

# Immunbiologische Effekte der extrakorporalen Photopherese

E. Dippel<sup>1</sup>

## Immunobiological Effects of Extracorporeal Photopheresis (ECP)

### Zusammenfassung

Die extrakorporale Photopherese (ECP) ist eine Therapiemodalität, bei der mit 8-Methoxypsoralen (8-MOP) behandelte lymphomononukleäre Zellen mit UVA-Licht bestrahlt werden. Die bisher bekannten immunbiologischen Effekte der ECP können in kurz- und längerfristige eingeordnet werden. Unmittelbar nach ECP sind Apoptosevorgänge bei bestrahlten 8-MOP-beladenen Lymphozyten der dominierende Prozess. Daneben kommt es durch den unmittelbaren Kontakt von antigenpräsentierenden Zellen mit dem ECP-Durchfluss-System zu einer Aktivierung und Differenzierung von dendritischen Zellen. Der Differenzierungsprozess wird vermutlich auch durch Zytokininduktion und apoptotische Lymphozyten beeinflusst. Je nach zugrundeliegender Erkrankung beeinflussen die jeweiligen immunologischen Grundsituationen die weitere Wirkung der ECP. Beim kutanen T-Zell-Lymphom kommt dem Vorgang der Transimmunsierung eine besondere Bedeutung zu. Die Aufnahme von malignen apoptotischen Lymphozyten durch unreife dendritische Zellen, die Prozessierung von antigenen Tumorpeptiden und eine nachfolgende spezifische CD8<sup>+</sup>-Immunantwort sind dabei von zentraler Bedeutung. Das klinische Ansprechen korreliert hierbei mit der Tumormasse an malignen T-Zellen im peripheren Blut. Bei der chronischen GvHD-Reaktion konnte gezeigt werden, dass die ECP die Differenzierung von dendritischen Zellen vom DC2-Typ fördert und damit die Alloreaktivität von zytotoxischen T-Zellen beeinflusst. Die biomodulatorischen Effekte der ECP beeinflussen somit nicht nur Lymphozyten, sondern auch antigenpräsentierende Zellen mit ihren regulatorischen Eigenschaften und ihren Einflüssen auf die Gesamtimmunität des Organismus.

### Abstract

Extracorporeal photopheresis (ECP) is a therapy in which 8-methoxypsoralen (8-MOP) containing peripheral mononuclear cells is exposed to a long wavelength ultraviolet radiation (UVA) in an extracorporeal system. Immunobiological effects by the ECP can be filed in short- and long-term processes. Immediately after UVA irradiation of the buffy coat, apoptosis of lymphocytes is the dominating processes. Next to it, the direct contact of antigen-presenting cells with the plastic material of ECP device induces activation and differentiation of dendritic cells. In addition, this differentiation process is probably influenced by induction of cytokines and phagocytosis of apoptotic lymphocytes. The general effect of the ECP also depends on the immunological situation of the treated patient. In cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) the ECP-induced process of transimmunsation is of particular relevance, including the uptake of apoptotic lymphocytes by immature dendritic cells, processing and presentation of tumorantigens and stimulation of a specific CD8<sup>+</sup> cytotoxic immune response. Thereby, the clinical response of the ECP correlates with the tumor burden of the peripheral blood. In cutaneous graft-vs-host disease (cGvHD) it has been shown that ECP promotes differentiation of dendritic cells of the DC2 type and, therefore, influences the alloreactivity of cytotoxic T-cells. The bio modulating effects of ECP are, as a consequence, not only directed to lymphocytes but also influence antigen-presenting-cells, their regulatory properties and, therefore, the whole immunological situation of the organism.

