

Aus dem
CharitéCentrum 14 für Tumormedizin
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie
Campus Benjamin Franklin
Direktor: Professor Dr. Dr. h.c. E. Thiel

Habilitationsschrift

**Lymphome des zentralen Nervensystems: Bedeutung des meningealen
Kompartiments für Therapie und Prognose**

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Lars Fischer,
geboren am 09.12.1971 in Schmalkalden

Eingereicht: April 2010

Dekanin: Frau Professor Dr. med. A. Grütters-Kieslich

1. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. U. Schlegel

2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. J. Finke

Abkürzungen

BCNU	Carmustin
BMPD	BCNU (Carmustin), Methotrexat, Procarbazin, Dexamethason
CR	Complete remission (komplette Remission)
CT	Computertomographie
DLBCL	Diffuse large B-cell lymphoma (diffuses grosszelliges B-Zell-Lymphom)
EFS	Event free survival (Ereignisfreies Überleben)
FLAIR	Fluid-attenuated inversion recovery
GCB	Germinal center B-cell
G-PCNSL-SG	German Primary Central Nervous System Lymphoma Study Group
IFO	Ifosfamid
MTX	Methotrexat
HD-ASCT	Hochdosis-Chemotherapie mit autologer Stammzell-Transplantation
HD-MTX	Hochdosis-Methotrexat
HIV	Human immunodeficiency virus
LDH	Laktatdehydrogenase
MRT	Magnetresonanztomographie
MSKCC	Memorial Sloan-Kettering Cancer Center
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
OAS	Overall survival (Gesamtüberleben)
PCNSL	Primary central nervous system lymphoma (primäres ZNS-Lymphom)
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
PIOL	Primäres intraokuläres Lymphom
sDLBCL	systemisches diffuses grosszelliges B-Zell-Lymphom
TTP	Time to progression
WBI	Whole brain irradiation (Ganzhirnbestrahlung)
ZNS	Zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	2
Inhaltsverzeichnis	3
1 Einleitung	4
1.1 Definition und Epidemiologie primärer und sekundärer ZNS-Lymphome	4
1.2 Biologie und Pathogenese	5
1.3 Präsentation und Diagnostik	5
1.4 Therapie	6
2 Therapie von Lymphomen des ZNS	9
2.1 Erstlinientherapie des primären ZNS-Lymphoms	9
Publikation I	11
2.2 Rezidiv-Therapie des PCNSL	21
2.2.1 Pilotstudie mit Topotecan-Monotherapie	21
Publikation II	22
2.2.2 Langzeitergebnisse einer prospektiven Phase-II-Studie mit Topotecan	26
Publikation III	27
2.3 Therapie sekundärer ZNS-Lymphome	33
Publikation IV	35
3 Inzidenz, Diagnostik und klinische Bedeutung der Meningeosis lymphomatosa beim PCNSL	43
3.1 Bedeutung der konventionellen Liquordiagnostik beim PCNSL	43
Publikation V	44
3.2 Bedeutung von PCR und MRT in der Diagnostik des meningealen Befalls beim PCNSL	47
Publikation VI	49
3.3 Therapie und prognostische Bedeutung der Meningeosis beim PCNSL	57
Publikation VII	59
4 Chemokine als Faktoren in der Pathogenese von ZNS-Lymphomen	69
Publikation VIII	71
5 Diskussion	78
6 Zusammenfassung	83
7 Literatur	84
Danksagung	92
Erklärung	93

1 Einleitung

1.1 Definition und Epidemiologie primärer und sekundärer ZNS-Lymphome

Primäre ZNS-Lymphome (PCNSL) sind eine seltene Form extranodaler Non-Hodgkin-Lymphome, die bei Diagnosestellung ausschließlich auf das ZNS, d.h. Gehirn, Rückenmark und Meningen (Leptomeninge) inklusive des Liquor cerebrospinalis; begrenzt sind (1). In ca. 10-20% der Fälle findet sich ein okulärer Befall (Glaskörper, Retina, Uvea), der bei isoliertem Auftreten auch als primäres intraokuläres Lymphom (PIOL) bezeichnet wird (2). In den USA (2004-2006) betrug der Anteil der PCNSL an allen nichtmetastatischen Hirntumoren etwa 2.4% (www.cbtrus.org). Die Inzidenz der PCNSL verdreifachte sich in den Jahren 1973-84, war zuletzt jedoch wieder rückläufig. Das mediane Erkrankungsalter bei 60-65 Jahren, wobei jedoch alle Altersgruppen betroffen sein können (3). Patienten mit angeborener oder erworbener Immundefizienz haben ein 3600-fach erhöhtes Risiko, an einem PCNSL zu erkranken; die Einführung der HAART (highly active antiretroviral therapy) senkte die Inzidenz bei HIV-Infizierten jedoch deutlich (1;4). Immundefizienz-assoziierte PCNSL zeigen in fast allen Fällen eine Assoziation mit dem Epstein-Barr-Virus, die bei Immunkompetenten nicht vorliegt (5).

ZNS-Rezidive systemischer NHL treten in Abhängigkeit von der Histologie des Lymphoms unterschiedlich häufig auf. Während lymphoblastische und Burkitt-Lymphome bei Erwachsenen ohne entsprechende Prophylaxe in bis zu 30% der Fälle einen ZNS-Befall entwickeln, liegt die Rate für DLBCL bei ca. 5%. Bei Patienten mit Vorliegen bestimmter Risikofaktoren, wie LDH-Erhöhung oder > 1 Extranodal-Befälle, steigt das Risiko jedoch auf etwa 20% (6;7). Auch spezielle Lokalisationen bzw. Subtypen wie das testikuläre Lymphom oder das primär mediastinale (thymische) B-NHL sind mit einem deutlich erhöhten Risiko für ZNS-Rezidive assoziiert (8;9). Patienten mit indolenten Lymphomen haben demgegenüber ein geringes Risiko für einen sekundären ZNS-Befall (1;6;10).

Der Wert einer ZNS-Prophylaxe systemischer DLBCL ist umstritten, prospektive und randomisierte Studien fehlen. Intensivierte Erstlinientherapien, Chemoimmuntherapie mit Rituximab, ZNS-gerichtete Therapieelemente wie intrathekale Chemotherapie oder systemisches Hochdosis-Methotrexat können potentiell die Inzidenz von ZNS-Rezidiven senken (11-14).

1.2 Biologie und Pathogenese

Histologisch stellen PCNSL neben dem sporadischen Vorkommen indolenter Lymphome und T-NHL zu mehr als 90% diffuse großzellige B-NHL (DLBCL) mit entsprechend typischer Expression der Marker CD19 und CD20 dar. Weitere Marker sind CD10 (< 20% der Fälle), BCL-6 (56-61%) sowie MUM1 (84-97%), womit MUM1-Positivität beim PCNSL deutlich häufiger vorliegt als beim systemischen DLBCL (sDLBCL) (15-17). In Verbindung mit dem Nachweis anhaltender somatischer Mutationen in den rearrangierten Immunglobulin-Genen, wobei die Mutationsfrequenz deutlich höher ist als beim sDLBCL, ist von einer späten Keimzentrums-B-Zelle als Ursprung auszugehen. In Gene-Expressionsanalysen findet sich analog zum systemischen DLBCL eine gleichmäßige Verteilung der PCNSL auf den GCB- (germinal-center B-cell) und ABC- (activated B-cell) Typ (18;19). Die bisher gefundenen Unterschiede im Genexpressionsprofil von PCNSL und sDLBCL sind wahrscheinlich vollständig auf das unterschiedliche Mikromilieu im ZNS und nicht auf genuine Unterschiede der Lymphomzellen zurückzuführen (18;20).

Eine Häufung von BCL-6-Translokationen in Nicht-Immunglobulin-Gene, Deletion von 6q u.a. Veränderungen scheinen PCNSL auf zytogenetischer Ebene von sDLBCL zu unterscheiden (21). Auch erste Untersuchungen der Expression von micro-RNAs ergaben Unterschiede für PCNSL (22). Obwohl bei einem Teil der PCNSL molekulargenetisch der Nachweises einer subleukämischen Aussaat gelang (23), ist weiterhin unklar, ob die Entwicklung der PCNSL im oder außerhalb des ZNS beginnt.

Der sekundäre Befall des ZNS durch sDLBCL ist wahrscheinlich als hämatogenes metastatisches Geschehen und vereinzelt als Infiltration per continuitatem in die Meningen anzusehen (24). Der gehäufte Nachweis einer okkulten Meningeose bei erstdiagnostizierten sDLBCL mittels Liquor-Flowzytometrie deutet auf eine bereits frühe ZNS-Aussaat hin (25), systematische Studien zum pathogenetischen Ablauf fehlen jedoch.

1.3 Präsentation und Diagnostik

Zu den häufigsten klinischen Veränderungen beim PCNSL gehören Persönlichkeitsveränderungen, psychomotorische Verlangsamung und Desorientiertheit sowie fokale neurologische Defizite; seltener sind Kleinhirnzeichen und Hirnstammsymptome sowie zerebrale Anfälle (3). Die radiologische Diagnostik erfolgt vorzugsweise mittels MRT, die typischerweise in T2- und FLAIR-Wichtung hyperintense

Läsionen mit gehäuft periventrikulärer Lage zeigt, die zudem ein intensives und homogenes Kontrastmittel-Enhancement mit moderatem Umgebungsödem aufweisen (26). Ein meningeales Enhancement wird dagegen nur in < 10% der Fälle beobachtet (siehe Publikation IV, Seite 35 ff.).

Die stereotaktische Biopsie, möglichst vor einer systemischen Kortikosteroidgabe durchgeführt, ist die Methode der Wahl zur Diagnosestellung beim PCNSL. Zur Ausbreitungsdiagnostik gehören entsprechend internationaler Konsensusempfehlungen CT Thorax/Abdomen, Knochenmarkpunktion mit Zytologie, Immunzytologie und Histologie, die zytomorphologische und ggf. immunzytologische Untersuchung des Liquors, die Bestimmung des Liquorproteins, eine Spaltlampenuntersuchung der Augen, HIV-Serologie und die Bestimmung der Laktatdehydrogenase (LDH) im Serum sowie ggf. eine Untersuchung der Hoden (27).

Die Mehrheit sekundärer ZNS-Lymphome manifestiert sich in einem meningealen Befall. Ein isolierter parenchymaler Befall des Gehirns ist selten, kann jedoch zusätzlich zum meningealen Befall in 20-40% der Fälle auftreten. ZNS-Rezidive systemischer DLBCL treten überwiegend innerhalb des ersten Jahres nach Diagnosestellung auf und sind häufig mit einem gleichzeitigen systemischem Progress assoziiert (6;7;13;14;28).

Aufgrund der häufigeren Manifestation sekundärer ZNS-Lymphome in den Leptomeningen treten hier die dafür typischen klinischen Zeichen wie Hirnnervenlähmungen, Hirndruckzeichen oder Kopfschmerzen in den Vordergrund. Neben dem Staging der systemischen Lymphomkrankung gehören Liquordiagnostik sowie Radiologie (kraniale MRT, MRT der Wirbelsäule), seltener eine Hirnbiopsie zum initialen Untersuchungsprogramm.

