

Aus dem
Charité Centrum 17 für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin
Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Onkologie und Hämatologie
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. G. Henze

Habilitationsschrift

**Stammzelltransplantation
bei akuter lymphoblastischer Leukämie im Kindesalter**

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Kinder- und Jugendmedizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Anja Borgmann-Staudt
geboren am 03.12.1965 in Frankfurt a. M.

Eingereicht: **Mai 2008**

Dekan: **Professor Dr. med. M. Paul**

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Inhaltsverzeichnis

1. Vorwort	3
2. Einleitung	4
2.1 Grundlagen zur Stammzelltransplantation	4
2.2 Indikationen zur Stammzelltransplantation bei ALL in erster Remission	8
2.3 Indikationen zur Stammzelltransplantation bei ALL-Rezidiv	10
2.4 Toxizität, Spätfolgen und Folgerezidive nach Stammzelltransplantation bei ALL	11
3. Fragestellungen	17
4. Ergebnisse	18
5. Diskussion	68
5.1 Die Rolle der Stammzelltransplantation bei ALL-Rezidiv im Kindesalter	68
5.2 Impfung mit HLA-B13 transfizierten autologen Leukämiezellen	78
6. Zusammenfassung	81
7. Literaturverzeichnis	83
7.1 Eigene Veröffentlichungen	83
7.2 Veröffentlichungen aller Autoren	84
8. Abbildungen	87
Abbildung 1: Immunopathophysiologie der graft-versus-host disease	87
Abbildung 2: Genterapeutische Vakzination	88
Abbildung 3: T-Zell Kreuzreaktion	89
9. Danksagung	90
10. Erklärung	92

1. Vorwort

Die vorliegende Habilitationsschrift beschreibt zunächst den gegenwärtigen Kenntnisstand zur Rolle der Stammzelltransplantation bei der Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) und die jüngere Entwicklung dorthin. Die Daten für die Analysen zur Etablierung prognostischer Faktoren und zur Indikationsstellung zur Stammzelltransplantation einerseits sowie die Daten zur Erfassung von Spätfolgen andererseits wurden bei Patienten mit Rezidiv einer ALL im Rahmen der multizentrischen ALL-REZ BFM Studien erhoben.

Die eigenen Beiträge sind in 15 Originalartikeln und Buchbeiträgen dokumentiert. Davon sind 10 Originalartikel aus Erst- oder Letzt-Autorenschaft entstanden. Wesentliche Erkenntnisse, die auch in den eigenen Arbeiten ausgeführt sind, werden in der folgenden Abhandlung zusammenfassend dargestellt. Kopien dieser Arbeiten sind in chronologischer Reihenfolge als Ergebnisse angeführt und werden in numerischer Reihenfolge entsprechend ihres Auftretens im Text zitiert. Für diese Abhandlung wichtige Publikationen anderer Autoren sind ebenfalls in numerischer Reihenfolge zitiert. Abbildungen zu den Grundlagen der Immunopathophysiologie der allogenen Stammzelltransplantation und gentherapeutischen Vakzination sind gesondert unter Abbildungen eingefügt.

Die im Folgenden vorgestellten Untersuchungen wurden in dreierlei Hinsicht gefördert: Zum einen erhielten die ALL-REZ BFM Studien von 1987-2002 eine Förderung von der Deutschen Krebshilfe, seit 2003 von der Deutschen Kinderkrebsstiftung. Präklinische Arbeiten zur „Gentherapeutischen Vakzination mit HLA-B13 transfizierten, autologen Lymphoblasten bei Kindern mit Rezidiv einer ALL“ wurden durch die Kind-Philipp-Stiftung 1997-1999 im Rahmen eines Doktorandenstipendiums und durch die universitäre Forschungsförderung der Humboldt Universität zu Berlin 1999-2002 in Form von Sachmitteln unterstützt. Klinische Arbeiten zur Erstellung und Prüfung eines entsprechenden klinischen Protokolls wurden im Rahmen des Kompetenznetzes für pädiatrische Onkologie und Hämatologie durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung 1999-2002 gefördert. Untersuchungen zur Fertilität nach Chemo- und Strahlentherapie im Kindes- und Jugendalter in Berlin wurden durch die Kind-Philipp-Stiftung in Form eines Promotionsstipendiums 2006-2008, durch die universitäre Forschungsförderung der Charité Universitätsmedizin Berlin 2006-2008 in Form einer Sachmittelförderung und 2007-2009 in Form eines Rahel-Hirsch-Habilitationsstipendiums unterstützt. Eine entsprechende bundesweite Umfrage wird 2008-2010 von der Deutschen Kinderkrebsstiftung finanziert.

2. Einleitung

2.1 Grundlagen zur Stammzelltransplantation

Bei der **allogenen Stammzelltransplantation (SZT)** wird das Organ “Knochenmark” und somit die Fähigkeit Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten zu bilden auf einen anderen genetisch eigenständigen Menschen übertragen. Mit der im Knochenmark angesiedelten hämatopoetischen Stammzelle wird die Fähigkeit zur Wiederbesiedlung des Knochenmarks durch alle drei myeloischen Zelllinien ebenso übertragen wie die der Ausbildung eines neuen Immunsystems. Die Stammzelle selbst wurde bislang nicht identifiziert und selektiv isoliert. Bekannt ist, dass sich hämatopoetische Stammzellen im CD34+/CD133+ Zellpool finden [1]. Ein wichtiges Merkmal der Stammzelle ist die Fähigkeit zur Selbstregeneration. Sowohl myeloische Linien als auch das Immunsystem tragen nach allogener SZT die genetischen Merkmale des Spenders. Es entsteht ein sogenannter chimärer Organismus. Ein erschöpfungsbedingtes Versagen von transplantierten Stammzellen ist nicht beschrieben. Die ersten erfolgreichen Knochenmarktransplantationen wurden 1968 bei Kindern mit Immundefekten durchgeführt [2]. Das Knochenmark wird durch multiple Punktionen des Beckenkammes des Spenders gewonnen und dem Empfänger nach einer Vorbehandlung mit einer Chemo- und/oder Radiotherapie (Konditionierung) übertragen. Am Anfang der SZT stand Knochenmark als einzige Stammzellquelle zur Verfügung. Mittlerweile sind als Stammzellquellen außer Knochenmark auch Nabelschnurblut (Plazentarestblut) und peripheres Blut etabliert [3]. Der Ablauf einer Transplantation umfasst Indikationsstellung, Spendersuche und –auswahl, Konditionierung, Stammzellentnahme und –transfusion, Regenerationsphase.

Die **autologe SZT** ist im eigentlichen Sinne keine Organtransplantation, sondern eine Maßnahme, die eine Intensivierung der konventionellen Chemotherapie erlaubt. Die Stammzellgabe dient hierbei dem Wiederaufbau des Knochenmarks nach den Folgen der hochdosierten Chemotherapie. Die Intensität der Chemotherapie ist begrenzt durch die Organtoxizität der eingesetzten Substanzen. Durch die autologe SZT lassen sich Dosissteigerungen bis auf das drei- bis vierfache der konventionellen Therapie erzielen. Als Stammzellquellen kommen ebenso wie bei der allogenen SZT Knochenmark und peripheres Blut in Frage. Inwieweit autologe Nabelschnurbluttransplantationen sinnvoll sind, ist ungeklärt [3].

Sowohl für allogene als auch für autologe Transplantationen gibt es verschiedene Möglichkeiten, Stammzellen zu gewinnen. Die Gewinnung von **Knochenmark** für eine SZT erfolgt in Allgemeinanästhesie. Hierbei werden unter sterilen Bedingungen durch multiple Punktionen der hinteren Beckenkämme in Bauchlagerung in der Regel 15ml/kg Körpergewicht des Empfängers Knochenmarkblut entnommen. Ziel ist es, eine ausreichende Menge an mononukleären Zellen von mehr als 2×10^8 /kg Körpergewicht des Empfängers zu gewinnen. Die maximale Entnahme-Menge liegt bei 1500ml. Ein Ersatz der entnommenen Knochenmarkblutmenge durch Eigenblut ist möglich. Bei jüngeren Kindern (<6 Jahre) muss manchmal die Gabe von Fremdblut erfolgen. Das entnommene Mark wird in 2 Schritten gefiltert (500 µm-Filter und 200 µm-Filter) und mit Hilfe von Heparin und ACD ungerinnbar gemacht. Bei Blutgruppengleichheit kann die unmittelbare Transfusion erfolgen, bei Minor-Inkompatibilität ist eine Reduktion des Plasmas und bei Major-Inkompatibilität die Reduktion der Erythrozyten bis auf eine geringe Restmenge erforderlich. Prinzipiell kann das entnommene Mark auch bearbeitet und eingefroren werden [3].

Die Gewinnung von **Stammzellen aus peripherem Blut** wird ermöglicht durch die subkutane Gabe von Knochenmarkwachstumsfaktoren (granulocyte- oder granulomyelocyte colony stimulating factor, rhG-CSF oder rhGM-CSF), die nicht nur die Regeneration von myeloischen Zellen beschleunigen, sondern auch zur Ausschüttung von Stammzellen ins periphere Blut beitragen. Zum anderen wurden Apharesetechniken entwickelt, durch die, bezogen auf das Gewicht des Empfängers, bis zu 20×10^6 /kg CD34+ Zellen gewonnen werden können. Dazu sind in der Regel zwei bis drei je drei- bis vierstündige Sitzungen nötig. Das Blutvolumen des Spenders wird dabei insgesamt zwei- bis fünfmal vollständig prozessiert.

Seit 1995 ist es möglich, **Nabelschnurblut** (cordblood) für die SZT einzusetzen [2]. Es wird durch Punktion der Nabelarterien nach Abnabelung des Kindes gewonnen. Nabelschnurblut kann ohne weitere Separation eingefroren und in Zellbanken gelagert werden. Es können so Informationen über einen Spender und auch die Stammzellen selbst für eine spätere Transplantation zur Verfügung stehen. Ein Problem stellt die Begrenzung des verfügbaren Materials dar, denn in der Regel enthält eine Nabelschnurblutkonserve $3-4 \times 10^7$ kernhaltige Zellen und damit eine Zehnerpotenz weniger als eine Knochenmarkkonserve.

Nach der Gewinnung von hämatopoetischen Stammzellen ist eine unmittelbare Übertragung erwünscht. Häufig erfolgt jedoch eine weitergehende **Stammzellbearbeitung** um die

Transplantation den krankheitsbezogenen Bedingungen des Patienten anzupassen. Weitergehendes Ziel ist es, vor allem diejenigen Zellelemente zu übertragen, die der Patient benötigt. Ist zum Beispiel bei partieller HLA-Differenz zwischen Spender und Empfänger eine T-Zellverminderung erforderlich, kann eine Positivselektion von CD34+ Zellen mittels ferromagnetischer CD34+ Antikörpermarkierung und anschließendem Magneselektionsverfahren erfolgen [1]. Eine T-Zellverminderung ist auch durch Negativselektion in vitro möglich. Hierbei werden T-Zellen durch Antikörper (z.B. antiCD3) markiert und anschließend beispielsweise durch ein Magnetverfahren entfernt, infrage kommt auch eine Inkubation mit Campath-IgH Antikörpern [4]. Eine T-Zell Reduktion durch Rosettierungstechniken mittels Schaferythrozyten und Sojabohnenagglutination wurde ebenfalls beschrieben.

Bei Major-Inkompatibilität erfolgt die Reduktion der Erythrozyten durch Zentrifugation und Ficollseparation, bei Minor-Inkompatibilität eine Reduktion des Plasmas.

Zur Tumorzellreduktion bei autologer SZT (Purging) steht bei soliden Tumoren eine CD34+-Positivselektion zur Verfügung sowie Depletionsverfahren durch monoklonale Antikörper gegen Tumorzellbestandteile [1]. Ein pharmakologisches Purging durch Mafosfamid wurde ebenfalls bereits erprobt [5].

Bei der **Spendersuche** für eine allogene SZT sollten die HLA-Merkmale (human leukocyte antigen) zwischen Spender und Empfänger weitestgehend übereinstimmen. Der ideale Spender ist aus der Sicht der genetischen Verträglichkeit ein genotypisches identisches Zwillingsgeschwister (eineiiger Zwilling). Aufgrund der Seltenheit (Häufigkeit 1:89) spielen HLA-identische Zwillinge als Stammzellspender jedoch eine untergeordnete Rolle. Etwa 20% der Patienten haben einen passenden, d.h. HLA-kompatiblen Spender in der Familie (matched related donor, MRD). Meistens handelt es sich dabei um ein Geschwister. Zufällig können auch Vater oder Mutter mit einem Kind identisch sein.

In der Regel wird eine Suche nach einem unverwandten freiwilligen Spender (matched unrelated donor, MUD, Fremdspendersuche) über das nationale Suchzentrum Deutschlands (Zentrales Knochenmarktransplantationsregister Deutschland, ZKRD) eingeleitet. Mittlerweile gibt es landesweite Spenderdatenbanken, die die Daten von Fremd Spendern bereithalten, die Stammzellentnahme organisieren und die Spender betreuen. Darüberhinaus sind die Datenbanken weltweit zusammengefasst, sodass am 26.2.2008 weltweit 11.969.511 potentielle Stammzellspender zu Verfügung stehen [6]. In Deutschland wurde 1991 die deutsche Knochenmarkspenderdatei (DKMS) gegründet, die aktuell 1.670.035 Spender

umfasst und die grösste Einzeldatei ihrer Art ist. Mit Hilfe solcher Dateien kann gegenwärtig für 75% der Patienten in 3 Monaten ein Spender gefunden werden [7]. Falls für einen Patienten, der dringend eine Transplantation benötigt, kein Spender gefunden wird, kommt in besonderen Fällen ein nicht HLA-identischer Spender aus der Familie in Frage (**haploidentische Transplantation**). Hierbei ist eine vollständige T-Zelldepletion der Spenderstammzellen bei einer sehr hohen Stammzellzahl nötig.

Der **Haupthistokompatibilitätskomplex (major histocompatibility complex, MHC)** ist eine Familie von Genen, die eine entscheidende Rolle bei der Erkennung von körpereigenen und –fremden Antigenen spielen und damit wichtig für die Gewebeverträglichkeit sind. Das Erkennungsprinzip beruht auf der Präsentation von Peptiden gegenüber T-Lymphozyten. Der MHC wird beim Menschen als HLA-System bezeichnet. HLA-Merkmale werden auf den meisten kernhaltigen menschlichen Zellen exprimiert. Für die Transplantation sind zwei Klassen von Antigenen entscheidend, die auf dem Chromosom 6 kodiert werden: MHC-Klasse-I- und MHC-Klasse-II-Antigene. Da das HLA-System hochpolymorph ist, hat jedes Gen mehrere Allele. Die Bestimmung der Allele geschieht molekulargenetisch [3]. Die optimale Auswahl eines Spenders ist abhängig von der Spender-Empfänger Relation des HLA-Systems, aber auch von anderen Faktoren. Von den bestimmbareren HLA-Merkmalen sollten die HLA-Klasse-I-Merkmale A, B, C, und Klasse-II-Merkmale DRB1 und DQB1 typisiert werden. Welcher HLA-Mismatch zugelassen werden darf und wann eine T-Zell Depletion erforderlich ist, bleibt Gegenstand der Diskussion [8]. Dass mit zunehmender Zahl an HLA-Disparität die Rate an Abstoßungen und an chronischer und akuter graft-versus-host disease, GvHD, steigt, ist unstrittig. Gleichzeitig wird angenommen, daß bis zu einem gewissen Mass auch ein sogenannter antileukämischer Effekt, GvL, auftritt und zunimmt.