### Institutsangaben

Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie, Universitätsklinikum Mannheim der Karl-Rupprechts-Universität Heidelberg

### Korrespondenzadresse

PD Dr. E. Dippel · Dermatologie, Venerologie, Allergologie · Universitätsklinikum Mannheim gGmbH · Theodor-Kutzer-Ufer 1–3 · 68167 Mannheim · E-mail: edgar.dippel@haut.ma.uni-heidelberg.de

### Bibliografie

Akt Dermatol 2003; 29: 351–355 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0340-2541

Die extrakorporale Photochemotherapie (ECP) wurde am Colombia Presbyterian Medical Center von Edelson u. Mitarb. entwickelt und erstmals 1985 als Therapie-Verfahren zunächst bei der Behandlung der kutanen T-Zell-Lymphome eingesetzt [1]. Während der Photophoreseprozedur wird dem Patienten venöses Blut über ein geschlossenes System entnommen und durch einen Zentrifugationsschritt in eine plasma- und eine leukozytenreiche Zellfraktion getrennt. Die übrigen Blutbestandteile werden dem Patienten nach dem jeweiligen Zentrifugationsschritt zurückinfundiert. Während der insgesamt bis zu sechs Sammelphasen wird ein „buffy coat“ gesammelt, welcher mit 8-Methoxypsoralen (8-MOP; 100 ng/ml) versetzt wird [2]. Danach wird der psoralenbeladene „buffy coat“ durch ein Kapillarsystem geführt und mit UVA-Licht bestrahlt. Die zweite Generation der ECP-Maschinen (XTS, Therakos, Westchester, PA, USA) ist soweit automatisiert, dass Hämatokrit, Leukozytenzahl/Volumen und die UVA-Strahlung ( $2 \text{ J/cm}^2$ ) konstant gehalten werden [3]. Nach der Bestrahlungszeit wird der „buffy coat“ dem Patienten zurückinfundiert. Diese Prozedur der ECP wird üblicherweise jeweils an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Die ECP-Behandlung wird je nach Krankheitsbild, Ansprechen und therapeutischem Erfolg zu Beginn der Behandlungsphase in zwei- bis vierwöchigen Abständen durchgeführt. Nach Ansprechen werden die Therapieabstände meist auf vier bis acht Wochen verlängert [4]. Neben der reinen ECP-Monotherapie wurde das Verfahren auch vielfach erfolgreich in der Kombination mit z. B. Interferon- $\alpha$  eingesetzt [5,6].

Neben dem kutanen T-Zell-Lymphom ist seit dem Einsatz der ECP inzwischen eine Reihe von T-Zell-vermittelten Erkrankungen mit diesem Verfahren behandelt worden [7]. Als besonders erfolgreich hat sich dabei die ECP-Behandlung der akuten und chronischen Graft-versus-Host-Erkrankung (GvHD) herausgestellt [8,9]. Therapieerfolge sind jedoch auch bei anderen kutanen Hauterkrankungen wie z.B. der atopischen Dermatitis [10,11], der systemischen Sklerodermie [12], blasenbildenden Erkrankungen [13–15], dem systemischen Lupus erythematodes [16], der Dermatomyositis und beim chronisch erosiven Lichen planus berichtet worden [17]. Neben den Hauterkrankungen ist die ECP auch nach Nieren-, Herz- und Lungentransplantationen erfolgreich eingesetzt worden [18–20]. Daneben sind auch Studien an Patienten mit AIDS-Erkrankung, chronisch lymphatischer B-Zell-Leukämie, Hepatitis C-Infektion, multipler Sklerose, Rheumatoidarthritis und Diabetes mellitus mit unterschiedlichem Erfolg durchgeführt worden [21].

### Effekte der ECP

Seit der Entwicklung der ECP ist eine ganze Reihe von Untersuchungen durchgeführt worden, um die Wirkungsweise des Therapie-Verfahrens zu analysieren. Dabei sind zwei wesentliche Faktoren für den therapeutischen Effekt bestimmend: Die Bestrahlung der psoralenbeladenen Leukozyten mit UVA-Licht und der Durchfluss der Blutzellen durch das Photophoresesystem.

