



**University of Liège**  
School of Medicine,  
Department of Pediatrics,  
GIGA- Infection, Immunity and Inflammation,

# **Regulatory T cells in Wiskott-Aldrich syndrome and after allogeneic transplantation with nonmyeloablative conditioning**

**STÉPHANIE HUMBLET-BARON, MD**

Thesis submitted in requirements for the degree of Doctor in Biomedical Sciences (PhD).

Mentors (at the ULg): Prof. Yves Beguin and Dr. Frédéric Baron.  
Mentor at the University of Washington (Seattle, US), Pr. David Rawlings.

## ***Acknowledgements/ Remerciements.***

Je souhaite adresser mes plus sincères remerciements au Pr Y. Beguin pour avoir accepté d'être le promoteur de cette thèse. Je tiens aussi à lui exprimer toute ma reconnaissance devant l'accueil inconditionnel qu'il a émis à mon égard et pour la confiance qu'il m'a accordée tout le long de la réalisation de ce travail. Je tiens aussi à le remercier vivement pour son soutien et ses encouragements lors de mon séjour à Seattle.

I want to express my deepest gratitude to Pr D. Rawlings, Director of the Center for Immunity and Immunotherapies, Seattle Children's Research Institute, University of Washington in Seattle. I had the extraordinary chance to work in his lab and would like to thank him sincerely for giving me this opportunity. His wide knowledge and his logical way of thinking have been of great value for me. His understanding, encouraging and personal guidance have provided the most important basis for my scientific work.

I also had in Seattle the wonderful opportunity to discover the so interesting field of primary immunodeficiency disorders and gene therapy. I had the great chance to know Dr Ochs. I wish to thank him for sharing his stupendous knowledge in this field in many occasions. Thanks also to others PI for their support, Dr Miao, Dr Torgerson and Dr Scharenberg.

I wish to express my warm and sincere thanks to my colleagues and friends at the Rawlings Lab, your insights, help and humor were precious ; Karen, Sarah, Almut, Shirley, Wening, Brigid, Blythe, Sasha, Kevin, Jit, Miguel, Ashok, Thuc, Jordan and Angel.

Je tiens également à remercier particulièrement le président de ce jury, le Pr M. Moutchen. Mon intérêt pour l'immunologie a débuté très tôt et je vous remercie sincèrement de m'avoir accueilli dans votre laboratoire pour mes premiers pas dans le monde de la recherche.

J'adresse aussi mes remerciements au Pr Lepage pour m'avoir accueilli au sein de département de Pédiatrie et encouragé à continuer dans la voie de la recherche notamment lors de mon séjour à Seattle.

D'une façon générale j'aimerais remercier tous mes collègues de pédiatrie ainsi que les Pr Misson et Rigo pour l'intérêt qu'ils ont porté à mes travaux.

Merci aussi à mes collègues de labo pour tous les échanges fructueux et partages au quotidien. J'aimerais remercier particulièrement Olivier Dengis pour sa précieuse aide technique, mais aussi France, Muriel, Alexandra, Sophie, Stéphanie, Emilie et Rafat. J'adresse aussi mes remerciements à la plateforme de cytométrie du GIGA ainsi qu'au laboratoire de génétique pour leur travail de qualité.

Et puis un immense merci à ma famille pour le soutien omniprésent depuis toujours, merci à mes parents et à mon frère.

Et puis le remerciement le plus particulier je l'adresse à mon mari, je lui ai toujours été reconnaissante de la chance de l'avoir à mes côtés, d'avoir pu avancer grâce aux pas de géant qu'il a tracés en me précédant.

Je voudrais enfin remercier tous les membres de mon jury : Messieurs les Professeurs G. Fillet, M. Moutschen, V. Bours, V. Geenen, Madame le Docteur C. Hoyoux et plus particulièrement Mesdames le Professeur C. Vermylen et le Docteur C. Picard qui me font l'immense honneur de participer à mon jury de thèse.

Ce travail a été réalisé grâce au soutien financier du Fonds National de la Recherche Scientifique (FNRS) via une bourse Télévie.

<b>Acknowledgements/ Remerciements.....</b>	<b>2</b>
<b>Part 1. Introduction.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1 Wiskott-Aldrich Syndrome.....</b>	<b>6</b>
1.1.1 History.....	6
1.1.2 Gene and protein description.....	8
1.1.3 WASp and cell function.....	11
1.1.4 Mutations in the Wiskott-Aldrich Syndrome.....	18
1.1.5 Clinical manifestations.....	20
1.1.6 Treatment.....	23
<b>1.2 Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation, Graft-versus-Host Disease, and Graft-versus-Tumor effects.....</b>	<b>25</b>
1.2.1 History of allogeneic hematopoietic cell transplantation (allo-HCT).....	25
1.2.2 Acute graft-versus-host disease (GVHD).....	30
1.2.3 Chronic graft-versus-host disease (GVHD).....	34
1.2.4 Graft-versus-tumor effects.....	38
1.2.5 Non-myeloablative conditioning for allogeneic HCT "minitransplant".....	41
1.2.6 Allogeneic hematopoietic cell transplantation for WAS.....	46
<b>1.3 Regulatory T cells (Treg).....</b>	<b>48</b>
1.3.1 History of Treg (figure 12).....	48
1.3.2 FoxP3.....	53
1.3.3 Treg properties and mechanisms of suppression.....	56
1.3.4 Treg development and homeostasis.....	61
1.3.5 Treg homing (figure 18).....	64
1.3.6 Treg and allogeneic HCT.....	65
<b>Part 2. Objectives of the study.....</b>	<b>67</b>
<b>Part 3. Results.....</b>	<b>70</b>
<b>3.1 Wiskott-Aldrich syndrome protein is required for regulatory T cell homeostasis.....</b>	<b>71</b>
<b>3.2 Engraftment kinetics of regulatory T cells after allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning.....</b>	<b>72</b>
<b>Part 4. Discussion.....</b>	<b>73</b>
<b>4.1 Discussion of part 1: Treg in WAS.....</b>	<b>73</b>
4.1.1 Role of WASp in thymic Treg development.....	74
4.1.2. Role of WASp in Treg homeostasis.....	75
4.1.3. WASp and Treg suppressive function.....	76
4.1.4. WASp and Treg homing.....	78
4.1.5. Treg in WAS patient.....	79
<b>4.2 Discussion of part 2: Treg after nonmyeloablative HCT.....</b>	<b>81</b>

<b>Part 5. Perspectives.</b>	<b>89</b>
<b>5.1 WASp</b>	<b>89</b>
5.1.1 <i>Role of WASp in B cells</i>	89
5.1.2 <i>Role of WASp in human Treg</i>	89
<b>5.2 Allo HCT</b>	<b>90</b>
5.2.1 <i>Study of human Treg physiology in a model of xenogeneic GVHD</i>	91
5.2.2 <i>Favoring peripheral Treg expansion after allogeneic HCT</i>	92
<b>6. Résumé en Français.</b>	<b>93</b>
<b>6.1 Introduction</b>	<b>93</b>
6.1.1 <i>Le syndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)</i>	93
6.1.2 <i>Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques</i>	94
6.1.3 <i>Lymphocytes T régulateurs (Treg)</i>	96
<b>6.2 Objectifs</b>	<b>97</b>
6.2.1 <i>Objectifs de la première partie</i>	97
6.2.2 <i>Objectifs de la deuxième partie</i>	98
<b>6.3 Résultats</b>	<b>99</b>
6.3.1 <i>La protéine WASp est nécessaire à l'homéostasie des Treg.</i>	99
6.3.2 <i>Etude de la cinétique de récupération des Treg après minigreffe de cellules souches hématopoïétiques.</i>	105
<b>6.4. Discussion.</b>	<b>108</b>
6.4.1 <i>Treg et WASp</i>	108
6.4.2 <i>Treg après minigreffe.</i>	110
<b>6.5. Perspectives.</b>	<b>111</b>
6.5.1 <i>Treg et WASp</i>	111
6.5.2 <i>Treg et minigreffe.</i>	112

# 6. Résumé en Français.

## 6.1 Introduction

### 6.1.1 Le syndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)

Le syndrome de Wiskott-Aldrich (**WAS**) est un syndrome d'immunodéficience primaire liée au chromosome X, causé par une mutation dans le gène de la Wiskott-Aldrich Syndrome Protein (**WASp**). Ce syndrome associe une thrombopénie avec des plaquettes de petites tailles, une immunodéficience sévère liée à un déficit lymphocytaire favorisant les infections par des germes opportunistes, des virus et des bactéries, et une propension à développer des maladies auto-immunes ou des néoplasies. Plus de 150 différentes mutations ont déjà été identifiées dans les familles de patients souffrant de WAS. Les mutations qui s'accompagnent d'une perte totale de l'expression de WASp sont associées à un phénotype clinique plus sévère(Ochs, *et al* 2008). WASp est exprimée dans toutes les cellules hématopoïétiques et est impliquée dans la transduction du signal dans plusieurs voies métaboliques. Cependant, l'absence d'expression de WASp se manifeste d'abord par un déficit de fonction des lymphocytes T. En effet, les lymphocytes T déficients pour la protéine WASp sont incapables de polymériser et d'organiser l'actine en réponse à une stimulation du TCR par l'activation du récepteur CD3; cela interfère dès lors à la formation du signalosome du récepteur des lymphocytes T (TCR) résultant en une activation incomplète des lymphocytes T causant une diminution de leur prolifération, leur migration et de leur survie. De plus, un déficit en WASp interfère également avec la formation de la synapse immunologique (Ochs and Thrasher 2006).

En plus d'être sévèrement immunodéprimés, les patients atteints de WAS ont une très haute prévalence de maladie auto-immune. Dans une étude, plus de 70% des patients ont développé au moins une maladie auto-immune, comprenant des cytopénies auto-immunes, des arthrites, des vascularites, des pathologies inflammatoires intestinales ou des atteintes rénales (Dupuis-Girod, *et al* 2003, Sullivan, *et al* 1994).

### **6.1.2 Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques**

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (**allo-HCT**) est le traitement de choix de nombreuses néoplasies hématologiques. Son efficacité dépend largement de la destruction des cellules tumorales du patient par les lymphocytes T du donneur présents dans le greffon (effet de la greffe contre la tumeur). Malheureusement, ces mêmes lymphocytes du donneur sont également responsables de la maladie du greffon contre l'hôte (**GVHD**), une complication redoutable des allogreffes consistant en la destruction des organes sains du receveur par les lymphocytes du donneur (Sullivan 2004). Au cours de la première année après allogreffe, une tolérance du greffon envers l'hôte s'établit progressivement chez approximativement la moitié des patients permettant d'arrêter l'immunosuppression postgreffe. L'autre moitié des patients développent une GVHD chronique qui, bien qu'associée à un effet anti-tumoral important, est la principale cause de morbidité et mortalité à long terme après allogreffe. La GVHD chronique associe des manifestations cliniques communes à certaines maladies autoimmunes (atteinte sclérodermique de la peau ou de l'oesophage, syndrome sec, arthrites, bronchiolite oblitérante) et une profonde immunosuppression. Comme observé dans le WAS, la

GVHD chronique associe donc de façon paradoxale des manifestations auto-immunes et une immunodéficience.

Les greffes conventionnelles sont associées à une incidence élevée de morbidité et de mortalité liée au traitement lui-même, limitant leurs indications à des patients jeunes et en bon état général. Malheureusement, l'âge médian des patients lors du diagnostic d'une néoplasie hématologique susceptible de bénéficier d'une allo-HCT varie de 60 à 70 ans. Cette observation a conduit plusieurs groupes à développer de nouveaux protocoles d'allogreffe après un régime de conditionnement non-myéloablateur (c'est-à-dire ne détruisant pas la moelle du receveur, encore appelées « **minigreffes** ») (Baron and Storb 2006). Ces dernières sont basées sur une approche en deux étapes : 1) administration d'un traitement très immunosuppresseur permettant le contrôle de la réaction de l'hôte contre la greffe (permettant ainsi la prise de la greffe) et de la GVHD, et 2) la destruction des cellules malignes presque exclusivement par **l'effet de la greffe contre la tumeur**. L'équipe de Seattle a mis au point un régime de conditionnement combinant une faible dose d'irradiation corporelle totale (TBI, 2 Gy), de la fludarabine et une immunosuppression post-greffe associant un inhibiteur des calcineurines au mycophenolate mofetil (MMF) permettant de réaliser l'allogreffe entièrement en ambulatoire chez la majorité des patients (Maris, *et al* 2003b, McSweeney, *et al* 2001). De plus, les minigreffes induisent des rémissions complètes chez 40-50% des patients.



### **6.1.3 Lymphocytes T régulateurs (Treg)**

Les lymphocytes T et B sont capables de reconnaître un très large répertoire d'antigènes, y compris des auto-antigènes. Néanmoins, différents mécanismes de tolérance existent pour empêcher l'apparition de maladies auto-immunes. La présence de lymphocytes T suppresseurs a été suggérée dès le début des années 70 où des expériences dans un modèle murin ont démontré que la réalisation de thymectomies en période néonatale favorisait la destruction des tissus par un phénomène auto-immun qui pouvait être prévenu par l'infusion de lymphocytes T matures (Nishizuka and Sakakura 1969, Penhale, *et al* 1973, Penhale, *et al* 1976, Sakaguchi, *et al* 1982).

Depuis la fin des années 1970, il est démontré que la tolérance de la greffe envers le donneur dans le cadre d'une allo-HCT est due à des cellules immunosuppressives du donneur, appelées à cette époque lymphocytes suppresseurs. Cependant, l'impossibilité d'identifier ces cellules dans les années 1980s et 1990s a conduit la communauté scientifique à s'en désintéresser progressivement. Plus tard, l'identification du phénotype de ces cellules suppressives ( $CD4^+CD25^+$  qui ont été renommées lymphocytes T-régulateurs ou Treg) a ouvert la voie à de nouvelles études visant à mieux définir leur rôle dans l'allo-HCT (Sakaguchi, *et al* 1995). Des études dans des modèles animaux de GVHD ont démontré que la co-transplantation de fortes doses de Treg avec des lymphocytes T conventionnels permettait de prévenir la GVHD sans apparemment affecter l'effet de la greffe contre la tumeur. En effet, dans ces modèles animaux, la GVHD dépend de la prolifération des lymphocytes T conventionnels alloréactifs (qui sont inhibés par les Treg) alors que l'effet de la greffe contre la tumeur dépend de l'activité (mais non de l'expansion) des lymphocytes T alloréactifs. Plus récemment, de

nombreuses études ont démontré que les Treg étaient caractérisés par l'expression de **FoxP3** (Fontenot, *et al* 2003, Hori, *et al* 2003, Khattri, *et al* 2003). La meilleure preuve du rôle primordial de FoxP3 est l'observation que les patients déficients en FoxP3 à cause d'une mutation dans ce gène n'ont aucun Treg et souffrent du syndrome **IPEX** (pour immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome). Ce syndrome se caractérise par une dérégulation du système immunitaire conduisant à des manifestations auto-immunes rapidement fatales.