Nach allogener Transplantation wird die Regeneration des Knochenmarks und erneute Hämatopoese durch Zellen des Spenders bewirkt. Da diese Zellen einen vom Empfänger unterschiedlichen genetischen Ursprung haben, entsteht ein sogenannter **hämatopoetischer Chimärismus**. Der Zustand, in dem die komplette Hämatopoese durch Spenderzellen erfolgt, wird nomenklatorisch als kompletter Chimärismus bezeichnet, während ein gemischter Chimärismus der Zustand ist, in dem entweder im Knochenmark oder im peripheren Blut noch Empfängerzellen nachweisbar sind. Nimmt der Empfängeranteil zu, spricht man von zunehmendem gemischtem Chimärismus. Die Untersuchung des Chimärismus basiert auf der Erkenntnis, dass es im Genom repetitive Sequenzen an definierten Stellen gibt, durch die sich

auch verwandte Individuen unterscheiden (sog. variable number of tandem repeats, VNTR, oder short tandem repeats, STR). Diese DNA Sequenzen lassen sich mit Methoden der Multiplex-Polymerasekettenreaktion (PCR) vermehren. Anschließend kann die Fragmentlänge und -stärke anhand einer Gelelektrophorese bestimmt werden, sodass die Länge der Sequenzen bei Spender und Empfänger bekannt sind und der Anteil an Spender- und Empfängerzellen in einer Blut- oder Knochenmarkprobe ermittelt werden kann. Die Bestimmung des hämatopoetischen Chimärismus nach Transplantation informiert nicht nur darüber, in welchem Ausmaß das neue Knochenmark funktionsfähig ist, sondern stellt vor allem bei malignen hämatologischen Erkrankungen ein wichtiges Instrument dar, um mögliche Rezidive frühzeitig zu erkennen. Dabei sind es nicht die Leukämiezellen selbst, die mit der Chimärismusuntersuchung erkannt werden. Vielmehr scheint es eine antileukämische Wirksamkeit des transplantierten Marks zu geben, die mit zunehmendem Empfängeranteil (zunehmendem gemischtem Chimärismus) abnimmt. Es konnte gezeigt werden, dass eine immunologische Modulation, die das Spendermark stärkt, einem Rezidiv entgegenwirkt [9]. Das bedeutet, dass durch den Entzug der in der Regel erforderlichen Immunsuppression oder die Gabe von Spenderlymphozyten das Rückfallrisiko verringert werden kann.

Mit **minimaler Resterkrankung** (minimal residual disease, MRD) ist das Persistieren oder Wiederauftreten von Leukämiezellen gemeint, die auch nach erreichter morphologischer Vollremission noch vorhanden sein können. Dabei handelt es sich um Leukämiezellen, die mit molekularbiologischen Methoden bis zu einer Sensitivität von 1:100.000 bis 1:1.000.000 Leukämiezellen/untersuchte Zellen detektierbar, nicht jedoch im Knochenmarkausstrich sichtbar sind. Es wird angenommen, daß die allogenen Stammzelltransplantationsverfahren ihre Wirksamkeit aus der immunologischen Wirkung der Spenderzellen gegen die residuellen Leukämiezellen. Mittlerweile ist bekannt, dass die Anzahl der noch in geringer Zahl vorhandenen Leukämiezellen vor der Transplantation, d.h. die MRD, limitierend für den Erfolg der SZT ist [10]. Somit sollten einerseits Patienten, die auch ohne SZT geheilt würden, nicht mit diesem Verfahren behandelt werden, andererseits aber auch solche Patienten nicht, bei denen die Wahrscheinlichkeit hoch ist, dass auch eine SZT nicht den gewünschten Erfolg bringt.

2.2 Indikationen zur SZT bei ALL in erster Remission

An Leukämien erkrankte Patienten bilden die Hauptgruppe für die Behandlung mit Stammzelltransplantationsverfahren im Kindesalter. Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie in erster Remission werden in der Regel mit konventioneller Chemotherapie

behandelt. Lediglich etwa 10% der Patienten mit ALL in erster kompletter Remission (CR1) kommen nach den gültigen Definitionen (ALL-BFM 2000) für eine Transplantation in Frage. Indikationen sind das schlechte Ansprechen auf Steroide, Nonresponse am Tag 33, das Vorliegen spezifischer Translokationen wie t(9;22) oder t(4;11) oder das Vorhandensein von minimaler Resterkrankung (MRD) im Knochenmark zu definierten Zeitpunkten in einer definierten Größenordnung.

Eine autologe SZT ist für Patienten in erster kompletter Remission grundsätzlich nicht indiziert. Die allogene SZT ist nur für Untergruppen der HR Gruppe zulässig. Bei Patienten mit einer Prognose von unter 50% - wie bei entsprechenden MRD Befunden - kommt fast jede Indikation für MRD-SZT auch für MUD-SZT in Frage, sofern der Spender auch genotypisch 10/10 ident ist. Patienten mit besonders schlechter Prognose (20-30%) haben die Indikation für jeden SZT Ansatz, sind also auch für die haploidente Transplantation (mismatched related donor = MMRD) zugelassen (Tabelle 1).

Tabelle 1: Indikationen für SZT in der Studie ALL-BFM 2000 und CoALL

Indikationen		MRD/MUD	MMRD
MRD-Niveau	An Tag 1 von Protokoll M = 10^{-3}	+	
	An Tag 1 Protokoll M > Tag 33 Protokoll I und Tag 1 Protokoll M $\geq 10^{-3}$	+	+
	An Tag 1 Protokoll M > 10^{-3}	+	+
NR Tag 33		+	+
PPR	+ T-ALL	(+)*	
	+ pro-B-ALL	+	
	+ WBC ≥ 100.000	+	
	+ t(9;22)	+	+
	+ t(4;11)	+	+
PGR	+t(9;22)	+	
	+t(4;11)	+	
HR	+M3-Mark an Tag 15	+	

MRD = matched related donor = HLA-identer Familienspender, MUD = matched unrelated donor= HLA-identer Fremdspender, MMRD = mismatched related donor = mismatch Familienspender

Die akute lymphoblastische Leukämie vom non-B-Typ bei Kindern ist mit einer Erstbehandlung gegenwärtig in nahezu 80% der Fälle heilbar [11].

Rund 20% der Kinder mit einer akuten lymphoblastischen Leukämie (ALL) erleiden also nach Erreichen einer kompletten Remission durch intensive Chemotherapie ein **Rezidiv**. Die Mehrzahl dieser Kinder erreicht durch erneute Induktionstherapie eine zweite Remission, aber etwa 60% von ihnen erleiden trotz intensiver Konsolidierungstherapie ein Folgerezidiv [12, 13]. Durch molekularbiologisches Monitoring lassen sich bei einem Großteil dieser Patientengruppe trotz der zytologisch belegten numerischen Remission (CR; < 5% Blasten im Knochenmark) vereinzelt residuelle Leukämiezellen nachweisen. Diese haben während der Therapie offensichtlich erhebliche Resistenzen gegenüber den eingesetzten Zytostatika entwickelt, so daß sie bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt nur durch radikale immuntherapeutische Maßnahmen, namentlich der allogenen Knochenmarktransplantation, erfolgreich behandelbar sind.

Die Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Onkologie/Hämatologie der Charité ist seit mehr als 20 Jahren Zentrale der Rezidivstudien für akute lymphoblastische Leukämien (ALL) im Kindesalter. Über hundert kideronkologische Zentren nehmen an diesen Multicenter Studien teil und allogene SZT werden an 18 assoziierten Transplantationszentren durchgeführt.

2.3 Indikationen zur SZT bei ALL-Rezidiv

Etwa 30% der Kinder mit Rezidiv einer ALL gehören einer Hochrisikogruppe an, die sich durch eine Heilungsrate von unter 10% mit konventioneller, intensivierter Chemotherapie auszeichnet. Hierzu gehören Kinder mit frühen und sehr frühen isolierten sowie sehr frühen kombinierten Knochenmarkrezidiven oder Knochenmarkrezidiven einer T-ALL [13, 14]. Bei diesen Patienten ist die Transplantation die Therapiechance mit der höchsten Wahrscheinlichkeit, ohne ein Folgerezidiv zu bleiben.

Betrachtet man Patienten mit intermediärer Prognose zum Rezidivzeitpunkt nach konventioneller Chemotherapie findet man die umstrittenste Indikation zur allogenen Stammzelltransplantation bei Kindern mit ALL-Rezidiv. Für diese Patienten mit späten, oder kombinierten frühen Rezidiven ist mittlerweile die Responsebeurteilung mittels Bestimmung der MRD mit ausschlaggebend [15-17]. Insgesamt wird hier der therapeutische Vorteil der verschiedenen Stammzelltransplantationsarten im Rahmen der akuten lymphatischen Leukämie im Kindesalter in 2. oder nachfolgender Remission noch immer diskutiert.

Risikofaktoren die berücksichtigt werden müssen sind neben Zeitpunkt und Rezidivlokalisierung auch immunologischer Phänotyp des Rezidivs sowie chromosomale Veränderungen. Alter und Geschlecht spielen unter Umständen eine Rolle sowie MRD zu definierten Zeitpunkten in definiertem Ausmaß.

Eine weniger umstrittene Indikation zur konventionellen Chemo- und Strahlentherapie stellt sich bei Kindern mit extramedullärem Rezidiv einer ALL in 2. oder nachfolgender Remission dar, da hier von einer relativ guten Prognose auszugehen ist.

Bei welchen Patienten, zu welchem Zeitpunkt im Krankheitsverlauf der ALL, mit welcher Transplantationsart und welcher Faktorenkonstellation eine Indikation zur Transplantation gegeben ist, ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit und wird im Diskussionsteil ausführlich dargestellt.

2.4 Toxizität, Spätfolgen und Folgerezidive nach SZT bei ALL

Eine der häufigsten und für die Patienten ernsthaftesten Komplikationen der allogenen SZT ist die **akute** und chronische **graft-versus-host disease** (Transplantat gegen Empfänger Reaktion, GvHD). In einem immundefizienten Organismus kommt es dann zu einer akuten GvHD, wenn immunkompetente Zellen (T-Zellen) eines genetisch nicht-identischen Spenders gegeben werden. Je ferner der Spender genetisch dem Empfänger steht (erkennbar vor allem an der Disparität der HLA-Merkmale), desto größer ist die Gefahr für das Auftreten einer GvHD und desto höher ist das Ausmaß dieser Reaktion (Abbildung 1). Gemessen wird die akute GvHD, die definitionsgemäß in den ersten 100 Tagen nach SZT auftritt, nach internationaler Übereinkunft in Schweregraden, die die drei wichtigsten betroffenen Organe Leber, Haut und Darm einbeziehen. Die Leberbeteiligung wird nach der Höhe des konsekutiven Bilirubinanstiegs eingeteilt, die Hauteinteilung nach Art und Ausmaß der Hauterscheinungen und die Darmbeteiligung definiert sich anhand der Stärke der Diarrhoe sowie das Vorhandensein von krampfartigen Schmerzen. Hieraus ermittelt sich der Grad der GvHD, der einen wichtigen Risikoparameter für das Überleben darstellt.

Die **chronische GvHD** tritt definitionsgemäß nach Tag 100 auf und stellt ein partielles oder komplettes Scheitern der Immuntoleranz der transplantierten Stammzellen gegenüber dem Empfängerorganismus dar. Während die Prognose mit einer sogenannten limitierten chronischen GvHD günstig ist, sind Patienten mit einer ausgedehnten chronischen GvHD in

ihrer Lebensqualität erheblich beeinträchtigt und haben eine schlechtere Überlebensprognose. Unter einer limitierten chronischen GvHD versteht man eine lokalisierte Hautbeteiligung und/oder Leberdysfunktion. Eine ausgedehnte chronische GvHD umfaßt per Definition eine generalisierte Hautbeteiligung oder eine lokalisierte Hautbeteiligung und/oder Leberdysfunktion und mindestens eines der folgenden Zeichen oder Symptome: Leberhistologie mit chronisch progressiver Hepatitis, Brückennekrosen oder Zirrhose, Augenbeteiligung, Beteiligung von Speicheldrüsen oder Mukosa sowie jede andere Organbeteiligung.

Die **GvHD-Prophylaxe** besteht bei SZT von einem passenden Familienspender (matched sibling donor, MSD) in einer Monomedikation mit Cyclosporin A (CsA) beginnend am Tag -1 vor Transplantation, und wird ab dem Tag +60 nach Transplantation wöchentlich um 20% reduziert. Bei SZT von einem passenden Fremdspender (matched unrelated donor, MUD) besteht die GvHD-Prophylaxe aus CsA, Methotrexat (MTX) und anti-Thymozyten-Globulin (ATG), die CsA-Reduktion erfolgt hier erst ab Tag +100. Bei SZT von einem nicht passenden Fremdspender (mismatched unrelated donor, MMD) werden zur GvHD-Prophylaxe die Lymphozyten mittels Selektionsmethoden aus dem Stammzelltransplantat entfernt, zusätzlich erhalten die Patienten ATG.

In seltenen Fällen (3-5%) können trotz intensiver Konditionierung ausreichend Empfängerzellen (T-Zellen oder NK-Zellen) überleben, die in der Lage sind, die Spenderstammzellen als fremd zu erkennen und **abzustoßen**. Risikofaktoren sind HLA-Disparität und das Ausmaß der HLA-Sensibilisierung des Empfängers, z.B. durch vorausgegangene Transfusionen. Klinisch kommt es entweder gar nicht erst zu einer Erholung der Blutbildung (Nonengraftment) oder, nach einer Phase der hämatopoetischen Regeneration, zu einer echten Abstoßungsreaktion. Eine solche Episode wird häufig von Zeichen der Zytokinausschüttung (Fieber, Lymphozytose, CRP-Anstieg, Schockzeichen) begleitet.

Die Konditionierungsbehandlung führt bei nahezu allen Patienten zu einer allgemeinen und organbezogenen **Toxizität**, die sich dosislimitierend auswirkt. Sowohl die Strahlentherapie als auch die eingesetzten zytostatischen Medikamente wirken proliferationshemmend auch auf gesundes Wechselgewebe. Daher kommt es bei den verwendeten Dosierungen neben der Knochenmarkaplasie prinzipiell zu Haarausfall, Übelkeit und Erbrechen sowie **Schleimhautschäden**. Darüberhinaus verfügt jedes einzelne Medikament noch über ein

zusätzliches Toxizitätsprofil, das zu beachten ist (Tabelle 2). Üblicherweise wird die Konditionierung auf der Basis einer Ganzkörperbestrahlung oder einer Behandlung mit Busulfan durchgeführt. Die Wahl der Konditionierung richtet sich nach dem Alter des Patienten, nach der Strahlenvorbelastung, nach dem Zeitpunkt und den Orten eines Rezidivs sowie nach der Stammzell-Spenderart.