1.4 Therapie

Der aktuelle Wissensstand zur Therapie des PCNSL ist gekennzeichnet durch das Fehlen randomisierter Phase-III-Studien, teilweise zurückzuführen auf die Seltenheit der Erkrankung. Die Neurochirurgie hat außer der bioptischen Sicherung keinen Stellenwert, eine Resektion ist zu vermeiden (29). Die Ganzhirnbestrahlung (whole brain irradiation, WBI) führt zu einer hohen Rate kompletter Remissionen (80-90%). Rezidive sind jedoch die Regel, was sich in einem medianen Überleben von nur 12-18 Monaten widerspiegelt (30;31). Die Anwendung von bei extrazerebralen Lymphomen wirksamen Chemotherapie-Regimen (z.B. CHOP) führt zu keiner Überlebensverlängerung (32).

Dagegen erreicht Hochdosis-Methotrexat (HD-MTX; $> 1\text{g}/\text{m}^2$ Körperoberfläche) zytotoxische Wirkspiegel im ZNS und gilt als effektivster Bestandteil jeglicher Erstlinientherapie (33;34). Die Kombination HD-MTX-basierter Chemotherapieprotokolle mit nachfolgender WBI (36-45 Gy) führt zu Überlebenszeiten von 30-60 Monaten (35-38), allerdings verbunden mit einer erhöhten Rate an später Neurotoxizität, v.a. bei Patienten über 60 Jahre (39). Die Neurotoxizität ist eine gefürchtete Nebenwirkung, die zu kognitiven Funktionsstörungen bis hin zur schweren Demenz sowie zu Ataxie und Inkontinenz führen kann (35). Retrospektive Daten lassen jedoch vermuten, daß die konsolidierende WBI i.R.d. Erstlinientherapie nicht zur Verbesserung des Überlebens beiträgt (33). Der Wert der konsolidierenden WBI nach HD-MTX-basierter Chemotherapie wird erstmalig prospektiv randomisiert in der Phase-IV-Studie der deutschen PCNSL-Studiengruppe (G-PCNSL-SG1) untersucht, dessen Rekrutierung im Mai 2009 endete.

Bei alleiniger Anwendung der Chemotherapie ist eine MTX-Monotherapie wegen der geringen Rate kompletter Remissionen (30% in der größten Studie mit 37 Patienten) nicht ausreichend (40). Durch Kombination mit anderen ZNS-gängigen Zytostatika (z.B. Hochdosis-Cytarabin oder Carmustin) läßt sich die Remissionrate jedoch verbessern (41;42). Die bisher besten Resultate einer alleinigen Chemotherapie konnten mit dem "Bonner Protokoll", einer Phase-II-Studie bestehend aus sechs Blöcken einer intensiven Polychemotherapie verbunden mit einer intraventrikulären Chemotherapie, erreicht werden. Nach 100 Monaten waren von insgesamt 65 Patienten noch 21 (32%) am Leben, bei den ≤ 65 -Jährigen betrug das Überleben sogar 46% (43;44).

Eine weitere Intensivierung der Erstlinien-Chemotherapie durch myeloablative Protokolle gefolgt von autologer Stammzelltransplantation wurde bisher in Phase-II-Studien mit 23 bis 30 Patienten untersucht. Eine deutliche Verbesserung der CR-Raten konnte dadurch nicht erreicht werden, außerdem wird die Interpretation des Verlaufs durch den z.T. sehr hohen Anteil nachbestrahlter Patienten erschwert (45-48).

Die Rolle des anti-CD20-Antikörpers Rituximab bei der systemischen Therapie des PCNSL ist umstritten, randomisierte Studien fehlen. Wirksame Spiegel im ZNS sind angesichts der Größe des Moleküls nicht zu erwarten (49;50). Nach Einzelberichten von Remissionen nach Rituximab-Therapie (44) erscheint die Kombination mit Chemotherapie in der initialen Phase der Therapie, in der eine gestörte Blut-Hirn-Schranke vorliegt, berechtigt.

Für die Behandlung rezidivierender bzw. therapierefraktärer PCNSL gibt es keinen Standard, jedoch sollte allen Patienten nach Möglichkeit eine Therapie angeboten werden (51). Optionen sind u.a. die Therapie mit Topotecan (siehe Publikationen II und III, Seiten 22 und 27 ff.) sowie eine erneute MTX-basierte Chemotherapie (siehe Publikation IV, S. 35 ff.).

2 Therapie von Lymphomen des ZNS

2.1 Erstlinientherapie des primären ZNS-Lymphoms

Die optimale Strategie der Erstlinientherapie des PCNSL ist weiterhin Gegenstand der Forschung. HD-MTX-basierte Chemotherapie mit oder ohne WBI erbringt verbesserte Langzeitergebnisse gegenüber der alleinigen WBI. Das Alter sowie der Allgemeinzustand der Patienten sind die stärksten prognostischen Faktoren beim PCNSL; als wichtigste therapieassoziierten Faktoren wurden HD-MTX-basierte Chemotherapie sowie das Erreichen einer Remission nach Erstlinientherapie identifiziert (42;52). Retrospektive Analysen führten zur Entwicklung prognostischer Scores (53;54).

Um Langzeitergebnisse und therapieassoziierte Toxizität verschiedener Therapiemodalitäten sowie prognostische Faktoren zu evaluieren, führten wir eine retrospektive Studie aller an unserem Zentrum zwischen 1994 und 2005 erstdiagnostizierten und für eine HD-MTX-Therapie vorgesehenen Patienten durch. Identifiziert wurden 72 Patienten, von denen zwölf aufgrund eines schlechten Allgemeinzustandes bzw. ungenügender Nierenfunktion nicht mit HD-MTX behandelt wurden. HD-MTX-Monotherapie wurde bei 41 Patienten angewandt, weitere 19 Patienten erhielten eine Kombinationstherapie, überwiegend im Rahmen des BMPD-Protokolls (BCNU, MTX, Procarbazin). WBI als Teil der Erstlinientherapie erhielten nur 14 Patienten. Die Gesamtansprechrate in der Kohorte lag bei 65%, 52% erzielten eine komplette Remission, das mediane Überleben aller Patienten betrug 41 Monate. Die Kombinationschemotherapie erzielte eine bessere Remissionsrate, das Überleben unterschied sich nicht zur Monotherapie. Ansprechen auf die Erstlinientherapie war mit einem verbesserten Überleben assoziiert. Bei 39 Patienten wurde eine Salvage-Therapie bestehend aus Chemotherapie oder WBI durchgeführt, diese Patienten lebten im Median noch 13.5 Monate. Bei neun Patienten konnte ein Langzeitüberleben > 60 Monate beobachtet werden, trotz frühem Rezidiv bei fünf Patienten. Beides unterstreicht die Bedeutung einer effektiven Salvage-Therapie.

Anhand unseres Kollektives führten wir eine externe Validierung des an einer retrospektiven Monocenter-Kohorte von 282 Patienten entwickelten und auf Alter (</≥50 Jahre) und Karnofsky-Index (</≥70) basierenden MSKCC-Prognose-Score (53). In den daraus resultierenden drei Patientengruppen konnten wir signifikante Überlebensunterschiede feststellen.

Radiologische sowie klinische Zeichen (55) der späten Neurotoxizität traten in unserer Studie bei 82% bzw. 65% der evaluierten Patienten auf. Diese waren sowohl bei Patienten mit als auch ohne WBI im Verlauf Ihrer Erkrankung sichtbar. Allerdings hatte keiner der Patienten ohne klinische Zeichen der Neurotoxizität jemals eine WBI erhalten.

Zusammenfassend unterstreichen unsere Ergebnisse die Bedeutung der HD-MTX-basierten Chemotherapie sowie der prognostischen Wertigkeit von Alter und Allgemeinzustand.

Im Vergleich zu historischen Kontrollen mit alleiniger Strahlentherapie (30;31) konnte nach HD-MTX-basierter Chemotherapie ein verbessertes Überleben erreicht werden. Die mit der späten Neurotoxizität assoziierte WBI sollte nach Möglichkeit erst in der Rezidivtherapie eingesetzt werden. Ob dies ohne negativen Einfluss auf das Gesamtüberleben möglich ist, wird die Auswertung der deutschen G-PCNSL-SG1-Studie zeigen (www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00153530).

Publikation I

Kiewe P, Fischer L, Martus P, Thiel E, Korfel A

Primary Central Nervous System Lymphoma. Monocenter, Long-term, Intent-to-treat Analysis

Cancer 2008;112:1812-20

2.2 Rezidiv-Therapie des PCNSL

2.2.1 Pilotstudie mit Topotecan-Monotherapie

Etwa 60% der PCNSL-Patienten rezidivieren nach der Erstlinientherapie, ca. 20-30% der Patienten zeigen sich primär refraktär. Eine effektive Salvage-Therapie kann die ansonsten sehr schlechte Prognose (Überleben ohne Therapie etwa 2 Monate) deutlich verbessern, die Anwendung einer Rezidivtherapie gilt als unabhängiger prognostischer Faktor (51). Für die Salvage-Therapie existiert kein Standard. WBI ist eine wirksame Option für nicht vorbestrahlte Patienten (56); chemotherapeutische Optionen sind die erneute HD-MTX-Therapie (57) oder HD-MTX/Ifosfamid, (Publikation IV, S. 35 ff.), VIA (Vepesid, Ifosfamid, Cytarabin) (58), PCV (Procarbacin, CCNU, Vincristin) (59), Hochdosis-Chemotherapie gefolgt von ASCT (60) oder Temodal (61).

Wir initiierten eine Pilotstudie mit dem Topoisomerase-I-Inhibitor Topotecan, der sich durch eine gute Penetration in das ZNS, wiedergespiegelt durch therapeutische Liquorspiegel nach systemischer Applikation, auszeichnet (62). Die Gabe erfolgte als Kurzinfusion ($1.5\text{mg}/\text{m}^2/\text{d}$) an fünf Tagen. Sechzehn Patienten wurden behandelt, zehn von Ihnen waren therapierefraktär vor Topotecan, vier Patienten waren vorbestrahlt. Ein Ansprechen wurde bei 37.5% der Patienten gesehen (25% komplette Remissionen), wobei sowohl refraktäre als auch rezidierte Patienten ansprachen. Das progressionsfreie Überleben (PFS) war insgesamt kurz (13% progressionsfrei nach 12 Monaten), wobei 2 Patienten in Remission früh an vorbestehender Leukenzephalopathie starben. Zwei Patienten waren progressionsfrei nach 15 und 24 Monaten.

Die Therapie war bis auf hämatologische Toxizität bei den multipel vorbehandelten Patienten in schlechtem Allgemeinzustand gut verträglich. Wir schlussfolgerten auf eine klinisch bedeutsame Aktivität von Topotecan bei refraktärem oder rezidierten PCNSL, die weitere Studien rechtfertigt.

Publikation II

Fischer L, Thiel E, Klasen HA, Kirchen H, Jahnke K, Korfel A

Response of relapsed or refractory primary central nervous system lymphoma (PCNSL) to topotecan

Neurology, 2004; 62:1885-7

2.2.2 Langzeitergebnisse einer prospektiven Phase-II-Studie mit Topotecan

Aufgrund der positiven Ergebnisse unserer Pilotstudie untersuchten wir das Schema in einer Phase-II-Studie. Insgesamt wurden 27 Patienten behandelt. Davon waren 14 Patienten refraktär auf die vorangegangene Therapie. Die meisten Patienten hatten zwei Vortherapien erhalten, bei 22% waren es drei oder vier Vortherapien. Die Ansprechrate auf Topotecan betrug 33% (19% CR); für diese Patienten betrug das EFS median 9.1 Monate. Wir sahen dabei Langzeitremissionen von 7.5 bis 28.6 Monaten Dauer. Das Ansprechen war gleich für refraktäre und rezidierte Patienten, allerdings bei höherer CR-Rate für rezidierte Patienten. Auch war das Ansprechen unabhängig von einer vorangegangenen WBI.