## **6.2 Objectifs**

### **6.2.1 Objectifs de la première partie**

Dans cette première partie, nous avons étudié l'immunité des patients atteints de WAS. Ce travail a été réalisé au Children's Hospital à Seattle, sous la supervision du professeur D.J. Rawlings.

Notre hypothèse de travail était qu'un déficit des Treg pourrait expliquer le paradoxe du syndrome WAS qui combine une immunodéficience et des manifestations auto-immunes.

Afin d'explorer cette hypothèse, nous avons :

- 1) recherché des signes d'auto-immunités dans les souris déficientes en WASp;
- 2) étudié le rôle du WASp dans le développement thymique des Treg;
- 3) étudié le rôle du WASp dans la fonction suppressive des Treg;
- 4) étudié le rôle du WASp dans l'homéostasie des Treg;
- 5) analysé la récupération des Treg chez un patient atteint de WASp qui a développé une mutation inverse spontanée.

### **6.2.2 Objectifs de la deuxième partie**

Dans cette partie nous avons étudié les cinétiques de récupération des Treg après minigreffe et plus précisément dans la GVHD (une situation clinique où coexistent également une immunodéficience et des manifestations auto-immunes). L'hypothèse de départ était qu'un déficit des Treg pourrait être associé à la GVHD.

Afin d'explorer cette hypothèse, nous avons :

- 1) étudié la cinétique de la récupération des Treg après minigreffe;
- 2) étudié l'homéostasie des Treg après minigreffe;
- 3) étudié les facteurs pré-greffe affectant le nombre et la fréquence des Treg après minigreffe;
- 4) étudié la corrélation entre le nombre, la fréquence et le chimérisme des Treg et les événements cliniques après la greffe (dont la GVHD).

## **6.3 Résultats**

### **6.3.1 La protéine WASp est nécessaire à l'homéostasie des Treg.**

#### **6.3.1.1. Expansion de Treg WASp+ chez un patient WAS ayant une mutation inverse.**

Parmi les patients suivis pour WAS à Seattle, un jeune patient a été identifié avec une mutation inverse permettant une réexpression de la protéine dans les progéniteurs lymphoïdes.

Alors que la protéine WASp était exprimée dans environ 2% des cellules T naïves et des cellules NK, elle était exprimée dans 25 à 35% des Treg, démontrant un avantage sélectif majeur. Cette observation suggère un rôle important de la protéine WASp dans l'homéostasie des Treg.

#### **6.3.1.2. Les souris déficientes en WASp développent des signes d'auto-immunité.**

Alors que de nombreux patients déficients en WASp développent des maladies auto-immunes, peu de manifestations auto-immunes ont été décrites dans les modèles WAS murins à l'exception de colites spontanées ou radio-induites. Nous avons recherché la présence d'anticorps anti-nucléaires dans des cohortes de souris WAS de backgrounds et d'âges différents. Que ce soit par des techniques d'immunofluorescence ou bien par ELISA, le titre d'anticorps décelé était significativement supérieur chez les souris

déficientes en WASp en comparaison avec les souris contrôles, et cela dès l'âge de 3 mois. Ces observations démontrent que le déficit d'expression de la protéine WASp est responsable d'une rupture de la tolérance.

### ***6.3.1.3. Expansion des Treg provenant de souris saines lors de greffes de moelles chimériques.***

Lorsque les souris WASp déficientes sont soumises à une irradiation corporelle totale, elles développent une colite sévère. Cependant, cette colite peut être prévenue par la réalisation d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques provenant de souris normales. Nous avons transplanté des souris WASp déficientes préalablement irradiées avec un mélange de moelle osseuse provenant de souris normales (1/3 de cellules greffées) et de souris déficientes en WASp (2/3 des cellules greffées). Nous avons observé une accumulation progressive de lymphocytes T et B exprimant le WASp dans les souris greffées. Un an après la greffe, la majorité des lymphocytes T et des lymphocytes B et pratiquement 100% des Treg périphériques exprimaient le WASp, alors que seulement 1/3 des cellules myéloïdes étaient positives pour le WASp. De plus, aucune de ces souris n'a développé de colite, probablement en raison de l'expansion périphérique des Treg sains.

#### **6.3.1.4. Les Treg déficients en WASp sont incapables de contrôler les réactions auto-immunes chez la souris déficiente en FoxP3 (souris Scurfy).**

Un déficit d'expression en FoxP3 chez la souris provoque une lymphoprolifération importante avec infiltration majeure de différents organes conduisant à la mort des souris dans les 3 premières semaines suivant leur naissance. Néanmoins il est possible de prévenir cette lymphoprolifération par la greffe de Treg provenant de souris saines. Afin de déterminer si il existe une anomalie intrinsèque des Treg déficients en WASp, nous avons transfusé des Treg provenant de souris saines ou de souris déficientes en WASp chez des souris *Scurfy* âgées de quelques jours. Comme attendu, 3 à 4 semaines après greffe, les souris qui avaient reçu des Treg provenant de souris saines ne montraient pas de signes de lymphoprolifération dans les différents organes examinés. Par contre, il existait une infiltration lymphocytaire importante (avec des cellules CD44<sup>high</sup>CD45RB<sup>low</sup>) chez les souris *Scurfy* qui avaient reçu une infusion de Treg déficients en WASp, comparable à ce qui pouvait être observé chez la souris *Scurfy* n'ayant pas reçu de Treg. Ces résultats démontrent un déficit intrinsèque des Treg déficients en WASp qui semblent incapables d'induire une tolérance dans un environnement pro-inflammatoire (milieu suffisant en IL-2).

### **6.3.1.5. Les souris déficientes en WASp produisent un nombre normal de Treg dans le thymus.**

Afin de déterminer s'il existait un défaut de formation des Treg au niveau thymique chez les souris déficientes en WASp, nous avons comparé le nombre de Treg dans le thymus de souris saines ou déficientes en WASp. Le nombre de Treg détecté était similaire dans les deux groupes de souris, suggérant qu'il n'existait pas de déficit de production thymique des Treg chez la souris WASp déficiente. De plus, nous avons vérifié cette hypothèse dans le modèle des souris femelles hétérozygotes pour le WASp. En raison l'inactivation aléatoire du chromosome X, normalement 50% des cellules de ces souris expriment le WASp (en dehors de la présence d'un avantage sélectif pour les cellules WASp positives). Confirmant notre hypothèse, approximativement 50-60% des lymphocytes thymiques exprimaient le WASp.

### **6.3.1.6. Les Treg déficients en WASp sont capables d'inhiber un test de prolifération in vitro.**

Lors de tests de suppression de la prolifération de lymphocytes T conventionnels in vitro par les Treg, les Treg déficients en WASp étaient capables d'activités suppressives significatives. La suppression produite par les Treg déficients en WASp était légèrement moindre que celle produite par des Treg normaux lorsque les lymphocytes T effecteurs étaient normaux (positifs pour le WASp), mais elle était similaire lorsque les lymphocytes T effecteurs étaient déficients en WASp. Dès lors, les réactions auto-immunes observées chez la souris déficiente en WASp ne paraissaient pas s'expliquer par un déficit de la fonction suppressive des Treg déficients en WASp.

**6.3.1.7. Les Treg déficients en WASp ne sont pas capables de rivaliser avec les Treg sains lors d'une compétition in vivo.**

En utilisant le modèle de souris femelles hétérozygotes pour le WASp, nous avons étudié la proportion de Treg périphériques exprimant le WASp. Alors que la proportion de lymphocytes naïfs exprimant le WASp était d'approximativement 60%, 90% des Treg périphériques exprimaient la protéine WASp, et ce dans tous les organes lymphoïdes secondaires examinés (rate, ganglions périphériques, ganglions mésentériques, plaques de Peyer, liquide péritonéal et lavage broncho-alvéolaire).

De plus, nous avons comparé le taux de Treg chez les souris normales et déficientes en WASp. Alors que le pourcentage de Treg était similaire dans le thymus des souris saines et des souris déficientes en WASp, le nombre de Treg périphérique était significativement moindre dans les souris déficientes en WASp que chez les souris saines, et ce dans tous les organes examinés.

**6.3.1.8. En comparaison avec les Treg sains les Treg déficients en WASp ne sont pas capables de proliférer dans les souris Scurfy.**

Dans un autre modèle de compétition in vivo, un mélange de 50% de Treg sains et de 50% de Treg déficients en WASp a été transféré dans des souris *Scurfy*. Des échantillons de sang ont été analysés à différents moments après la greffe, démontrant une diminution progressive du pourcentage de Treg déficients en WASp à l'avantage des Treg de souris normales.



### **6.3.1.9. Les Treg déficients en WASp montrent un défaut de surexpression des molécules de « homing » à leur surface.**

Une fois activés dans les ganglions périphériques, les Treg sont capables de migrer vers d'autres sites tissulaires et notamment dans des sites inflammatoires. Pour ce faire, ils doivent surexprimer à leur surface cellulaire des molécules de « homing » tels que des récepteurs de chemokines, et des intégrines. Nous avons étudié l'expression par les Treg de certaines de ces molécules de « homing » dans le modèle de souris WASp hétérozygote. Alors que le CCR7 (tropisme des ganglions lymphoïdes) était exprimé à la surface de tous les Treg, les molécules à tropisme plutôt tissulaire et/ou inflammatoire étaient plus largement exprimées à la surface des Treg exprimant le WASp que par ceux n'exprimant pas le WASp. Ces données étaient statistiquement significatives pour les molécules CD103, pour les sélectines ligand de P et E, et pour les récepteurs CCR4, CCR5 et CCR6 et ce dans les différents organes analysés (rate, ganglions périphériques, ganglions mésentériques, et cavité péritonéale).

### **6.3.2. Etude de la cinétique de récupération des Treg après minigreffe de cellules souches**

#### ***hématopoïétiques.***

Nous avons étudié la cinétique de la reconstitution des Treg chez 123 patients traités par greffe de cellules souches hématopoïétiques après un conditionnement non myéloablateur (minigreffe). Le régime de conditionnement consistait en une irradiation corporelle totale (TBI) de 2 Gy seul (n=22, patients à faible risque de rejet ayant un donneur familial), une TBI de 2 Gy combinée à de la fludarabine (n=87, régime standard), ou une TBI de 4 Gy combinée à de la fludarabine (n=14, patients à haut risque de rejet du greffon ou de rechute).

#### **6.3.2.1. Chimérisme des Treg après la greffe.**

Nous avons analysé la proportion de Treg provenant du donneur ou du receveur (chimérisme) après la minigreffe. Au jour 100, la proportion de Treg provenant du donneur allait de 2.3 à 99.3% (médiane 87%). De plus, il existait une forte corrélation entre le chimérisme des Treg et celui des cellules T CD3<sup>+</sup> (R=0.81, P<0.0001).

#### **6.3.2.2. Nombre de Treg après la greffe.**

Le nombre absolu de Treg était significativement moindre la première année après la greffe que chez les donneurs sains. On notait néanmoins une élévation significative du nombre de Treg du J40 au J365 après la greffe (P<0.001).

La fréquence des Treg (définie comme le pourcentage de Treg divisé par le pourcentage de cellules T CD4<sup>+</sup> conventionnelles) était significativement plus élevée chez les patients la première année après la greffe que chez les donneurs sains, démontrant que le nombre plus faible de Treg après la greffe est une conséquence d'une lymphopénie CD4 globale plutôt qu'un déficit spécifique en Treg. La fréquence des Treg restait stable durant la première année après greffe.

### **6.3.2.3. Homéostasie des Treg.**

#### **Rôle du thymus**

Nous avons d'abord étudié s'il existait une reprise de la fonction thymique après minigreffe, vu que l'âge médian des patients inclus dans notre étude était de 57 ans. Comme observé préalablement dans une cohorte de 16 patients, nous avons observé une augmentation significative du nombre des sjTREC (marqueurs de l'activité thymique) du jour 100 au jour 365 après minigreffe ( $P=0.01$ ). De plus, le nombre de Treg était corrélé au nombre de sjTREC au J100 ( $R=0.35$ ,  $P=0.02$ ), mais pas au jour 365 après minigreffe.

#### **Expansion périphérique des Treg**

Les Treg se distinguaient des cellules T CD4<sup>+</sup> conventionnelles par leur capacité de prolifération plus élevée (évaluée par l'expression du marqueur mitotique Ki-67), et par une faible proportion de cellules naïves (<5%). De plus, la majorité des Treg mémoires exprimaient au moins une des molécules de « homing » (CCR4, CCR5, CCR6) leur permettant de migrer vers les sites d'inflammation, notamment ceux affectés par la GVHD.

Ces données suggèrent que le nombre de Treg après minigreffe dépend principalement de l'expansion périphérique des Treg, bien qu'il soit possible que le thymus joue également un certain rôle.

#### **6.3.2.4. Association entre le nombre de Treg et les évènements postgreffe.**

##### **GVHD aiguë**

Le nombre de Treg au jour 40 était significativement plus faible chez les patients atteints de GVHD aiguë de grade II-IV que chez ceux n'ayant pas de GVHD aiguë significative ( $P=0.03$ ). Par contre au jour 100 après la greffe, le nombre de Treg était similaire dans les deux groupes.

##### **GVHD chronique**

L'incidence cumulative de GVHD chronique à 1 an était de 69% chez les patients ayant un taux de Treg inférieur à la médiane au jour 100, alors que les patients ayant un taux de Treg supérieur à la médiane avaient une incidence de GVHD chronique de 56% ( $P=0.04$ ). L'association entre Treg bas et GVHD chronique n'était plus statistiquement significative lorsque le nombre de Treg au jour 100 était modelé comme une variable continue.