Tabelle 2: Konditionierungsverfahren und –medikamente des Protokolls ALL-SZT 2003

Medikamente/ Verfahren	Dosierung im Rahmen der Konditionierung *)	Toxizität
Ganzkörperbestrahlung	12 Gy akzelleriert fraktioniert, z.B. an 3 Tagen je 2 x 2 Gy/d	<i>Pneumonitis</i> , Mucositis, Erbrechen, Haarausfall
Busulfan	4 x 4-5 mg/kg p.o.	<i>Mukositis</i> , VOD, Krämpfe, Ausschlag, Erbrechen, Pneumonitis
Endoxan	2 x 60 mg/kg i.v.	<i>Herzinsuffizienz</i> , hämorrhagische Zystitis, SIADH, Erbrechen, interstitielle Pneumonie
Etoposid	1 x 40 mg/kg – 60 mg/kg i.v.	<i>Mukositis</i> , Hepatitis, Erbrechen, Pneumonie
Fludarabin	4 x 40 mg/m ² i.v.	Hämolytische Anämie, Thrombopenie, Pemphigus
ATG	3 x 20 mg/kg i.v.	<i>Allergische Reaktion</i>
Melphalan	1 x 140 mg/m ² i.v.	Myelosuppression, Stomatitis, Diarrhoe, Erbrechen

*) Die angegebenen Dosen sind Richtwerte; die tatsächlich eingesetzten Dosen hängen von der verwendeten Kombination ab, die kursiv gesetzten Toxizitäten sind dosislimitierend.

Eine besonders schwerwiegende Komplikation in den ersten 4 Wochen nach SZT ist die Venenverschlusskrankheit (veno-occlusive disease, VOD), bei der es vermutlich durch toxische Endothelschädigung zu einer Verlegung kleiner Lebervenen kommt (entweder durch die Medikamente der Konditionierung, v.a. Busulfan, oder durch sekundäre Zytokinfreisetzung). Die Erkrankung macht sich klinisch bemerkbar durch Ikterus, einen akuten Thrombozytenabfall, Schmerzen im rechten oberen Quadranten, Gewichtszunahme und Aszites. Die Umkehr des Pfortaderflusses ist in der Regel ein Spätzeichen. Zur Prophylaxe und Behandlung sind die verschiedensten antithrombotischen Prinzipien (rh-tPA, Prostaglandin E, Heparin, Defibrotide) diskutiert worden.

Man unterscheidet verschiedene Phasen der Transplantation die mit unterschiedlichen **Infektionen** assoziiert sind [18]. In der Aplasie und Regenerationsphase (etwa bis Tag +30)

sind es vor allem Infektionen durch Bakterien und Pilze (*Candida* spezies), die für die Patienten bedrohlich sind. Während die Gefahr bakterieller Infektionen mit der Erholung der Myelopoese abnimmt, bleibt die Gefahr der Infektion vor allem durch *Aspergillus* Spezies noch bis Ende des ersten Jahres nach SZT bestehen. Vor allem Patienten mit chronischer GvHD oder Patienten nach hochgradiger T-Zelldepletion sind hiervon bedroht. In die Diagnostik sind auch Infektionen durch Einzeller (*Pneumocystis carinii*, *Toxoplasma gondii*) mit einzubeziehen.

Virusinfektionen (HSV, Adenoviren, VZV, HHV6, Parvovirus B19) treten in der Regel nach der myeloischen Regeneration auf. Vor allem Infektionen durch persistierende Viren (CMV) können den Transplantationserfolg gefährden. Notwendig ist eine regelmäßige, engmaschige PCR-Diagnostik mindestens bis zum Tag +100, um eine antivirale Therapie frühzeitig beginnen zu können.

Zu Unrecht gehen Patienten und oft auch die zuweisenden Ärzte davon aus, dass es die Transplantation nur zu überstehen gelte, um von der Krankheit geheilt zu sein. Die SZT ist allerdings wie andere Behandlungsverfahren auch, durch das Risiko eines **Rezidivs** belastet, allerdings in geringerem Ausmaß [19]. Daher sind weitere Studien erforderlich, in denen die Rolle und der Wert der SZT in Konkurrenz zu "konventionellen" Chemotherapieverfahren ständig neu zu überprüfen ist. Zum Monitoring nach Transplantation eignen sich bei der allogenen SZT die Chimärismus-Nachweisverfahren. Bei frühzeitigem Erkennen eines Rezidivs kann die rasche Reduktion der Immunsuppression hilfreich sein. Die Gabe von Spenderlymphozyten ist vor allem bei Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie von nachgewiesenem Nutzen [20], während bei ALL und AML keine Erfolge hiermit erzielt werden können, wenn bereits ein ausgeprägtes Rezidiv besteht [21, 22]. Prinzipiell ist diese Behandlung nicht ungefährlich und kann zur Aplasie und zu einer akuten GvHD führen. Manche Patienten sprechen auf die erneute Behandlung mit Chemotherapie an. Eine Zweittransplantation wird dann empfohlen, wenn bei akuter Leukämie eine erneute Remission erreicht wurde und ein Zeitraum von mindestens zwei Jahren zwischen der ersten SZT und der zweiten SZT vergangen ist. Eine zweite SZT ist mit einer hohen Toxizität belastet [23, 24].

Vor allem im Zusammenhang mit einer chronischen GvHD aber auch durch die Langzeitwirkung der verwendeten Konditionierung kommt es zu **Spätfolgen**, die verschiedene Organe und Organsysteme betreffen können [25], Tabelle 3. Gefährdet ist

hierbei das endokrine System, dessen hypothalamisch-hypophysäre Achse partiell oder komplett ausfallen kann [26, 27]. Nicht selten tritt eine Hypothyreose sowie Wachstumsstörungen und Störungen der Pubertät auf. Daher gehört zur Langzeitbetreuung von Patienten mit SZT auch eine endokrinologische Nachsorge. Mit einer chronischen GvHD assoziiert sind mannigfaltige Folgen für Haut, Schleimhaut, Auge, Leber, Linse, ZNS, Immunsystem, Gelenke und den Magen-Darm-Trakt. Die Häufigkeit der chronischen GvHD wird mit 60-80% aller Langzeitüberlebenden nach SZT angegeben [25]. Abhängig von der Konditionierung ist das Auftreten einer Katarakt (nach Bestrahlung der Linse) und die Infertilität (durch Bestrahlung der Gonaden bzw Busulfanbehandlung). Gefürchtet ist das Auftreten von **malignen Zweiterkrankungen**. Auch hier besteht ein Zusammenhang mit einer chronischen GvHD, die zu einer andauernden Immundefizienz führt, die das Entstehen von malignen Zweiterkrankungen begünstigt [28].

Tabelle 3: Spätfolgen bezogen auf Organe und Funktionen

Organ/Funktion	Folgen
Augen	Katarakt nach Ganzkörperbestrahlung, nach hochdosierten Steroiden, Sicca-Syndrom (bei chronischer GvHD)
Ohren	Schwerhörigkeit nach Platinderivaten bei autologer SZT
Haut	Pigmentstörungen, Veränderungen durch chronische GvHD (sklerodermiform/lichenoid), Hautkrebs
Gelenke	Kontrakturen bei chronischer GvHD
Skelett	Aseptische Knochennekrosen
Gehirn	Kognitive Beeinträchtigungen nach hohen kumulativen Strahlendosen
Lunge	Chronische obstruktive und restriktive Ventilationsstörung
Wachstum	Wachstumsretardierung durch Störung der Wachstumshormonsekretion, IGF-Bildung und Schluss der Wachstumsfugen
Fruchtbarkeit	Sterilität
Pubertät	Retardierung des Pubertätseintritts
Schilddrüse	Hypothyreose
Zweitumoren	Lymphoproliferatives Syndrom (früh), Zweitleukämien und solide Tumoren nach 5-30 Jahren

Die erste erfolgreiche allogene SZT wurde vor 40 Jahren durchgeführt [29]. Erst in den letzten 10-20 Jahren wurden jedoch ausreichend Transplantationserfahrungen gesammelt, um Vergleiche mit anderen Therapieformen zu erlauben. Ein Vergleich der Ergebnisse der SZT mit denen der Chemotherapie benötigt ein ausreichendes Follow-up, da späte Folgerezidive und Sekundärmalignome auftreten können[30]. Bei Patienten die mit Chemotherapie behandelt werden, treten solche Folgerezidive im Allgemeinen innerhalb von 5 Jahren nach der Erkrankung, bzw. dem Rezidiv auf, bei Patienten die eine SZT erhalten, treten die meisten

Folgerezidive innerhalb von 2 Jahren auf. Sekundärmalignome treten sowohl nach Chemotherapie als auch nach SZT auch noch wesentlich später auf [31].

3. Fragestellungen

Ziel war es, die Rolle der SZT bei der Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit Rezidiv einer ALL zu spezifizieren.

Hier war es zunächst wichtig im Rahmen der ALL-Rezidiv Studien zu klären, welche therapeutische Effizienz verschiedene Behandlungsstrategien d.h. Chemotherapie vs allogener vs autologer SZT bei **extramedullärem Rezidiv** einer ALL in 2. oder nachfolgender Remission haben [32]. Bei dieser Patientengruppe handelt es sich um Patienten die eine **relativ gute Prognose** mit konventioneller Chemo- und Strahlentherapie haben.

Es war im weiteren von Interesse, ob es bei Patienten mit **spätem Knochenmarkrezidiv** möglich ist, in **2. CR** zunächst keine allogene SZT- zumindest keine von einem unverwandten Spender- durchzuführen und diese ggf in **3. CR** nachzuholen, um so einigen Patienten die therapiebedingte Toxizität, mit der allogene SZT von unverwandten Spendern einhergehen, zu ersparen [33]. Bei dieser Patientengruppe handelt es sich um Patienten die eine **intermediäre Prognose** mit konventioneller Chemo- und Strahlentherapie haben.

Es musste geklärt werden, ob die **autologe SZT** in ihrer bisherigen Form d.h. ohne nachfolgende Dauertherapie einen prognostischen Vorteil gegenüber der konventionellen Chemotherapie erbringt [34].

Auch sollte geklärt werden, wo die **SZT von unverwandten Spendern** mit ihren noch immer beträchtlichen Mortalitäts und Morbiditätsrisiken ihre Berechtigung findet [35]. D.h. welche Patienten ein so **hohes Rezidiv Risiko** haben, dass eine Fremdspender SZT indiziert ist und umgekehrt welche Patienten sie für eine Langzeit Kontrolle Ihrer Leukämie nicht benötigen.

Es sollten die Auswirkungen der Ganzkörperbestrahlung im Rahmen der Konditionierung vor SZT auf die **akute Toxizität** bei Kindern mit malignen Erkrankungen untersucht [36] und das Risiko geschätzt werden, nach ALL- Erst- und Rezidivtherapie eine **maligne Zweiterkrankung** zu erleiden [37].

Für Patienten ohne geeigneten Stammzellspender ist die allogene SZT nicht anwendbar. Für Kinder der **Hochrisikogruppe** wäre prinzipiell die autologe Stammzelltransplantation mit nachfolgender **Immuntherapie** nach Hochdosistherapie eine therapeutische Alternative. Zunächst könnte die überwiegende Tumormasse durch Chemoradiotherapie vernichtet werden. Nach Stammzellreinfusion könnten dann körpereigene immunologische Abwehrmechanismen stimuliert werden, die zu einer stabilen Remission führen. Um dieses zu erreichen, sollte ein Vakzinationsverfahren entwickelt werden, bei dem Leukämiezellen durch Einschleusen einer für ein fremdes HLA-codierenden cDNA allogenisiert werden sollten [38].

4. Ergebnisse

(1)

Influence of fractionated total body irradiation on mucosal toxicity in intensified conditioning regimens for autologous bone marrow transplantation in pediatric cancer patients

Es sollten die Auswirkungen der Ganzkörperbestrahlung im Rahmen der Konditionierung vor SZT auf die akute Toxizität bei Kindern mit malignen Erkrankungen untersucht werden

Die Originalarbeit wurde in der Onlineveröffentlichung aus Gründen des Urheberrechts entfernt.

Literaturangabe:

Borgmann, A., Emminger, W., Emminger-Schmidmeier, W., Peters, C., Gatterer-Menz, I., Henze, G. und Gadner, H., Influence of fractionated total body irradiation on mucosal toxicity in intensified conditioning regimens for autologous bone marrow transplantation in pediatric cancer patients. *Klin Padiatr*, 1994. **206**(4): p. 299-302.

(2)

Autologous bone marrow transplantation as compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukaemia in a second remission: A matched pair analysis.

Es sollte geklärt werden, ob die autologe SZT in ihrer bisherigen Form d.h. ohne nachfolgende Immun- oder Dauertherapie einen prognostischen Vorteil gegenüber der konventionellen Chemotherapie für Kinder mit Rezidiv einer akuten lymphoblastischen Leukämie erbringt.

Die Originalarbeit wurde in der Onlineveröffentlichung aus Gründen des Urheberrechts entfernt.

Literaturangabe:

Borgmann, A., Schmid, H., Hartmann, R., Baumgarten E., Hermann, K., Klingebiel, T., Ebell, W., Zintl, F., Gadner, H., Henze, G., for the BFM Relapse Study Group, Autologous bone marrow transplantation as compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukaemia in a second remission: A matched pair analysis. *Lancet*, 1995. 95: p. 873-76.

(3)

Isolated extramedullary relapse in children with acute lymphoblastic leukemia: a comparison between treatment results of chemotherapy and bone marrow transplantation.

Ziel war es, die Rolle der SZT bei der Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit Rezidiv einer ALL zu spezifizieren. Hier war es zunächst wichtig im Rahmen der ALL Rezidiv Studien zu klären, welche therapeutische Effizienz verschiedene Behandlungsstrategien d.h. Chemotherapie vs allogener vs autologer SZT bei extramedullärem Rezidiv einer ALL in 2. oder nachfolgender Remission haben. Bei dieser Patientengruppe handelt es sich um Patienten die eine relativ gute Prognose mit konventioneller Chemo- und Strahlentherapie haben.

Die Originalarbeit wurde in der Onlineveröffentlichung aus Gründen des Urheberrechts entfernt.

Literaturangabe:

Borgmann, A., Hartmann, R., Schmid, H., Klingebiel, T., Ebell, W., Gobel, U., Peters, C., Gadner, H. und Henze, G., Isolated extramedullary relapse in children with acute lymphoblastic leukemia: a comparison between treatment results of chemotherapy and bone marrow transplantation. BFM Relapse Study Group, Bone Marrow Transplant, 1995. 15(4): p. 515-21.

(4)

Allogeneic bone marrow transplantation for a subset of children with acute lymphoblastic leukemia in third remission: a conceivable alternative?

Es war im Weiteren von Interesse, ob es bei Patienten mit spätem Knochenmarkrezidiv möglich ist, in 2. CR zunächst keine allogene SZT- zumindest keine von einem unverwandten Spender- durchzuführen und diese ggf. in 3. CR nachzuholen, um so einigen Patienten die therapiebedingte Toxizität, mit der allogene SZT von unverwandten Spendern einhergehen, zu ersparen. Bei dieser Patientengruppe handelt es sich um Patienten die eine intermediäre Prognose mit konventioneller Chemo- und Strahlentherapie haben.

Die Originalarbeit wurde in der Onlineveröffentlichung aus Gründen des Urheberrechts entfernt.

Literaturangabe:

Borgmann, A., Baumgarten, E., Schmid, H., Dopfer, R., Ebell, W., Gobel, U., Niethammer, D., Gadner, H. und Henze, G., Allogeneic bone marrow transplantation for a subset of children with acute lymphoblastic leukemia in third remission: a conceivable alternative? Bone Marrow Transplant, 1997. 20(11): p. 939-44.

(5)

Immunotherapy of acute lymphoblastic leukemia by vaccination with autologous leukemic cells transfected with a cDNA expression plasmid coding for an allogeneic HLA class I antigen combined with interleukin-2 treatment

Für Patienten ohne geeigneten Stammzellspender ist die allogene SZT nicht anwendbar. Für Kinder der Hochrisikogruppe wäre prinzipiell die autologe Stammzelltransplantation mit nachfolgender Immuntherapie nach Hochdosistherapie eine therapeutische Alternative. Zunächst könnte die überwiegende Tumormasse durch Chemoradiotherapie vernichtet werden. Nach Stammzellreinfusion könnten dann körpereigene immunologische Abwehrmechanismen stimuliert werden, die zu einer stabilen Remission führen. Um dieses zu erreichen, sollte ein Vakzinationsverfahren entwickelt werden, bei dem Leukämiezellen durch Einschleusen einer für ein fremdes HLA codierenden cDNA allogenisiert werden sollten.