#### ECP-induzierte Apoptose

Die exakte Wirkung der 8-MOP und UVA-induzierten chemischen und immunbiologischen Reaktionen ist noch nicht völlig

aufgeklärt, jedoch konnte eine ganze Reihe von Studien detaillierte Teilaspekte untersuchen, die es insgesamt erlauben, den Wirkungsmechanismus näher einzuschätzen. Zentraler Bestandteil ist die Reaktion von Methoxypsoralen mit den Pyrimidinbasen der DNA unter UVA-Bestrahlung. Das dabei verursachte „DNA-crosslinking“ führt zu Photoaddukten mit kovalenten Bindungen und zu Photooxydationsreaktionen [22,23]. Der verursachte DNA-Schaden ist ein primärer und wichtiger Aspekt der Psoralen plus UVA(PUVA)-Anwendung. Dieser unmittelbare Bestrahlungseffekt bei der ECP ist bereits von Marks u. Mitarb. näher untersucht worden [24]. Sie konnten zeigen, dass es durch die Photophoreseprozedur zur Apoptose von lymphoiden Zellen kommt, die anhand der apoptotischen Zellmorphologie und einer DNA-Fragmentierung nachgewiesen wurde. Dabei wurde postuliert, dass es in unmittelbarer Folge der DNA-Fragmentierung zu einer erhöhten Aktivität der Poly-(ATP-ribosyl-)transferase kommt und somit zu einem akuten Verbrauch von ATP. Das dabei entstehende ATP-Defizit führt wiederum zum Ausfall von Ionenpumpen, besonders auch an den Membranen der Mitochondrien, was zu einer Depolarisation und nachfolgender Einleitung von Apoptoseprozessen führt. Dieser frühe Effekt der Apoptoseinduktion nach ECP-Behandlung konnte auch von Bladon und Taylor (1999) bei Patienten mit kutanen T-Zell-Lymphomen und Graft-versus-host-Erkrankung (GvHD) bestätigt werden [25]. Frühe Apoptosemarker wie z. B. die Translokation von Phosphatidylserinerguppen von der inneren zur äußeren Zellmembranseite, Veränderungen der Chromatintextur mit Hilfe von DNA-bindenden Farbstoffen und eine intrazelluläre Verringerung des pH-Wertes am Tag 2 der ECP-Behandlung, konnte in dieser Untersuchung nachgewiesen werden. Auch eine Reihe von weiteren Untersuchungen konnten die ECP-Effekte bestätigen; Apoptosemarker steigen nach 24 Stunden und nach 48 Stunden signifikant an und auch in Hautläsionen von CTCL-Patienten zeigt sich Apoptose von Lymphozyten [26]. Osella-Abate u. Mitarb. konnten bei 7 Patienten mit CTCL und Blutbeteiligung zeigen, dass die bcl-2- und die CD95-Fas-Expression der peripheren Blut-Lymphozyten mit dem Ansprechen auf die ECP korrelieren [27].

Interessanterweise kommt es nach Re-Infusion von apoptotischen Lymphozyten rasch zur Phagozytose, d. h. zur Entfernung aus der peripheren Blutbahn (Abb. 1). Der Vorgang der Phagozytose kann durch mehrere Faktoren begünstigt werden. Dazu gehören die Expression von Phosphatidylserinen auf der Zellmembran von apoptotischen Lymphozyten, die Aktivierung von peripheren Monozyten durch die ECP und die vermehrte Induktion von MHC-Klasse-I-Proteinen auf den lymphoiden Zellen [28]. Monozyten passieren die ECP-Prozedur ohne Induktion von Apoptosemechanismen. Berger u. Mitarb. konnten zeigen, dass ECP-behandelte Monozyten einen Differenzierungsprozess innerhalb von zwei Tagen nach ECP durchlaufen, mit der Expression von Markern an der Zelloberfläche (CD83, X-11, Alpha-V, Beta-V, CD1a), die unreife, dendritische Zellen charakterisieren [29]. Diese Differenzierung erscheint unabhängig von der 8-MOP induzierten Photoaktivierung, sondern basiert hauptsächlich auf der Passage durch das Photophoresesystem mit Kontakt zu den Kunststoffmaterialien. Die Differenzierungsprozesse von Monozyten zu dendritischen Zellen kann zusätzlich auch durch die Phagozytose von apoptotischen Zellen unterstützt werden. Edelson u. Mitarb. bezeichnen diesen Vorgang der Phagozytose von apoptotischen Lymphozyten durch unreife dendritische Zellen

