonal expansion และ proliferation ของ donor-derived T lymphocytes ที่ recognize alloantigen ที่ถูก presented โดย antigen-presenting cells ของ host หรือ donor การที่มีความเสี่ยงต่อการเกิด GVHD ต่ำตามหลังการปลูกถ่าย cord blood จึงอาจเป็นเพราะความบกพร่องของ cord blood T lymphocytes ดังนั้น การปลูกถ่าย cord blood ที่ประสบความสำเร็จ อาจจะไม่จำเป็นต้องมี HLA-identity อย่างสมบูรณ์ก็ได้ บทบาทของ HLA ต่อการปลูกถ่าย stem cells เป็นสิ่งที่ยากที่จะประเมิน และผลการตรวจที่แตกต่างกันในรายละเอียด (discrepancy) ก็พบได้จากวิธีการตรวจในห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง วิธีการทำ HLA typing มีการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลา และมีการค้นพบ polymorphisms ใหม่ๆ อยู่ตลอด รวมถึง minor histocompatibility antigens และ cytokine polymorphisms ในการวิเคราะห์แบบ multivariate

จำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยสำคัญต่างๆ เช่น อายุของผู้บริจาคและผู้รับ ผล CMV serology ของผู้รับ เพศของผู้บริจาค และประวัติการตั้งครรภ์ของผู้บริจาคเพศหญิง เป็นต้น

เป็นที่ทราบกันดีว่า ภาวะที่มีความเสี่ยงต่อ GVHD ต่ำ สัมพันธ์กับความเสี่ยงที่มี leukemic relapse สูง เดิมจึงคาดการณ์ว่า อุบัติการณ์ของ relapse ตามหลังการปลูกถ่าย cord blood จะสูงกว่าหลังการปลูกถ่ายไขกระดูกแบบ unmanipulated แต่เมื่อวิเคราะห์แล้ว ปรากฏว่า อุบัติการณ์ดังกล่าวไม่แตกต่างกัน ขณะที่อุบัติการณ์ของ early relapse นั้นสูงในกรณีปลูกถ่ายไขกระดูกแบบ T-cell depleted การที่อุบัติการณ์ของ relapse หลังการปลูกถ่าย cord blood ไม่ได้สูงกว่าปกติ อาจเป็นเพราะ NK cells หรือเซลล์บางชนิดใน cord blood มีคุณสมบัติเป็น antileukemic potential แม้ว่าจะระบบภูมิคุ้มกันของทารกแรกเกิดจะยัง immature ก็ตาม

สรุป

การปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตโดยใช้ cord blood สามารถกระทำได้ดีผลสำเร็จ โดยเฉพาะเมื่อทำการรักษาตั้งแต่ยังอยู่ในระยะแรกๆ ของโรคจะได้ผลดีมาก นั้นแสดงว่า การแสวงหา unrelated cord blood unit ที่เหมาะสม ควรรับดำเนินการแต่เนิ่นๆ โดยเร็ว ในผู้ป่วย acute leukemia, severe aplastic anemia, หรือโรคร้ายแรงอื่นๆ ข้อพิจารณาในการคัดเลือก cord blood unit อันดับแรกคือ จำนวนของ stem cells ที่ collected ได้ อันดับสองคือ ABO compatibility อันดับสามคือ HLA compatibility ควรหลีกเลี่ยงการปลูกถ่ายที่มี combination ของ HLA mismatches ทั้ง class I และ class II หรือมี HLA mismatches มากกว่า 2 ตำแหน่ง นอกจากนี้ไม่สามารถหา cord blood unit อื่นที่เหมาะสมกว่าได้ และ unit นั้นมีจำนวน nucleated cells มากกว่า 2×10^7 /กิโลกรัม

เอกสารอ้างอิง

1. Gluckman E. Hematopoietic stem-cell transplants using umbilical cord blood. *N Engl J Med* 2001;344:1860-1.
2. Gluckman E. Current status of umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol* 2000;28:1197-205.
3. Gluckman E, Rocha V, Boyer Chammar A, et al. Outcome of cord blood transplantation from related and unrelated donors. *N Engl J Med* 1997;337:373-81.
4. Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and non-malignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood* 2002;100:1611-8.
5. Thomson BG, Robertson K, Gowan D, et al. Analysis of engraftment, graft-versus-host disease, and immune recovery following unrelated donor cord blood transplantation. *Blood* 2000;96:2703-11.
6. Laughlin MJ, Barker J, Bambach B, et al. Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of unrelated donor umbilical cord blood. *N Engl J Med* 2001;344:1815-22.
7. Niehues T, Rocha V, Filipovich AH, et al. Factors affecting lymphocyte subset reconstitution after either related or unrelated cord blood transplantation in children-a Eurocord analysis. *Br J Hematol* 2001;114:42-8.
8. Talvensaaari K, Clave E, Douay C, et al. A broad T-cell repertoire diversity and an efficient thymic function indicate a favorable long-term immune reconstitution after cord blood stem cell transplantation. *Blood* 2002;99:1458-64.
9. Fernandez MN, Regidor C, Cabrera R, et al. Cord blood transplants: early recovery of neutrophils from co-transplanted sibling haploidentical progenitor cells and lack of engraftment of cultured cord blood cells, as ascertained by analysis of DNA polymorphisms. *Bone Marrow Transplant* 2001;28:355-63.
10. Pecora AL, Stiff P, Jennis A, et al. Prompt and

- durable engraftment in two older adult patients with high risk chronic myelogenous leukemia (CML) using ex vivo expanded and unmanipulated umbilical cord blood. Bone Marrow Transplant 2000;25:797-9.*
11. Kogler G, Nurberger W, Fisher J, et al. Simultaneous cord blood transplantation of ex vivo cells expanded together with non-expanded cells for high risk leukemia. *Bone Marrow Transplant 1999;24:397-403.*
 12. Barker JN, Weisdorf DJ, Wagner JE. Creation of a double chimera after transplantation of umbilical-cord blood from two partially matched unrelated donors. *N Engl J Med 2001;344:1870-1.*
 13. Petit T, Dommergues M, Socie G, et al. Detection of maternal cells in human fetal blood during the third trimester of pregnancy using allele specific PCR amplification. *Br J Hematol 1997;98:767-71.*