Die Originalarbeit wurde in der Onlineveröffentlichung aus Gründen des Urheberrechts entfernt.

Literaturangabe:

Borgmann, A., von Stackelberg, A., Baumgarten, E., Uchanska-Ziegler, B., Ziegler, A., Wittig, B. und Henze, G., Immunotherapy of acute lymphoblastic leukemia by vaccination with autologous leukemic cells transfected with a cDNA expression plasmid coding for an allogeneic HLA-class I antigen combined with interleukin-2 treatment. *J Mol Med*, 1998. 76(3-4): p. 215-21.

(6)

Unrelated donor stem cell transplantation compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukemia in a second remission: a matched-pair analysis

Auch sollte geklärt werden, wo die SZT von unverwandten Spendern mit ihren noch immer beträchtlichen Mortalitäts und Morbiditätsrisiken ihre Berechtigung findet. D.h. welche Patienten ein so hohes Rezidiv Risiko haben, dass eine Fremdspender SZT indiziert ist und umgekehrt welche Patienten sie für eine Langzeit Kontrolle Ihrer Leukämie nicht benötigen.

Die Originalarbeit wurde in der Onlineveröffentlichung aus Gründen des Urheberrechts entfernt.

Literaturangabe:

Borgmann, A., von Stackelberg, A., Hartmann, R., Ebell, W., Klingebiel, T., Peters, C. und Henze, G., Unrelated donor stem cell transplantation compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukemia in a second remission: a matched-pair analysis. *Blood*, 2003. 101(10): p. 3835-9.

(7)

Secondary malignant neoplasms after intensive treatment of relapsed acute lymphoblastic leukaemia in childhood.

Es sollte das Risiko geschätzt werden, nach ALL- Erst- und Rezidivtherapie eine maligne Zweiterkrankung zu erleiden.

Die Originalarbeit wurde in der Onlineveröffentlichung aus Gründen des Urheberrechts entfernt.

Literaturangabe:

Borgmann, A., Zinn, C., Hartmann, R., Herold, R., Kaatsch, P., Escherich, G., Mörcke, A., Henze, G., v. Stackelberg, A., for the ALL-REZ BFM Study Group, Secondary malignant neoplasms after intensive treatment of relapsed acute lymphoblastic leukaemia in childhood. Eur J Cancer, 2008. 44: p. 257-68.

5. Diskussion

5.1 Die Rolle der Stammzelltransplantation bei ALL-Rezidiv im Kindesalter Möglichkeiten der Stammzelltransplantation

Vier Optionen existieren zur Postremissionsbehandlung eines ALL-Rezidivs im Kindesalter: allogene SZT von verwandten Spendern, allogene SZT von unverwandten Spendern, weitere Chemotherapie oder autologe SZT. Dabei stellt die allogene SZT von verwandten Spendern die wahrscheinlich effektivste Behandlung in Bezug auf Rezidivfreiheit und tolerable Toxizität dar, sie ist jedoch nur für die Minderheit der Patienten eine Option. Mittlerweile ist die MUD SZT möglicherweise ähnlich einzuschätzen [39]. Anfang der 90er Jahre existierten für die Mehrheit der Patienten zwei realistische Optionen: Chemotherapie oder autologe SZT [40]. Setzte man für beide Modalitäten eine gleiche Kontrolle der Leukämie voraus, fiel die Wahl der Therapie noch immer schwer. Ein Vorteil der SZT gegenüber der Chemotherapie ist nach wie vor die kürzere Behandlungsdauer. Die verwendeten Konditionierungsregime der SZT beinhalten jedoch Hochdosischemotherapie meist in Kombination mit einer Ganzkörperbestrahlung. Abgesehen von der akuten Toxizität, die möglicherweise sogar zum Tod führen kann, müssen sich die Überlebenden mit therapiebedingten Langzeitfolgen wie Infertilität, Wachstumsverzögerung, anderen endokrinologischen Defekten oder reduzierter Markfunktion auseinandersetzen. Diese Nachteile sind nach konventioneller Chemotherapie weniger wahrscheinlich [41, 42]. Ob die autologe SZT eine vergleichbare oder bessere Leukämiekontrolle als die Chemotherapie bewirkt, wurde kontrovers diskutiert und war durch keine Studie bewiesen.

Autologe Stammzelltransplantation

Ein hypothetischer Vorteil der SZT ist die Möglichkeit, Hochdosistherapie zu verabreichen und damit eine mögliche Medikamentenresistenz residueller Leukämiezellen zu überwinden. Es gibt jedoch zumindest bei der autologen SZT zwei Einschränkungen dieses Ansatzes. Erstens kann der Vorteil der Hochdosiskonditionierung durch Reinfusion leukämischer Zellen gefährdet werden. Reinigungsverfahren zur Reduktion von Leukämiezellen in Stammzellpräparaten wurden etabliert, ohne zu diesem Zeitpunkt in randomisierten Studien erfolgreich geprüft worden zu sein. Zweitens wird das Immunsystem des Patienten durch die Konditionierung schwer supprimiert. Das ermöglicht persistierenden oder reinfundierten residuellen Leukämiezellen erneut und sogar schneller als ohne kompromitierte Immunität zu wachsen. Der frühere und steilere Abfall der rezidivfreien Überlebenskurve in der Gruppe der transplantierten Patienten könnte hierdurch erklärt werden. Höhere Raten von Folgerezidiven

nach allogener SZT bei Patienten ohne GvHD oder nach Erhalt von Transplantaten von eineiigen Zwillingen geben zusätzlichen Hinweis darauf, dass allogene Immunreaktionen nach SZT zur Heilung beitragen. In der Konsequenz wurde versucht, Immuntherapien zu erproben, um den graft-versus-leukemia Effekt zu imitieren und residuelle Leukämiezellen zu kontrollieren.

Die Wirkung der autologen SZT beruht auf der primären Annahme, daß die komplette Elimination der Leukämiezellen durch intensive Konditionierungstherapie möglich ist. Dabei stellt sich nicht nur für die SZT, sondern allgemein für die Behandlung der ALL die Frage: Ist es wahrscheinlich, dass eine "Ein Schlag" Behandlung ein sinnvoller Therapieansatz ist? Es ist allgemein akzeptiert, dass die Dauertherapie eine wesentliche und unverzichtbare Komponente der ALL Behandlungsprotokolle ist. Wie von der BFM Gruppe gezeigt, führte die Verkürzung der Dauertherapie um nur 6 Monate zu schlechteren Heilungsraten, und auch andere Ergebnisse zeigen, dass eine Dauertherapie von weniger als 2-3 Jahren mit mehr Rezidiven assoziiert ist. Die Wirkweise der Langzeitchemotherapie mit niedrigdosierten Antimetaboliten ist noch unklar. Es ist unwahrscheinlich, dass die Dauertherapie in der Lage ist, das Wiederwachstum von chemotherapieresistenten Zellen zu verhindern. Ebenso läßt sich daran zweifeln, ob eine kontinuierliche niedrigdosierte Chemotherapie Leukämiezellen beseitigen kann, die eine intensivere Chemotherapie während der Induktion und Konsolidierung überlebt haben. Es wird daher vermutet, dass der Effekt der Dauertherapie darin besteht, das Wachstum residueller Leukämiezellen so lange zu kontrollieren, bis das Immunsystem des Patienten sie eliminieren kann.

Bei unserer Untersuchung in der Gesamtgruppe der Patienten mit erstem Rezidiv einer ALL ergab eine matched-pair Analyse keinen Vorteil der autologen SZT gegenüber konventioneller Chemotherapie und Schädelbestrahlung [34]. Die Patienten hatten eine einheitliche Chemotherapie zur Remissionsinduktion im Rahmen der BFM Rezidivstudien erhalten. Die Konditionierungsregime vor autologer SZT variierten allerdings. Das mediane Intervall zwischen erreichter Remission und SZT lag bei 24 Wochen mit einer großen Streubreite von 1-107 Wochen. Deshalb wurde der statistische Vergleich auf Patienten mit Chemotherapie beschränkt, deren zweite Remission mindestens so lange andauerte wie das Intervall bis zur Transplantation in der Transplantationsgruppe. Zudem basierten die Ergebnisse der matched-pair Analyse auf der Kontrolle von Hauptselektionsschiefen, die bei anderen publizierten Ergebnissen unberücksichtigt blieben. Die Anzahl untersuchter Patienten war groß genug um einen bestehenden relevanten Unterschied zwischen beiden Therapiegruppen entdecken zu können, wenn dieser vorhanden gewesen wäre.

Der nicht belegte Vorteil der autologen SZT gegenüber der Chemotherapie hinsichtlich der Langzeitergebnisse läßt sich wie oben beschrieben am ehesten durch das Fehlen einer anschließenden Immun- oder Dauertherapie erklären.

Allogene Stammzelltransplantation

Seit Beginn der Studien ALL-REZ BFM galt die allogene SZT als die Behandlung der Wahl im Falle eines systemischen Rezidivs und bereits zu Beginn der 90er Jahre lagen erste Ergebnisse der SZT über Toxizität und Prognose vor [43]. In den letzten Jahren ist die Möglichkeit zur Durchführung einer allogenen SZT durch die zunehmende Verfügbarkeit unverwandter Spender gestiegen, haploidente Transplantationen mit verstärkter Immunsuppression wurden etabliert und die Anzahl der SZT sowohl mit HLA-match ($\geq 9/10$) als auch mit HLA-mismatch ($< 9/10$) nimmt zu.

Im Allgemeinen wird die allogene SZT als die Behandlung der Wahl nach systemischem Rezidiv einer ALL empfohlen, wenn ein passender verwandter Spender zur Verfügung steht. Für Patienten mit einem späten ersten Knochenmarkrezidiv einer non-T/non-B ALL war jedoch unseren Untersuchungen zufolge das Ergebnis mit Chemoradiotherapie nicht signifikant unterschiedlich von dem mit allogener SZT [44]. Deshalb schien die Chemoradiotherapie primär geeignet, ein erstes spätes Knochenmarkrezidiv zu behandeln, und eine SZT könnte dann bei einem zweiten Knochenmarkrezidiv durchgeführt werden. Zudem konnten wir zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit, nach ALL-Knochenmarkrezidiv ereignisfrei zu überleben, nach allogener SZT in zweiter Remission vergleichbar ist mit der Wahrscheinlichkeit nach allogener Stammzelltransplantation in 3. Remission [33]. Letzteres stand im Gegensatz zu zuvor publizierten Studien, in denen eine niedrigere leukämiefreie Überlebensrate in 3. Remission berichtet wurde. Daten, die in diesem Zusammenhang publiziert wurden, zeigen EFS Raten nach SZT in 2.CR von 40-60%.

Für Patienten mit einem ersten frühen Knochenmarkrezidiv galt eine eindeutige Indikation zur allogenen SZT von verwandten Spendern. Im Gegensatz zur konventionellen Behandlung waren die Ergebnisse mit SZT nicht unterschiedlich zwischen späten und frühen Rezidiven, ein Hinweis dafür, dass die letztgenannte Gruppe klar von der SZT profitiert. In verschiedenen Berichten wurden EFS Raten von 40-45% angegeben, also etwas ungünstigere als in unserer Untersuchung. Die BFM Studien haben weiterhin gezeigt, dass Kinder mit frühen isolierten oder sehr frühen Knochenmark Rezidiven sowie mit Rezidiv einer T-ALL eine sehr ungünstige Prognose haben, wenn sie mit konventioneller Chemotherapie behandelt werden. Diese Patienten haben im Vergleich zu anderen eine sehr viel niedrigere

Remissionsrate und ihre Wahrscheinlichkeit des ereignisfreien Überlebens ist fast null. Deshalb ist in dieser Gruppe von Patienten die sofortige SZT indiziert, sobald eine zweite Remission erreicht wird. In Anbetracht der schlechten Prognose sollte auch eine SZT von nicht verwandten Spendern durchgeführt werden, wenn rechtzeitig ein passender Spender gefunden werden kann.

Eine ähnliche Erfolgs- und Rezidivrate voraussetzend, muss bei der Wahl der Behandlung auch akute und Langzeittoxizität beider Modalitäten berücksichtigt werden. Ist eine Remission erstmal erreicht, ist die behandlungsassoziierte Mortalität der Chemotherapie sehr gering, bei allogener SZT von verwandten Spendern liegen letale Komplikationen bei 5-10%. Ebenso ist die Morbidität bei der Chemotherapie niedrig, wohingegen Spätfolgen nach SZT wie hormonelle Defizienz, Wachstumsverzögerung, Infertilität und chronische GvHD beträchtlich sind. Zusätzlich gibt es ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer malignen Zweiterkrankung nach SZT, das von Bhatia et al mit 9.9% nach 13 Jahren angegeben wird [28]. Es gibt daher berechtigte Gründe, die SZT in 2.CR bei Patienten mit spätem Knochenmarkrezidiv, in denen eine ähnliche Kontrolle der Leukämie mit Chemotherapie erreicht werden kann, zunächst zurückzuhalten. Dieses gilt insbesondere, wenn kein verwandter Spender gefunden werden kann. Wenn ein Patient nach SZT erneut rezidiviert, ist ein Erfolg mit einer zweiten SZT nicht vollkommen unmöglich, aber durch erhebliche Toxizität stark eingeschränkt. Rezidiviert hingegen ein Patient mit spätem Knochenmarkrezidiv nach Chemotherapie erneut, ist die Chance eine 3.CR zu erreichen 60%. Bei einer Rezidivrate von 60% kommen somit 36% der ursprünglichen Patienten mit erstem spätem Knochenmarkrezidiv für eine SZT in 3.CR in Frage, sodass unter der Annahme einer 50% Erfolgchance der SZT weitere 18% der Patienten in 3.CR geheilt werden können. Die Überlebensrate des Gesamtkollektivs würde damit von 40% auf 58% verbessert. Unseren Daten zufolge wird mit dieser Strategie, die SZT erst anlässlich eines 2. Rezidivs durchzuführen, die Gesamtüberlebensrate somit nicht reduziert und Spätfolgen der SZT würden nur auf eine eingeschränkte Gruppe von Kindern zukommen.

Fremdspendertransplantation

Fremdspendertransplantationen (matched unrelated donor, MUD-SZT) werden mit zunehmender Verfügbarkeit von Spendern seit 1990 vermehrt auch in den ALL-REZ BFM Studien durchgeführt. Die transplantationsassoziierte Letalität bei Fremdspendertransplantation wurde in der Literatur mit 20-30% angegeben [45] und lag damit höher als bei allogener SZT von verwandten Spendern [46]. Verschiedene Versuche,

SZT und Chemotherapie zu randomisieren sind bislang fehlgeschlagen, hauptsächlich wegen persönlicher Präferenzen der behandelnden Ärzte, aber auch der Patienten und Ihrer Familien gegenüber dem einen oder anderen Ansatz. Da randomisierte Studien fehlten, führten wir eine matched-pair Analyse bei Patienten durch, die in 2.CR entweder mit Chemotherapie nach ALL-REZ BFM Protokollen oder mit Fremdspondertransplantation behandelt wurden [35].