Die Therapie war insgesamt gut verträglich, die Haupttoxizität war hämatologisch mit Grad 3/4-Leukopenie bei 26% der Patienten ohne Häufung neutropenischer Infektionen. Wir untersuchten das Kollektiv ebenso auf Zeichen der späten Neurotoxizität. Hierzu stehen neben den Fragebögen zur Lebensqualität eine Vielzahl verschiedener ausführlicher neuropsychometrischer Tests zur Verfügung, die in unterschiedlicher Kombination bei Serien mit bis zu 28 Patienten mit PCNSL angewandt wurden (63-65). Wir verwendeten jedoch einen Fragebogen, der mit wenig Aufwand durch den behandelnden Arzt komplettiert werden konnte und anhand einer subjektiven Skala kognitive Defizite, Grad der Ataxie, Inkontinenz und Pflegebedürftigkeit abfragte. Außerdem wurden Zeichen der Neurotoxizität in der MRT (Leukenzephalopathie, Hirnatrophie) dokumentiert. Bei 92% der Langzeitüberlebenden fanden sich radiologische, bei 67% klinische Zeichen der späten Neurotoxizität, drei Patienten verstarben daran. Verantwortlich dafür dürften jedoch die multiplen Vorbehandlungen inklusive WBI (bei 92% der Patienten vor oder nach Topotecan) sein, da für Topotecan bisher keine Neurotoxizität bekannt ist. An unserem Kollektiv zeigt sich somit beispielhaft die hohe Rate an klinisch relevanter Neurotoxizität bei multipel behandelten PCNSL-Patienten.

Die Ergebnisse unserer Studie weisen Topotecan als eine wirksame Substanz beim PCNSL aus. Topotecan und Temozolomid (61) sind die einzigen prospektiv getesteten Salvage-Regime beim PCNSL. Der Einsatz in Schemata für die Erstlinientherapie, in Konsolidierung oder Erhaltung sollte evaluiert werden.

Publikation III

Fischer L, Thiel E, Klasen HA, Birkmann J, Jahnke K, Martus P, Korfel A.

Prospective trial on topotecan salvage therapy in primary CNS lymphoma.

Ann Oncol, 2006;17:1141-5

2.3 Therapie sekundärer ZNS-Lymphome

Für die Therapie eines sekundären ZNS-Befalls systemischer (in der Regel aggressiver) Non-Hodgkin-Lymphome gibt es keinen Standard. Es existieren fast ausschließlich retrospektive Analysen mit häufig sehr heterogenen Patientenkollektiven bedingt durch den Einschluß lymphoblastischer und Burkitt-Lymphome sowie von Patienten mit meningealem Befall durch solide Tumoren. Patienten mit sekundären ZNS-Lymphomen haben meningeale oder intracerebrale Lymphommanifestationen oder beides kombiniert sowie häufig ein gleichzeitig bestehendes oder sich im Verlauf entwickelndes systemisches Lymphomrezidiv. Für die lokale Therapie des ZNS-Befalls stehen die intrathekale Chemotherapie (meist mit Methotrexat oder Cytarabin) sowie die Ganzhirnbestrahlung zur Verfügung. Beide Therapiemodalitäten zeigen einen guten palliativen Effekt, die Prognose der Pat. bleibt jedoch sehr schlecht mit medianen Überlebenszeiten unter 6 Monaten (66-68).

Die systemische Behandlung mit ZNS-gängigen Zytostatika hat gegenüber der intrathekalen Chemotherapie theoretische Vorteile durch die Wirksamkeit bei intrazerebralem sowie systemischem Befall, einige Autoren deuten einen Überlebensvorteil an (69-71).

Wir behandelten Patienten mit ZNS-Befall (13 mit sekundärem ZNS-Befall, 7 rezidierte PCNSL) durch ein NHL mit einer Kombination aus HD-MTX ($4\text{g}/\text{m}^2$ als 4h-Infusion an Tag 1) sowie Ifosfamid (1.5 oder $2\text{g}/\text{m}^2/\text{Tag}$ als 3h-Infusion an den Tagen 3-5). Zwischen Juli 2002 und August 2007 wurden diese Patienten mit einem medianen Alter von 65 (30-83) Jahren mit dem genannten Schema behandelt.

Es zeigte sich eine hohe Ansprechrate von 90% (12 komplette und 6 partielle Remissionen) und eine Zeit bis zur neurologischen Progression von 8.9 Monaten. Zwölf Patienten erhielten nachfolgend weitere Therapiemodalitäten, wobei fünf mit Hochdosischemotherapie mit ZNS-gängigen Substanzen (Carmustin, Thiotepa) und autologer Stammzelltransplantation (HD-ASCT) behandelt wurden. Das mediane Gesamtüberleben war nach 14.9 Monaten medianer Nachbeobachtungszeit nicht erreicht, sieben Patienten lebten länger als 12 Monate, darunter vier mit HD-ASCT behandelt wurden.

Rezidive systemischer diffuser großzelliger B-NHL können mittels HD-ASCT erneut kurativ behandelt werden (72). Retrospektiven Analysen deuten auch bei ZNS-Rezidiven ein verbessertes Überleben an (28;73;74). Dieser potentiell kurative Therapiealgorithmus wird nun erstmalig in einer prospektiven multizentrische Phase-II-Studie mit HD-MTX/IFO-Induktion in Kombination mit intrathekaler Therapie mit liposomalem Cytarabin und

nachfolgender Hochdosis-Chemotherapie mit Etoposid, Carmustin und Thiotepa untersucht
(<http://www.lymphome.de/Gruppen/G-PCNSLSG/Protokolle/NHL-ZNS-Rezidiv/index.jsp>;
EudraCT-Nr.: 2006-006516-30) (75).

Publikation IV

Fischer L, Korfel A, Kiewe P, Neumann M, Jahnke K, Thiel E

Systemic high-dose methotrexate plus ifosfamide is highly effective for central nervous system (CNS) involvement of lymphoma

Ann Hematol. 2009;88:133-9. Epub 2008 Aug 5.

3. Inzidenz, Diagnostik und klinische Bedeutung der Meningeosis lymphomatosa beim PCNSL

3.1 Bedeutung der konventionellen Liquordiagnostik beim PCNSL

Die bisher in der Literatur berichteten Inzidenzen des meningealen Befalls beim PCNSL basieren überwiegend auf retrospektiven Analysen bzw. einer prospektiven Studie mit 98 Patienten und schwanken zwischen 12 und 42% (54;76-78). Neben dem konventionell zytomorphologischen Nachweis von Lymphomzellen im Liquor, erfolgte in einer Studie der Nachweis zusätzlich durch Biopsie der Leptomeningen (76). In kleinen Serien wurde bei Untersuchung des Ventrikel-Liquors eine Dissemination in bis zu 78% der Patienten gesehen (79).

Im Rahmen einer prospektiven multizentrischen Therapiestudie des PCNSL analysierten wir den mittels Lumbalpunktion gewonnenen Liquor von 116 der 145 eingebrachten Patienten. Ein zytomorphologisch eindeutiger Nachweis von Lymphomzellen fand sich bei 18.1% der Patienten. Eine Liquorpleozytose ($> 5/\mu\text{l}$) sahen wir 37% der Fälle, wobei die Spanne 0 bis $121/\mu\text{l}$ betrug. Eine Erhöhung des Liquorproteins ($> 45\text{mg/dl}$) detektierten wir in 65% der Fälle. Wir testeten den zusätzlichen diagnostischen Nutzen von Liquorpleozytose und Liquorprotein gegenüber dem bisherigen Goldstandard in der Detektion der Meningeosis, der Zytomorphologie (80). Dabei zeigte sich, daß eine Erhöhung der Liquorzellzahl $> 5/\mu\text{l}$ mit dem zytomorphologischen Nachweis von Lymphomzellen korrelierte ($p < 0.001$). Die Sensitivität der Liquorpleozytose bei der Detektion der Meningeosis lymphomatosa lag dabei bei 86%, die Spezifität bei 74%. Neben einer höheren Wahrscheinlichkeit der Detektion von Lymphomzellen bei höheren Liquorzellzahlen ist eine Vermehrung reaktiver T-Lymphozyten bei meningealer Lymphomaussaat eine mögliche Interpretation unserer Befunde.

In früheren Publikationen wurde eine Erhöhung des Liquorproteins als Indikator für eine Meningeosis gewertet. In unserer Analyse konnten wir diese Annahme widerlegen; ein erhöhtes Protein korrelierte nicht mit dem Nachweis von Lymphomzellen im Liquor.

Für die klinische Routine ergibt sich bei Vorliegen einer Liquorpleozytose die Empfehlung einer erhöhten Aufmerksamkeit gegenüber weiteren Zeichen für eine meningeale Aussaat.

Publikation V

Fischer L, Jahnke K, Martus P, Weller M, Thiel E, Korfel A

The diagnostic value of cerebrospinal fluid pleocytosis and protein in the detection of lymphomatous meningitis in primary central nervous system lymphomas

Haematologica 2006; 91:429-30

3.2 Bedeutung von PCR und MRT in der Diagnostik des meningealen Befalls beim PCNSL

Die konventionelle Zytomorphologie gilt weiterhin als Gold-Standard in der Diagnostik der Meningeosis (80). Allerdings wurden in den entsprechenden Publikationen solide Tumoren und NHL nicht getrennt betrachtet. Meningeosis carcinomatosa und Meningeose bei hämatologischen Erkrankungen weisen jedoch gravierende Unterschiede hinsichtlich Sensitivität und Spezifität der diagnostischen Methoden und nicht zuletzt auch hinsichtlich Biologie bzw. des klinischen Verlaufes auf. Im Gegensatz zu soliden Tumoren sind Lymphomzellen nicht immer sicher von reaktiv veränderten Lymphozyten zu unterscheiden. Bildgebend ist die MRT bei der Detektion der Meningeosis carcinomatosa wesentlich sensitiver als bei hämatologischen Erkrankungen. In einer Serie von 166 Patienten betrug die Sensitivität der MRT bei Meningeosis solider Tumoren (n=26) 100% und bei B-NHL (n=95) nur 48% (81). Durch die Anwendung sensitiverer Detektionsmethoden ließe sich die Liquordiagnostik möglicherweise verbessern. Der molekulargenetische Nachweis klonaler B-Zellen im Liquor mittels IgH-PCR konnte in retrospektiven Untersuchungen die Detektionsrate erhöhen (82;83).