##### **Rechute et Survie sans rechute.**

Nous avons analysé les facteurs prédisant un risque de rechute élevé et une mauvaise survie sans progression dans des modèles de Cox multivariés. Les patients ayant une

maladie de haut risque, et ceux ayant reçu une minigreffe avec 4 Gy de TBI avaient un risque de rechute plus élevé et une moins bonne survie sans progression que les autres. Par contre, le nombre de Treg n'avait pas d'influence significative sur le risque de rechute, ni sur la probabilité de survie sans rechute/progression.

## **6.4. Discussion.**

### **6.4.1 Treg et WASp**

Dans la première partie de ce travail, nous avons démontré que la protéine WASp jouait en rôle primordial dans l'homéostasie des Treg.

Dans un premier temps l'étude du développement thymique des Treg en l'absence de WASp n'a pas permis de mettre en évidence un rôle de la protéine durant ce processus. En effet, les souris déficientes en WASp avaient un nombre de Treg dans le thymus similaire aux souris saines, et d'autre part les souris hétérozygotes pour le WASp exprimaient dans le thymus un pourcentage de Treg WASp positif assez proche de l'inactivation randomisée du chromosome X. Un autre groupe (Snapper et al.) a étudié l'impact de WASp au niveau thymique et a mis en évidence un rôle redondant de la protéine WASp et la protéine N-WASp (qui est exprimée dans tous les types de cellules) pour le développement des lymphocytes T dans le thymus (Cotta-de-Almeida, *et al* 2007).

Par contre, nous avons démontré une altération importante de l'homéostasie périphérique des Treg déficients en WASp. Tout d'abord le nombre de Treg au niveau

périphérique était diminué chez les souris déficientes en WASp en comparaison aux souris normales. Ensuite lorsque ces Treg déficients en WASp ont été transférés dans des souris *Scurfy* (qui sont déficientes en FoxP3 et donc qui n'ont pas de Treg), les cellules déficientes en WASp ont été incapables de limiter l'apparition d'inflammation et de réactions autoimmunes dans ces souris *Scurfy* au contraire des Treg sains qui étaient tout à fait capables d'inhiber cette inflammation. Aussi lors d'expériences de repopulation compétitive in vivo, où un mélange de Treg sains et déficients en WASp étaient transplantés, nous avons observé un avantage sélectif des Treg normaux au dépend des Treg déficients en WASp. Cet effet a été observé dans trois modèles in vivo différents ; dans un modèle de transplantation médullaire où un mélange de moelle osseuse de souris normale et souris déficientes en WASp a été greffé dans des souris déficientes en WASp, dans le modèle non manipulé de souris femelles hétérozygotes pour le gène WASp, et finalement dans le modèle de transfert de Treg sains mélangés avec des Treg de souris déficientes en WASp à des souris *Scurfy*. Deux autres groupes d'investigateurs (Marangoni et al. et Maillard et al.) ont utilisé des modèles de transfert de Treg déficients en WASp (Maillard, *et al* 2007, Marangoni, *et al* 2007). Alors que les Treg déficients en WASp étaient difficilement identifiés après transfert, il y avait une forte expansion des Treg provenant de souris normales, démontrant un défaut d'expansion périphérique des Treg déficients en WASp (en accord avec nos données).

Nos expériences in vitro ont également démontré que les Treg déficients en WASp étaient capables d'inhiber la prolifération des lymphocytes T effecteurs avec une efficacité presque similaire aux Treg provenant de souris normales. Deux autres groupes ont rapporté des données quasi similaires aux nôtres (Maillard, *et al* 2007, Marangoni, *et al* 2007). Par contre, des données préliminaires suggèrent que les Treg provenant de patients atteints de WAS auraient un effet suppresseur nettement diminué in vitro (Adriani, *et al* 2007, Marangoni, *et al* 2007).

Dans le modèle de souris hétérozygotes pour WASp, nous avons clairement

démontré que les Treg déficient en WASp exprimaient à leur surface un nombre de molécules de « homing » significativement inférieur en comparaison aux Treg WASp positifs. Finalement, nous avons eu la chance d'analyser les Treg d'un patient WAS ayant présenté une mutation inverse. En particulier ses Treg exprimaient la protéine WASp à un niveau élevé en comparaison aux lymphocytes T naïfs, suggérant dès lors un avantage sélectif de l'expression de la protéine WASp dans l'homéostasie des Treg.

En conclusion, nos données combinées à celles des autres groupes d'investigateurs démontrent que la protéine WASp joue un rôle important dans l'homéostasie des Treg, suggérant que ce déficit pourrait expliquer la survenue des maladies auto-immunes chez les patients atteints de WAS.

#### **6.4.2 Treg après minigreffe.**

En étudiant la reconstitution immunitaire des Treg après minigreffe, nous avons démontré que la majorité des Treg provenait du donneur après minigreffe. De plus, bien que le nombre de Treg augmentait du jour 40 au jour 365 après greffe, le nombre de Treg après minigreffe restait inférieur à la normale la première année après greffe.

Ensuite, on s'est posé la question de l'origine des Treg après minigreffe. En regardant en détail le phénotype des Treg après la greffe, nous avons observé que très peu d'entre eux exprimaient un phénotype naïf (CD45RA positif) un an après la greffe. De plus les Treg avaient un taux de prolifération supérieur aux autres cellules T effectrices. Toutes ces données incitent à penser que la majorité des Treg après minigreffe proviennent de l'expansion périphérique. Ces données sont en accord avec un article récent de Atanackovic et al. (Atanackovic, *et al* 2008). Néanmoins un rôle modeste du

thymus n'est pas exclu vu que nous avons observé une (faible) corrélation entre le nombre de Treg et le nombre de sjTREC au jour 100 après minigreffe.

Nous avons observé une diminution du nombre de Treg au jour 40 chez les patients présentant une GVHD aiguë en comparaison des patients ne présentant pas de GVHD. Ces données sont en accord avec les observations de Miura et al (Miura, *et al* 2004). De plus, un faible nombre Treg au jour 100 (taux absolu de Treg en dessous de la médiane) prédisait la survenue d'une GVHD chronique, mais pas le risque de rechute. Ces données suggèrent que les Treg pourraient jouer un rôle dans la séparation de la GVHD et de l'effet de la greffe contre la tumeur.

## **6.5. Perspectives.**

### **6.5.1 Treg et WASp**

Une étude plus détaillée de la fonction des Treg humains devrait être envisagée.

On pourrait envisager d'étudier davantage de patients (y compris les patients avec mutation inverse), leur nombre de Treg et leur fonction *in vitro* en corrélation avec leur type de mutation WASp et leurs manifestations cliniques. De plus une étude récente de l'EBMT a démontré une recrudescence de manifestations auto-immunes après un traitement par allogreffe de moelle hématopoïétique (Ozsahin, *et al* 2008). Une analyse plus spécifique du chimérisme des lymphocytes T régulateurs dans ce contexte pourrait être utile.

L'étude du rôle de la protéine WASp dans le lymphocyte T régulateur provient de l'observation initiale d'un avantage sélectif des Treg exprimant la protéine WASp en



comparaison aux Treg n'exprimant pas WASp. En utilisant le même modèle nous avons aussi démontré un rôle pour la protéine WASp dans l'homéostasie des lymphocytes B. Cette observation nous a amené à étudier plus en détail le rôle de la protéine WASp dans le développement des lymphocytes B (ce travail a été principalement mené par le Dr Meyer-Bahlburg). Spécifiquement les cellules B provenant de la zone marginale dans la rate et les cellules péritonéales B1a étaient diminuées d'une manière considérable dans les souris déficientes en WASp. Un trouble de régulation des intégrines était partiellement responsable de cette situation plutôt qu'un trouble de développement du lymphocyte B (Meyer-Bahlburg, *et al* 2008).

### **6.5.2 Treg et minigrefe.**

Nous avons récemment développé un modèle de GVHD xénogénique dans des souris NOD-SCID-Gammac<sup>null/null</sup>. Brièvement, des PBMC humains sont injectés en i.p. à ces souris après TBI de 2.5 Gy. Les souris développent une GVHD létale 2 à 5 semaines après la xénogrefe, malgré la démonstration de l'expansion de Treg humains dans la moelle et la rate de ses souris. Nous proposons d'étudier la possibilité de favoriser les Treg et de prévenir la GVHD dans ce modèle par l'administration de rapamycine ou de cellules souches mésenchymateuses.

## REFERENCES

- Adriani, M., Aoki, J., Horai, R., Thornton, A.M., Konno, A., Kirby, M., Anderson, S.M., Siegel, R.M., Candotti, F. & Schwartzberg, P.L. (2007) Impaired in vitro regulatory T cell function associated with Wiskott-Aldrich syndrome. *Clin Immunol*, **124**, 41-48.
- Aldrich, R.A., Steinberg, A.G. & Campbell, D.C. (1954) Pedigree demonstrating a sex-linked recessive condition characterized by draining ears, eczematoid dermatitis and bloody diarrhea. *Pediatrics*, **13**, 133-139.
- Allan, S.E., Crome, S.Q., Crellin, N.K., Passerini, L., Steiner, T.S., Bacchetta, R., Roncarolo, M.G. & Levings, M.K. (2007) Activation-induced FOXP3 in human T effector cells does not suppress proliferation or cytokine production. *Int Immunol*, **19**, 345-354.
- Ancliff, P.J., Blundell, M.P., Cory, G.O., Calle, Y., Worth, A., Kempski, H., Burns, S., Jones, G.E., Sinclair, J., Kinnon, C., Hann, I.M., Gale, R.E., Linch, D.C. & Thrasher, A.J. (2006) Two novel activating mutations in the Wiskott-Aldrich syndrome protein result in congenital neutropenia. *Blood*, **108**, 2182-2189.
- Annacker, O., Pimenta-Araujo, R., Burlen-Defranoux, O., Barbosa, T.C., Cumano, A. & Bandeira, A. (2001) CD25+ CD4+ T cells regulate the expansion of peripheral CD4 T cells through the production of IL-10. *J Immunol*, **166**, 3008-3018.
- Ariga, T., Kondoh, T., Yamaguchi, K., Yamada, M., Sasaki, S., Nelson, D.L., Ikeda, H., Kobayashi, K., Moriuchi, H. & Sakiyama, Y. (2001) Spontaneous in vivo reversion of an inherited mutation in the Wiskott-Aldrich syndrome. *J Immunol*, **166**, 5245-5249.
- Atanackovic, D., Cao, Y., Luetkens, T., Panse, J., Faltz, C., Arfsten, J., Bartels, K., Wolschke, C., Eiermann, T., Zander, A.R., Fehse, B., Bokemeyer, C. & Kroger, N. (2008) CD4+CD25+FOXP3+ T regulatory cells reconstitute and accumulate in the bone marrow of patients with multiple myeloma following allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica*, **93**, 423-430.
- Aversa, F., Tabilio, A., Velardi, A., Cunningham, I., Terenzi, A., Falzetti, F., Ruggeri, L., Barbabietola, G., Aristei, C., Latini, P., Reisner, Y. & Martelli, M.F. (1998) Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med*, **339**, 1186-1193.
- Aversa, F., Terenzi, A., Tabilio, A., Falzetti, F., Carotti, A., Ballanti, S., Felicini, R., Falcinelli, F., Velardi, A., Ruggeri, L., Aloisi, T., Saab, J.P., Santucci, A., Perruccio, K., Martelli, M.P., Mecucci, C., Reisner, Y. & Martelli, M.F. (2005) Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol*, **23**, 3447-3454.
- Baba, Y., Nonoyama, S., Matsushita, M., Yamadori, T., Hashimoto, S., Imai, K., Arai, S., Kunikata, T., Kurimoto, M., Kurosaki, T., Ochs, H.D., Yata, J., Kishimoto, T. & Tsukada, S. (1999) Involvement of wiskott-aldrich syndrome protein in B-cell cytoplasmic tyrosine kinase pathway. *Blood*, **93**, 2003-2012.

- Bach, F.H., Albertini, R.J., Joo, P., Anderson, J.L. & Bortin, M.M. (1968) Bone-marrow transplantation in a patient with the Wiskott-Aldrich syndrome. *Lancet*, **2**, 1364-1366.
- Badolato, R., Sozzani, S., Malacarne, F., Bresciani, S., Fiorini, M., Borsatti, A., Albertini, A., Mantovani, A., Ugazio, A.G. & Notarangelo, L.D. (1998) Monocytes from Wiskott-Aldrich patients display reduced chemotaxis and lack of cell polarization in response to monocyte chemoattractant protein-1 and formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *J Immunol*, **161**, 1026-1033.
- Badour, K., Zhang, J., Shi, F., Leng, Y., Collins, M. & Siminovitch, K.A. (2004) Fyn and PTP-PEST-mediated regulation of Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASp) tyrosine phosphorylation is required for coupling T cell antigen receptor engagement to WASp effector function and T cell activation. *J Exp Med*, **199**, 99-112.
- Baecher-Allan, C., Viglietta, V. & Hafler, D.A. (2002) Inhibition of human CD4(+)CD25(+high) regulatory T cell function. *J Immunol*, **169**, 6210-6217.
- Barnes, D.W. & Loutit, J.F. (1957) Treatment of murine leukaemia with x-rays and homologous bone marrow. II. *Br J Haematol*, **3**, 241-252.
- Baron, F., Baker, J.E., Storb, R., Gooley, T.A., Sandmaier, B.M., Maris, M.B., Maloney, D.G., Heimfeld, S., Oparin, D., Zellmer, E., Radich, J.P., Grumet, F.C., Blume, K.G., Chauncey, T.R. & Little, M.T. (2004) Kinetics of engraftment in patients with hematologic malignancies given allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *Blood*, **104**, 2254-2262.
- Baron, F. & Beguin, Y. (2002) Preemptive cellular immunotherapy after T-cell-depleted allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, **8**, 351-359.
- Baron, F., Maris, M.B., Sandmaier, B.M., Storer, B.E., Sorrow, M., Diaconescu, R., Woolfrey, A.E., Chauncey, T.R., Flowers, M.E., Mielcarek, M., Maloney, D.G. & Storb, R. (2005) Graft-versus-tumor effects after allogeneic hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *J Clin Oncol*, **23**, 1993-2003.
- Baron, F. & Sandmaier, B.M. (2006) Chimerism and outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning. *Leukemia*, **20**, 1690-1700.
- Baron, F. & Sandmaier, B.M. (2008) Nonmyeloablative Transplantation. In: *Hematopoietic Stem Cell Transplantation* (ed. by Soiffer, R.S.), p. 349. Humana Press.
- Baron, F. & Storb, R. (2004) Allogeneic hematopoietic cell transplantation as treatment for hematological malignancies: a review. *Springer Semin Immunopathol*, **26**, 71-94.
- Baron, F. & Storb, R. (2006) Allogeneic hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning as treatment for hematologic malignancies and inherited blood disorders. *Mol Ther*, **13**, 26-41.
- Bennett, C.L., Christie, J., Ramsdell, F., Brunkow, M.E., Ferguson, P.J., Whitesell, L., Kelly, T.E., Saulsbury, F.T., Chance, P.F. & Ochs, H.D. (2001) The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet*, **27**, 20-21.