Da Patienten mit einem hohen Risiko für ein Folgerezidiv bevorzugt einer allogenen SZT zugeführt wurden, ist der direkte Vergleich zwischen UD-SZT und Chemotherapie mit einer Schiefe durch eine Negativauswahl der SZT Patientengruppe in Bezug auf die Risikofaktoren, gleichzeitig aber auch Positivauswahl in Bezug auf die Zeit in CR bis zur Transplantation belastet. Um diese Schiefen auszugleichen, wurde bei unserer Analyse für jeden Patienten, der eine SZT erhielt, ein Partner ausgewählt, der nur mit Chemotherapie behandelt wurde, in allen bekannten Risikofaktoren übereinstimmte und eine mindestens so lange Remissionsdauer hatte wie die entsprechende Dauer bis zur Transplantation seines Vergleichspartners. Da UD-SZT erst während der letzten 10 Jahre vermehrt durchgeführt werden konnten, stehen für Hochrisikopatienten, die in jüngerer Zeit vorrangig transplantiert wurden, hauptsächlich historische Kontrollen mit Chemotherapiebehandlung zur Verfügung. Um die unterschiedliche Dauer des Beobachtungszeitraums auszugleichen, wählten wir daher diejenigen Patienten aus der Chemotherapiegruppe, dessen Diagnosedatum am nächsten zu dem des Transplantationspatienten lag.

In unserer Untersuchung war die Rate an therapiebedingten Todesfällen (therapy-related death, TRD) bei den transplantierten Kindern hoch (30%) im Vergleich zu der Rate bei Kindern, die mit Chemotherapie behandelt wurden (4%). Das pEFS (0.42 nach 5 Jahren) der Kinder mit UD-SZT ist ermutigend, wenn man ihr ungünstiges Risikoprofil (65% gehörten der HR Gruppe an) betrachtet. In der Hochrisikogruppe lag das 5-Jahres-EFS bei 0.44 für Patienten die eine SZT erhielten, und bei 0.00 für Patienten, die Chemotherapie erhielten ($p < .001$). Kinder mit schlechten prognostischen Faktoren profitieren somit eindeutig von der UD-SZT. Die therapieassoziierte Mortalitätsrate von 30% ist hoch, musste jedoch bislang angesichts der ansonsten unheilbaren Erkrankung akzeptiert werden. Im Gegensatz zu den Ergebnissen in der Hochrisikogruppe war kein klarer Vorteil der UD-SZT für Patienten in der intermediären Risikogruppe in Bezug auf das EFS zu erkennen: die 5-Jahres-EFS Raten waren 0.39 für Patienten mit UD-SZT und 0.49 für Patienten, die eine konventionelle Chemotherapie erhielten. Die Ergebnisse in beiden Gruppen waren statistisch nicht signifikant unterschiedlich. Angesichts der höheren Toxizität ist davon auszugehen, dass bei

Rezidiv mit intermediärem Risiko die UD-SZT keinen Vorteil gegenüber der alleinigen Chemoradiotherapie bietet.

Stammzelltransplantation bei extramedullärem Rezidiv

Bei extramedullärem Rezidiv scheint die autologe SZT zunächst aus zwei Gründen weniger geeignet zu sein als andere Therapieverfahren: einerseits wegen der Möglichkeit der Reinfusion leukämischer Zellen und andererseits wegen des fehlenden GvL Effektes. Beide Aspekte spielen allerdings bei Rezidiven ohne Knochenmarkbeteiligung möglicherweise eine untergeordnete Rolle, da die Haupt-Leukämiemasse außerhalb des Knochenmarkes liegt und somit durch lokale Behandlungsmethoden besser erreichbar ist.

Darüberhinaus läßt eine mangelnde GvHD an den häufigsten extramedullären Lokalisationen ZNS und Hoden einen GvL Effekt als fraglich erscheinen. Somit käme als Hauptvorteil sowohl der autologen als auch der allogenen SZT gegenüber der Chemotherapie die Möglichkeit einer Hochdosistherapie in Frage, da ZNS und Testis Organe mit einer funktionellen Schranke gegenüber dem Blutkreislauf sind und somit einen gewissen Schutz vor systemisch applizierten Zytostatika haben. In der durchgeführten Analyse bei 165 Kindern mit extramedullärem Rezidiv liess sich in der Gesamtgruppe kein Vorteil für die SZT zeigen [32]. Möglicherweise profitieren jedoch Patienten mit T-ALL-Rezidiv, vor allem wenn dieses nicht im ZNS oder Testis lokalisiert ist. Die Tatsache, dass bei extramedullären Rezidiven mit der autologen SZT gleichgute Ergebnisse erzielt werden konnten wie mit der allogenen SZT unterstreicht noch die Hypothese, dass der GvL Effekt bei extramedullären Rezidiven keine wesentliche Rolle spielt.

Konditionierungsverfahren und Toxizität

Üblicherweise wird die Konditionierung vor einer SZT auf der Basis einer fraktionierten Ganzkörperbestrahlung (TBI) oder einer Behandlung mit Busulfan durchgeführt. Die Wahl der Konditionierung richtet sich nach dem Alter des Patienten, nach der Strahlenvorbelastung, nach dem Zeitpunkt und den Orten eines Rezidivs sowie nach der Art des Stammzellspenders.

In einer eigenen Analyse untersuchten wir die Auswirkungen der fraktionierten Ganzkörperbestrahlung auf die Schleimhauttoxizität (Mukositis) im Rahmen von intensivierten Konditionierungsprotokollen vor SZT [36]. Sowohl die Inzidenz als auch die Dauer schwerer Mukositis (WHO \geq 3) waren signifikant abhängig von der Anwendung der TBI im Rahmen der Konditionierung. Darüberhinaus war die hohe Inzidenz und lange Dauer

schwerer Mukositis nach TBI mit einem hohen Risiko an Morbidität und Mortalität aufgrund von Infektionen gastrointestinalen Ursprungs assoziiert (v.a. gramnegative bakterielle- und Pilzinfektionen). Eine andere Studie berichtet ebenfalls von TBI assoziierter erhöhter Schmerz- und Mukositisrate.

Viele Langzeitfolgen wie Wachstumsverzögerung nach TBI, endokrinologische Schäden der Hypothalamusachse, intellektuelle Beeinträchtigungen und Gehirnschädigungen, Hypothyreose, radiologische Lungenschäden, Infertilität und das Risiko, maligne Zweiterkrankungen zu entwickeln, könnten evtl. vermieden oder aber das Risiko ihres Auftretens vermindert werden, indem TBI in intensivierten Konditionierungsregimen nicht zur Anwendung kommt. In der Literatur gibt es keinen Beweis, dass eine Bestrahlungsdosis von 12 GY wirklich notwendig ist, um die Therapieergebnisse zu verbessern, obwohl TBI in den meisten Konditionierungsregimen inbegriffen war [43]. Allerdings konnte die Wichtigkeit einer effektiven ZNS Prophylaxe mit kranieller Schädelbestrahlung zur Risikosenkung eines Folgerezidivs für Patienten mit Rezidiv einer ALL gezeigt werden [47]. Im Hinblick auf die Toxizität stellen die akute und chronische GvHD ein Hauptproblem der Behandlung mit SZT dar. Eine besondere Bedeutung kommt hierbei dem Gastrointestinaltrakt (GI) als Zielorgan akuter GvHD zu [48], Abbildung 1. Die in Form einer Mukositis sich manifestierende Schädigung des GI Trakts erhöht die Translokation inflammatorischer Stimuli wie Endotoxine, welche weitere Inflammation und zusätzlichen Schaden setzen. Der für die akute GvHD charakteristische Zytokinsturm, hervorgerufen durch Chemoradiotherapie, kann zu schwerer Diarrhoe mit blutigen Stühlen, Flüssigkeitsverlust und krampfartigen Bauchschmerzen führen.

Die beschriebenen Ergebnisse über schwerwiegende Nebenwirkungen lassen den Einsatz der TBI eher ungünstig erscheinen. Auch andere Autoren stellen die Kombination Cytoxan/ TBI als Konditionierung in Frage insbesondere wegen der nicht nachgewiesenen besseren Wirksamkeit gegenüber anderen Konditionierungsregimen und wegen der schweren Nebenwirkungen der Bestrahlung wie z.B. der interstitiellen Pneumonitis. Die TBI Dosis wurde als bedeutsamster Faktor für transplantationsassoziierte Todesfälle beschrieben. Angeführt wurden weiterhin Langzeitfolgen wie Markschäden, maligne Zweiterkrankungen, Katarakt und endokrine Insuffizienz [49].

Als schwerwiegende Spätfolge einer SZT werden maligne Zweiterkrankungen beschrieben. Das Auftreten maligner Zweiterkrankungen wurde in den ALL-REZ BFM Studien von 1983 bis 2001 untersucht, in denen 1376 Patienten mit erstem Rezidiv einer Non-B ALL behandelt

wurden und eine 2.CR erreichten. Bei der Intensität von Frontline- und anschließender Rezidivtherapie mit Chemotherapie, Schädelbestrahlung als auch Stammzelltransplantation bei einigen Patienten, war das Auftreten von malignen Zweiterkrankungen unerwartet selten, wenn auch 10-fach häufiger als in der Allgemeinbevölkerung. Das kumulative Risiko nach 15 Jahren betrug $1.26\% \pm 0.38\%$ (SE). Insgesamt traten hierbei Zweitmalignome bei Patienten die mit Chemoradiotherapie behandelt wurden signifikant seltener auf als bei Patienten die eine SZT erhalten hatten. Unsere Ergebnisse sind allerdings limitiert durch die relativ kurze follow-up Zeit. Die mediane Beobachtungsdauer betrug 13.1 Jahre. Eine Zunahme der Inzidenz bis zu 20 % und mehr sind für maligne Zweiterkrankungen, aber auch gutartige oder niedriggradige Malignome wie Basalzellkarzinome, Meningeome oder Karzinome der Schilddrüse oder Glandula Parotis vor allem im Anschluß an eine craniale oder craniospinale Bestrahlung zu befürchten [49]. Ein über das Kindes- und Jugendalter hinausgehendes follow-up mit einer Erfassung der Ereignisse in einem zentralen gemeinsamen Register für Kinder und Erwachsene, sowie eine gute Zusammenarbeit im Sinne einer Meldezuverlässigkeit zwischen den onkologischen Studiengruppen und niedergelassenen Ärzten ist erforderlich, um verlässliche Inzidenzen von Sekundärmalignomen zu erhalten.

Aktuelle Transplantationsindikationen bei ALL-Rezidiv

In der gegenwärtig durchgeführten Therapiestudie ALL-REZ BFM 2002 gelten für die Behandlung eines ALL Erstrezidivs Transplantationsindikationen, die aufgrund von Analysen der bisher durchgeführten Therapiestudien auf vier verschiedenen Risikogruppen basieren: S1 umfaßt Patienten mit spätem extramedullärem Rezidiv, S2 umfaßt Patienten mit sehr frühem oder frühem extramedullärem Rezidiv, spätem non-T Knochenmarkrezidiv sowie kombinierten, frühen oder späten non-T Rezidiven. In die Therapiegruppe S3 gehören alle Patienten mit frühen isolierten non-T Knochenmarkrezidiven. Patienten mit sehr frühen kombinierten oder isolierten Knochenmarkrezidiven und alle Patienten mit Knochenmarkrezidiv einer T-ALL gehören zur Therapiegruppe S4 (Tabelle 4).

Tabelle 4: Risikogruppeneinteilung im Protokoll ALL-REZ BFM 2002

Ort Zeitpunkt	Immunphänotyp: non-T			Immunphänotyp: (pre-) T		
	KM isoliert	KM kombiniert	Extra- medullär	KM isoliert	KM kombiniert	Extra- medullär
Sehr früh	S 4	S 4	S 2	S 4	S 4	S 2
früh	S 3	S 2	S 2	S 4	S 4	S 2
spät	S 2	S 2	S 1	S 4	S 4	S 1

Detailliertere Indikationen für eine SZT in 2.CR betreffen eine kleine Untergruppe von Kindern mit isoliertem Knochenmarkrezidiv und einer Anzahl von peripheren Blasten $>10.000/\mu\text{l}$ bei Diagnosestellung [50]. Als weitere Transplantationsindikation gilt der Nachweis eines BCR/ABL Transfusionsgens (Philadelphia Chromosom), dessen Auftreten ebenfalls von unserer Arbeitsgruppe als unabhängiger prognostischer Faktor nachgewiesen werden konnte [51]. Die Einteilung der Gruppe S2 in weitere vier Subgruppen A-D ist unter Einbeziehung der oben genannten Risikofaktoren in Tabelle 5 wiedergegeben. Die Transplantationsindikationen für die einzelnen Risikogruppen sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 5: Definition der S2 Subgruppen A-D im Protokoll ALL-REZ BFM 2002

Ort	Isoliert KM	Komb. KM		Isol. Extramed
Zeitpunkt	spät	spät	früh	Früh/ sehr früh
$<1/\mu\text{l}$ PBC	A	A	B	D
$1-<10.000/\mu\text{l}$	B			
$\geq 10.000/\mu\text{l}$	C			
BCR/ABL +	C	C		

Legende: PBC, Peripheral Blast Cell

Tabelle 6: Transplantationsindikationen der einzelnen Risikogruppen

Subgruppe*	S1	S2							S3/S4
		MRD					ZNS		
		<10 ⁻³		n.d.		≥10 ⁻³	SR	HR	
	A	B/C	A	B/C	A/B/C				
MSD-SZT	-	-	+	+	+	+	-	-	+
MD-SZT	-	-	-	-	+	+	-	-	+
MMD-SZT	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Autologe SZT	-	-	-	-	-	-	-	+	-

Legende: MSD, matched sibling donor (Gruppe 1); MD, matched ($\geq 9/10$ AG) unrelated donor (Gruppe 2); MMD, mismatched ($< 9/10$ AG) unrelated donor (Gruppe 3); MRD, minimal residual disease; ZNS-HR, isoliertes ZNS-Rezidiv Hochrisiko; ZNS-SR, isoliertes ZNS-Rezidiv Standardrisiko.

In letzter Zeit konnten Morbidität und Mortalität der allogenen SZT reduziert werden, die Anzahl auszuwertender Patienten ist gestiegen und neuere retrospektive Analysen zeigten innerhalb der Gruppe von Patienten mit extramedullärem Rezidiv einen deutlichen prognostischen Unterschied in Abhängigkeit vom Zeitpunkt des Rezidivs. Die heutige S1 Gruppe, für welche keine Stammzelltransplantationsempfehlung vorliegt, umfaßt nur Patienten mit späten extramedullären Rezidiven, die eine besonders günstige Prognose in der Studie 95/96 mit einem pEFS von 0.79 ± 0.09 hatten. In der Gruppe von Kindern mit frühen oder sehr frühen isolierten ZNS-Rezidiven konnte in einer multivariaten Analyse nachgewiesen werden, dass dem Geschlecht, dem Alter bei Erstdiagnose, dem Immunphänotyp und dem Zeitpunkt des Rezidivs eine unabhängige prognostische Relevanz zukommt. Hierdurch läßt sich das Kollektiv in eine prognostisch ungünstige (ZNS-HR) und prognostisch günstige Gruppe (ZNS-SR) unterteilen, wobei das Alter bei Erstdiagnose > 6 Jahre, das männliche Geschlecht, die T-Zell Immunologie und der sehr frühe Zeitpunkt des Rezidivs die prognostisch ungünstige Gruppe definieren. Während Kinder der prognostisch günstigen Gruppe mit der in der Gruppe S2 vorgesehenen Chemoradiotherapie behandelt werden, bedarf es für die Kinder der prognostisch ungünstigen Gruppe einer Intensivierung. Da das Risiko einer allogenen SZT vom unverwandten Spender angesichts des fraglichen GvL-Effekts im ZNS nicht gerechtfertigt erscheint und von der italienischen Gruppe AIEOP gute Ergebnisse der autologen SZT bei Kindern mit isoliertem ZNS-Rezidiv publiziert sind

[52], wird für diese Gruppe im Rahmen der aktuellen ALL-REZ BFM Studie eine erweiterte autologe SZT mit Immunmodulation, Reinduktion und Dauertherapie vorgesehen.