Wir führten eine prospektive Liquordiagnostik an 282 Patienten mit erstdiagnostizierten PCNSL durch. Im Rahmen dieser multizentrischen Studie erfolgten Liquorzytologie sowie Messung von Eiweiß und Zellzahl im behandelnden Zentrum, die PCR erfolgte zentral. Klonale B-Zellen wurden mittels PCR bei 11% der Patienten nachgewiesen, zytomorphologisch fanden sich Lymphomzellen bei 16%. Es zeigte sich eine hohe Rate diskordanter Befunde. Die PCR war in 23 zytologisch negativen Fällen klonal, andererseits fand sich bei 11 Fällen mit zytologisch nachgewiesener Meningeose nur ein polyklonales PCR-Muster. Die MRT trug nicht wesentlich zur Diagnostik der Meningeosis bei PCNSL bei, nur 4% der Patienten hatten radiologische Zeichen einer Meningeose. Der prädiktive Wert der Liquorpleozytose für die Detektion einer Meningeosis beim PCNSL sowie der fehlende diagnostische Wert des Liquoreiweißes wurden bestätigt.

Ursachen für die diskordanten Ergebnisse dürften hauptsächlich in den Limitationen der jeweiligen Untersuchungsmethoden liegen. Falsch negative PCR-Ergebnisse können wie auch falsch negative Zytologieergebnisse durch eine sehr geringe Menge vorhandener Lymphomzellen hervorgerufen werden. Dieses wird durch eine Vorbehandlung mit Corticosteroiden noch verstärkt, wie sich in unserer Studie zeigte. Die außergewöhnlich hohe

Anzahl somatischer Mutationen kann zudem ein Annealing der PCR-Primer verhindern (84;85).

Falsch positive PCR-Ergebnisse (Pseudoklonalität) lassen sich durch Wiederholung der PCR-Läufe vermeiden. Falsch positive Zytologieergebnisse sind aufgrund der Subjektivität und unterschiedlicher Erfahrung der Befundenden nicht auszuschließen.

Aus unseren Ergebnissen schließen wir auf eine niedrige Inzidenz der Meningeose bei neudiagnostizierten PCNSL und empfehlen Liquorzytologie und IgH-PCR als komplementäre Methoden einzusetzen.

Publikation VI

Fischer L, Martus P, Weller M, Klasen HA, Rohden B, Röth A, Storek B, Hummel M, Nägele T, Thiel E, Korfel A

Meningeal dissemination in primary CNS lymphoma: Prospective evaluation of 282 patients

Neurology 2008;71:1102-8

3.3 Therapie und prognostische Bedeutung der Meningeosis beim PCNSL

Wie in der vorangehenden Untersuchung gezeigt, liegt die Rate meningealer Befälle bei neu diagnostizierten PCNSL bei etwa 16-17%.

Die immunzytologische Untersuchung des Liquors, entweder am Ausstrich bzw. Cytospinpräparat oder mittels Flowzytometrie, hat das Potential Sensitivität und Spezifität der Diagnostik zu erhöhen (25;86;87). Allerdings gelten auch hier die grundsätzlichen Limitationen der Liquordiagnostik wie v.a. die geringe Zellausbeute, verstärkt durch Corticosteroid-Vorbehandlung, sowie der rapide Zellzerfall nach Liquorentnahme (88). Letzteres hat für DNA-basierte Analysemethoden (PCR) eine deutlich geringere Bedeutung als für die Immunzytologie, die intakte Zellen voraussetzt. Durch Modifikationen der Liquordiagnostik (sofortige Kühlung nach Entnahme, Diagnostik nach < 2h, Unterlassung von Zellisolationen, Reduzierung von Waschschritten, Anwendung von 3- bzw. 4-Farben-Flowzytometrie) wurde die Zellausbeute optimiert. Alternativ erfolgte die Verwendung poly-L-Lysin-beschichteter Objektträger, die durch eine elektrostatische Haftung der Zellen einen Zellverlust verhindern und eine gleichzeitige immunzytologische als auch morphologische Zellbeurteilung ermöglichen (87).

In unserer monozentrischen Studie evaluierten wir die Liquordiagnostik (Zytomorphologie, Immunzytologie, PCR und Radiologie) sowie die prognostische Bedeutung der Meningeose bei 69 Patienten. Die Inzidenz gemessen an Zytomorphologie und PCR lag bei 16%. Die Detektionsrate mittels Immunzytologie lag nur bei 3%. Dies ist überraschend und widerspricht den positiven Ergebnisse anderer Studien. Allerdings gibt es bisher keine publizierten immunzytologischen Liquor-Untersuchungen von PCNSL-Patienten.

Alle Patienten in dieser Studie waren für eine HD-MTX-basierte Chemotherapie vorgesehen, die bei 88% der Patienten durchgeführt wurde. Eine intrathekale Therapie (15mg MTX) erfolgte bei insgesamt 14% der Patienten mit verfügbarer Liquordiagnostik im Rahmen des BMPD-Protokolls einmalig zu Beginn der Therapie und aufgrund eines Meningeosenachweises bei 3% (2 Patienten) 4-wöchentlich während der gesamten Therapie.

Einen Einfluß der Meningeose (definiert durch Nachweis mit mindestens einer Methode) auf EFS oder OAS zeigte sich nicht. Bei alleiniger Betrachtung des zytomorphologischen Nachweises von Lymphomzellen im Liquor zeigte sich ein kürzeres EFS und OAS ($p < 0.05$) im Vergleich zu Patienten ohne Meningeosenachweis. Allerdings hatte die Studie aufgrund der Patientenzahlen keine ausreichende Power. Somit ließ sich ein signifikanter Einfluß einer

meningealen Aussaat auf das Überleben bei PCNSL-Patienten nach HD-MTX-Therapie nicht belegen. Die nur bei 2 Patienten häufiger als einmal erfolgte intrathekale Therapie erlaubt keine Rückschlüsse auf deren Wirksamkeit. Das PFS dieser Patienten mit initial vorliegender Meningeose lag bei 4.5 bzw. 27.8 Monaten, das OAS bei 4.5 und 45.5 Monaten. Der erste Patient starb in CR an Neurotoxizität, der zweite erlitt zwei systemische Rezidive ohne erneuten ZNS-Befall.

Publikation VII

Kiewe P, Fischer L, Martus P, Thiel E, Korfel A

Meningeal dissemination in primary CNS lymphoma: diagnosis, treatment, and survival in a large monocenter cohort

Neuro-Oncology Advance Access published January 25, 2010

4 Chemokine als Faktoren in der Pathogenese von ZNS-Lymphomen

Das normale ZNS ist insofern ein immunprivilegiertes Organ, da es sich durch ein Fehlen lymphatischer Strukturen wie z.B. Lymphfollikel oder Lymphgefäße sowie die stark beschränkte und eng regulierte Immunzell-Invasion durch die Blut-Hirn-Schranke auszeichnet. Die Translokation von B-Zellen (Homing) wird durch Chemokine beeinflusst, wobei weiterhin unklar ist, ob beim PCNSL B-Lymphozyten vor oder nach dem Eintritt in das ZNS maligne transformieren. CXCL12 und CXCL13 sind wichtige lymphotaktische Chemokine, die u.a. die Formation von Keimzentren in lymphatischen Geweben steuern. Dabei gelten follikuläre dendritische Zellen in den Keimzentren als Hauptquelle von CXCL13 (89;90). In den letzten Jahren konnten mehrere Autoren sowohl die Expression der korrespondierenden Chemokin-Rezeptoren CXCR4 und CXCR5, als auch der beiden Chemokine CXCL12 und CXCL13 selbst auf den Lymphomzellen beim PCNSL belegen (91-93). Eine wichtige Rolle der Chemokine bei der Pathogenese des PCNSL erscheint somit naheliegend.

Wir untersuchten die Konzentration der Chemokine CXCL12 und CXCL13 im Liquor sowie im Serum von Patienten mit ZNS-Lymphomen (23 PCNSL, 7 sekundäre ZNS-Lymphome) im Vergleich zu Patienten mit ZNS-Beteiligung durch solide Tumoren sowie Kontrollpersonen ohne maligne Erkrankung. Wir fanden nur bei ZNS-Lymphom-Patienten hohe CXCL13-Spiegel im Liquor; der Unterschied zu den Kontrollen war hochsignifikant. Die CXCL13-Spiegel im Serum waren sowohl bei ZNS-Lymphom-Patienten als auch den Kontrollen niedrig. Die CXCL13-Spiegel im Liquor korrelierten mit dem Grad der Blut-Hirnschrankenstörung, ausgedrückt durch den Liquor/Serum-Quotienten für Albumin (Q_{alb}), jedoch nicht mit den Serumspiegeln. Für CXCL12 fanden sich sowohl bei den ZNS-Lymphom-Patienten als auch den Kontrollen hohe Spiegel in Liquor und Serum, wobei die Spiegel im Serum höher waren als im Liquor, jedoch nicht miteinander korrelierten. Auch fand sich im Gegensatz zu CXCL13 keine Korrelation zum Grad der Blut-Hirnschrankenstörung. Die Liquorspiegel beider Chemokine waren abhängig vom Verlauf der Lymphomerkrankung im ZNS; sie stiegen bei Progreß der Erkrankung und fielen auf Werte vergleichbar zu den Kontrollen bei Erreichen einer Remission nach Chemotherapie.

Aus diesen Resultaten schlossen wir auf eine autochthone Produktion beider Chemokine im ZNS und eine direkte Korrelation mit der Tumorlast. V.a. für CXCL13 dürften die im Liquor gemessenen Spiegel auf eine Produktion der Lymphomzellen selbst zurückzuführen sein. Für

CXCL12 kommen mehrere Quellen in Frage: Lymphomzellen, Endothelzellen der Tumorgefäße und reaktive Glia (93;94).

Somit sollte speziell die Bedeutung von CXCL13 beim PCNSL als diagnostischer und prognostischer Marker weiter untersucht werden.

Für die Rolle der Chemokine bei der Pathogenese des PCNSL ergeben sich verschiedene Implikationen. Die Expression von CXCL13 im ZNS wurde bei einzelnen inflammatorischen ZNS-Erkrankungen (Multiple Sklerose, Borreliose) beschrieben, wobei die Bildung in ektopischen Keimzentren in den Meningen erfolgte (95;96). Eine inflammatorische ZNS-Läsion als Ausgangspunkt für das Homing von B-Lymphozyten in das ZNS wäre als Initialschritt bei der PCNSL-Pathogenese denkbar. CXCL12 wird durch Gefäßendothelien exprimiert und kann so die Translokation von B-Lymphozyten in das ZNS erleichtern.

Sowohl CXCL12 als auch CXCL13 könnten durch autokrine Mechanismen Wachstum und Ausbreitung des Lymphoms im ZNS unterstützen. Beide Chemokine haben antiapoptotische Eigenschaften, die auch beim PCNSL wirksam sein könnten.

Publikation VIII

Fischer L, Korfel A, Pfeiffer S, Kiewe P, Volk HD, Cakiroglu H, Widmann T, Thiel E.

CXCL13 and CXCL12 in central nervous system lymphoma patients.

Clin Cancer Res, 2009;15:5968-73

5 Diskussion

Primäre ZNS-Lymphome stellen nach wie vor eine große Herausforderung in der Neuroonkologie dar. Neben den ungelösten Fragen zur Pathogenese sind weiterhin keine Standards für Primär- und Rezidivtherapie definiert. Die Seltenheit der Erkrankung erschwert die Durchführung großer randomisierter Phase-III-Studien, so daß die gegenwärtigen Erkenntnisse hauptsächlich durch Phase-II-Studien und auch durch retrospektive Studien erlangt wurden.