- Bensinger, W., Singer, J., Appelbaum, F., Lilleby, K., Longin, K., Rowley, S., Clarke, E., Clift, R., Hansen, J., Shields, T. & et al. (1993) Autologous transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after administration of recombinant granulocyte stimulating factor. *Blood*, **81**, 3158-3163.
- Bettelli, E., Carrier, Y., Gao, W., Korn, T., Strom, T.B., Oukka, M., Weiner, H.L. & Kuchroo, V.K. (2006) Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature*, **441**, 235-238.
- Bleakley, M. & Riddell, S.R. (2004) Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect. *Nat Rev Cancer*, **4**, 371-380.
- Bopp, T., Becker, C., Klein, M., Klein-Hessling, S., Palmetshofer, A., Serfling, E., Heib, V., Becker, M., Kubach, J., Schmitt, S., Stoll, S., Schild, H., Staeger, M.S., Stassen, M., Jonuleit, H. & Schmitt, E. (2007) Cyclic adenosine monophosphate is a key component of regulatory T cell-mediated suppression. *J Exp Med*, **204**, 1303-1310.
- Borg, C., Jalil, A., Laderach, D., Maruyama, K., Wakasugi, H., Charrier, S., Ryffel, B., Cambi, A., Figdor, C., Vainchenker, W., Galy, A., Caignard, A. & Zitvogel, L. (2004) NK cell activation by dendritic cells (DCs) requires the formation of a synapse leading to IL-12 polarization in DCs. *Blood*, **104**, 3267-3275.
- Bortin, M.M. (1970) A compendium of reported human bone marrow transplants. *Transplantation*, **9**, 571-587.
- Bouma, G., Burns, S. & Thrasher, A.J. (2007) Impaired T-cell priming in vivo resulting from dysfunction of WASp-deficient dendritic cells. *Blood*, **110**, 4278-4284.
- Boztug, K., Dewey, R.A. & Klein, C. (2006) Development of hematopoietic stem cell gene therapy for Wiskott-Aldrich syndrome. *Curr Opin Mol Ther*, **8**, 390-395.
- Brunkow, M.E., Jeffery, E.W., Hjerrild, K.A., Paepfer, B., Clark, L.B., Yasayko, S.A., Wilkinson, J.E., Galas, D., Ziegler, S.F. & Ramsdell, F. (2001) Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurf, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet*, **27**, 68-73.
- Burkhardt, J.K., Carrizosa, E. & Shaffer, M.H. (2008) The actin cytoskeleton in T cell activation. *Annu Rev Immunol*, **26**, 233-259.
- Burns, S., Hardy, S.J., Buddle, J., Yong, K.L., Jones, G.E. & Thrasher, A.J. (2004) Maturation of DC is associated with changes in motile characteristics and adherence. *Cell Motil Cytoskeleton*, **57**, 118-132.
- Cannon, J.L. & Burkhardt, J.K. (2004) Differential roles for Wiskott-Aldrich syndrome protein in immune synapse formation and IL-2 production. *J Immunol*, **173**, 1658-1662.
- Cannon, J.L., Labno, C.M., Bosco, G., Seth, A., McGavin, M.H., Siminovitch, K.A., Rosen, M.K. & Burkhardt, J.K. (2001) Wasp recruitment to the T cell:APC contact site occurs independently of Cdc42 activation. *Immunity*, **15**, 249-259.
- Caton, A.J., Cozzo, C., Larkin, J., 3rd, Lerman, M.A., Boesteanu, A. & Jordan, M.S. (2004) CD4(+) CD25(+) regulatory T cell selection. *Ann N Y Acad Sci*, **1029**, 101-114.
- Chae, W.J., Henegariu, O., Lee, S.K. & Bothwell, A.L. (2006) The mutant leucine-zipper domain impairs both dimerization and suppressive function of Foxp3 in T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**, 9631-9636.

- Chen, W., Jin, W., Hardegen, N., Lei, K.J., Li, L., Marinos, N., McGrady, G. & Wahl, S.M. (2003) Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med*, **198**, 1875-1886.
- Clark, F.J., Gregg, R., Piper, K., Dunnion, D., Freeman, L., Griffiths, M., Begum, G., Mahendra, P., Craddock, C., Moss, P. & Chakraverty, R. (2004) Chronic graft-versus-host disease is associated with increased numbers of peripheral blood CD4+CD25high regulatory T cells. *Blood*, **103**, 2410-2416.
- Collison, L.W., Workman, C.J., Kuo, T.T., Boyd, K., Wang, Y., Vignali, K.M., Cross, R., Sehy, D., Blumberg, R.S. & Vignali, D.A. (2007) The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function. *Nature*, **450**, 566-569.
- Cotta-de-Almeida, V., Westerberg, L., Maillard, M.H., Onaldi, D., Wachtel, H., Meelu, P., Chung, U.I., Xavier, R., Alt, F.W. & Snapper, S.B. (2007) Wiskott Aldrich syndrome protein (WASP) and N-WASP are critical for T cell development. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**, 15424-15429.
- Couriel, D., Carpenter, P.A., Cutler, C., Bolanos-Meade, J., Treister, N.S., Gea-Banacloche, J., Shaughnessy, P., Hymes, S., Kim, S., Wayne, A.S., Chien, J.W., Neumann, J., Mitchell, S., Syrjala, K., Moravec, C.K., Abramovitz, L., Liebermann, J., Berger, A., Gerber, L., Schubert, M., Filipovich, A.H., Weisdorf, D., Schubert, M.M., Shulman, H., Schultz, K., Mittelman, B., Pavletic, S., Vogelsang, G.B., Martin, P.J., Lee, S.J. & Flowers, M.E. (2006) Ancillary therapy and supportive care of chronic graft-versus-host disease: national institutes of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic Graft-versus-host disease: V. Ancillary Therapy and Supportive Care Working Group Report. *Biol Blood Marrow Transplant*, **12**, 375-396.
- Crooks, G.M., Weinberg, K. & Mackall, C. (2006) Immune reconstitution: from stem cells to lymphocytes. *Biol Blood Marrow Transplant*, **12**, 42-46.
- Cutler, C., Miklos, D., Kim, H.T., Treister, N., Woo, S.B., Bienfang, D., Klickstein, L.B., Levin, J., Miller, K., Reynolds, C., Macdonell, R., Pasek, M., Lee, S.J., Ho, V., Soiffer, R., Antin, J.H., Ritz, J. & Alyea, E. (2006) Rituximab for steroid-refractory chronic graft-versus-host disease. *Blood*, **108**, 756-762.
- D'Cruz, L.M. & Klein, L. (2005) Development and function of agonist-induced CD25+Foxp3+ regulatory T cells in the absence of interleukin 2 signaling. *Nat Immunol*, **6**, 1152-1159.
- De Koning, J., Van Bekkum, D.W., Dicke, K.A., Dooren, L.J., Radl, J. & Van Rood, J.J. (1969) Transplantation of bone-marrow cells and fetal thymus in an infant with lymphopenic immunological deficiency. *Lancet*, **1**, 1223-1227.
- de la Fuente, M.A., Sasahara, Y., Calamito, M., Anton, I.M., Elkhail, A., Gallego, M.D., Suresh, K., Siminovitch, K., Ochs, H.D., Anderson, K.C., Rosen, F.S., Geha, R.S. & Ramesh, N. (2007) WIP is a chaperone for Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP). *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**, 926-931.
- de Noronha, S., Hardy, S., Sinclair, J., Blundell, M.P., Strid, J., Schulz, O., Zwirner, J., Jones, G.E., Katz, D.R., Kinnon, C. & Thrasher, A.J. (2005) Impaired dendritic-cell homing in vivo in the absence of Wiskott-Aldrich syndrome protein. *Blood*, **105**, 1590-1597.

- Derry, J.M., Ochs, H.D. & Francke, U. (1994) Isolation of a novel gene mutated in Wiskott-Aldrich syndrome. *Cell*, **78**, 635-644.
- Devriendt, K., Kim, A.S., Mathijs, G., Frints, S.G., Schwartz, M., Van Den Oord, J.J., Verhoef, G.E., Boogaerts, M.A., Fryns, J.P., You, D., Rosen, M.K. & Vandenberghe, P. (2001) Constitutively activating mutation in WASP causes X-linked severe congenital neutropenia. *Nat Genet*, **27**, 313-317.
- Dickinson, A.M. & Holler, E. (2008) Polymorphisms of cytokine and innate immunity genes and GVHD. *Best Pract Res Clin Haematol*, **21**, 149-164.
- Douek, D.C., Vescio, R.A., Betts, M.R., Brenchley, J.M., Hill, B.J., Zhang, L., Berenson, J.R., Collins, R.H. & Koup, R.A. (2000) Assessment of thymic output in adults after haematopoietic stem-cell transplantation and prediction of T-cell reconstitution. *Lancet*, **355**, 1875-1881.
- Dujardin, H.C., Burlen-Defranoux, O., Boucontet, L., Vieira, P., Cumano, A. & Bandeira, A. (2004) Regulatory potential and control of Foxp3 expression in newborn CD4+ T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **101**, 14473-14478.
- Dupre, L., Aiuti, A., Trifari, S., Martino, S., Saracco, P., Bordignon, C. & Roncarolo, M.G. (2002) Wiskott-Aldrich syndrome protein regulates lipid raft dynamics during immunological synapse formation. *Immunity*, **17**, 157-166.
- Dupuis-Girod, S., Medioni, J., Haddad, E., Quartier, P., Cavazzana-Calvo, M., Le Deist, F., de Saint Basile, G., Delaunay, J., Schwarz, K., Casanova, J.L., Blanche, S. & Fischer, A. (2003) Autoimmunity in Wiskott-Aldrich syndrome: risk factors, clinical features, and outcome in a single-center cohort of 55 patients. *Pediatrics*, **111**, e622-627.
- Epstein, R.B., Storb, R., Ragde, H. & Thomas, E.D. (1968) Cytotoxic typing antisera for marrow grafting in littermate dogs. *Transplantation*, **6**, 45-58.
- Facchetti, F., Blanzuoli, L., Vermi, W., Notarangelo, L.D., Giliani, S., Fiorini, M., Fasth, A., Stewart, D.M. & Nelson, D.L. (1998) Defective actin polymerization in EBV-transformed B-cell lines from patients with the Wiskott-Aldrich syndrome. *J Pathol*, **185**, 99-107.
- Ferrara, J.L. & Reddy, P. (2006) Pathophysiology of graft-versus-host disease. *Semin Hematol*, **43**, 3-10.
- Filipovich, A.H., Stone, J.V., Tomany, S.C., Ireland, M., Kollman, C., Pelz, C.J., Casper, J.T., Cowan, M.J., Edwards, J.R., Fasth, A., Gale, R.P., Junker, A., Kamani, N.R., Loechelt, B.J., Pietryga, D.W., Ringden, O., Vowels, M., Hegland, J., Williams, A.V., Klein, J.P., Sobocinski, K.A., Rowlings, P.A. & Horowitz, M.M. (2001) Impact of donor type on outcome of bone marrow transplantation for Wiskott-Aldrich syndrome: collaborative study of the International Bone Marrow Transplant Registry and the National Marrow Donor Program. *Blood*, **97**, 1598-1603.
- Filipovich, A.H., Weisdorf, D., Pavletic, S., Socie, G., Wingard, J.R., Lee, S.J., Martin, P., Chien, J., Przepioraka, D., Couriel, D., Cowen, E.W., Dinndorf, P., Farrell, A., Hartzman, R., Henslee-Downey, J., Jacobsohn, D., McDonald, G., Mittleman, B., Rizzo, J.D., Robinson, M., Schubert, M., Schultz, K., Shulman, H., Turner, M., Vogelsang, G. & Flowers, M.E. (2005) National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host

- disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*, **11**, 945-956.
- Fisson, S., Darrasse-Jeze, G., Litvinova, E., Septier, F., Klatzmann, D., Liblau, R. & Salomon, B.L. (2003) Continuous activation of autoreactive CD4+ CD25+ regulatory T cells in the steady state. *J Exp Med*, **198**, 737-746.
- Fontenot, J.D., Dooley, J.L., Farr, A.G. & Rudensky, A.Y. (2005a) Developmental regulation of Foxp3 expression during ontogeny. *J Exp Med*, **202**, 901-906.
- Fontenot, J.D., Gavin, M.A. & Rudensky, A.Y. (2003) Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol*, **4**, 330-336.
- Fontenot, J.D., Rasmussen, J.P., Gavin, M.A. & Rudensky, A.Y. (2005b) A function for interleukin 2 in Foxp3-expressing regulatory T cells. *Nat Immunol*, **6**, 1142-1151.
- Gallego, M.D., de la Fuente, M.A., Anton, I.M., Snapper, S., Fuhlbrigge, R. & Geha, R.S. (2006) WIP and WASP play complementary roles in T cell homing and chemotaxis to SDF-1alpha. *Int Immunol*, **18**, 221-232.
- Gallego, M.D., Santamaria, M., Pena, J. & Molina, I.J. (1997) Defective actin reorganization and polymerization of Wiskott-Aldrich T cells in response to CD3-mediated stimulation. *Blood*, **90**, 3089-3097.
- Gatti, R.A., Meuwissen, H.J., Allen, H.D., Hong, R. & Good, R.A. (1968) Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency. *Lancet*, **2**, 1366-1369.
- Gavin, M.A., Clarke, S.R., Negrou, E., Gallegos, A. & Rudensky, A. (2002) Homeostasis and energy of CD4(+)CD25(+) suppressor T cells in vivo. *Nat Immunol*, **3**, 33-41.
- Gavin, M.A., Rasmussen, J.P., Fontenot, J.D., Vasta, V., Manganiello, V.C., Beavo, J.A. & Rudensky, A.Y. (2007) Foxp3-dependent programme of regulatory T-cell differentiation. *Nature*, **445**, 771-775.
- Gavin, M.A., Torgerson, T.R., Houston, E., DeRoos, P., Ho, W.Y., Stray-Pedersen, A., Ocheltree, E.L., Greenberg, P.D., Ochs, H.D. & Rudensky, A.Y. (2006) Single-cell analysis of normal and FOXP3-mutant human T cells: FOXP3 expression without regulatory T cell development. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**, 6659-6664.
- Georges, G.E., Storb, R., Thompson, J.D., Yu, C., Gooley, T., Bruno, B. & Nash, R.A. (2000) Adoptive immunotherapy in canine mixed chimeras after nonmyeloablative hematopoietic cell transplantation. *Blood*, **95**, 3262-3269.
- Ghiringhelli, F., Menard, C., Terme, M., Flament, C., Taieb, J., Chaput, N., Puig, P.E., Novault, S., Escudier, B., Vivier, E., Lecesne, A., Robert, C., Blay, J.Y., Bernard, J., Caillat-Zucman, S., Freitas, A., Tursz, T., Wagner-Ballon, O., Capron, C., Vainchenker, W., Martin, F. & Zitvogel, L. (2005) CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit natural killer cell functions in a transforming growth factor-beta-dependent manner. *J Exp Med*, **202**, 1075-1085.
- Giralt, S. (2005) Reduced-Intensity Conditioning Regimens for Hematologic Malignancies: What Have We Learned over the Last 10 Years? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 384-389.
- Gismondi, A., Cifaldi, L., Mazza, C., Giliani, S., Parolini, S., Morrone, S., Jacobelli, J., Bandiera, E., Notarangelo, L. & Santoni, A. (2004) Impaired natural and CD16-mediated NK cell cytotoxicity in patients with WAS and XLT: ability of IL-2 to correct NK cell functional defect. *Blood*, **104**, 436-443.