5.2 Impfung mit HLA-B13 transfizierten autologen Leukämiezellen

Die allogene SZT ist die einzige derzeit etablierte Immuntherapie. Durch eine allogene SZT kann derzeit nach Erreichen einer CR in den Risikogruppen S3/S4 ein pEFS von 0.37 ± 0.6 , in der Risikogruppe S2 ein pEFS von 0.65 ± 0.7 erreicht werden (Studienprotokoll ALL SZT-BFM 2003). Dabei wird eine ultrahochdosierte Chemo- und Strahlentherapie zur Vernichtung leukämischer Zellen eingesetzt. Die danach verbliebenen malignen Klone können im Rahmen einer längerfristig wirksamen graft-versus-host Reaktion (Abbildung 1) eliminiert werden. Die Wirkung auf die Leukämiezellen wird als graft-versus-leukemia Effekt bezeichnet. *In vitro* Modelle zur Untersuchung dieses Effekts weisen auf eine Aktivierung von CD8+ T-Lymphozyten und NK Zellen hin.

Bei Patienten ohne geeigneten Stammzellspender ist die allogene SZT nicht anwendbar. Für Kinder oben genannter Risikogruppen wäre prinzipiell die autologe Stammzelltransplantation nach Hochdosistherapie eine therapeutische Alternative. Allerdings hat die autologe SZT in ihrer bisherigen Form keinen Vorteil gegenüber der konventionellen Chemotherapie erbracht, möglicherweise aufgrund des fehlenden GvL Effekts [34]. Aber auch hier wäre ein 2stufiges Prinzip denkbar: Zunächst wird die überwiegende Tumormasse durch Chemoradiotherapie vernichtet. Nach Stammzellreinfusion könnten dann körpereigene immunologische Abwehrmechanismen stimuliert werden, die zu einer stabilen Remission führen. Um dieses zu erreichen, entwickelten wir ein Vakzinationsverfahren, bei dem Leukämiezellen durch Einschleusen einer für ein seltenes HLA-Gen codierenden cDNA allogenisiert wurden (HLA-B13).

Das Einbringen fremder cDNA in eine Tumorzelle kann diese für T-Lymphozyten als fremd erkennbar machen. Durch das Einbringen eines fremden HLA-Gens werden 3 verschiedene zelluläre Mechanismen induziert (Abbildung 2). Zum einen wird durch intrazelluläre Proteinsynthese ein intaktes allogenenes MHC Klasse I Protein an der Zelloberfläche exprimiert. Zusätzlich ist die Prozessierung dieses fremden HLA-Antigens zu erwarten. Das prozessierte Antigen wird durch den autologen MHC-I Rezeptor auf der Zelloberfläche präsentiert [53]. Als dritter Mechanismus konnte im Tiermodell gezeigt werden, daß der fremde MHC-I Rezeptor seinerseits Antigene präsentieren kann [54]. Die Bindung eines solchen MHC-I/AG Komplexes durch den T-Zell Rezeptor der CD8+ Zellen dient letzteren als Proliferations- und Differenzierungssignal. Es konnte gezeigt werden, daß allogene HLA-Klasse I Gene unter *in vivo* Bedingungen eine im Vergleich zu anderen Fremdantigenen bis

zu tausendfach stärkere zytotoxische Immunantwort induzieren [55]. Bei in vivo Untersuchungen zur autologen Zytotoxizität gegenüber Tumorzellen erwies sich zudem, daß es möglich ist, eine spezifisch auch gegen native Tumorzellen wirksame klonale Zellpopulation zu generieren: die Expression eines fremden MHC-I Antigens auf Fibrosarkom/Adenomzellen induzierte bei Mäusen eine zytotoxische T-Zell-Antwort, die anschließend auch gegenüber nicht modifizierten Tumorzellen zu beobachten war und in vielen Fällen zu einer kompletten Tumorregression führte [56]. Offensichtlich sind die zytotoxischen T-Zellen für eine Erkennung von Tumorantigenen sensibilisiert worden (Abbildung 3). Weitere ähnlich aufgebaute Tierexperimente wurden bei Mäusen mit Leukämie bereits 1984 [57] und mit Mastozytom [58] 1989 beschrieben.

Ergebnisse der ersten klinischen Studie zur gentherapeutischen Induktion einer spezifischen Immunität durch MHC-I Gentransfer bei Melanompatienten wurden 1993 veröffentlicht [59]. Hier erfolgte eine direkte Injektion von allogenen MHC-I-Plasmid-Liposom-Komplexen in das Tumorgewebe. Dabei wurde eine lokale Tumorregression sowie die Regression von Fernmetastasen beobachtet, ohne dass es zu toxischen oder allergischen Nebenwirkungen kam.

Klinische und tierexperimentelle Anwendung

Oft ist es zum Zeitpunkt der Diagnosestellung noch nicht klar, ob ein passender Spender für eine allogene SZT gefunden werden kann. Die Vakzine sollte daher für alle Kinder mit einem Hochrisikorezidiv einer ALL, für die zu diesem Zeitpunkt kein passender Spender bekannt ist, hergestellt werden. Aber nur ein kleiner Teil der Kinder mit Hochrisikorezidiv würde schließlich die Vakzine erhalten. Einige von Ihnen erreichen keine Remission, einige erhalten eine allogene SZT und einige versterben in Remission oder entwickeln ein Folgerezidiv. Die Vakzination sollte als spezifische und weniger toxische Therapie für diese Kinder angestrebt werden, um eine Prognoseverbesserung zu erreichen. Die bei diesen Kindern mit ALL-Rezidiv durchgeführte Studie kann auch exemplarisch für gentherapeutische Ansätze bei anderen malignen Erkrankungen gesehen werden.

In der Therapiestudie ALL-REZ BFM 96 war bei Kindern mit einem frühen isolierten oder sehr frühen Knochenmarkrezidiv oder mit Rezidiv einer T-ALL die autologe SZT vorgesehen, wenn sich kein geeigneter Spender für eine allogene Transplantation finden ließ oder letztere von den Patienten selbst oder deren Sorgeberechtigten abgelehnt wurde. Im Anschluß an die Transplantation war im Rahmen einer anschließenden Immunmodulation die von uns konzipierte antileukämische Vakzination vorgesehen [38]. Der bisher einzige mit

dieser Vakzination behandelte Patient, der zuvor an einem frühen Knochenmarkrezidiv einer T-ALL (August 1997) erkrankte, lebt seit mehr als zehn Jahren in kompletter Remission. Seitdem wurden keine weiteren Patienten in unsere klinische Vakzinationsstudie aufgenommen. Gründe hierfür sind vor allem in der Verbesserung der Verfügbarkeit von Fremdspendern zu sehen. So kann gegenwärtig für 75% der Patienten in 3 Monaten ein Spender gefunden werden [7]. Falls für einen Patienten, der dringend eine Transplantation benötigt, kein Spender gefunden wird, kommt in besonderen Fällen ein nicht HLA-identischer Spender aus der Familie in Frage (haploidentische Transplantation). Hierbei ist eine vollständige T-Zelldepletion der Spenderstammzellen bei einer sehr hohen Stammzellzahl nötig.

6. Zusammenfassung

Die autologe SZT wurde meist als letzter Schritt in der Behandlung der Patienten mit ALL-Rezidiv verwendet, da im Unterschied zur allogenen SZT kein über den Zeitpunkt der Transplantation hinausgehender, verlängerter antileukämischer Effekt erwartet werden kann. Die vorliegenden klinischen Daten unterstützen diese Aussage. Dennoch halten wir das Konzept autologer SZT für rezidierte ALL für entwicklungsfähig, insbesondere wenn Methoden verwendet werden, bei denen die autologe SZT durch Immuntherapie oder Chemotherapie oder eine Kombination beider Verfahren ergänzt wird. Als erfolgversprechend bietet sich dabei eine Immuntherapie an, bei der ein antileukämischer Effekt durch spezifische Vakzinierung induziert werden kann.

Tritt bei einem Kind mit ALL ein Rezidiv auf, muss die individuelle Situation in Bezug auf Risikofaktoren und Spenderverfügbarkeit sorgfältig analysiert werden. Obwohl die allogene SZT vom verwandten Spender mit tolerabler Toxizität verbunden ist, muss diese nicht unbedingt die beste Behandlung für alle Kinder in zweiter Remission sein. Eine SZT vom unverwandten Spender sollte weiterhin mit Vorsicht in Betracht gezogen werden, da sie bei einer Heilungschance von etwa 40% mit beträchtlicher Morbidität und Mortalität einhergeht. Für Kinder mit Hoch-Risiko-Rezidiv einer ALL stellt die allogene SZT zur Zeit jedoch den einzigen kurativen Therapieansatz dar. Diese Therapieform ermöglicht zunächst durch den Neuaufbau eines allogenen funktionsfähigen Knochenmarks die weitgehende Vernichtung leukämischer Zellen. Nachfolgend können die in geringer Zahl möglicherweise verbliebenen malignen Klone durch den sogenannten graft-versus-leukemia Effekt über längere Zeit supprimiert und schließlich eliminiert werden. *In vitro* Modelle zur Untersuchung des GvL Effekts weisen unter anderem auf eine Aktivierung von CD8⁺ cytotoxischen T-Lymphozyten (CTL) und NK-Zellen hin.

Für Kinder ohne HLA-identen Spender kommt alternativ eine autologe Stammzelltransplantation nach Hochdosis-Chemotherapie in Frage. Der hier fehlende GvL Effekt kann durch autologe, antileukämisch reaktive CTL ersetzt werden, die zuvor durch eine gentherapeutische Vakzine *in vivo* spezifisch stimuliert werden. Dabei kann das in der Normalbevölkerung sehr selten auftretende HLA-B13 Gen durch geeignete Verfahren, wie z. B. Elektroporation, in Lymphoblasten eingebracht. Das Antigen erscheint in der Folge als integrales Membranprotein und wird zusätzlich durch autologe MHC-I Rezeptoren an der Zelloberfläche präsentiert. Die auf diese Weise allogenisierten Lymphoblasten wurden bereits

im Rahmen einer Phase I/II Studie nach autologer KMT bei Kindern mit ALL-Rezidiv als Vakzine eingesetzt. Spezifisch wirksame CTL sollen durch zusätzliche Gabe von Interleukin 2 (IL2) zur Expansion gebracht werden. Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass CTL, die durch ein fremdes HLA-Antigen auf nicht ausreichend immunogenen Tumoren stimuliert wurden, tumorspezifische Antigene erkennen und somit auch native Tumorzellen eliminieren können.

Insgesamt hat der Fortschritt in der Leukämiebehandlung deutliche Verbesserungen mit sich gebracht, von denen viele Kinder mit dieser Erkrankung profitieren konnten. Obwohl heutzutage etwa 80% der Kinder und Jugendlichen mit ALL eine komplette Remission erreichen, in Remission bleiben und als langfristig geheilt gelten, stellen die Möglichkeit und das Auftreten eines Rezidivs auch für die erfolgreichsten Behandlungskonzepte eine große Herausforderung dar. Um Heilung für möglichst alle Patienten zu erreichen, werden standardisierte klinische Managementstrategien mit den neuesten Möglichkeiten und Vorteilen bei der Krankheitserkennung, der molekularen Stratifizierung und dem effektivsten Behandlungskonzept verknüpft. Verbesserte Ergebnisse benötigen möglicherweise auch das Einbeziehen weiterer innovativer Therapien, besonders solcher, bei denen die zu erwartenden Nebenwirkungen nicht mit denen konventioneller Methoden überlappen und deren Mechanismen nicht durch eine Kreuzresistenz chemotherapierefraktärer Leukämiezellen beeinträchtigt werden. Behandlungen, basierend auf immunvermittelten antileukämischen Reaktionen, mögen in dieser Hinsicht geeignet sein. Bei Patienten, die allogene hämatopoetische Zellen als Teil ihrer Therapie erhalten, kann ein beträchtlicher therapeutischer Vorteil vom GvL Effekt erwartet werden. Durch ein genaueres Verständnis und eine bessere Kontrolle dieser Reaktion ließe sich eine erweiterte Indikation für die Stammzelltherapie erzielen. Voraussetzung hierfür ist, dass die mit GvHD assoziierte Toxizität, die mit dem GvL Effekt verbunden ist, reduziert werden kann. Die Gabe von Spenderlymphozyten Infusionen stellt eine Möglichkeit dar, dieses Ziel zu erreichen. Auch durch die Entwicklung effektiver Immuntherapien für Leukämiepatienten, die keine allogenen Stammzellpräparate erhalten, sind weitere Fortschritte denkbar. Vielversprechende Ergebnisse mit Zytokinen, Antikörpern, Immunotoxinen und aktivierten T-Zellen konnten in tierexperimentellen Modellen und auch bereits in klinischen Studien gewonnen werden [60]. Die Umsetzung dieser Ideen und Ansätze in effektive klinische Strategien erfordert eine noch engere Zusammenarbeit zwischen molekulargenetisch-immunologischer Grundlagenforschung und klinischer Anwendung.

7. Literaturverzeichnis

7.1 Eigene Veröffentlichungen

Borgmann, A., Emminger, W., Emminger-Schmidmeier, W., Peters, C., Gatterer-Menz, I., Henze, G. und Gadner, H., Influence of fractionated total body irradiation on mucosal toxicity in intensified conditioning regimens for autologous bone marrow transplantation in pediatric cancer patients. *Klin Padiatr*, 1994. **206**(4): p. 299-302.

Borgmann, A., Hartmann, R., Schmid, H., Klingebiel, T., Ebell, W., Gobel, U., Peters, C., Gadner, H. und Henze, G., Isolated extramedullary relapse in children with acute lymphoblastic leukemia: a comparison between treatment results of chemotherapy and bone marrow transplantation. *BFM Relapse Study Group, Bone Marrow Transplant*, 1995. **15**(4): p. 515-21.

Borgmann, A., Schmid, H., Hartmann, R., Baumgarten E., Hermann, K., Klingebiel, T., Ebell, W., Zintl, F., Gadner, H., Henze, G., for the BFM Relapse Study Group, Autologous bone marrow transplantation as compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukaemia in a second remission: A matched pair analysis. *Lancet*, 1995. **95**: p. 873-76.

Schmid, H., von Schenck, U., Hartmann, R., Borgmann, A. und Henze, G., Allogeneic BMT vs. chemotherapy in late bone marrow relapsed childhood non-T/non-B ALL: results of BFM ALL relapse studies. *BFM Relapse Study Group. Bone Marrow Transplant*, 1996. **18**(2): p. 28-30.

Borgmann, A., Baumgarten, E., Schmid, H., Dopfer, R., Ebell, W., Gobel, U., Niethammer, D., Gadner, H. und Henze, G., Allogeneic bone marrow transplantation for a subset of children with acute lymphoblastic leukemia in third remission: a conceivable alternative? *Bone Marrow Transplant*, 1997. **20**(11): p. 939-44.

Baumgarten, E., Borgmann, A., Schmid, H., Ziegler, A., Wittig, B., Henze, G., Immunmodulation nach autologer Stammzelltransplantation. In: G. Henze: *Zytokine in der Pädiatrie*. UNI-MED, 1997. p. 103-104.