Wir konnten in unserer Institution 72 Patienten identifizieren, die bis 2005 wegen eines neu diagnostizierten PCNSL behandelt wurden (Publikation I, Seite 11 ff.). Hochdosis-MTX gilt als grundlegender Pfeiler der Erstlinientherapie (33). Obwohl nur moderat toxisch, können nicht alle Patienten HD-MTX erhalten; in unserer Studie war dies bei 17% der Patienten aufgrund ihres Allgemeinzustandes oder ungenügender Nierenfunktion nicht möglich. Nach HD-MTX-Monotherapie ohne nachfolgende WBI betrug das Überleben 42.5 Monate, was deutlich über dem nach alleiniger WBI zu erwartenden Überleben liegt (30;31). Das Erreichen einer kompletten Remission wurde als positiver prognostischer Faktor identifiziert (33;42). Mit HD-MTX-Kombinationen zeigten sich in unserer Studie höhere Remissionsraten, ohne daß daraus jedoch ein verbessertes Überleben resultierte. Grundätzlich können jedoch mit intensiven Kombinationschemotherapien, wie z.B. dem "Bonner Protokoll", verbesserte Langzeitergebnisse (medianes Überleben 54 Monate) erzielt werden (43). Unabhängig von der gewählten Therapie sind jedoch klinische Faktoren, im speziellen das Alter und der Allgemeinzustand, die wichtigsten prognostischen Faktoren. Der an einem Patientenkollektiv des Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (MSKCC) retrospektiv etablierte Risiko-Score konnte an unserem Kollektiv validiert werden (53).

Trotz des initial guten Ansprechens traten bei 83% der Patienten in unserer Studie ein primärer Progress bzw. ein Rezidiv des Lymphoms auf. Typischerweise lagen die Rezidive fast ausschließlich erneut im ZNS (97). Bei 93% dieser Patienten konnte eine Rezidiv-Therapie durchgeführt werden, die bei 72% aus einer Chemotherapie bestand. Daraus resultierte ein medianes Überleben ab Rezidiv von 13.5 Monaten. Somit kommt einer effektiven Salvage-Therapie eine große Bedeutung zu, allerdings besteht kein Standard für die Wahl der Therapiemodalität (51). Deshalb führten wir eine Pilotstudie mit dem gut ZNS-gängigen Topotecan durch (Publikation II, Seite 22 ff.). In dieser Studie sahen wir ein Ansprechen von 37.5% der Patienten mit einer CR-Rate von 25%. Dabei fiel auf, daß auch zuletzt

chemotherapierefraktäre Patienten auf Topotecan ansprechen. Das mediane PFS war in dieser intensiv vorbehandelten Kohorte nur kurz, 3 Patienten waren jedoch nach 12 oder mehr Monaten noch progressionsfrei.

Aufgrund der Ergebnisse der Pilotstudie initiierten wir eine prospektive Phase-II-Studie mit Topotecan (Publikation III, Seite 27 ff.). Bei 27 Patienten mit im Median 2 Vortherapien, von denen 52% refraktär auf die letzte Therapie waren konnten wir eine Gesamtansprechrates von 33% beobachten, 13% erreichten eine CR. Auch hier waren zuletzt refraktäre Patienten sensitiv auf Topotecan. Zudem war die Therapie auch bei vorbestrahlten Patienten durchführbar und effektiv. Für Responder lag das mediane EFS bei 9 Monaten, das Gesamtüberleben lag bei 8 Monaten (mediane Nachbeobachtungszeit 38 Monate). Die Therapie mit Topotecan war insgesamt gut verträglich; die hämatologische Toxizität stand dabei im Vordergrund. Obwohl bei 92% der Langzeitüberlebenden Zeichen der späten Neurotoxizität beobachtet wurden, war diese unabhängig von Topotecan, da es nicht neurotoxisch wirkt. Damit bietet sich Topotecan gerade als Rezidivtherapie bei vorbestrahlten Patienten an, auch ältere Patienten sind gut damit therapierbar. Neben Temodal ist Topotecan zur Zeit das einzige prospektiv getestete Salvage-Schema. Die Effektivität sowie das günstige Toxizitätsprofil eröffnen weitere Einsatzgebiete von Topotecan beim PCNSL, wie z.B. als Kombinationspartner in der Erstlinientherapie oder als Erhaltungstherapie; auch ein Einsatz als Radiosensitizer wäre denkbar (98).

Auch bei sekundären ZNS-Lymphomen stellt die Therapie eine Herausforderung dar, ein Standard existiert wie bei den PCNSL nicht. Da ZNS-Rezidive aggressiver Lymphome häufig mit einem systemischen Lymphomrezidiv einhergehen, sind systemische Therapieansätze zu bevorzugen. Diesbezüglich behandelten wir in unsere Klinik 20 Patienten mit einer Kombination aus HD-MTX und Ifosfamid und werteten die Ergebnisse retrospektiv aus (Publikation IV, Seite 35 ff.). Die Therapie mit HD-MTX/IFO zeigte eine erfreulich hohe Ansprechrate von 90% (60% CR) sowie eine Zeit bis zur neurologischen Progression von knapp 9 Monaten. Um bei Rezidiven aggressiver Lymphome einen kurativen Anspruch zu gewährleisten, ist die Durchführung einer Hochdosis-Chemotherapie mit nachfolgender Stammzelltransplantation notwendig. Dies gilt sowohl für systemische, als auch ZNS-Rezidive (28;72;73). In unserer Studie konnte mittels HD-ASCT bei 4 von 5 Patienten eine längerfristige Konsolidierung (mindestens 12 Monate) erreicht werden. Die Therapie mit HD-MTX/IFO stellt somit ein geeignetes Schema zur Induktion vor einer geplanten Hochdosis-

Therapie dar, die Mobilisation peripherer Stammzellen ist damit problemlos möglich. Um dieses Vorgehen prospektiv zu testen, initiierten wir dementsprechend eine Phase-II-Studie; wobei das Hochdosis-Schema an das Protokoll der Freiburger Arbeitsgruppe angelehnt ist (47).

Ein Teil (35%) der in unsere Studie eingeschlossenen Patienten hatte ein rezidiertes PCNSL. Das erneute Ansprechen dieser Patienten auf unser Protokoll qualifiziert dieses auch als weitere Option im Rahmen der Rezidiv-Therapie MTX-vorbehandelter PCNSL-Patienten.

Sowohl sekundäre als auch primäre ZNS-Lymphome manifestieren sich neben intrazerebralen Manifestationen auch als meningealer Befall. Eine effektive Therapie muß somit auch eine ausreichende Wirksamkeit im Liquorraum aufweisen. Pharmakokinetische Studien ZNS-gängiger Zytostatika beruhen meist auf Bestimmung der Wirkkonzentrationen im Liquor als indirektem Marker einer Penetration in das Hirngewebe (34;62). Für HD-MTX sind somit theoretisch ausreichende Liquorkonzentrationen zu erwarten. Ob die zusätzliche intrathekale Zytostatika-Gabe für eine effektive Therapie der ZNS-Lymphome insgesamt sowie bei einer meningealen Mitbeteiligung im speziellen notwendig ist, ist randomisiert bisher nicht geprüft worden. Des Weiteren werden Aussagen zur prognostischen Bedeutung einer parallel bestehenden Meningeosis lymphomatosa bereits durch Unsicherheiten in der Diagnostik erschwert. Die Angaben zur Inzidenz der Meningeose beim PCNSL schwanken zwischen 12 und 78% (33;76;78;79;82). Dies ist neben z.T. niedrigen Patientenzahlen v.a. auf methodische Unterschiede in der Liquordiagnostik zurückzuführen, wobei die Zytomorphologie weiterhin den Standard darstellt. Eine hohe Rate falsch-negativer, aber z.T. auch falsch-positiver Ergebnisse erschwert jedoch die Interpretation. Im Rahmen der multizentrischen G-PCNSL-SG1-Studie war es uns möglich, prospektiv an einer großen Patientenzahl die verfügbaren Methoden der Liquordiagnostik zu evaluieren. Zunächst überprüften wir den Wert der häufig als Surrogatmarker angeführten Parameter Zellzahl und Liquoreiweiß (Publikation V, Seite 44 ff.). In dieser Kohorte von 116 Patienten betrug die zytomorphologisch bestimmte Inzidenz der Meningeose 18%. Die Liquorpleozytose ($>5/\mu\text{l}$) zeigte dabei einen hohen diagnostischen Wert, während die Eiweißkonzentration nicht mit dem Vorliegen einer Meningeose korrelierte. Angesichts der Limitationen der Zytomorphologie untersuchten wir in der nächsten Studie den Wert des molekularbiologischen Nachweises klonaler B-Zellen mittels PCR sowie der radiologischen Detektion einer Meningeose durch MRT prospektiv an 282 Patienten (Publikation VI, Seite

49 ff.). Die MRT erwies sich dabei als wenig sensitive Methode, die gegenüber einer 16%igen Nachweisrate durch Zytomorphologie nur bei 4% der Patienten eine Meningeose detektierte. Die Inzidenz in der PCR war mit 11% mit der Detektionsrate der Zytologie vergleichbar, allerdings waren die PCR-Ergebnisse gekennzeichnet durch eine hohe Diskordanz zu den zytologischen Befunden. Dies verdeutlicht, daß die vermeintlich sensitivere PCR in der Liquordiagnostik des PCNSL ebenso Limitationen unterliegt: geringe Material- und Zellmenge, Corticosteroidvorbehandlung, gestörte Primerbindung aufgrund der hohen Rate somatischer Mutationen beim PCNSL. Die komplementäre Anwendung von Zytologie und PCR ist demnach zu empfehlen.

Die Immunzytologie als weiteren Ansatz zur Steigerung der Sensitivität in der Liquordiagnostik untersuchten wir in einer monozentrischen Studie (Publikation VIII, Seite 71 ff.). Trotz Optimierung der Methodik erwies sich auch die Flowzytometrie in der Liquordiagnostik des PCNSL als nur wenig sensitive Methode. Da vergleichbare Studien zum PCNSL bisher nicht publiziert sind, sollte die Immunzytologie in dieser Indikation weiter untersucht werden.

Insgesamt fanden wir in unseren Studien eine geringe Inzidenz der Meningeosis beim PCNSL von unter 20%. Die prognostische Bedeutung der Meningeose untersuchten wir retrospektiv an 69 Patienten (Publikation VII, Seite 59 ff.). Hier konnten wir keine Unterschiede weder im EFS noch hinsichtlich des Gesamtüberlebens für die Patienten mit Meningeose (16%) finden. Der detektierte negative prognostische Einfluß der Meningeose bei alleiniger Betrachtung der Zytomorphologie wird relativiert durch die geringe Fallzahl in der Studie.

Somit gibt es auch unter Berücksichtigung der Literatur bisher keine sicheren Belege für eine prognostische Bedeutung der Meningeose beim PCNSL. Auch der mögliche Nutzen einer zusätzlich zur HD-MTX-basierten Chemotherapie durchgeführten intrathekalen Therapie beim PCNSL kann bisher nicht eindeutig bejaht werden. In einer kleinen Case-Control-Studie mit 42 Patienten fand sich ebenso wie in einer retrospektiven Analyse an 160 Patienten kein Vorteil für das Überleben (33;99). Im Gegensatz dazu führte eine Modifikation des Bonner-Protokolls ohne intraventrikuläre Therapie mit MTX und Cytarabin zu deutlich schlechteren Therapieergebnissen (78;100). In einer prospektiven Studie unserer Gruppe, in der 56 Patienten mit dem BMPD-Protokoll behandelt wurden und nur die Patienten mit meningealem Befall (14%) zusätzlich intrathekales MTX erhielten, entsprach das Überleben

dieser Patienten dem der Patienten ohne Meningeose. Allerdings war in diesem Protokoll die systemische MTX-Dosis mit $1.5\text{g}/\text{m}^2$ (über 24 Stunden iv.) vergleichsweise niedrig (42).