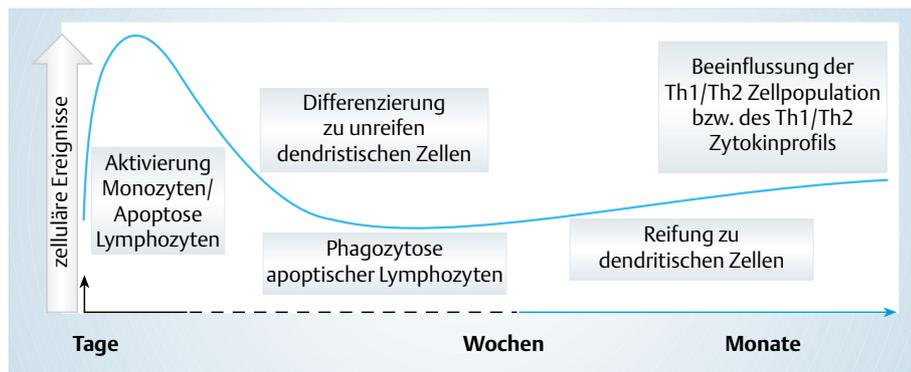


Abb. 1 Zeitabhängige immunbiologische Effekte der ECP.

mit nachfolgendem Reifungsprozess und Präsentation von antigenen Peptiden als Transimmunisierung.

### Transimmunisierung

Eine effektive Immunisierung ist abhängig von antigenpräsentierenden Zellen, die durch Präsentation von krankheits- oder tumorspezifischen Antigenen eine Expansion zytotoxischer CD8-positiver Zellen einleiten, die die Antigene in Assoziation mit MHC-Klasse-I-Glykoproteinen erkennen. Dendritische Zellen sind sehr effektive antigenpräsentierende Zellen für die Induktion einer Anti-Tumorimmunität bzw. für die Durchführung einer Vakzinierungstherapie. Viele experimentelle Vakzinierungsprotokolle generieren antigenbeladene dendritische Zellen durch einen Reifungsprozess aus peripheren Blutmonozyten, nach Kultivierung und Supplementierung von Zytokinen. Es gibt mehrere Möglichkeiten, dendritische Zellen mit Tumorantigenen zu versehen. Eine Möglichkeit besteht in der kompetitiven Beladung endogener Peptide auf MHC-Klasse-I-Proteinen durch ausgewählte Antigene und Tumorpeptide. Alternativ können jedoch auch dendritische Zellen und Zell-Lysate, Proteine oder Peptide zugefügt werden, die phagozytiert, prozessiert und mit MHC-Klasse-I-Proteinen an der Zelloberfläche exprimiert werden. Daneben können auch Genkonstrukte in dendritischen Zellen exprimiert werden, die dann zur weiteren Prozessierung von Tumorantigenen dienen [30].

Bei der ECP vollzieht ein großer Teil der 8-MOP-UVA-bestrahlten Lymphozyten Apoptoseprozesse. Monozyten hingegen sind weitgehend resistent gegenüber UVA-induzierter Apoptose und werden durch den physikalischen Kontakt mit der Oberfläche des ECP-Durchfluss-Systems aktiviert und differenzieren z.T. hin zu unreifen dendritischen Zellen. Berger u. Mitarb. konnten zeigen, dass die induzierten, unreifen dendritischen Zellen, apoptotische CD3<sup>+</sup>-Lymphozyten internalisiert haben. Im weiteren Reifungs- und Differenzierungsprozess der dendritischen Zellen werden MHC-Klasse-II-Moleküle exprimiert, die nachweislich eine stimulatorische Kapazität für Lymphozyten aufwiesen (erhöhte Mixed-lymphocyte-culture-activity) [31]. Dieser Vorgang der Transimmunisierung d.h. des Transfers von Tumorantigenen zu neu differenzierenden dendritischen Zellen initiiert eine Immunisierung gegen Tumorzellen durch die Aktivierung von antigenspezifischen CD8<sup>+</sup> zytotoxischen T-Zellen.