Borgmann, A., von Stackelberg, A., Baumgarten, E., Uchanska-Ziegler, B., Ziegler, A., Wittig, B. und Henze, G., Immunotherapy of acute lymphoblastic leukemia by vaccination with autologous leukemic cells transfected with a cDNA expression plasmid coding for an allogeneic HLA-class I antigen combined with interleukin-2 treatment. *J Mol Med*, 1998. **76**(3-4): p. 215-21.

Fichtner, I., Goan, S., Becker, M., Baldy, C., Borgmann, A., v. Stackelberg, A., Henze, G., Transplantation of human haematopoietic or leukaemic cells into SCID and NOD/SCID-mice. In: *Relevance of tumor models in anticancer drug development. Contrib Oncol*, 1999. **54**: p. 207-217.

Borgmann, A., Baldy, C., v. Stackelberg, A., Beyermann, B., Fichtner, I., Nürnberg, P., Henze, G., Childhood ALL- blasts retain phenotypic and genotypic characteristics upon long-term serial passage in NOD/SCID-mice. *Pediatric Hematology and Oncology*, 2000, **17**: p. 635-650.

Fichtner, I., Paal, K., Borgmann, A., Badiali, L., Wurm, R. and Henze, G., Chemo- and Radiation Sensitivity of Xenografted Acute Lymphoblastic Leukemias- Correlation to the Expression of Multidrug Resistance Proteins. *Anticancer Research*, 2003. **23**: p. 2657-64.

Borgmann, A., von Stackelberg, A., Hartmann, R., Ebell, W., Klingebiel, T., Peters, C. und Henze, G., Unrelated donor stem cell transplantation compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukemia in a second remission: a matched-pair analysis. *Blood*, 2003. **101**(10): p. 3835-9.

Knosel, T., Meisel, H., Borgmann, A., Riebel, T., Krenn, V., Schewe, C., Petersen, I., Parvovirus B19 infection associated with unilateral cervical lymphadenopathy, apoptotic sinus histiocytosis, and prolonged fatigue. *J Clin Pathol*, 2005. **58**: p. 872-5.

Seifert, G., Riess, H., Seeger, K., Henze, G., Borgmann, A., Intraluminal instillation of urokinase and autologous plasma: A method to unblock occluded central venous ports. *BMC Cancer*, 2006. **6**: p. 103.

Borgmann, A., Zinn, C., Hartmann, R., Herold, R., Kaatsch, P., Escherich, G., Möricke, A., Henze, G., v. Stackelberg, A., for the ALL-REZ BFM Study Group, Secondary malignant neoplasms after intensive treatment of relapsed acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Eur J Cancer*, 2008. **44**: p. 257-68.

Reinmuth, S., Liebeskind, A.-K., Wickmann, L., Bockelbrink, A., Keil, T., Henze, G., Borgmann, A., Having Children after Surviving Cancer in Childhood or Adolescence – Results of a Berlin Survey. *Klin Padiatr*, 2008. **220**: p. 159-65.

7.2 Veröffentlichungen aller Autoren

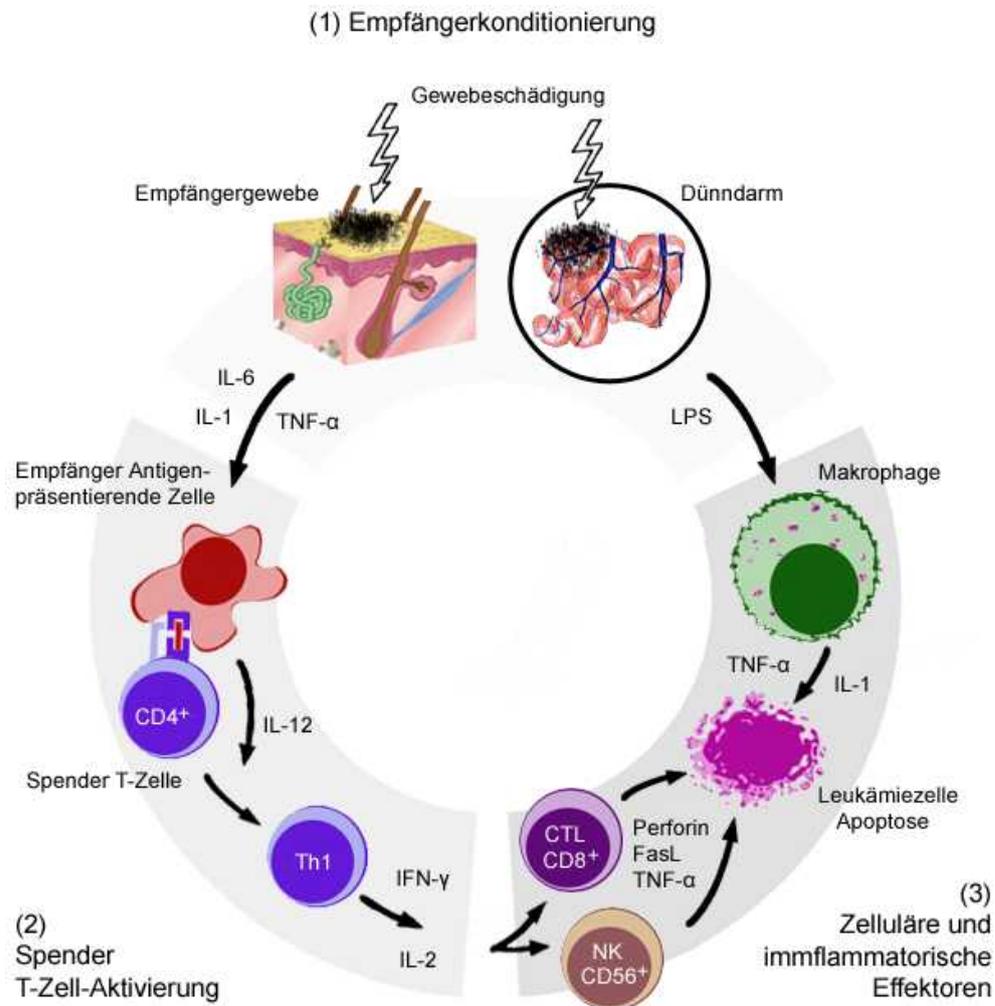
1. Handgretinger, R., et al., Megadose transplantation of purified peripheral blood CD34(+) progenitor cells from HLA-mismatched parental donors in children. *Bone Marrow Transplant*, 2001. **27**(8): p. 777-83.
2. Forman SJ, B.K., Thomas TE, Bone marrow transplantation. 1998, Cambridge: Blackwell Scientific Publications.
3. Urbano-Ispizua, A., et al., Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone Marrow Transplant*, 2002. **29**(8): p. 639-46.
4. Hale, G., et al., The CAMPATH-1 antigen (CDw52). *Tissue Antigens*, 1990. **35**(3): p. 118-27.
5. Yeager, A.M., et al., Autologous bone marrow transplantation in patients with acute nonlymphocytic leukemia, using ex vivo marrow treatment with 4-hydroperoxycyclophosphamide. *N Engl J Med*, 1986. **315**(3): p. 141-7.
6. www.zkrd.de. 26.02.2008 [cited].
7. www.dkms.de. 2008 [cited].
8. Aversa, F., et al., 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*, 1998. **339**(17): p. 1186-93.
9. Mapara, M.Y., et al., Donor lymphocyte infusions mediate superior graft-versus-leukemia effects in mixed compared to fully allogeneic chimeras: a critical role for host antigen-presenting cells. *Blood*, 2002. **100**(5): p. 1903-9.
10. Bader, P., et al., Minimal residual disease (MRD) status prior to allogeneic stem cell transplantation is a powerful predictor for post-transplant outcome in children with ALL. *Leukemia*, 2002. **16**(9): p. 1668-72.
11. Schrappe, M., et al., Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 90. German-Austrian-Swiss ALL-BFM Study Group. *Blood*, 2000. **95**(11): p. 3310-22.
12. Pui, C.H. and W.M. Crist, Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr*, 1994. **124**(4): p. 491-503.
13. Henze G, H.R., Fengler R, chemotherapy for relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia: results of the BFM Study Group. *Haematol Blood Transfus*, 1994. **36**: p. 374-379.
14. Henze, G., et al., Six-year experience with a comprehensive approach to the treatment of recurrent childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL-REZ BFM 85). A relapse study of the BFM group. *Blood*, 1991. **78**(5): p. 1166-72.
15. Eckert, C., et al., Prognostic value of minimal residual disease in relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*, 2001. **358**(9289): p. 1239-41.
16. von Stackelberg, A., et al., Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia after first relapse. *Leukemia*, 2004. **18**(10): p. 1727-8; author reply 1728-9.
17. Hagedorn, N., et al., Submicroscopic bone marrow involvement in isolated extramedullary relapses in childhood acute lymphoblastic leukemia: a more precise definition of "isolated" and its possible clinical implications, a collaborative study of the Resistant Disease Committee of the International BFM study group. *Blood*, 2007. **110**(12): p. 4022-9.
18. Einsele, H., et al., [Epidemiology and interventional treatment strategies of infectious complications after allogeneic stem-cell transplantation]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2001. **126**(45): p. 1278-84.
19. Horowitz, M.M., et al., Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood*, 1990. **75**(3): p. 555-62.
20. Kolb, H.J., et al., Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party Chronic Leukemia. *Blood*, 1995. **86**(5): p. 2041-50.
21. Porter, D.L. and J.H. Antin, The graft-versus-leukemia effects of allogeneic cell therapy. *Annu Rev Med*, 1999. **50**: p. 369-86.
22. Porter, D.L., et al., Long-term follow-up of patients who achieved complete remission after donor leukocyte infusions. *Biol Blood Marrow Transplant*, 1999. **5**(4): p. 253-61.

23. Chiang, K.Y., et al., Outcome of second bone marrow transplantation following a uniform conditioning regimen as therapy for malignant relapse. *Bone Marrow Transplant*, 1996. **17**(1): p. 39-42.
24. Radich, J.P., et al., Second allogeneic marrow transplantation for patients with recurrent leukemia after initial transplant with total-body irradiation-containing regimens. *J Clin Oncol*, 1993. **11**(2): p. 304-13.
25. Ratanatharathorn, V., et al., Chronic graft-versus-host disease: clinical manifestation and therapy. *Bone Marrow Transplant*, 2001. **28**(2): p. 121-9.
26. Shalet, S.M. and B.M. Brennan, Growth and growth hormone status after a bone marrow transplant. *Horm Res*, 2002. **58 Suppl 1**: p. 86-90.
27. Shalet, S.M. and B.M. Brennan, Puberty in children with cancer. *Horm Res*, 2002. **57 Suppl 2**: p. 39-42.
28. Bhatia, S., Malignant neoplasms following bone marrow transplantation. *blood*, 1987.
29. Thomas, E.D., *New England Journal*, 1975.
30. Bielack, S.S., et al., Osteosarcoma after allogeneic bone marrow transplantation. A report of four cases from the Cooperative Osteosarcoma Study Group (COSS). *Bone Marrow Transplant*, 2003. **31**(5): p. 353-9.
31. Neglia, J.P., et al., Second malignant neoplasms in five-year survivors of childhood cancer: childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst*, 2001. **93**(8): p. 618-29.
32. Borgmann, A., et al., Isolated extramedullary relapse in children with acute lymphoblastic leukemia: a comparison between treatment results of chemotherapy and bone marrow transplantation. BFM Relapse Study Group. *Bone Marrow Transplant*, 1995. **15**(4): p. 515-21.
33. Borgmann, A., et al., Allogeneic bone marrow transplantation for a subset of children with acute lymphoblastic leukemia in third remission: a conceivable alternative? *Bone Marrow Transplant*, 1997. **20**(11): p. 939-44.
34. Borgmann, A., et al., Autologous bone-marrow transplants compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukaemia in a second remission: a matched-pair analysis. The Berlin-Frankfurt-Munster Study Group. *Lancet*, 1995. **346**(8979): p. 873-6.
35. Borgmann, A., et al., Unrelated donor stem cell transplantation compared with chemotherapy for children with acute lymphoblastic leukemia in a second remission: a matched-pair analysis. *Blood*, 2003. **101**(10): p. 3835-9.
36. Borgmann, A., et al., Influence of fractionated total body irradiation on mucosal toxicity in intensified conditioning regimens for autologous bone marrow transplantation in pediatric cancer patients. *Klin Padiatr*, 1994. **206**(4): p. 299-302.
37. Borgmann, A., et al., Secondary malignant neoplasms after intensive treatment of relapsed acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Eur J Cancer*, 2008. **44**(2): p. 257-68.
38. Borgmann, A., et al., Immunotherapy of acute lymphoblastic leukemia by vaccination with autologous leukemic cells transfected with a cDNA expression plasmid coding for an allogeneic HLA class I antigen combined with interleukin-2 treatment. *J Mol Med*, 1998. **76**(3-4): p. 215-21.
39. Peters, C., et al., Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in children with acute lymphoblastic leukaemia: the BFM/IBFM/EBMT concepts. *Bone Marrow Transplant*, 2005. **35 Suppl 1**: p. S9-11.
40. Einsiedel, H.G., et al., Long-term outcome in children with relapsed ALL by risk-stratified salvage therapy: results of trial acute lymphoblastic leukemia-relapse study of the Berlin-Frankfurt-Munster Group 87. *J Clin Oncol*, 2005. **23**(31): p. 7942-50.
41. Reinmuth, S., et al., Having children after surviving cancer in childhood or adolescence - results of a berlin survey. *Klin Padiatr*, 2008. **220**(3): p. 159-65.
42. Oeffinger, K.C., et al., Chronic health conditions in adult survivors of childhood cancer. *N Engl J Med*, 2006. **355**(15): p. 1572-82.
43. Dopfer, R., et al., Allogeneic bone marrow transplantation for childhood acute lymphoblastic leukemia in second remission after intensive primary and relapse therapy according to the BFM- and CoALL-protocols: results of the German Cooperative Study. *Blood*, 1991. **78**(10): p. 2780-4.
44. Schmid, H., et al., Allogeneic BMT vs. chemotherapy in late bone marrow relapsed childhood non-T/non-B ALL: results of BFM ALL relapse studies. BFM Relapse Study Group. *Bone Marrow Transplant*, 1996. **18 Suppl 2**: p. 28-30.
45. Balduzzi, A., et al., Unrelated donor marrow transplantation in children. *Blood*, 1995. **86**(8): p. 3247-56.
46. Freycon, F., et al., Trends in treatment-related deaths (TRDs) in childhood cancer and leukemia over time: a follow-up of patients included in the childhood cancer registry of the Rhone-Alpes region in France (ARCERRA). *Pediatr Blood Cancer*, 2008. **50**(6): p. 1213-20.
47. Buhner, C., et al., Importance of effective central nervous system therapy in isolated bone marrow relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia. BFM (Berlin-Frankfurt-Munster) Relapse Study Group. *Blood*, 1994. **83**(12): p. 3468-72.