Auch beim sekundären ZNS-Lymphom läßt sich die Frage nach dem Wert einer zusätzlichen intrathekalen Therapie anhand der vorliegenden Daten nicht beantworten. Aufgrund dieser Unsicherheit, der häufigeren meningealen Manifestationen und der deutlich schlechteren Prognose bei ZNS-Rezidiven aggressiver NHL ist jedoch eine zusätzliche intrathekale Therapie im Sinne einer Maximaltherapie zu rechtfertigen.

Im Gegensatz zum bisher unsicheren Einfluss der Meningeose auf das Überleben beim PCNSL sind möglicherweise andere Liquorparameter von größerer prognostischer Wertigkeit. Ein erhöhtes Liquoreiweiß war in mehreren retrospektiven Studien mit einem schlechteren Überleben assoziiert (54;77). Möglicherweise ist das Liquoreiweiß ein indirekter Marker der Tumorgröße. Wir fanden Hinweise auf eine Korrelation der im Liquor gemessenen Konzentration des Chemokins CXCL13 mit der Tumorlast beim PCNSL (Publikation VIII, Seite 71 ff.). Bei dieser Studie mit 30 ZNS-Lymphom-Patienten konnten wir im Vergleich zu Gesunden oder Patienten mit ZNS-Befall durch nichtlymphomatöse Tumoren eine signifikante Erhöhung des Chemokins CXCL13 im Liquor nachweisen. Die CXCL13-Konzentration im Liquor korrelierte dabei mit dem Grad der Blut-Hirn-Schrankenstörung. Da im Serum nur sehr geringe CXCL13-Werte vorlagen, gehen wir von einer Produktion dieses Chemokins im ZNS, und hier primär durch das Lymphom aus. Die Expression von CXCL13 durch Lymphomzellen des PCNSL ist beschrieben, ebenso wie die des korrespondierenden Chemokinrezeptors CXCR5 (92;93). Neben einer autokrinen Wirkung sind ein ZNS-Homing von B-Zellen durch CXCL13, aber auch durch das in hohen Konzentrationen im ZNS vorliegenden CXCL12, sowie antiapoptotische Eigenschaften beider Chemokine möglicherweise an der PCNSL-Pathogenese beteiligt. Da CXCL13 im Liquor offensichtlich mit der Tumorlast und dessen Zu- oder Abnahme unter Chemotherapie korrelierte, stellt dieser Wert möglicherweise auch einen prognostischen und prädiktiven Marker dar, so daß weitere Untersuchungen erfolgen sollten.

6 Zusammenfassung

Sowohl primäre als auch sekundäre ZNS-Lymphome sind seltene Erkrankungen, die mit einer ungünstigeren Prognose verglichen zu rein systemischen Lymphomen einhergehen. Standards in der Therapie sind weiterhin ungenügend definiert und grundlegende Fragen zur Pathogenese nicht beantwortet. Die Rolle von Chemokinen und Chemokinrezeptoren rückt dabei zunehmend in den Focus der Forschung. Durch die Anwendung multimodaler Therapieansätze ist es gelungen, die Prognose beim PCNSL im letzten Jahrzehnt deutlich zu verbessern. Die hochdosierte MTX-Therapie stellt den Grundpfeiler der Therapie dar. Kombinationsschemata mit anderen lymphomwirksamen und ZNS-gängigen Zytostatika wie z.B. Ifosfamid erhöhen die Raten kompletter Remissionen und sind auch bei sekundären ZNS-Lymphomen effektiv. Die Frage nach dem Nutzen einer zusätzlichen Ganzhirnbestrahlung nach MTX-basierter Chemotherapie beim PCNSL wird die Auswertung der kürzlich beendeten G-PCNSL-SG1-Studie beantworten. Unabhängig von der gewählten Therapie bleiben jedoch klinische Parameter wie Alter und Allgemeinzustand der Patienten die wichtigsten prognostischen Faktoren. Bei der Mehrzahl der Patienten ist auch weiterhin nicht mit einer Heilung zu rechnen. Durch eine effektive Rezidivtherapie ist eine Überlebensverlängerung möglich. Die Anwendung von Topotecan hat sich in dieser Situation als wirksam und gut verträglich erwiesen und kann auch bei vorbestrahlten Patienten angewendet werden. V.a. bei multipel behandelten Patienten sowie in Abhängigkeit von Alter und Bestrahlung stellen neurotoxische Spätfolgen weiterhin ein bedeutendes Problem dar. Ein meningealer Lymphombefall kann bei einem Teil der ZNS-Lymphom-Patienten komplizierend vorliegen. Die Inzidenz beim PCNSL kann nach mehreren großen Studien mit ca. 16-18% angegeben werden. Zusätzlich zur Liquorzytomorphologie können molekularbiologische Methoden (PCR) oder Immunzytologie die diagnostische Sicherheit erhöhen, wohingegen die Radiologie hier nur eine geringe Sensitivität besitzt. Ein prognostischer Einfluß der Meningeose beim PCNSL ist weiterhin unklar, in den vorliegenden retrospektiven Analysen konnte dieser nicht belegt werden. Auch besteht Unklarheit über die Notwendigkeit einer zusätzlichen intrathekalen Chemotherapie. Da ein ungünstigerer Verlauf sowohl beim PCNSL als auch beim sekundären Lymphom möglich ist, wird die intrathekale Therapie fester Bestandteil der folgenden Therapie-Studien sein. Trotz der Seltenheit der Erkrankung müssen durch prospektive Studien prognostische und prädiktive Faktoren identifiziert sowie neue und individualisierte Therapieansätze geprüft werden.

7 Literatur

- (1) Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon, France: IARC Press, 2008.
- (2) Hochberg FH, Miller DC. Primary central nervous system lymphoma. *J Neurosurg* 1988; 68(6):835-853.
- (3) Batchelor T, Loeffler JS. Primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24(8):1281-1288.
- (4) Diamond C, Taylor TH, Aboumrad T, Anton-Culver H. Changes in acquired immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin lymphoma in the era of highly active antiretroviral therapy: incidence, presentation, treatment, and survival. *Cancer* 2006; 106(1):128-135.
- (5) Auperin I, Mikolt J, Oksenhendler E, Thiebaut JB, Brunet M, Dupont B et al. Primary central nervous system malignant non-Hodgkin's lymphomas from HIV-infected and non-infected patients: expression of cellular surface proteins and Epstein-Barr viral markers. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1994; 20(3):243-252.
- (6) Hollender A, Kvaloy S, Nome O, Skovlund E, Lote K, Holte H. Central nervous system involvement following diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma: a risk model. *Ann Oncol* 2002; 13(7):1099-1107.
- (7) van Besien K, Ha CS, Murphy S, McLaughlin P, Rodriguez A, Amin K et al. Risk factors, treatment, and outcome of central nervous system recurrence in adults with intermediate-grade and immunoblastic lymphoma. *Blood* 1998; 91(4):1178-1184.
- (8) Bishop PC, Wilson WH, Pearson D, Janik J, Jaffe ES, Elwood PC. CNS involvement in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 1999; 17(8):2479-2485.
- (9) Zucca E, Conconi A, Mughal TI, Sarris AH, Seymour JF, Vitolo U et al. Patterns of outcome and prognostic factors in primary large-cell lymphoma of the testis in a survey by the International Extranodal Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 2003; 21(1):20-27.
- (10) Oinonen R, Franssila K, Elonen E. Central nervous system involvement in patients with mantle cell lymphoma. *Ann Hematol* 1999; 78(3):145-149.
- (11) Boehme V, Zeynalova S, Kloess M, Loeffler M, Kaiser U, Pfreundschuh M et al. Incidence and risk factors of central nervous system recurrence in aggressive lymphoma--a survey of 1693 patients treated in protocols of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Ann Oncol* 2007; 18(1):149-157.
- (12) Boehme V, Schmitz N, Zeynalova S, Loeffler M, Pfreundschuh M. CNS events in elderly patients with aggressive lymphoma treated with modern chemotherapy (CHOP-14) with or without rituximab: an analysis of patients treated in the RICOVER-60 trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Blood* 2009; 113(17):3896-3902.
- (13) Haioun C, Besson C, Lepage E, Thieblemont C, Simon D, Rose C et al. Incidence and risk factors of central nervous system relapse in histologically aggressive non-Hodgkin's lymphoma uniformly treated and receiving intrathecal central nervous system prophylaxis:

- a GELA study on 974 patients. Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Ann Oncol* 2000; 11(6):685-690.
- (14) Tilly H, Lepage E, Coiffier B, Blanc M, Herbrecht R, Bosly A et al. Intensive conventional chemotherapy (ACVBP regimen) compared with standard CHOP for poor-prognosis aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003; 102(13):4284-4289.
 - (15) Braaten KM, Betensky RA, de Leval L, Okada Y, Hochberg FH, Louis DN et al. BCL-6 expression predicts improved survival in patients with primary central nervous system lymphoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9(3):1063-1069.
 - (16) Camilleri-Broet S, Criniere E, Broet P, Delwail V, Mokhtari K, Moreau A et al. A uniform activated B-cell-like immunophenotype might explain the poor prognosis of primary central nervous system lymphomas: analysis of 83 cases. *Blood* 2006; 107(1):190-196.
 - (17) Lin CH, Kuo KT, Chuang SS, Kuo SH, Chang JH, Chang KC et al. Comparison of the expression and prognostic significance of differentiation markers between diffuse large B-cell lymphoma of central nervous system origin and peripheral nodal origin. *Clin Cancer Res* 2006; 12(4):1152-1156.
 - (18) Montesinos-Rongen M, Brunn A, Bentink S, Basso K, Lim WK, Klapper W et al. Gene expression profiling suggests primary central nervous system lymphomas to be derived from a late germinal center B cell. *Leukemia* 2008; 22(2):400-405.
 - (19) Rubenstein JL, Fridlyand J, Shen A, Aldape K, Ginzinger D, Batchelor T et al. Gene expression and angiotropism in primary CNS lymphoma. *Blood* 2006; 107(9):3716-3723.
 - (20) Tun HW, Personett D, Baskerville KA, Menke DM, Jaeckle KA, Kreinest P et al. Pathway analysis of primary central nervous system lymphoma. *Blood* 2008; 111(6):3200-3210.
 - (21) Cady FM, O'Neill BP, Law ME, Decker PA, Kurtz DM, Giannini C et al. Del(6)(q22) and BCL6 rearrangements in primary CNS lymphoma are indicators of an aggressive clinical course. *J Clin Oncol* 2008; 26(29):4814-4819.
 - (22) Fischer L, Hummel M, Korfel A, Lenze D, Johrens K, Thiel E. MicroRNAs Are Differentially Expressed in Primary Central Nervous (CNS) and Nodal Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2009; 114(22):2929.
 - (23) Jahnke K, Hummel M, Korfel A, Burmeister T, Kiewe P, Klasen HA et al. Detection of subclinical systemic disease in primary CNS lymphoma by polymerase chain reaction of the rearranged immunoglobulin heavy-chain genes. *J Clin Oncol* 2006; 24(29):4754-4757.
 - (24) Aho R, Ekfors T, Haltia M, Kalimo H. Pathogenesis of primary central nervous system lymphoma: invasion of malignant lymphoid cells into and within the brain parenchyme. *Acta Neuropathol* 1993; 86(1):71-76.
 - (25) Hegde U, Filie A, Little RF, Janik JE, Grant N, Steinberg SM et al. High incidence of occult leptomeningeal disease detected by flow cytometry in newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas at risk for central nervous system involvement: the role of flow cytometry versus cytology. *Blood* 2005; 105(2):496-502.
 - (26) Kuker W, Nagele T, Korfel A, Heckl S, Thiel E, Bamberg M et al. Primary central nervous system lymphomas (PCNSL): MRI features at presentation in 100 patients. *J Neurooncol* 2005; 72(2):169-177.