### Weitere immunmodulatorische Effekte

Da die Effekte Psoralen und UVA-Behandlung neben der DNA auch Lipide und Proteine modifizieren können, ist anzunehmen, dass die modifizierten Moleküle mit dem Immunsystem interagieren [32] bzw. eine spezifische T-Zell-Immunantwort hervorrufen können [33].

Die zellulären Differenzierungsmechanismen, welche durch die ECP-Prozedur initiiert werden, sind begleitet von einer Reihe von Zytokinfreisetzen, die in unmittelbarem Zusammenhang mit Aktion und Wirkung zu sehen sind. Dazu gehören Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) und Interleukin 6, die zur Aktivierung von CD36 positiven Zellen (Makrophagen) führen können [34].

Die Effekte der ECP können jedoch nicht nur auf unmittelbare Zytokininduktion und Freisetzung nach der Bestrahlungsperiode oder auf die unmittelbare Initiierung der zellulären Differenzierungsprozesse nach der ECP-Prozedur reduziert werden. Besondere Beachtung muss auch den längerfristigen immunologischen Reaktionen beigemessen werden, die durch eine langfristige ECP-Therapie hervorgerufen werden können. Dabei sind zwei Krankheitsbilder näher untersucht worden, nämlich das kutane T-Zell-Lymphom und die kutane GvHD-Erkrankung. Beim kutanen T-Zell-Lymphom konnten Untersuchungen zeigen, dass es in Abhängigkeit zur Schwere der Erkrankung zu einer Imbalance der Th1/Th2-Immunantwort kommt; dies schließt die vermehrte Freisetzung von Interleukin 4 und 5, eine reduzierte Natural Killerzell-(NK)-Aktivität und eine reduzierte CD8<sup>+</sup>-Zytotoxizität ein. DiRenzo u. Mitarb. konnten zeigen, dass es bei Patienten mit kutanem T-Zell-Lymphom im Stadium Ib nach 1-jähriger ECP-Therapie nicht nur zur Erhöhung der CD36<sup>+</sup>-Monozyten im peripheren Blut kommt, sondern auch zur Angleichung des Zytokin-Reaktionsprofils von peripheren Blutlymphozyten auf Stimulation mit Phytohämagglutinin in vitro im Vergleich zu gesunden Kontrollen [35]. Diese Effekte wurden dahingehend interpretiert, dass die Balance der pathologischen Th1/Th2-Immunantwort bei Patienten mit CTCL durch die ECP-Therapie wiederhergestellt wird. Daneben konnte auch eine Induktion von tumorspezifischen CD8<sup>+</sup>-Zellen beobachtet werden und eine Reduktion von CD4<sup>+</sup>-Lymphozyten [36].