- Gluckman, E., Broxmeyer, H.A., Auerbach, A.D., Friedman, H.S., Douglas, G.W., Devergie, A., Esperou, H., Thierry, D., Socie, G., Lehn, P. & et al. (1989) Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med*, **321**, 1174-1178.
- Goldman, J.M., Apperley, J.F., Jones, L., Marcus, R., Goolden, A.W., Batchelor, R., Hale, G., Waldmann, H., Reid, C.D., Hows, J. & et al. (1986) Bone marrow transplantation for patients with chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*, **314**, 202-207.
- Gondek, D.C., Lu, L.F., Quezada, S.A., Sakaguchi, S. & Noelle, R.J. (2005) Cutting edge: contact-mediated suppression by CD4+CD25+ regulatory cells involves a granzyme B-dependent, perforin-independent mechanism. *J Immunol*, **174**, 1783-1786.
- Gorelik, L. & Flavell, R.A. (2000) Abrogation of TGFbeta signaling in T cells leads to spontaneous T cell differentiation and autoimmune disease. *Immunity*, **12**, 171-181.
- Haddad, E., Zugaza, J.L., Louache, F., Debili, N., Crouin, C., Schwarz, K., Fischer, A., Vainchenker, W. & Bertoglio, J. (2001) The interaction between Cdc42 and WASP is required for SDF-1-induced T-lymphocyte chemotaxis. *Blood*, **97**, 33-38.
- Hahn, T., McCarthy, P.L., Jr., Zhang, M.J., Wang, D., Arora, M., Frangoul, H., Gale, R.P., Hale, G.A., Horan, J., Isola, L., Maziarz, R.T., van Rood, J.J., Gupta, V., Halter, J., Reddy, V., Tiberghien, P., Litzow, M., Anasetti, C., Pavletic, S. & Ringden, O. (2008) Risk factors for acute graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia. *J Clin Oncol*, **26**, 5728-5734.
- Hakim, F.T., Memon, S.A., Cepeda, R., Jones, E.C., Chow, C.K., Kasten-Sportes, C., Odom, J., Vance, B.A., Christensen, B.L., Mackall, C.L. & Gress, R.E. (2005) Age-dependent incidence, time course, and consequences of thymic renewal in adults. *J Clin Invest*, **115**, 930-939.
- Ho, H.Y., Rohatgi, R., Lebensohn, A.M., Le, M., Li, J., Gygi, S.P. & Kirschner, M.W. (2004) Toca-1 mediates Cdc42-dependent actin nucleation by activating the N-WASP-WIP complex. *Cell*, **118**, 203-216.
- Ho, V.T. & Soiffer, R.J. (2001) The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, **98**, 3192-3204.
- Horak, I., Lohler, J., Ma, A. & Smith, K.A. (1995) Interleukin-2 deficient mice: a new model to study autoimmunity and self-tolerance. *Immunol Rev*, **148**, 35-44.
- Hori, S., Nomura, T. & Sakaguchi, S. (2003) Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, **299**, 1057-1061.
- Horowitz, M.M., Gale, R.P., Sondel, P.M., Goldman, J.M., Kersey, J., Kolb, H.J., Rimm, A.A., Ringden, O., Rozman, C., Speck, B. & et al. (1990) Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood*, **75**, 555-562.
- Horwitz, D.A., Zheng, S.G. & Gray, J.D. (2008) Natural and TGF-beta-induced Foxp3(+)/CD4(+)/CD25(+) regulatory T cells are not mirror images of each other. *Trends Immunol*, **29**, 429-435.



- Hsieh, C.S., Zheng, Y., Liang, Y., Fontenot, J.D. & Rudensky, A.Y. (2006) An intersection between the self-reactive regulatory and nonregulatory T cell receptor repertoires. *Nat Immunol*, **7**, 401-410.
- Huang, W., Ochs, H.D., Dupont, B. & Vyas, Y.M. (2005) The Wiskott-Aldrich syndrome protein regulates nuclear translocation of NFAT2 and NF-kappa B (RelA) independently of its role in filamentous actin polymerization and actin cytoskeletal rearrangement. *J Immunol*, **174**, 2602-2611.
- Huehn, J., Siegmund, K., Lehmann, J.C., Siewert, C., Haubold, U., Feuerer, M., Debes, G.F., Lauber, J., Frey, O., Przybylski, G.K., Niesner, U., de la Rosa, M., Schmidt, C.A., Brauer, R., Buer, J., Scheffold, A. & Hamann, A. (2004) Developmental stage, phenotype, and migration distinguish naive- and effector/memory-like CD4+ regulatory T cells. *J Exp Med*, **199**, 303-313.
- Imai, K., Morio, T., Zhu, Y., Jin, Y., Itoh, S., Kajiwara, M., Yata, J., Mizutani, S., Ochs, H.D. & Nonoyama, S. (2004) Clinical course of patients with WASP gene mutations. *Blood*, **103**, 456-464.
- Ito, T., Hanabuchi, S., Wang, Y.H., Park, W.R., Arima, K., Bover, L., Qin, F.X., Gilliet, M. & Liu, Y.J. (2008) Two functional subsets of FOXP3+ regulatory T cells in human thymus and periphery. *Immunity*, **28**, 870-880.
- Jacobson, L.O., Simmons, E.L., Marks, E.K. & Eldredge, J.H. (1951) Recovery from radiation injury. *Science*, **113**, 510-511.
- Jin, Y., Mazza, C., Christie, J.R., Giliani, S., Fiorini, M., Mella, P., Gandellini, F., Stewart, D.M., Zhu, Q., Nelson, D.L., Notarangelo, L.D. & Ochs, H.D. (2004) Mutations of the Wiskott-Aldrich Syndrome Protein (WASP): hotspots, effect on transcription, and translation and phenotype/genotype correlation. *Blood*, **104**, 4010-4019.
- Kenney, D., Cairns, L., Remold-O'Donnell, E., Peterson, J., Rosen, F.S. & Parkman, R. (1986) Morphological abnormalities in the lymphocytes of patients with the Wiskott-Aldrich syndrome. *Blood*, **68**, 1329-1332.
- Khattri, R., Cox, T., Yasayko, S.A. & Ramsdell, F. (2003) An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells. *Nat Immunol*, **4**, 337-342.
- Khouri, I.F., Lee, M.S., Saliba, R.M., Andersson, B., Anderlini, P., Couriel, D., Hosing, C., Giralt, S., Korbling, M., McMannis, J., Keating, M.J. & Champlin, R.E. (2004) Nonablative allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: impact of rituximab on immunomodulation and survival. *Exp Hematol*, **32**, 28-35.
- Kim, A.S., Kakalis, L.T., Abdul-Manan, N., Liu, G.A. & Rosen, M.K. (2000) Autoinhibition and activation mechanisms of the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *Nature*, **404**, 151-158.
- Kim, J.M., Rasmussen, J.P. & Rudensky, A.Y. (2007) Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice. *Nat Immunol*, **8**, 191-197.
- Kingsley, C.I., Karim, M., Bushell, A.R. & Wood, K.J. (2002) CD25+CD4+ regulatory T cells prevent graft rejection: CTLA-4- and IL-10-dependent immunoregulation of alloresponses. *J Immunol*, **168**, 1080-1086.

- Klein, L., Khazaie, K. & von Boehmer, H. (2003) In vivo dynamics of antigen-specific regulatory T cells not predicted from behavior in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**, 8886-8891.
- Kleinewietfeld, M., Puentes, F., Borsellino, G., Battistini, L., Rotzschke, O. & Falk, K. (2005) CCR6 expression defines regulatory effector/memory-like cells within the CD25(+)CD4+ T-cell subset. *Blood*, **105**, 2877-2886.
- Kolb, H.J. (2008) Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood*, **112**, 4371-4383.
- Kolb, H.J., Schmid, C., Barrett, A.J. & Schendel, D.J. (2004) Graft-versus-leukemia reactions in allogeneic chimeras. *Blood*, **103**, 767-776.
- Krzewski, K., Chen, X., Orange, J.S. & Strominger, J.L. (2006) Formation of a WIP-, WASp-, actin-, and myosin IIA-containing multiprotein complex in activated NK cells and its alteration by KIR inhibitory signaling. *J Cell Biol*, **173**, 121-132.
- Krzewski, K., Chen, X. & Strominger, J.L. (2008) WIP is essential for lytic granule polarization and NK cell cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **105**, 2568-2573.
- Lahl, K., Loddenkemper, C., Drouin, C., Freyer, J., Arnason, J., Eberl, G., Hamann, A., Wagner, H., Huehn, J. & Sparwasser, T. (2007) Selective depletion of Foxp3+ regulatory T cells induces a scurfy-like disease. *J Exp Med*, **204**, 57-63.
- Le Blanc, K., Frassoni, F., Ball, L., Locatelli, F., Roelofs, H., Lewis, I., Lanino, E., Sundberg, B., Bernardo, M.E., Remberger, M., Dini, G., Egeler, R.M., Bacigalupo, A., Fibbe, W. & Ringden, O. (2008) Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet*, **371**, 1579-1586.
- Lee, S.J. & Flowers, M.E. (2008) Recognizing and managing chronic graft-versus-host disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, **2008**, 134-141.
- Lehmann, J., Huehn, J., de la Rosa, M., Maszyra, F., Kretschmer, U., Krenn, V., Brunner, M., Scheffold, A. & Hamann, A. (2002) Expression of the integrin alpha Ebeta 7 identifies unique subsets of CD25+ as well as CD25- regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**, 13031-13036.
- Leverrier, Y., Lorenzi, R., Blundell, M.P., Brickell, P., Kinnon, C., Ridley, A.J. & Thrasher, A.J. (2001) Cutting edge: the Wiskott-Aldrich syndrome protein is required for efficient phagocytosis of apoptotic cells. *J Immunol*, **166**, 4831-4834.
- Li, M.O., Sanjabi, S. & Flavell, R.A. (2006) Transforming growth factor-beta controls development, homeostasis, and tolerance of T cells by regulatory T cell-dependent and -independent mechanisms. *Immunity*, **25**, 455-471.
- Li, M.O., Wan, Y.Y. & Flavell, R.A. (2007) T cell-produced transforming growth factor-beta1 controls T cell tolerance and regulates Th1- and Th17-cell differentiation. *Immunity*, **26**, 579-591.
- Lim, H.W., Hillsamer, P., Banham, A.H. & Kim, C.H. (2005) Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4+ CD25+ regulatory T cells. *J Immunol*, **175**, 4180-4183.
- Lim, H.W., Hillsamer, P. & Kim, C.H. (2004) Regulatory T cells can migrate to follicles upon T cell activation and suppress GC-Th cells and GC-Th cell-driven B cell responses. *J Clin Invest*, **114**, 1640-1649.