48. Hill, G.R. and J.L. Ferrara, The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft-versus-host disease: rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, 2000. **95**(9): p. 2754-9.
49. Hoelzer, D., et al., Acute lymphoblastic leukemia. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program)*, 2002: p. 162-92.
50. Buhner, C., et al., Peripheral blast counts at diagnosis of late isolated bone marrow relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia predict response to salvage chemotherapy and outcome. Berlin-Frankfurt-Munster Relapse Study Group. *J Clin Oncol*, 1996. **14**(10): p. 2812-7.
51. Beyermann, B., H.P. Adams, and G. Henze, Philadelphia chromosome in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia: a matched-pair analysis. Berlin-Frankfurt-Munster Study Group. *J Clin Oncol*, 1997. **15**(6): p. 2231-7.
52. Messina, C., et al., Autologous bone marrow transplantation for childhood acute lymphoblastic leukaemia in Italy. AIEOP/FONOP-TMO Group. Italian Association of Paediatric Haemato-Oncology. *Bone Marrow Transplant*, 1998. **21**(10): p. 1015-21.
53. Germain, R.N., MHC-dependent antigen processing and peptide presentation: providing ligands for T lymphocyte activation. *Cell*, 1994. **76**(2): p. 287-99.
54. Bjorkman, P.J., et al., The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature*, 1987. **329**(6139): p. 512-8.
55. Hammerling, G.J., et al., Cytotoxic T lymphocyte recognition of HLA-A2 antigens in normal and HLA-Cw3-transgenic mice. *Eur J Immunol*, 1989. **19**(4): p. 599-604.
56. Plautz, G.E., et al., Immunotherapy of malignancy by in vivo gene transfer into tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993. **90**(10): p. 4645-9.
57. Hui, K., F. Grosveld, and H. Festenstein, Rejection of transplantable AKR leukaemia cells following MHC DNA-mediated cell transformation. *Nature*, 1984. **311**(5988): p. 750-2.
58. Isobe, K., et al., Induction of antitumor immunity in mice by allo-major histocompatibility complex class I gene transfectant with strong antigen expression. *J Natl Cancer Inst*, 1989. **81**(23): p. 1823-8.
59. Nabel, G.J., et al., Direct gene transfer with DNA-liposome complexes in melanoma: expression, biologic activity, and lack of toxicity in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993. **90**(23): p. 11307-11.
60. Claviez, A., et al., Rituximab plus chemotherapy in children with relapsed or refractory CD20-positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, 2006. **91**(2): p. 272-3.

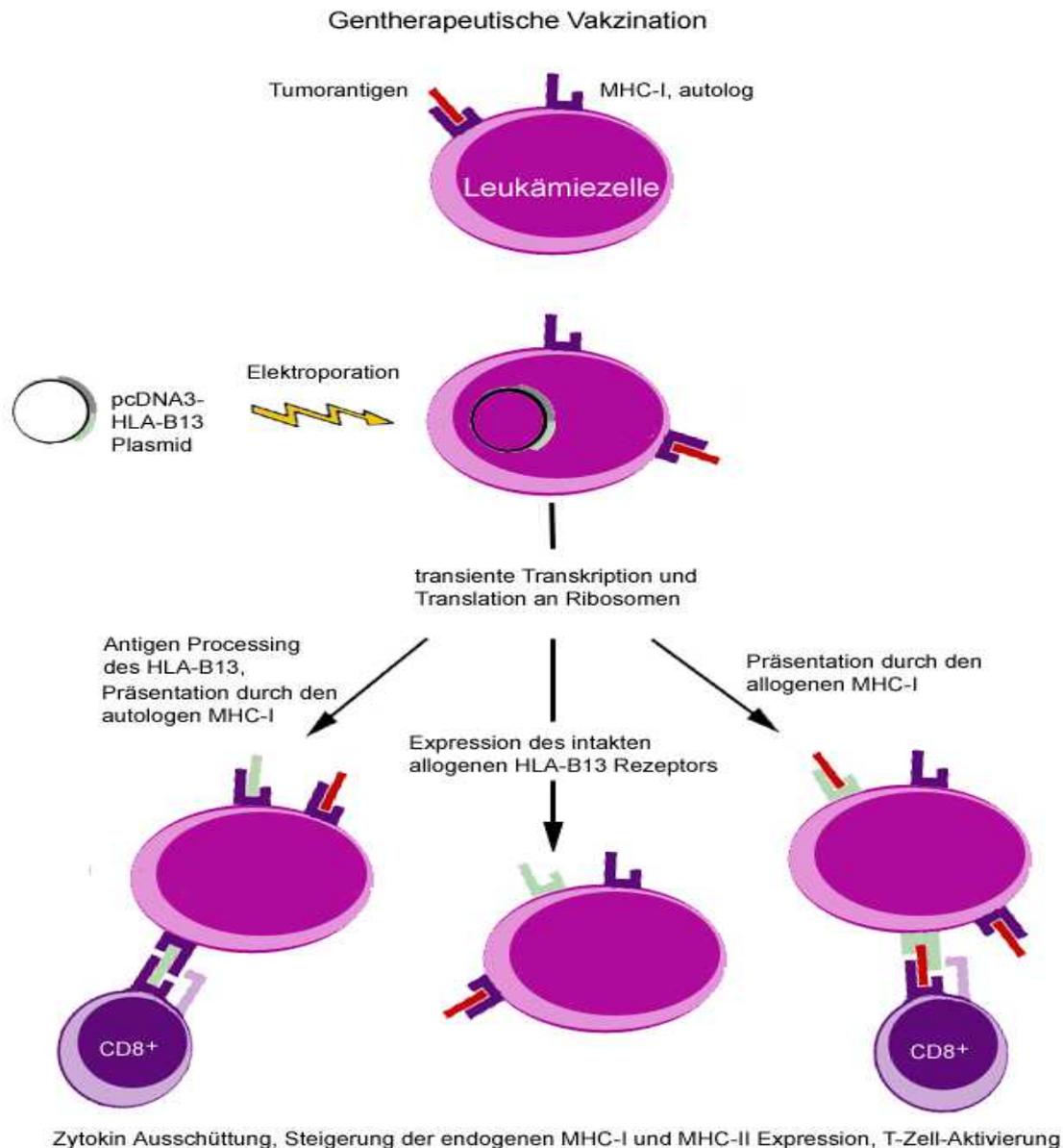
8. ABBILDUNGEN

Abbildung 1: Immunopathophysiologie der graft-versus-host disease



(1) Durch die Konditionierung wird das Gewebe, v.a. die Darmmucosa, geschädigt. Bakterien - Lipopolysaccharide gelangen vom Darmlumen in den Blutkreislauf (3) und stimulieren die Sekretion der inflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-1 aus Empfängermakrophagen. Diese Zytokine erhöhen die Expression von MHC-Antigenen und Adhäsionsmolekülen auf dem Empfängergewebe, was die Erkennung der MHC- und Minor-Histokompatibilitäts-Antigene durch reife Spender-T-Zellen verstärkt. Die Spender-T-Zell-Aktivierung in Phase (2) ist durch die Proliferation von Th1 T-Zellen in Anwesenheit von IL-12 und der Sekretion von IL-2 und IFN- γ gekennzeichnet. IL-2 und IFN- γ induzieren weitere T-Zell Expansion und CTL- und NK-Zell Antworten und sie aktivieren mononukleäre Phagozyten. Die CTL- und NK-Zellen schädigen das Gewebe durch Perforin/Granzym, FasL, und TNF α [48].

Abbildung 2: Gentherapeutische Vakzination

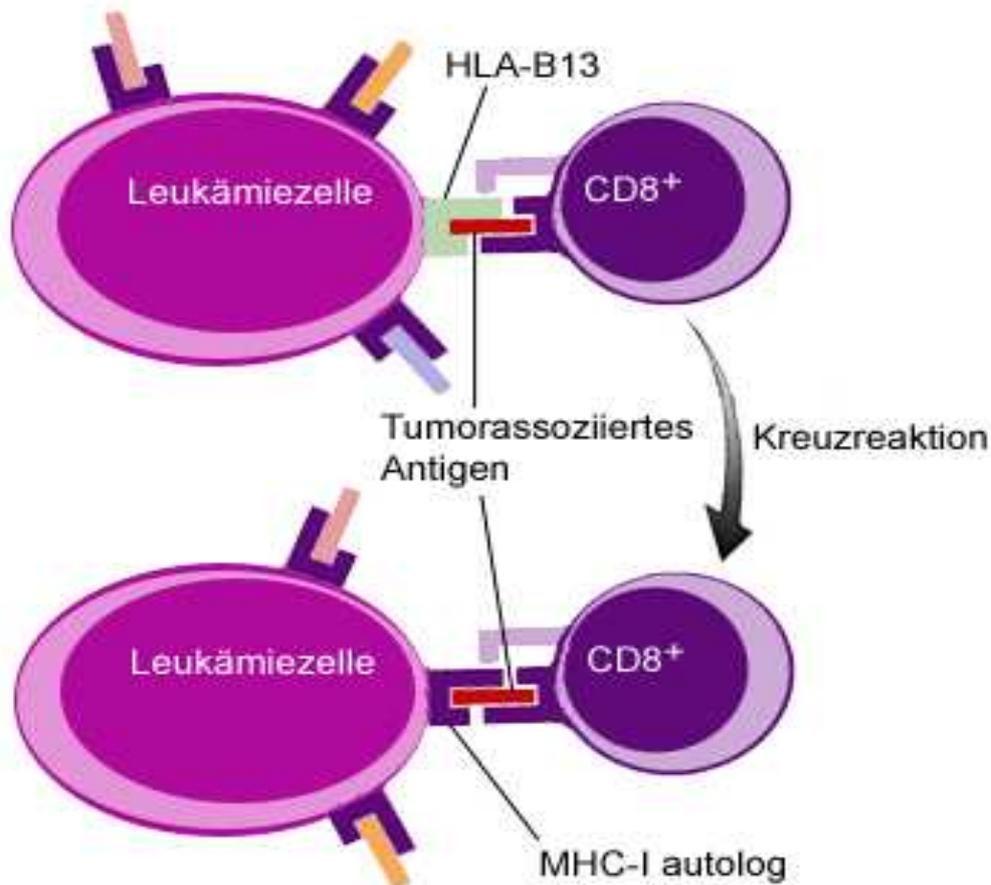


Das Einbringen fremder cDNA in eine Tumorzelle kann diese für autologe T-Lymphozyten als fremd erkennbar machen. Durch das Einbringen eines fremden MHC Klasse I Gens werden 3 verschiedene zelluläre Mechanismen induziert.

Zum einen wird durch intrazelluläre Proteinsynthese ein intaktes allogegenes MHC Klasse I Protein an der Zelloberfläche exprimiert.

Zusätzlich ist die Prozessierung dieses fremden MHC Antigens zu erwarten. Das prozessierte Antigen wird durch den autologen MHC-I Rezeptor auf der Zelloberfläche präsentiert.

Als dritter Mechanismus konnte im Tiermodell gezeigt werden, daß der fremde MHC-I Rezeptor seinerseits Antigene präsentieren kann. Die Bindung eines solchen MHC-I/AG Komplexes durch den T-Zell Rezeptor der CD8⁺ Zellen dient letzteren als Proliferations- und Differenzierungssignal.

Abbildung 3: T-Zell Kreuzreaktion

Allogene HLA-Klasse I Gene können unter in vivo Bedingungen eine im Vergleich zu anderen Fremdanitgenen bis zu tausendfach stärkere zytotoxische Immunantwort induzieren. Bei in vivo Untersuchungen zur autologen Zytotoxizität gegenüber allogenisierten Tumorzellen erwies sich zudem, daß es möglich ist, eine spezifisch auch gegen native Tumorzellen wirksame klonale Zellpopulation zu generieren: die Expression eines fremden MHC-I Antigens auf Fibrosarkom/Adenomzellen induzierte bei Mäusen eine zytotoxische T-Zell-Antwort, die anschließend auch gegenüber nicht modifizierten Tumorzellen zu beobachten war und in vielen Fällen zu einer kompletten Tumorregression führte (Kreuzreaktion). Offensichtlich sind die zytotoxischen T-Zellen für eine Erkennung von Tumorantigenen sensibilisiert worden. Weitere ähnlich aufgebaute Tierexperimente wurden bei Mäusen mit Leukämie bereits 1984 und mit Mastozytom 1989 beschrieben.

9. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Günter Henze, dem Direktor unserer Klinik für Pädiatrie m.S. Hämatologie und Onkologie, für die langjährige Unterstützung meiner klinischen und wissenschaftlichen Tätigkeit und die Schaffung entsprechender Freiräume sowie für viele hilfreiche Ratschläge.

Herrn Professor Helmut Gadner und Frau PD Dr. Christina Peters, St. Anna Kinderspital, Wien, danke ich für ihre Einführung in das Gebiet der Stammzelltransplantation in warmherziger Atmosphäre, von der ich nachhaltig profitiert habe.

Ein großer Teil der vorliegenden Arbeit erforderte statistische Expertise. Ich danke vor allem Herrn Reinhard Hartmann, der immer ein offenes Ohr für alle Fragen hatte, aber auch Herrn Dr. Arend von Stackelberg aus unserer Abteilung für Pädiatrie m.S. Hämatologie und Onkologie und Herrn Dr. Klaus Hermann, Institut für Molekularbiologie und Biochemie, FU Berlin, für statistische Auswertungen und Präzision.

Herrn Professor Andreas Ziegler und seiner Frau Dr. Barbara Uchanska Ziegler danke ich für ihre ansteckende Begeisterung über das HLA-System.

Herrn Professor Burghardt Wittig, Centrum Somatische Gentherapie, Institut für Molekularbiologie und Biochemie, FU Berlin, und seinem Team danke ich für die Anleitung zum Sequenzieren, Klonieren und Transfizieren von cDNA, sowie zur Erbringung des Nachweises der mRNA mittels PCR (Transkriptionsnachweis) und des Translationsnachweises des HLA-B13-Moleküls auf der Oberfläche der transfizierten Leukämiezellen mittels Durchflußzytometrie und für weltoffene Diskussionen in familiärer Atmosphäre.

Bei der Arbeit mit den HLA-B13 transfizierten Leukämiezellen danke ich Frau PD Dr. Iduna Fichtner, Max-Delbrück-Zentrum, Berlin-Buch für ihre herzliche und verlässliche Kooperation und Frau Dr. Christina Zinn für viele herzliche und intensive gemeinsame Arbeitsstunden.

Aus unserer Klinik für Pädiatrie m.S. Hämatologie und Onkologie danke ich Herrn PD Dr. Dr. Karl Seeger für seine Empathie und Motivation als langjähriger Kollege. Simone Reinmuth, deren kompetente und fleißige Arbeit vielen aktuellen Ergebnissen zu Grunde liegt, danke ich auch für die persönliche Unterstützung bei der Bewerbung um das Rahel-Hirsch-Stipendium und der Fertigstellung der Habilitationsschrift und für die stets positive Zusammenarbeit.

Mein besonderer Dank gilt den Initiatoren des erfolgreichen Programmes zur Förderung des weiblichen wissenschaftlichen Nachwuchses der Charité, Universitätsmedizin Berlin. Es war auch für mich eine große Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Für die Gewährung des Rahel-Hirsch-Stipendiums danke ich insbesondere Herrn Professor Roland Wauer, Beauftragter des Dekans für wissenschaftlichen Nachwuchs, für sein Verständnis für meine persönliche Bewerbungssituation.

Aus der Klinik für Pädiatrie m.S. pädiatrische Knochenmarktransplantation danke ich Frau Dr. Gabriele Strauss für die kritische Durchsicht der vorliegenden Version der Habilitationsschrift.

Vor allem meiner Familie möchte ich ganz herzlich danken. Meinen Eltern für die persönliche Unterstützung meiner Zielsetzung durch ihre liebevolle Betreuung meiner Kinder, meinem Mann und meinen beiden Söhnen, die meine entsprechende Abwesenheit toleriert haben und deren Anwesenheit mir viel Kraft gegeben hat.

10. Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

02.06.2008

.....

.....

Datum