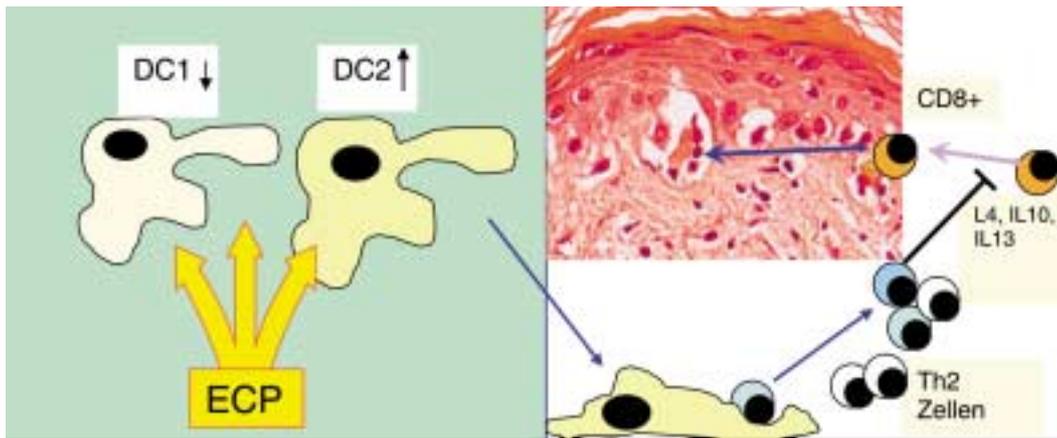


Abb. 2 Modell zur Modulation dendritischer Zellen durch die ECP bei kutaner GvHD

Bei der kutanen GvHD-Erkrankung kommt auch den dendritischen Zellen eine wichtige Rolle im pathogenetischen Geschehen zu. Prinzipiell können zwei Typen unterschieden werden, der DC1-Typ und DC2-Typ. DC1-Zellen unterstützen eine Th1-Antwort mit Aktivierung von CD8<sup>+</sup>-T-Zellen, DC2-Zellen unterstützen eine Th2-Immunantwort mit Produktion von IL-4 und IL-5. Geht man davon aus, dass dendritische Zellen des Empfängers Alloantigene präsentieren und damit Spender-T-Zellen aktivieren, die in der Folge eine GvHD-Reaktion verursachen können, dann kommt dem Typ der DC-Zellen eine entscheidende regulatorische Rolle zu. DC1-Zellen können eine Zytotoxizität gegen das Transplantat und damit eine Abstoßungsreaktion hervorrufen. Dendritische Zellen vom DC2-Typ können bei den Empfänger-T-Zellen eine Induktion einer Th2-Reaktion und die Freisetzung von IL-4 und IL-5 bewirken, die allgemeine Th1-Antwort unterdrücken und zytotoxische Reaktionen gegen Empfängerzellen reduzieren und somit das Angehen der Transplantation positiv beeinflussen.

Es gibt Hinweise, dass die immunmodulierenden Effekte der ECP eine Toleranzreaktion erzeugen. Eine besondere Bedeutung kommt hier der Wirkung der ECP auf die zirkulierenden antigenpräsentierenden dendritischen Zellen zu. Gorgun u. Mitarb. (2002) berichteten, dass die ECP bei Patienten mit chronischer GvHD-Erkrankung nicht nur zu einer Normalisierung der CD4/CD8-Ratio und zu einer Erhöhung der CD3<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>-NK-Zellen kommt, sondern dass auch die Anzahl der CD80<sup>+</sup> CD123<sup>+</sup> zirkulierenden dendritischen Zellen erniedrigt wird [37]. Immunotypisierung der dendritischen Zellen zeigte, dass vor Therapie dendritische Zellen vom DC1-Typ (CD80<sup>+</sup>, CD123<sup>+</sup>) überwiegen, die eine Th1-Antwort unterstützen, d.h. CD8<sup>+</sup>-T-Zellen aktivieren, die vermehrt Interleukin 12 produzieren. Nach ECP-Therapie kommt es jedoch zur Induktion von dendritischen Zellen vom DC2-Typ und damit zur Initiierung einer Th2-Antwort, die die Makrophagenaktivität und Entzündungsreaktionen unterdrückt (Abb. 2).

Die biomodulatorischen Effekte der ECP beeinflussen somit nicht nur Lymphozyten, sondern auch antigenpräsentierende Zellen mit ihren regulatorischen Eigenschaften, die je nach vorliegendem Krankheitsprozess die Gesamtimmunität des Organismus beeinflussen können.