- Lin, W., Haribhai, D., Relland, L.M., Truong, N., Carlson, M.R., Williams, C.B. & Chatila, T.A. (2007) Regulatory T cell development in the absence of functional Foxp3. *Nat Immunol*, **8**, 359-368.
- Linder, S., Nelson, D., Weiss, M. & Aepfelbacher, M. (1999) Wiskott-Aldrich syndrome protein regulates podosomes in primary human macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**, 9648-9653.
- Liston, A. & Rudensky, A.Y. (2007) Thymic development and peripheral homeostasis of regulatory T cells. *Curr Opin Immunol*, **19**, 176-185.
- Little, M.T. & Storb, R. (2002) History of haematopoietic stem-cell transplantation. *Nat Rev Cancer*, **2**, 231-238.
- Litzman, J., Jones, A., Hann, I., Chapel, H., Strobel, S. & Morgan, G. (1996) Intravenous immunoglobulin, splenectomy, and antibiotic prophylaxis in Wiskott-Aldrich syndrome. *Arch Dis Child*, **75**, 436-439.
- Liu, W., Putnam, A.L., Xu-Yu, Z., Szot, G.L., Lee, M.R., Zhu, S., Gottlieb, P.A., Kapranov, P., Gingeras, T.R., Fazekas de St Groth, B., Clayberger, C., Soper, D.M., Ziegler, S.F. & Bluestone, J.A. (2006) CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *J Exp Med*, **203**, 1701-1711.
- Lopes, J.E., Torgerson, T.R., Schubert, L.A., Anover, S.D., Ocheltree, E.L., Ochs, H.D. & Ziegler, S.F. (2006) Analysis of FOXP3 reveals multiple domains required for its function as a transcriptional repressor. *J Immunol*, **177**, 3133-3142.
- Lorenz, E., Uphoff, D., Reid, T.R. & Shelton, E. (1951) Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections. *J Natl Cancer Inst*, **12**, 197-201.
- Lorenzi, R., Brickell, P.M., Katz, D.R., Kinnon, C. & Thrasher, A.J. (2000) Wiskott-Aldrich syndrome protein is necessary for efficient IgG-mediated phagocytosis. *Blood*, **95**, 2943-2946.
- Lucas, P.J., Kim, S.J., Melby, S.J. & Gress, R.E. (2000) Disruption of T cell homeostasis in mice expressing a T cell-specific dominant negative transforming growth factor beta II receptor. *J Exp Med*, **191**, 1187-1196.
- Maillard, M.H., Cotta-de-Almeida, V., Takeshima, F., Nguyen, D.D., Michetti, P., Nagler, C., Bhan, A.K. & Snapper, S.B. (2007) The Wiskott-Aldrich syndrome protein is required for the function of CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells. *J Exp Med*, **204**, 381-391.
- Majstoravich, S., Zhang, J., Nicholson-Dykstra, S., Linder, S., Friedrich, W., Siminovitch, K.A. & Higgs, H.N. (2004) Lymphocyte microvilli are dynamic, actin-dependent structures that do not require Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASp) for their morphology. *Blood*, **104**, 1396-1403.
- Marangoni, F., Trifari, S., Scaramuzza, S., Panaroni, C., Martino, S., Notarangelo, L.D., Baz, Z., Metin, A., Cattaneo, F., Villa, A., Aiuti, A., Battaglia, M., Roncarolo, M.G. & Dupre, L. (2007) WASP regulates suppressor activity of human and murine CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) natural regulatory T cells. *J Exp Med*, **204**, 369-380.
- Marie, J.C., Liggitt, D. & Rudensky, A.Y. (2006) Cellular mechanisms of fatal early-onset autoimmunity in mice with the T cell-specific targeting of transforming growth factor-beta receptor. *Immunity*, **25**, 441-454.

- Maris, M., Boeckh, M., Storer, B., Dawson, M., White, K., Keng, M., Sandmaier, B., Maloney, D., Storb, R. & Storek, J. (2003a) Immunologic recovery after hematopoietic cell transplantation with nonmyeloablative conditioning. *Exp Hematol*, **31**, 941-952.
- Maris, M.B., Niederwieser, D., Sandmaier, B.M., Storer, B., Stuart, M., Maloney, D., Petersdorf, E., McSweeney, P., Pulsipher, M., Woolfrey, A., Chauncey, T., Agura, E., Heimfeld, S., Slattery, J., Hegenbart, U., Anasetti, C., Blume, K. & Storb, R. (2003b) HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning for patients with hematologic malignancies. *Blood*, **102**, 2021-2030.
- Marson, A., Kretschmer, K., Frampton, G.M., Jacobsen, E.S., Polansky, J.K., MacIsaac, K.D., Levine, S.S., Fraenkel, E., von Boehmer, H. & Young, R.A. (2007) Foxp3 occupancy and regulation of key target genes during T-cell stimulation. *Nature*, **445**, 931-935.
- McSweeney, P.A., Niederwieser, D., Shizuru, J.A., Sandmaier, B.M., Molina, A.J., Maloney, D.G., Chauncey, T.R., Gooley, T.A., Hegenbart, U., Nash, R.A., Radich, J., Wagner, J.L., Minor, S., Appelbaum, F.R., Bensinger, W.I., Bryant, E., Flowers, M.E., Georges, G.E., Grumet, F.C., Kiem, H.P., Torok-Storb, B., Yu, C., Blume, K.G. & Storb, R.F. (2001) Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood*, **97**, 3390-3400.
- Meignin, V., Peffault de Latour, R., Zuber, J., Regnault, A., Mounier, N., Lemaitre, F., Dastot, H., Itzykson, R., Devergie, A., Cumano, A., Gluckman, E., Janin, A., Bandeira, A. & Socie, G. (2005) Numbers of Foxp3-expressing CD4+CD25high T cells do not correlate with the establishment of long-term tolerance after allogeneic stem cell transplantation. *Exp Hematol*, **33**, 894-900.
- Meyer-Bahlburg, A., Becker-Herman, S., Humblet-Baron, S., Khim, S., Weber, M., Bouma, G., Thrasher, A.J., Batista, F.D. & Rawlings, D.J. (2008) Wiskott-Aldrich syndrome protein deficiency in B cells results in impaired peripheral homeostasis. *Blood*, **112**, 4158-4169.
- Mielke, S., Rezvani, K., Savani, B.N., Nunes, R., Yong, A.S., Schindler, J., Kurlander, R., Ghetie, V., Read, E.J., Solomon, S.R., Vitetta, E.S. & Barrett, A.J. (2007) Reconstitution of FOXP3+ regulatory T cells (Tregs) after CD25-depleted allotransplantation in elderly patients and association with acute graft-versus-host disease. *Blood*, **110**, 1689-1697.
- Miklos, D.B., Kim, H.T., Miller, K.H., Guo, L., Zorn, E., Lee, S.J., Hochberg, E.P., Wu, C.J., Alyea, E.P., Cutler, C., Ho, V., Soiffer, R.J., Antin, J.H. & Ritz, J. (2005) Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission. *Blood*, **105**, 2973-2978.
- Misra, N., Bayry, J., Lacroix-Desmazes, S., Kazatchkine, M.D. & Kaveri, S.V. (2004) Cutting edge: human CD4+CD25+ T cells restrain the maturation and antigen-presenting function of dendritic cells. *J Immunol*, **172**, 4676-4680.
- Miura, Y., Thoburn, C.J., Bright, E.C., Phelps, M.L., Shin, T., Matsui, E.C., Matsui, W.H., Arai, S., Fuchs, E.J., Vogelsang, G.B., Jones, R.J. & Hess, A.D. (2004) Association of Foxp3 regulatory gene expression with graft-versus-host disease. *Blood*, **104**, 2187-2193.

- Miyara, M. & Sakaguchi, S. (2007) Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression. *Trends Mol Med*, **13**, 108-116.
- Molina, I.J., Kenney, D.M., Rosen, F.S. & Remold-O'Donnell, E. (1992) T cell lines characterize events in the pathogenesis of the Wiskott-Aldrich syndrome. *J Exp Med*, **176**, 867-874.
- Molina, I.J., Sancho, J., Terhorst, C., Rosen, F.S. & Remold-O'Donnell, E. (1993) T cells of patients with the Wiskott-Aldrich syndrome have a restricted defect in proliferative responses. *J Immunol*, **151**, 4383-4390.
- Morales-Tirado, V., Johansson, S., Hanson, E., Howell, A., Zhang, J., Siminovitch, K.A. & Fowell, D.J. (2004) Cutting edge: selective requirement for the Wiskott-Aldrich syndrome protein in cytokine, but not chemokine, secretion by CD4+ T cells. *J Immunol*, **173**, 726-730.
- Moulding, D.A., Blundell, M.P., Spiller, D.G., White, M.R., Cory, G.O., Calle, Y., Kempinski, H., Sinclair, J., Ancliff, P.J., Kinnon, C., Jones, G.E. & Thrasher, A.J. (2007) Unregulated actin polymerization by WASp causes defects of mitosis and cytokinesis in X-linked neutropenia. *J Exp Med*, **204**, 2213-2224.
- Mullen, C.A., Anderson, K.D. & Blaese, R.M. (1993) Splenectomy and/or bone marrow transplantation in the management of the Wiskott-Aldrich syndrome: long-term follow-up of 62 cases. *Blood*, **82**, 2961-2966.
- Nakamura, K., Kitani, A. & Strober, W. (2001) Cell contact-dependent immunosuppression by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells is mediated by cell surface-bound transforming growth factor beta. *J Exp Med*, **194**, 629-644.
- Nishizuka, Y. & Sakakura, T. (1969) Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice. *Science*, **166**, 753-755.
- Ochs, H.D., Filipovich, A.H., Veys, P., Cowan, M.J. & Kapoor, N. (2008) Wiskott-Aldrich syndrome: diagnosis, clinical and laboratory manifestations, and treatment. *Biol Blood Marrow Transplant*, **15**, 84-90.
- Ochs, H.D., Slichter, S.J., Harker, L.A., Von Behrens, W.E., Clark, R.A. & Wedgwood, R.J. (1980) The Wiskott-Aldrich syndrome: studies of lymphocytes, granulocytes, and platelets. *Blood*, **55**, 243-252.
- Ochs, H.D. & Thrasher, A.J. (2006) The Wiskott-Aldrich syndrome. *J Allergy Clin Immunol*, **117**, 725-738; quiz 739.
- Ono, M., Yaguchi, H., Ohkura, N., Kitabayashi, I., Nagamura, Y., Nomura, T., Miyachi, Y., Tsukada, T. & Sakaguchi, S. (2007) Foxp3 controls regulatory T-cell function by interacting with AML1/Runx1. *Nature*, **446**, 685-689.
- Orange, J.S., Ramesh, N., Remold-O'Donnell, E., Sasahara, Y., Koopman, L., Byrne, M., Bonilla, F.A., Rosen, F.S., Geha, R.S. & Strominger, J.L. (2002) Wiskott-Aldrich syndrome protein is required for NK cell cytotoxicity and colocalizes with actin to NK cell-activating immunologic synapses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**, 11351-11356.
- Ozsahin, H., Cavazzana-Calvo, M., Notarangelo, L.D., Schulz, A., Thrasher, A.J., Mazzolari, E., Slatter, M.A., Le Deist, F., Blanche, S., Veys, P., Fasth, A., Bredius, R., Sedlacek, P., Wulffraat, N., Ortega, J., Heilmann, C., O'Meara, A., Wachowiak, J., Kalwak, K., Matthes-Martin, S., Gungor, T., Ikinogullari, A., Landais, P., Cant, A.J., Friedrich, W. & Fischer, A. (2008) Long-term outcome following hematopoietic stem-cell transplantation in Wiskott-Aldrich syndrome:

- collaborative study of the European Society for Immunodeficiencies and European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood*, **111**, 439-445.
- Pabst, C., Schirutschke, H., Ehninger, G., Bornhauser, M. & Platzbecker, U. (2007) The graft content of donor T cells expressing gamma delta TCR+ and CD4+foxp3+ predicts the risk of acute graft versus host disease after transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells from unrelated donors. *Clin Cancer Res*, **13**, 2916-2922.
- Park, J.Y., Kob, M., Prodeus, A.P., Rosen, F.S., Shcherbina, A. & Remold-O'Donnell, E. (2004) Early deficit of lymphocytes in Wiskott-Aldrich syndrome: possible role of WASP in human lymphocyte maturation. *Clin Exp Immunol*, **136**, 104-110.
- Pasare, C. & Medzhitov, R. (2003) Toll pathway-dependent blockade of CD4+CD25+ T cell-mediated suppression by dendritic cells. *Science*, **299**, 1033-1036.
- Penhale, W.J., Farmer, A., McKenna, R.P. & Irvine, W.J. (1973) Spontaneous thyroiditis in thymectomized and irradiated Wistar rats. *Clin Exp Immunol*, **15**, 225-236.
- Penhale, W.J., Irvine, W.J., Inglis, J.R. & Farmer, A. (1976) Thyroiditis in T cell-depleted rats: suppression of the autoallergic response by reconstitution with normal lymphoid cells. *Clin Exp Immunol*, **25**, 6-16.
- Piccirillo, C.A., Letterio, J.J., Thornton, A.M., McHugh, R.S., Mamura, M., Mizuhara, H. & Shevach, E.M. (2002) CD4(+)CD25(+) regulatory T cells can mediate suppressor function in the absence of transforming growth factor beta1 production and responsiveness. *J Exp Med*, **196**, 237-246.
- Pillai, V., Ortega, S.B., Wang, C.K. & Karandikar, N.J. (2007) Transient regulatory T-cells: a state attained by all activated human T-cells. *Clin Immunol*, **123**, 18-29.
- Poulin, J.F., Sylvestre, M., Champagne, P., Dion, M.L., Kettaf, N., Dumont, A., Lainesse, M., Fontaine, P., Roy, D.C., Perreault, C., Sekaly, R.P. & Cheynier, R. (2003) Evidence for adequate thymic function but impaired naive T-cell survival following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in the absence of chronic graft-versus-host disease. *Blood*, **102**, 4600-4607.
- Powell, B.R., Buist, N.R. & Stenzel, P. (1982) An X-linked syndrome of diarrhea, polyendocrinopathy, and fatal infection in infancy. *J Pediatr*, **100**, 731-737.
- Prislovsky, A., Marathe, B., Hosni, A., Bolen, A.L., Nimmerjahn, F., Jackson, C.W., Weiman, D. & Strom, T.S. (2008) Rapid platelet turnover in WASP(-) mice correlates with increased ex vivo phagocytosis of opsonized WASP(-) platelets. *Exp Hematol*, **36**, 609-623.
- Pulecio, J., Tagliani, E., Scholer, A., Prete, F., Fetler, L., Burrone, O.R. & Benvenuti, F. (2008) Expression of Wiskott-Aldrich syndrome protein in dendritic cells regulates synapse formation and activation of naive CD8+ T cells. *J Immunol*, **181**, 1135-1142.
- Randolph, S.S., Gooley, T.A., Warren, E.H., Appelbaum, F.R. & Riddell, S.R. (2004) Female donors contribute to a selective graft-versus-leukemia effect in male recipients of HLA-matched, related hematopoietic stem cell transplants. *Blood*, **103**, 347-352.
- Riddell, S.R., Bleakley, M., Nishida, T., Berger, C. & Warren, E.H. (2006) Adoptive transfer of allogeneic antigen-specific T cells. *Biol Blood Marrow Transplant*, **12**, 9-12.