- (27) Abrey LE, Batchelor TT, Ferreri AJ, Gospodarowicz M, Pulczynski EJ, Zucca E et al. Report of an international workshop to standardize baseline evaluation and response criteria for primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2005; 23(22):5034-5043.
- (28) Kasamon YL, Jones RJ, Piantadosi S, Ambinder RF, Abrams RA, Borowitz MJ et al. High-dose therapy and blood or marrow transplantation for non-Hodgkin lymphoma with central nervous system involvement. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11(2):93-100.
- (29) Bataille B, Delwail V, Menet E, Vandermarcq P, Ingrand P, Wager M et al. Primary intracerebral malignant lymphoma: report of 248 cases. *J Neurosurg* 2000; 92(2):261-266.
- (30) Nelson DF, Martz KL, Bonner H, Nelson JS, Newall J, Kerman HD et al. Non-Hodgkin's lymphoma of the brain: can high dose, large volume radiation therapy improve survival? Report on a prospective trial by the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG): RTOG 8315. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 23(1):9-17.
- (31) Shibamoto Y, Ogino H, Hasegawa M, Suzuki K, Nishio M, Fujii T et al. Results of radiation monotherapy for primary central nervous system lymphoma in the 1990s. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62(3):809-813.
- (32) Schultz C, Scott C, Sherman W, Donahue B, Fields J, Murray K et al. Preirradiation chemotherapy with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and dexamethasone for primary CNS lymphomas: initial report of radiation therapy oncology group protocol 88-06. *J Clin Oncol* 1996; 14(2):556-564.
- (33) Ferreri AJ, Reni M, Pasini F, Calderoni A, Tirelli U, Pivnik A et al. A multicenter study of treatment of primary CNS lymphoma. *Neurology* 2002; 58(10):1513-1520.
- (34) Hiraga S, Arita N, Ohnishi T, Kohmura E, Yamamoto K, Oku Y et al. Rapid infusion of high-dose methotrexate resulting in enhanced penetration into cerebrospinal fluid and intensified tumor response in primary central nervous system lymphomas. *J Neurosurg* 1999; 91(2):221-230.
- (35) Abrey LE, Yahalom J, DeAngelis LM. Treatment for primary CNS lymphoma: the next step. *J Clin Oncol* 2000; 18(17):3144-3150.
- (36) DeAngelis LM, Seiferheld W, Schold SC, Fisher B, Schultz CJ. Combination chemotherapy and radiotherapy for primary central nervous system lymphoma: Radiation Therapy Oncology Group Study 93-10. *J Clin Oncol* 2002; 20(24):4643-4648.
- (37) O'Brien PC, Roos DE, Pratt G, Liew KH, Barton MB, Poulsen MG et al. Combined-modality therapy for primary central nervous system lymphoma: long-term data from a Phase II multicenter study (Trans-Tasman Radiation Oncology Group). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 64(2):408-413.
- (38) Poortmans PM, Kluin-Nelemans HC, Haaxma-Reiche H, Van't Veer M, Hansen M, Soubeyran P et al. High-dose methotrexate-based chemotherapy followed by consolidating radiotherapy in non-AIDS-related primary central nervous system lymphoma: European Organization for Research and Treatment of Cancer Lymphoma Group Phase II Trial 20962. *J Clin Oncol* 2003; 21(24):4483-4488.
- (39) Gavrilovic IT, Hormigo A, Yahalom J, DeAngelis LM, Abrey LE. Long-term follow-up of high-dose methotrexate-based therapy with and without whole brain irradiation for newly diagnosed primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24(28):4570-4574.

- (40) Herrlinger U, Schabet M, Brugger W, Kortmann RD, Kuker W, Deckert M et al. German Cancer Society Neuro-Oncology Working Group NOA-03 multicenter trial of single-agent high-dose methotrexate for primary central nervous system lymphoma. *Ann Neurol* 2002; 51(2):247-252.
- (41) Ferreri AJ, Reni M, Foppoli M, Martelli M, Pangalis GA, Frezzato M et al. High-dose cytarabine plus high-dose methotrexate versus high-dose methotrexate alone in patients with primary CNS lymphoma: a randomised phase 2 trial. *Lancet* 2009; 374(9700):1512-1520.
- (42) Korfel A, Martus P, Nowrousian MR, Hossfeld DK, Kirchen H, Brucher J et al. Response to chemotherapy and treating institution predict survival in primary central nervous system lymphoma. *Br J Haematol* 2005; 128(2):177-183.
- (43) Juergens A, Pels H, Rogowski S, Fliessbach K, Glasmacher A, Engert A et al. Long-term survival with favorable cognitive outcome after chemotherapy in primary central nervous system lymphoma. *Ann Neurol* 2009; 67(2):182-189.
- (44) Pels H, Schulz H, Schlegel U, Engert A. Treatment of CNS lymphoma with the anti-CD20 antibody rituximab: experience with two cases and review of the literature. *Onkologie* 2003; 26(4):351-354.
- (45) Abrey LE, Moskowitz CH, Mason WP, Crump M, Stewart D, Forsyth P et al. Intensive methotrexate and cytarabine followed by high-dose chemotherapy with autologous stem-cell rescue in patients with newly diagnosed primary CNS lymphoma: an intent-to-treat analysis. *J Clin Oncol* 2003; 21(22):4151-4156.
- (46) Colombat P, Lemevel A, Bertrand P, Delwail V, Rachieru P, Brion A et al. High-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation as first-line therapy for primary CNS lymphoma in patients younger than 60 years: a multicenter phase II study of the GOELAMS group. *Bone Marrow Transplant* 2006; 38(6):417-420.
- (47) Illerhaus G, Marks R, Ihorst G, Guttenberger R, Ostertag C, Derigs G et al. High-dose chemotherapy with autologous stem-cell transplantation and hyperfractionated radiotherapy as first-line treatment of primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24(24):3865-3870.
- (48) Montemurro M, Kiefer T, Schuler F, Al Ali HK, Wolf HH, Herbst R et al. Primary central nervous system lymphoma treated with high-dose methotrexate, high-dose busulfan/thiotepa, autologous stem-cell transplantation and response-adapted whole-brain radiotherapy: results of the multicenter Ostdeutsche Studiengruppe Hamato-Onkologie OSHO-53 phase II study. *Ann Oncol* 2007; 18(4):665-671.
- (49) Harjunpaa A, Wiklund T, Collan J, Janes R, Rosenberg J, Lee D et al. Complement activation in circulation and central nervous system after rituximab (anti-CD20) treatment of B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2001; 42(4):731-738.
- (50) Shah GD, Yahalom J, Correa DD, Lai RK, Raizer JJ, Schiff D et al. Combined immunochemotherapy with reduced whole-brain radiotherapy for newly diagnosed primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2007; 25(30):4730-4735.
- (51) Reni M, Ferreri AJ, Villa E. Second-line treatment for primary central nervous system lymphoma. *Br J Cancer* 1999; 79(3-4):530-534.

- (52) Ferreri AJ, Blay JY, Reni M, Pasini F, Spina M, Ambrosetti A et al. Prognostic scoring system for primary CNS lymphomas: the International Extranodal Lymphoma Study Group experience. *J Clin Oncol* 2003; 21(2):266-272.
- (53) Abrey LE, Ben Porat L, Panageas KS, Yahalom J, Berkey B, Curran W et al. Primary central nervous system lymphoma: the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center prognostic model. *J Clin Oncol* 2006; 24(36):5711-5715.
- (54) Ferreri AJ, Blay JY, Reni M, Pasini F, Spina M, Ambrosetti A et al. Prognostic scoring system for primary CNS lymphomas: the International Extranodal Lymphoma Study Group experience. *J Clin Oncol* 2003; 21(2):266-272.
- (55) Fischer L, Thiel E, Klasen HA, Birkmann J, Jahnke K, Martus P et al. Prospective trial on topotecan salvage therapy in primary CNS lymphoma. *Ann Oncol* 2006; 17(7):1141-1145.
- (56) Nguyen PL, Chakravarti A, Finkelstein DM, Hochberg FH, Batchelor TT, Loeffler JS. Results of whole-brain radiation as salvage of methotrexate failure for immunocompetent patients with primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2005; 23(7):1507-1513.
- (57) Plotkin SR, Betensky RA, Hochberg FH, Grossman SA, Lesser GJ, Nabors LB et al. Treatment of relapsed central nervous system lymphoma with high-dose methotrexate. *Clin Cancer Res* 2004; 10(17):5643-5646.
- (58) Arellano-Rodrigo E, Lopez-Guillermo A, Bessell EM, Nomdedeu B, Montserrat E, Graus F. Salvage treatment with etoposide (VP-16), ifosfamide and cytarabine (Ara-C) for patients with recurrent primary central nervous system lymphoma. *Eur J Haematol* 2003; 70(4):219-224.
- (59) Herrlinger U, Brugger W, Bamberg M, Kuker W, Dichgans J, Weller M. PCV salvage chemotherapy for recurrent primary CNS lymphoma. *Neurology* 2000; 54(8):1707-1708.
- (60) Soussain C, Suzan F, Hoang-Xuan K, Cassoux N, Levy V, Azar N et al. Results of intensive chemotherapy followed by hematopoietic stem-cell rescue in 22 patients with refractory or recurrent primary CNS lymphoma or intraocular lymphoma. *J Clin Oncol* 2001; 19(3):742-749.
- (61) Reni M, Mason W, Zaja F, Perry J, Franceschi E, Bernardi D et al. Salvage chemotherapy with temozolomide in primary CNS lymphomas: preliminary results of a phase II trial. *Eur J Cancer* 2004; 40(11):1682-1688.
- (62) Baker SD, Heideman RL, Crom WR, Kuttesch JF, Gajjar A, Stewart CF. Cerebrospinal fluid pharmacokinetics and penetration of continuous infusion topotecan in children with central nervous system tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; 37(3):195-202.
- (63) Correa DD, DeAngelis LM, Shi W, Thaler H, Glass A, Abrey LE. Cognitive functions in survivors of primary central nervous system lymphoma. *Neurology* 2004; 62(4):548-555.
- (64) Fliessbach K, Helmstaedter C, Urbach H, Althaus A, Pels H, Linnebank M et al. Neuropsychological outcome after chemotherapy for primary CNS lymphoma: a prospective study. *Neurology* 2005; 64(7):1184-1188.
- (65) Harder H, Holtel H, Bromberg JE, Poortmans P, Haaxma-Reiche H, Kluin-Nelemans HC et al. Cognitive status and quality of life after treatment for primary CNS lymphoma. *Neurology* 2004; 62(4):544-547.