## Literatur

- Edelson R, Berger C, Gasparro F et al. Treatment of cutaneous T-cell lymphoma by extracorporeal photochemotherapy. Preliminary results. *N Engl J Med* 1987; 316: 297 – 303
- Knobler RM, Trautinger F, Graninger W et al. Parenteral administration of 8-methoxypsoralen in photopheresis. *J Am Acad Dermatol* 1993; 28: 580 – 584
- Knobler R, Jantschitsch C. Extracorporeal photochemoimmunotherapy in cutaneous T-cell lymphoma. *Transfus Apheresis Sci* 2003; 28: 81 – 89
- Owsianowski M, Garbe C, Ramaker J et al. Therapeutic experiences with extracorporeal photopheresis. Technical procedure, follow-up and clinical outcome in 31 skin diseases. *Hautarzt* 1996; 47: 114 – 123
- Dippel E, Schrag H, Goerd S, Orfanos CE. Extracorporeal photopheresis and interferon-alpha in advanced cutaneous T-cell lymphoma. *Lancet* 1997; 350: 32 – 33
- Gottlieb SL, Wolfe JT, Fox FE et al. Treatment of cutaneous T-cell lymphoma with extracorporeal photopheresis monotherapy and in combination with recombinant interferon alfa: a 10-year experience at a single institution. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 946 – 957
- Dippel E, Orfanos CE. Indikationen und therapeutischer Nutzen der extrakorporalen Photopherese. *Z Hautkr* 1996; 71: 723 – 725
- Greinix HT, Volc-Platzer B, Rabitsch W et al. Successful use of extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe acute and chronic graft-versus-host disease. *Blood* 1998; 92: 3098 – 3104
- Rossetti F, Dall'Amico R, Crovetto G et al. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 1996; 18: 175 – 181
- Mohla G, Horvath N, Stevens S. Quality of life improvement in a patient with severe atopic dermatitis treated with photopheresis. *J Am Acad Dermatol* 1999; 40: 780 – 782
- Richter HI, Billmann-Eberwein C, Grewe M et al. Successful monotherapy of severe and intractable atopic dermatitis by photopheresis. *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: 585 – 588
- Krasagakis K, Dippel E, Ramaker J et al. Management of severe scleroderma with long-term extracorporeal photopheresis. *Dermatology* 1998; 196: 309 – 315
- Bloching M, Dippel E, Jovanovic S et al. Manifestation of epidermolysis bullosa acquisita (EBA) in the ENT area. *HNO* 1999; 47: 497 – 501
- Gordon KB, Chan LS, Woodley DT. Treatment of refractory epidermolysis bullosa acquisita with extracorporeal photochemotherapy. *Br J Dermatol* 1997; 136: 415 – 420
- Wollina U, Lange D, Looks A. Short-time extracorporeal photochemotherapy in the treatment of drug-resistant autoimmune bullous diseases. *Dermatology* 1999; 198: 140 – 144
- Knobler R, Graninger W, Graninger W et al. Extracorporeal photochemotherapy for the treatment of systemic lupus erythematosus – a pilot study. *Ref Type: Generic. Arthritis Rheum* 2003; 35: 319 – 324
- Becherel PA, Bussel A, Chosidow O et al. Extracorporeal photochemotherapy for chronic erosive lichen planus. *Lancet* 1998; 35: 805