- Rieger, K., Loddenkemper, C., Maul, J., Fietz, T., Wolff, D., Terpe, H., Steiner, B., Berg, E., Miehle, S., Bornhauser, M., Schneider, T., Zeitz, M., Stein, H., Thiel, E., Duchmann, R. & Uharek, L. (2006) Mucosal FOXP3+ regulatory T cells are numerically deficient in acute and chronic GvHD. *Blood*, **107**, 1717-1723.
- Rodrigues, C.A., Sanz, G., Brunstein, C.G., Sanz, J., Wagner, J.E., Renaud, M., de Lima, M., Cairo, M.S., Furst, S., Rio, B., Dalley, C., Carreras, E., Harousseau, J.L., Mohty, M., Taveira, D., Dreger, P., Sureda, A., Gluckman, E. & Rocha, V. (2009) Analysis of risk factors for outcomes after unrelated cord blood transplantation in adults with lymphoid malignancies: a study by the Eurocord-Netcord and lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *J Clin Oncol*, **27**, 256-263.
- Roncarolo, M.G. & Battaglia, M. (2007) Regulatory T-cell immunotherapy for tolerance to self antigens and alloantigens in humans. *Nat Rev Immunol*, **7**, 585-598.
- Ruggeri, L., Capanni, M., Urbani, E., Perruccio, K., Shlomchik, W.D., Tosti, A., Posati, S., Rogaia, D., Frassoni, F., Aversa, F., Martelli, M.F. & Velardi, A. (2002) Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*, **295**, 2097-2100.
- Ruggeri, L., Mancusi, A., Capanni, M., Urbani, E., Carotti, A., Aloisi, T., Stern, M., Pende, D., Perruccio, K., Burchielli, E., Topini, F., Bianchi, E., Aversa, F., Martelli, M.F. & Velardi, A. (2007) Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood*, **110**, 433-440.
- Russell, W.L., Russell, L.B. & Gower, J.S. (1959) Exceptional Inheritance of a Sex-Linked Gene in the Mouse Explained on the Basis That the X/O Sex-Chromosome Constitution Is Female. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **45**, 554-560.
- Sabri, S., Foudi, A., Boukour, S., Franc, B., Charrier, S., Jandrot-Perrus, M., Farndale, R.W., Jalil, A., Blundell, M.P., Cramer, E.M., Louache, F., Debili, N., Thrasher, A.J. & Vainchenker, W. (2006) Deficiency in the Wiskott-Aldrich protein induces premature proplatelet formation and platelet production in the bone marrow compartment. *Blood*, **108**, 134-140.
- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M., Itoh, M. & Toda, M. (1995) Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol*, **155**, 1151-1164.
- Sakaguchi, S., Takahashi, T. & Nishizuka, Y. (1982) Study on cellular events in post-thymectomy autoimmune oophoritis in mice. II. Requirement of Lyt-1 cells in normal female mice for the prevention of oophoritis. *J Exp Med*, **156**, 1577-1586.
- Salomon, B., Lenschow, D.J., Rhee, L., Ashourian, N., Singh, B., Sharpe, A. & Bluestone, J.A. (2000) B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4+CD25+ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity*, **12**, 431-440.
- Sanchez, J., Casano, J., Alvarez, M.A., Roman-Gomez, J., Martin, C., Martinez, F., Gomez, P., Serrano, J., Herrera, C. & Torres, A. (2004) Kinetic of regulatory CD25high and activated CD134+ (OX40) T lymphocytes during acute and chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Br J Haematol*, **126**, 697-703.

- Sasahara, Y., Rachid, R., Byrne, M.J., de la Fuente, M.A., Abraham, R.T., Ramesh, N. & Geha, R.S. (2002) Mechanism of recruitment of WASP to the immunological synapse and of its activation following TCR ligation. *Mol Cell*, **10**, 1269-1281.
- Sather, B.D., Treuting, P., Perdue, N., Miazgowicz, M., Fontenot, J.D., Rudensky, A.Y. & Campbell, D.J. (2007) Altering the distribution of Foxp3(+) regulatory T cells results in tissue-specific inflammatory disease. *J Exp Med*, **204**, 1335-1347.
- Sawitzki, B., Kingsley, C.I., Oliveira, V., Karim, M., Herber, M. & Wood, K.J. (2005) IFN-gamma production by alloantigen-reactive regulatory T cells is important for their regulatory function in vivo. *J Exp Med*, **201**, 1925-1935.
- Seddiki, N., Santner-Nanan, B., Martinson, J., Zaunders, J., Sasson, S., Landay, A., Solomon, M., Selby, W., Alexander, S.I., Nanan, R., Kelleher, A. & Fazekas de St Groth, B. (2006) Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. *J Exp Med*, **203**, 1693-1700.
- Setoguchi, R., Hori, S., Takahashi, T. & Sakaguchi, S. (2005) Homeostatic maintenance of natural Foxp3(+) CD25(+) CD4(+) regulatory T cells by interleukin (IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization. *J Exp Med*, **201**, 723-735.
- Shcherbina, A., Rosen, F.S. & Remold-O'Donnell, E. (1999) Pathological events in platelets of Wiskott-Aldrich syndrome patients. *Br J Haematol*, **106**, 875-883.
- Shull, M.M., Ormsby, I., Kier, A.B., Pawlowski, S., Diebold, R.J., Yin, M., Allen, R., Sidman, C., Proetzel, G., Calvin, D. & et al. (1992) Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature*, **359**, 693-699.
- Siegmund, K., Feuerer, M., Siewert, C., Ghani, S., Haubold, U., Dankof, A., Krenn, V., Schon, M.P., Scheffold, A., Lowe, J.B., Hamann, A., Syrbe, U. & Huehn, J. (2005) Migration matters: regulatory T-cell compartmentalization determines suppressive activity in vivo. *Blood*, **106**, 3097-3104.
- Sims, T.N., Soos, T.J., Xenias, H.S., Dubin-Thaler, B., Hofman, J.M., Waite, J.C., Cameron, T.O., Thomas, V.K., Varma, R., Wiggins, C.H., Sheetz, M.P., Littman, D.R. & Dustin, M.L. (2007) Opposing effects of PKCtheta and WASp on symmetry breaking and relocation of the immunological synapse. *Cell*, **129**, 773-785.
- Snapper, S.B., Meelu, P., Nguyen, D., Stockton, B.M., Bozza, P., Alt, F.W., Rosen, F.S., von Andrian, U.H. & Klein, C. (2005) WASP deficiency leads to global defects of directed leukocyte migration in vitro and in vivo. *J Leukoc Biol*, **77**, 993-998.
- Snapper, S.B., Rosen, F.S., Mizoguchi, E., Cohen, P., Khan, W., Liu, C.H., Hagemann, T.L., Kwan, S.P., Ferrini, R., Davidson, L., Bhan, A.K. & Alt, F.W. (1998) Wiskott-Aldrich syndrome protein-deficient mice reveal a role for WASP in T but not B cell activation. *Immunity*, **9**, 81-91.
- Stem-cell-trialists (2005) Allogeneic peripheral blood stem-cell compared with bone marrow transplantation in the management of hematologic malignancies: an individual patient data meta-analysis of nine randomized trials. *J Clin Oncol*, **23**, 5074-5087.
- Stephens, G.L., McHugh, R.S., Whitters, M.J., Young, D.A., Luxenberg, D., Carreno, B.M., Collins, M. & Shevach, E.M. (2004) Engagement of glucocorticoid-



- induced TNFR family-related receptor on effector T cells by its ligand mediates resistance to suppression by CD4+CD25+ T cells. *J Immunol*, **173**, 5008-5020.
- Storb, R., Deeg, H.J., Whitehead, J., Appelbaum, F., Beatty, P., Bensinger, W., Buckner, C.D., Clift, R., Doney, K., Farewell, V. & et al. (1986) Methotrexate and cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med*, **314**, 729-735.
- Storb, R., Rudolph, R.H. & Thomas, E.D. (1971) Marrow grafts between canine siblings matched by serotyping and mixed leukocyte culture. *J Clin Invest*, **50**, 1272-1275.
- Storb, R., Yu, C., Wagner, J.L., Deeg, H.J., Nash, R.A., Kiem, H.P., Leisenring, W. & Shulman, H. (1997) Stable mixed hematopoietic chimerism in DLA-identical littermate dogs given sublethal total body irradiation before and pharmacological immunosuppression after marrow transplantation. *Blood*, **89**, 3048-3054.
- Storek, J. (2008) Immunological reconstitution after hematopoietic cell transplantation - its relation to the contents of the graft. *Expert Opin Biol Ther*, **8**, 583-597.
- Sullivan, K.E., Mullen, C.A., Blaese, R.M. & Winkelstein, J.A. (1994) A multiinstitutional survey of the Wiskott-Aldrich syndrome. *J Pediatr*, **125**, 876-885.
- Sullivan, K.M. (2004) *Graft-vs.-host disease*. Blackwell, Oxford.
- Takahashi, T., Tagami, T., Yamazaki, S., Uede, T., Shimizu, J., Sakaguchi, N., Mak, T.W. & Sakaguchi, S. (2000) Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med*, **192**, 303-310.
- Takenawa, T. & Suetsugu, S. (2007) The WASP-WAVE protein network: connecting the membrane to the cytoskeleton. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **8**, 37-48.
- Tang, Q., Adams, J.Y., Penaranda, C., Melli, K., Piaggio, E., Sgouroudis, E., Piccirillo, C.A., Salomon, B.L. & Bluestone, J.A. (2008) Central role of defective interleukin-2 production in the triggering of islet autoimmune destruction. *Immunity*, **28**, 687-697.
- Tang, Q., Henriksen, K.J., Bi, M., Finger, E.B., Szot, G., Ye, J., Masteller, E.L., McDevitt, H., Bonyhadi, M. & Bluestone, J.A. (2004) In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes. *J Exp Med*, **199**, 1455-1465.
- Tang, Q., Henriksen, K.J., Boden, E.K., Tooley, A.J., Ye, J., Subudhi, S.K., Zheng, X.X., Strom, T.B. & Bluestone, J.A. (2003) Cutting edge: CD28 controls peripheral homeostasis of CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol*, **171**, 3348-3352.
- Thomas, E.D., Buckner, C.D., Banaji, M., Clift, R.A., Fefer, A., Flournoy, N., Goodell, B.W., Hickman, R.O., Lerner, K.G., Neiman, P.E., Sale, G.E., Sanders, J.E., Singer, J., Stevens, M., Storb, R. & Weiden, P.L. (1977) One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. *Blood*, **49**, 511-533.
- Thomas, E.D., Buckner, C.D., Clift, R.A., Fefer, A., Johnson, F.L., Neiman, P.E., Sale, G.E., Sanders, J.E., Singer, J.W., Shulman, H., Storb, R. & Weiden, P.L. (1979a) Marrow transplantation for acute nonlymphoblastic leukemia in first remission. *N Engl J Med*, **301**, 597-599.

- Thomas, E.D., Clift, R.A., Fefer, A., Appelbaum, F.R., Beatty, P., Bensinger, W.I., Buckner, C.D., Cheever, M.A., Deeg, H.J., Doney, K. & et al. (1986) Marrow transplantation for the treatment of chronic myelogenous leukemia. *Ann Intern Med*, **104**, 155-163.
- Thomas, E.D., Lochte, H.L., Jr., Lu, W.C. & Ferrebee, J.W. (1957) Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med*, **257**, 491-496.
- Thomas, E.D., Sanders, J.E., Flournoy, N., Johnson, F.L., Buckner, C.D., Clift, R.A., Fefer, A., Goodell, B.W., Storb, R. & Weiden, P.L. (1979b) Marrow transplantation for patients with acute lymphoblastic leukemia in remission. *Blood*, **54**, 468-476.
- Thomas, E.D., Storb, R., Clift, R.A., Fefer, A., Johnson, L., Neiman, P.E., Lerner, K.G., Glucksberg, H. & Buckner, C.D. (1975) Bone-marrow transplantation (second of two parts). *N Engl J Med*, **292**, 895-902.
- Thornton, A.M. & Shevach, E.M. (1998) CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production. *J Exp Med*, **188**, 287-296.
- Trifari, S., Sitia, G., Aiuti, A., Scaramuzza, S., Marangoni, F., Guidotti, L.G., Martino, S., Saracco, P., Notarangelo, L.D., Roncarolo, M.G. & Dupre, L. (2006) Defective Th1 cytokine gene transcription in CD4+ and CD8+ T cells from Wiskott-Aldrich syndrome patients. *J Immunol*, **177**, 7451-7461.
- Tsoi, M.S., Storb, R., Dobbs, S. & Thomas, E.D. (1981) Specific suppressor cells in graft-host tolerance of HLA-identical marrow transplantation. *Nature*, **292**, 355-357.
- Tsuboi, S. (2007) Requirement for a complex of Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP) with WASP interacting protein in podosome formation in macrophages. *J Immunol*, **178**, 2987-2995.
- Vermi, W., Blanzuoli, L., Kraus, M.D., Grigolato, P., Donato, F., Loffredo, G., Marino, C.E., Alberti, D., Notarangelo, L.D. & Facchetti, F. (1999) The spleen in the Wiskott-Aldrich syndrome: histopathologic abnormalities of the white pulp correlate with the clinical phenotype of the disease. *Am J Surg Pathol*, **23**, 182-191.
- Vukmanovic-Stejcic, M., Zhang, Y., Cook, J.E., Fletcher, J.M., McQuaid, A., Masters, J.E., Rustin, M.H., Taams, L.S., Beverley, P.C., Macallan, D.C. & Akbar, A.N. (2006) Human CD4+ CD25hi Foxp3+ regulatory T cells are derived by rapid turnover of memory populations in vivo. *J Clin Invest*, **116**, 2423-2433.
- Wada, T., Schurman, S.H., Garabedian, E.K., Yachie, A. & Candotti, F. (2005) Analysis of T-cell repertoire diversity in Wiskott-Aldrich syndrome. *Blood*, **106**, 3895-3897.
- Wada, T., Schurman, S.H., Otsu, M., Garabedian, E.K., Ochs, H.D., Nelson, D.L. & Candotti, F. (2001) Somatic mosaicism in Wiskott-Aldrich syndrome suggests in vivo reversion by a DNA slippage mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**, 8697-8702.
- Walker, M.R., Kasprovicz, D.J., Gersuk, V.H., Benard, A., Van Landeghen, M., Buckner, J.H. & Ziegler, S.F. (2003) Induction of FoxP3 and acquisition of T