- <sup>18</sup> Dall'Amico R, Livi U, Milano A et al. Extracorporeal photochemotherapy as adjuvant treatment of heart transplant recipients with recurrent rejection. *Transplantation* 1995; 60: 45–49
- <sup>19</sup> Dall'Amico R, Montini G, Murer L et al. Benefits of photopheresis in the treatment of heart transplant patients with multiple/refractory rejection. *Transplant Proc* 1997; 29: 609–611
- <sup>20</sup> Salerno CT, Park SJ, Kreykes NS et al. Adjuvant treatment of refractory lung transplant rejection with extracorporeal photopheresis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; 117: 1063–1069
- <sup>21</sup> Russo GG, Mullen RH. Cutaneous and noncutaneous disorders treated with extracorporeal photopheresis. *Int J Dermatol* 2003; 40: 89–100
- <sup>22</sup> Gasparro F. Extracorporeal photochemotherapy: Clinical Aspects and the Molecular Basis for Efficacy. In: Gasparro F. *The impact of psoral photoadducts in cells*. Georgetown, Tx: RG Landes Press, 1994
- <sup>23</sup> Gasparro F, Felli A, Schmitt IM. Psoralen Photobiology: the relationship between DNS damage, chromatin structure, transkription and immunogenic effects. *Recent Results Cancer Res* 1999; 143: 101–127
- <sup>24</sup> Marks DI, Rockman SP, Oziemski MA, Fox RM. Mechanisms of lymphocytotoxicity induced by extracorporeal photochemotherapy for cutaneous T cell lymphoma. *J Clin Invest* 1990; 86: 2080–2085
- <sup>25</sup> Bladon J, Taylor PC. Extracorporeal photopheresis in cutaneous T-cell lymphoma and graft-versus-host disease induces both immediate and progressive apoptotic processes. *Br J Dermatol* 2002; 146: 59–68
- <sup>26</sup> Miracco C, Rubegni P, De Aloe G et al. Extracorporeal photochemotherapy induces apoptosis of infiltrating lymphoid cells in patients with mycosis fungoides in early stages. A quantitative histological study. *Br J Dermatol* 1997; 137: 549–557
- <sup>27</sup> Osella-Abate S, Zaccagna A, Savoia P et al. Expression of apoptosis markers on peripheral blood lymphocytes from patients with cutaneous T-cell lymphoma during extracorporeal photochemotherapy. *J Am Acad Dermatol* 2000; 44: 40–47
- <sup>28</sup> Moor AC, Schmitt IM, Beijersbergen VHG et al. Treatment with 8-MOP and UVA enhances MHC class I synthesis in RMA cells: preliminary results. *J Photochem Photobiol* 1995; 29: 193–198
- <sup>29</sup> Berger CL, Hanlon D, Kanada D et al. Transimmunization, a novel approach for tumor immunotherapy. *Transfus Apheresis Sci* 2002; 26: 205–216
- <sup>30</sup> Pfitzner T, Barth S, Engert A. Tumorvakzine: Immuntherapie im Jahre 2000. *Der Onkologe* 2000; 6: S31–S35
- <sup>31</sup> Berger CL, Hanlon D, Kanada D et al. Transimmunization, a novel approach for tumor immunotherapy. *Transfus Apheresis Sci* 2002; 26: 205–216
- <sup>32</sup> van Iperen HP, Beijersbergen VHG. Clinical and mechanistic aspects of photopheresis. *J Photochem Photobiol B* 1997; 39: 99–109
- <sup>33</sup> Vowels BR, Cassin M, Boufal MH et al. Extracorporeal photochemotherapy induces the production of tumor necrosis factor-alpha by monocytes: implications for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma and systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 686–692
- <sup>34</sup> Fimiani M, Rubegni P, Pimpinelli N et al. Extracorporeal photochemotherapy induces a significant increase in CD36+ circulating monocytes in patients with mycosis fungoides. *Dermatology* 1997; 194: 107–110
- <sup>35</sup> DiRenzo A, Rubegni P, De Aloe G et al. Extracorporeal photochemotherapy restores Th1/Th2 imbalance in patients with early stage cutaneous T-cell lymphoma. *Immunology* 1997; 92: 99–103
- <sup>36</sup> Zouboulis CC, Schmuth M, Doepfmer S et al. Extracorporeal photopheresis of cutaneous T-cell lymphoma is associated with reduction of peripheral CD4+ T lymphocytes. *Dermatology* 1998; 196: 305–308
- <sup>37</sup> Gorgun G, Miller KB, Foss FM. Immunologic mechanisms of extracorporeal photochemotherapy in chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2002; 100: 941–947