- regulatory activity by stimulated human CD4+CD25- T cells. *J Clin Invest*, **112**, 1437-1443.
- Wan, Y.Y. & Flavell, R.A. (2007) Regulatory T-cell functions are subverted and converted owing to attenuated Foxp3 expression. *Nature*, **445**, 766-770.
- Wang, J., Ioan-Facsinay, A., van der Voort, E.I., Huizinga, T.W. & Toes, R.E. (2007) Transient expression of FOXP3 in human activated nonregulatory CD4+ T cells. *Eur J Immunol*, **37**, 129-138.
- Waterhouse, P., Penninger, J.M., Timms, E., Wakeham, A., Shahinian, A., Lee, K.P., Thompson, C.B., Griesser, H. & Mak, T.W. (1995) Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctl4. *Science*, **270**, 985-988.
- Weiden, P.L., Flournoy, N., Thomas, E.D., Prentice, R., Fefer, A., Buckner, C.D. & Storb, R. (1979) Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. *N Engl J Med*, **300**, 1068-1073.
- Weiden, P.L., Storb, R., Tsoi, M.S., Graham, T.C., Lerner, K.G. & Thomas, E.D. (1976) Infusion of donor lymphocytes into stable canine radiation chimeras: implications for mechanism of transplantation tolerance. *J Immunol*, **116**, 1212-1219.
- Weiden, P.L., Sullivan, K.M., Flournoy, N., Storb, R. & Thomas, E.D. (1981) Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med*, **304**, 1529-1533.
- Westerberg, L., Greicius, G., Snapper, S.B., Aspenstrom, P. & Severinson, E. (2001) Cdc42, Rac1, and the Wiskott-Aldrich syndrome protein are involved in the cytoskeletal regulation of B lymphocytes. *Blood*, **98**, 1086-1094.
- Westerberg, L., Larsson, M., Hardy, S.J., Fernandez, C., Thrasher, A.J. & Severinson, E. (2005) Wiskott-Aldrich syndrome protein deficiency leads to reduced B-cell adhesion, migration, and homing, and a delayed humoral immune response. *Blood*, **105**, 1144-1152.
- Westerberg, L.S., de la Fuente, M.A., Wermeling, F., Ochs, H.D., Karlsson, M.C., Snapper, S.B. & Notarangelo, L.D. (2008) WASP confers selective advantage for specific hematopoietic cell populations and serves a unique role in marginal zone B-cell homeostasis and function. *Blood*, **112**, 4139-4147.
- Wildin, R.S., Ramsdell, F., Peake, J., Faravelli, F., Casanova, J.L., Buist, N., Levy-Lahad, E., Mazzella, M., Goulet, O., Perroni, L., Bricarelli, F.D., Byrne, G., McEuen, M., Proll, S., Appleby, M. & Brunkow, M.E. (2001) X-linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy. *Nat Genet*, **27**, 18-20.
- Williams, L.M. & Rudensky, A.Y. (2007) Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3. *Nat Immunol*, **8**, 277-284.
- Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., Miyara, M., Fehervari, Z., Nomura, T. & Sakaguchi, S. (2008) CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science*, **322**, 271-275.
- Wiskott (1937) Familiärer, angeborener Morbus Werlhofii? *Monatsschr Kinderheilkd*, **68**, 212-216.
- Wu, Y., Borde, M., Heissmeyer, V., Feuerer, M., Lapan, A.D., Stroud, J.C., Bates, D.L., Guo, L., Han, A., Ziegler, S.F., Mathis, D., Benoist, C., Chen, L. & Rao, A.

- (2006) FOXP3 controls regulatory T cell function through cooperation with NFAT. *Cell*, **126**, 375-387.
- Xia, Z.W., Zhong, W.W., Xu, L.Q., Sun, J.L., Shen, Q.X., Wang, J.G., Shao, J., Li, Y.Z. & Yu, S.C. (2006) Heme oxygenase-1-mediated CD4+CD25high regulatory T cells suppress allergic airway inflammation. *J Immunol*, **177**, 5936-5945.
- Yagi, H., Nomura, T., Nakamura, K., Yamazaki, S., Kitawaki, T., Hori, S., Maeda, M., Onodera, M., Uchiyama, T., Fujii, S. & Sakaguchi, S. (2004) Crucial role of FOXP3 in the development and function of human CD25+CD4+ regulatory T cells. *Int Immunol*, **16**, 1643-1656.
- Yamagiwa, S., Gray, J.D., Hashimoto, S. & Horwitz, D.A. (2001) A role for TGF-beta in the generation and expansion of CD4+CD25+ regulatory T cells from human peripheral blood. *J Immunol*, **166**, 7282-7289.
- Zeng, R., Cannon, J.L., Abraham, R.T., Way, M., Billadeau, D.D., Bubeck-Wardenberg, J. & Burkhardt, J.K. (2003) SLP-76 coordinates Nck-dependent Wiskott-Aldrich syndrome protein recruitment with Vav-1/Cdc42-dependent Wiskott-Aldrich syndrome protein activation at the T cell-APC contact site. *J Immunol*, **171**, 1360-1368.
- Zhang, H., Schaff, U.Y., Green, C.E., Chen, H., Sarantos, M.R., Hu, Y., Wara, D., Simon, S.I. & Lowell, C.A. (2006) Impaired integrin-dependent function in Wiskott-Aldrich syndrome protein-deficient murine and human neutrophils. *Immunity*, **25**, 285-295.
- Zhang, J., Shehabeldin, A., da Cruz, L.A., Butler, J., Somani, A.K., McGavin, M., Kozieradzki, I., dos Santos, A.O., Nagy, A., Grinstein, S., Penninger, J.M. & Siminovitch, K.A. (1999) Antigen receptor-induced activation and cytoskeletal rearrangement are impaired in Wiskott-Aldrich syndrome protein-deficient lymphocytes. *J Exp Med*, **190**, 1329-1342.
- Zhao, D.M., Thornton, A.M., DiPaolo, R.J. & Shevach, E.M. (2006) Activated CD4+CD25+ T cells selectively kill B lymphocytes. *Blood*, **107**, 3925-3932.
- Zheng, Y., Josefowicz, S.Z., Kas, A., Chu, T.T., Gavin, M.A. & Rudensky, A.Y. (2007) Genome-wide analysis of Foxp3 target genes in developing and mature regulatory T cells. *Nature*, **445**, 936-940.
- Zheng, Y. & Rudensky, A.Y. (2007) Foxp3 in control of the regulatory T cell lineage. *Nat Immunol*, **8**, 457-462.
- Zhou, L., Lopes, J.E., Chong, M.M., Ivanov, II, Min, R., Victora, G.D., Shen, Y., Du, J., Rubtsov, Y.P., Rudensky, A.Y., Ziegler, S.F. & Littman, D.R. (2008) TGF-beta-induced Foxp3 inhibits T(H)17 cell differentiation by antagonizing RORgamma function. *Nature*, **453**, 236-240.
- Zhu, Q., Watanabe, C., Liu, T., Hollenbaugh, D., Blaese, R.M., Kanner, S.B., Aruffo, A. & Ochs, H.D. (1997) Wiskott-Aldrich syndrome/X-linked thrombocytopenia: WASP gene mutations, protein expression, and phenotype. *Blood*, **90**, 2680-2689.
- Zicha, D., Allen, W.E., Brickell, P.M., Kinnon, C., Dunn, G.A., Jones, G.E. & Thrasher, A.J. (1998) Chemotaxis of macrophages is abolished in the Wiskott-Aldrich syndrome. *Br J Haematol*, **101**, 659-665.
- Ziegler, S.F. (2006) FOXP3: of mice and men. *Annu Rev Immunol*, **24**, 209-226.
- Zorn, E., Kim, H.T., Lee, S.J., Floyd, B.H., Litsa, D., Arumugarajah, S., Bellucci, R., Alyea, E.P., Antin, J.H., Soiffer, R.J. & Ritz, J. (2005) Reduced frequency of

FOXP3+ CD4+CD25+ regulatory T cells in patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood*, **106**, 2903-2911.

**FONDS DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - FNRS**

Rue d'Egmont 5 - 1000 Bruxelles - Tél: 02 504 92 11 - Fax: 02 504 92 92 - email: mcfraselle@frs-fnrs.be

**Dernière(s) modification(s) le :11/1/2009****Curriculum vitae de : Humblet - Baron , Stéphanie (69984)****Signalétique** Modifié le : 29/12/2005

Nom Humblet

Prénom(s) Stéphanie Marie

Lieu et date de naissance : Liège Belgique - le: 13/4/1979

Nationalité : Belge

Sexe : Féminin

Etat civil : Marié(e)

**Emploi(s), fonction(s)** Modifié le : 11/1/2009

Du 1/10/2004 au 30/9/2008	Grant F.R.S.-FNRS - Télévie	
Du 1/10/2008 au 30/9/2009	Université de Liège Bourse de doctorat (avec un grant Télévie)	Contrat à durée déterminée Temps plein

**Adresse(s)** Modifié le : 20/12/2007

Domicile légal Quai Godfroid Kurth,27 041  
4020 Liège  
Belgique

Adresse professionnelle Université de Liège  
Laboratoire de transplantation médullaire  
CHU Sart Tilman,B35  
4000 Liege  
Belgique

**Téléphone(s), télécopieur, email(s)** Modifié le : 20/12/2007

Téléphone domicile légal 0495/ 44 83 90

e-Mail F.Baron@ulg.ac.be

**Diplôme(s)** Modifié le : 29/12/2005

**Candidat en médecine**

1ère année	GD	U.Lg.	2/7/1998
2ème année	D	U.Lg.	25/6/1999
3ème année	D	U.Lg.	28/6/2000

**Docteur en médecine**

1ère année	GD	U.Lg.	7/7/2001
2ème année	D	U.Lg.	28/6/2002
3ème année	GD	U.Lg.	27/6/2003
4ème année	PGD	U.Lg.	26/6/2004

**Distinction(s) scientifique(s)** Modifié le : 20/12/2007

Distinction : Bonjean-Oleffe Prize  
Pays : BE  
Année : 2007

**Membre d'institution(s) scientifique(s)****Activité(s) complémentaire(s)****Spécialité(s)**

Pédiatrie

**Discipline(s)** Modifié le : 20/12/2007

B07 Bxxx10 Cancérologie, oncologie : voir B 200  
B07 B00500 Immunologie, sérologie, transplantation  
B07 B00660 Pédiatrie

Impression du curriculum vitae en PDF

**FONDS DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE - FNRS**

Rue d'Egmont 5 - 1000 Bruxelles - Tél: 02 504 92 11 - Fax: 02 504 92 92 - email: mcfraselle@frs-fnrs.be

**Liste bibliographique de 1900 à 2008 de : Humblet - Baron , Stéphanie****Publication(s)*****Article(s) dans des revues ou ouvrages*****Publication(s) avec comité de lecture****1<sup>er</sup>, co-1<sup>er</sup> ou dernier auteur****Article****Donor lymphocyte infusion for late relapse followed by kidney transplantation for end-stage renal failure after an allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia**Humblet-Baron S., Baron F., Chachati A., Bury J., Kreis H., Beguin Y.  
Transplantation, F.I.: 3,6080, 2003, 76, 1531-1532**Wiskott-Aldrich syndrome protein is required for regulatory T cell homeostasis**Humblet-Baron S, Sather B, Anover S, Becker-Herman S, Kasproicz DJ, Khim S, Nguyen T, Hudkins-Loya K, Alpers CE, Ziegler SF, Ochs H, Torgerson T, Campbell DJ, Rawlings DJ.  
The Journal of Clinical Investigations, F.I.: 15,7540, 2007, 117, 407-18**Coauteur****Article****T cell reconstitution after unmanipulated, CD8-depleted or CD34-selected nonmyeloablative peripheral blood stem-cell transplantation**Baron F., Schaaf-Lafontaine N., Humblet-Baron S., Meuris N., Castermans E., Baudoux E., Frère P., Bours V., Fillet G., Beguin Y.  
Transplantation, F.I.: 3,6080, 2003, 76, 1705-1713**Sustained correction of B cell development and function in a murine model of X-linked agammaglobulinemia (XLA) using retroviral-mediated gene transfer**Yu, PW., Tabuchi RS., Kato RM., Astrakhan A., Humblet-Baron S., Kipp K., Chae K., Ellmeier W., Witte ON., Rawlings DJ.  
Blood, F.I.: 10,1200, 2005, 104, 1281-1290**Wiskott-Aldrich syndrome protein deficiency in B cells results in impaired peripheral homeostasis**Meyer-Bahlburg A, Becker-Herman S, Humblet-Baron S, Khim S, Weber M, Bouma G, Thrasher AJ, Batista FD, Rawlings DJ.  
Blood, F.I.: 10,8960, 2008, 112, 4158-69**Reviews, letters...****1<sup>er</sup>, co-1<sup>er</sup> ou dernier auteur****Article****Traitement moléculaire du cancer: le STI571, un inhibiteur des tyrosines kinases**Humblet-Baron S., Baron F., Pirson L., Beguin Y., Fillet G.  
Médecine & Hygiène, 2002, 60, 1504-1508**Coauteur****Article****Comment je traite ... la leucémie myéloïde chronique (LMC)**Haffraoui K., Humblet-Baron S., Baron F., Beguin Y., Fillet G.  
Revue médicale de Liège, 2003, 58, 7-12**Abstract(s) de conférence(s)**



**47th annual meeting of the American Society of Hematology**

**Rescue of B Cells Development in an Animal Model of X-Linked Agammaglobulinemia(XLA) Via B Lineage-Specific Lentiviral Gene Therapy**

S. Humblet-Baron, W. Zhang, K. Kipp, S. Khim, J. Jarjour, K. Sommer, D.J. Rawlings

2005, Atlanta, États-Unis, 10/12/2005

Abstract #1287 appears in Blood, Volume 106, issue 11

**American Society of Gene Therapy's 8th Annual Meeting**

**Lentiviral vector-mediated gene therapy as treatment for Wiskott-Aldrich Syndrome (WAS): pre-clinical studies in human cell lines and WASP -/- mice**

Humblet-Baron S., Anover K., Kipp K., Zhu Q., Ye P., Zhang W., Ovechkina Y., Khim S., Astrakhan A., Strom T., Kohn D., Candotti F., Vyas Y., Ochs H., Miao C., Rawlings D.

2005, Saint Louis, États-Unis, 1/6/2005

Publié dans Molecular therapy 2005 (Volume 11 supplément 1), abstract # 341.

---

Impression de la liste bibliographique