- (66) Bokstein F, Lossos A, Lossos IS, Siegal T. Central nervous system relapse of systemic non-Hodgkin's lymphoma: results of treatment based on high-dose methotrexate combination chemotherapy. *Leuk Lymphoma* 2002; 43(3):587-593.
- (67) Glantz MJ, LaFollette S, Jaeckle KA, Shapiro W, Swinnen L, Rozental JR et al. Randomized trial of a slow-release versus a standard formulation of cytarabine for the intrathecal treatment of lymphomatous meningitis. *J Clin Oncol* 1999; 17(10):3110-3116.
- (68) Grossman SA, Finkelstein DM, Ruckdeschel JC, Trump DL, Moynihan T, Ettinger DS. Randomized prospective comparison of intraventricular methotrexate and thiotepa in patients with previously untreated neoplastic meningitis. Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 1993; 11(3):561-569.
- (69) Glantz MJ, Cole BF, Recht L, Akerley W, Mills P, Saris S et al. High-dose intravenous methotrexate for patients with nonleukemic leptomeningeal cancer: is intrathecal chemotherapy necessary? *J Clin Oncol* 1998; 16(4):1561-1567.
- (70) Herrlinger U, Forschler H, Kuker W, Meyermann R, Bamberg M, Dichgans J et al. Leptomeningeal metastasis: survival and prognostic factors in 155 patients. *J Neurol Sci* 2004; 223(2):167-178.
- (71) Siegal T, Lossos A, Pfeffer MR. Leptomeningeal metastases: analysis of 31 patients with sustained off-therapy response following combined-modality therapy. *Neurology* 1994; 44(8):1463-1469.
- (72) Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, Somers R, Van der LH, Bron D et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1995; 333(23):1540-1545.
- (73) Alvarnas JC, Negrin RS, Horning SJ, Hu WW, Long GD, Schriber JR et al. High-dose therapy with hematopoietic cell transplantation for patients with central nervous system involvement by non-Hodgkin's lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000; 6(3A):352-358.
- (74) Williams CD, Pearce R, Taghipour G, Green ES, Philip T, Goldstone AH. Autologous bone marrow transplantation for patients with non-Hodgkin's lymphoma and CNS involvement: those transplanted with active CNS disease have a poor outcome--a report by the European Bone Marrow Transplant Lymphoma Registry. *J Clin Oncol* 1994; 12(11):2415-2422.
- (75) Fischer L, Reiser M, Roeth A., Metzner B., Dreyling M., Moehle R. et al. Phase II study with combined systemic and intrathecal chemotherapy followed by high dose chemotherapy for CNS relapse of aggressive lymphomas: an interim analysis. *Onkologie* 2009; 32(suppl. 4).
- (76) Balmaceda C, Gaynor JJ, Sun M, Gluck JT, DeAngelis LM. Leptomeningeal tumor in primary central nervous system lymphoma: recognition, significance, and implications. *Ann Neurol* 1995; 38(2):202-209.
- (77) Blay JY, Conroy T, Chevreau C, Thyss A, Quesnel N, Eghbali H et al. High-dose methotrexate for the treatment of primary cerebral lymphomas: analysis of survival and late neurologic toxicity in a retrospective series. *J Clin Oncol* 1998; 16(3):864-871.
- (78) Pels H, Schmidt-Wolf IG, Glasmacher A, Schulz H, Engert A, Diehl V et al. Primary central nervous system lymphoma: results of a pilot and phase II study of systemic and

- intraventricular chemotherapy with deferred radiotherapy. *J Clin Oncol* 2003; 21(24):4489-4495.
- (79) Fisher R, Glantz MJ, Blumenthal D, Batten J, Van Horn A, Chalmers L et al. Phase II Trial of High-Dose Intravenous Methotrexate (MTX) and Rituximab with or without Intraventricular Depocyt in Patients with Newly Diagnosed Primary Central Nervous System Lymphoma (PCNSL). *Neuro Oncol* 2006; 8:441.
- (80) Glantz MJ, Cole BF, Glantz LK, Cobb J, Mills P, Lekos A et al. Cerebrospinal fluid cytology in patients with cancer: minimizing false-negative results. *Cancer* 1998; 82(4):733-739.
- (81) Zeiser R, Burger JA, Bley TA, Windfuhr-Blum M, Schulte-Monting J, Behringer DM. Clinical follow-up indicates differential accuracy of magnetic resonance imaging and immunocytology of the cerebral spinal fluid for the diagnosis of neoplastic meningitis - a single centre experience. *Br J Haematol* 2004; 124(6):762-768.
- (82) Ekstein D, Ben Yehuda D, Slyusarevsky E, Lossos A, Linetsky E, Siegal T. CSF analysis of IgH gene rearrangement in CNS lymphoma: relationship to the disease course. *J Neurol Sci* 2006; 247(1):39-46.
- (83) Gleissner B, Siehl J, Korfel A, Reinhardt R, Thiel E. CSF evaluation in primary CNS lymphoma patients by PCR of the CDR III IgH genes. *Neurology* 2002; 58(3):390-396.
- (84) Montesinos-Rongen M, Kuppers R, Schluter D, Spieker T, Van Roost D, Schaller C et al. Primary central nervous system lymphomas are derived from germinal-center B cells and show a preferential usage of the V4-34 gene segment. *Am J Pathol* 1999; 155(6):2077-2086.
- (85) Thompsett AR, Ellison DW, Stevenson FK, Zhu D. V(H) gene sequences from primary central nervous system lymphomas indicate derivation from highly mutated germinal center B cells with ongoing mutational activity. *Blood* 1999; 94(5):1738-1746.
- (86) Bromberg JE, Breems DA, Kraan J, Bikker G, van der HB, Smitt PS et al. CSF flow cytometry greatly improves diagnostic accuracy in CNS hematologic malignancies. *Neurology* 2007; 68(20):1674-1679.
- (87) Kranz BR, Thiel E, Thierfelder S. Immunocytochemical identification of meningeal leukemia and lymphoma: poly-L-lysine-coated slides permit multimarker analysis even with minute cerebrospinal fluid cell specimens. *Blood* 1989; 73(7):1942-1950.
- (88) Dux R, Kindler-Rohrborn A, Annas M, Faustmann P, Lennartz K, Zimmermann CW. A standardized protocol for flow cytometric analysis of cells isolated from cerebrospinal fluid. *J Neurol Sci* 1994; 121(1):74-78.
- (89) Allen CD, Ansel KM, Low C, Lesley R, Tamamura H, Fujii N et al. Germinal center dark and light zone organization is mediated by CXCR4 and CXCR5. *Nat Immunol* 2004; 5(9):943-952.
- (90) Krumbholz M, Theil D, Cepok S, Hemmer B, Kivisakk P, Ransohoff RM et al. Chemokines in multiple sclerosis: CXCL12 and CXCL13 up-regulation is differentially linked to CNS immune cell recruitment. *Brain* 2006; 129(Pt 1):200-211.
- (91) Jahnke K, Coupland SE, Na IK, Loddenkemper C, Keilholz U, Korfel A et al. Expression of the chemokine receptors CXCR4, CXCR5, and CCR7 in primary central nervous system lymphoma. *Blood* 2005; 106(1):384-385.

- (92) Smith JR, Braziel RM, Paoletti S, Lipp M, Uguccioni M, Rosenbaum JT. Expression of B-cell-attracting chemokine 1 (CXCL13) by malignant lymphocytes and vascular endothelium in primary central nervous system lymphoma. *Blood* 2003; 101(3):815-821.
- (93) Smith JR, Falkenhagen KM, Coupland SE, Chipps TJ, Rosenbaum JT, Braziel RM. Malignant B cells from patients with primary central nervous system lymphoma express stromal cell-derived factor-1. *Am J Clin Pathol* 2007; 127(4):633-641.
- (94) Hill WD, Hess DC, Martin-Studdard A, Carothers JJ, Zheng J, Hale D et al. SDF-1 (CXCL12) is upregulated in the ischemic penumbra following stroke: association with bone marrow cell homing to injury. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004; 63(1):84-96.
- (95) Narayan K, Dail D, Li L, Cadavid D, Amrute S, Fitzgerald-Bocarsly P et al. The nervous system as ectopic germinal center: CXCL13 and IgG in lyme neuroborreliosis. *Ann Neurol* 2005; 57(6):813-823.
- (96) Serafini B, Rosicarelli B, Magliozzi R, Stigliano E, Aloisi F. Detection of ectopic B-cell follicles with germinal centers in the meninges of patients with secondary progressive multiple sclerosis. *Brain Pathol* 2004; 14(2):164-174.
- (97) Jahnke K, Thiel E, Martus P, Herrlinger U, Weller M, Fischer L et al. Relapse of primary central nervous system lymphoma: clinical features, outcome and prognostic factors. *J Neurooncol* 2006; 80(2):159-165.
- (98) Mirmiran A, McClay E, Spear MA. Phase I/II study of IV topotecan in combination with whole brain radiation for the treatment of brain metastases. *Med Oncol* 2007; 24(2):147-153.
- (99) Khan RB, Shi W, Thaler HT, DeAngelis LM, Abrey LE. Is intrathecal methotrexate necessary in the treatment of primary CNS lymphoma? *J Neurooncol* 2002; 58(2):175-178.
- (100) Pels H, Juergens A, Glasmacher A, Schulz H, Engert A, Linnebank M et al. Early relapses in primary CNS lymphoma after response to polychemotherapy without intraventricular treatment: results of a phase II study. *J Neurooncol* 2009; 91(3):299-305.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Eckhard Thiel, der die Rahmenbedingungen für diese Arbeiten großzügig geschaffen und meine wissenschaftlichen Projekte stets motivierend und mit wertvollen Ratschlägen unterstützt hat.

Meiner langjährigen Kollegin, Frau PD Dr. Agnieszka Korfel, bin ich zu besonderem Dank verpflichtet, da Sie mich in das faszinierende Gebiet der Neuroonkologie eingeführt hat und ohne Ihre Unterstützung und Motivation viele Projekte nicht umgesetzt hätten werden können. Ihrer Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten und die ungezählten fruchtbaren Diskussionen waren für mich nicht nur hinsichtlich der Durchführung klinischer Studien außerordentlich wertvoll.

Mein weiterer Dank gilt meinen Kollegen Dr. Philipp Kiewe, PD Dr. Kristoph Jahnke sowie PD Dr. Stefan Schwartz für die fruchtbare und kollegiale Zusammenarbeit bei vielen Projekten.

Herrn PD Dr. Michael Hummel, Frau Dr. Dido Lenze und Herrn Hans-Henning Müller bin ich für ihre selbstlose Kooperationsbereitschaft, ohne die viele abgeschlossene sowie laufende Projekte nicht realisiert hätten werden können, zu außerordentlichem Dank verpflichtet.

Herrn Prof. Dr. Peter Martus danke ich für seinen Rat und seine Hilfe bei der Planung und Auswertung zahlreicher klinischer Studien.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meinen Eltern Manfred und Helga Fischer sowie meiner Partnerin Judith Horn, die mich immer auf meinem Weg unterstützt und motiviert haben.

Erklärung

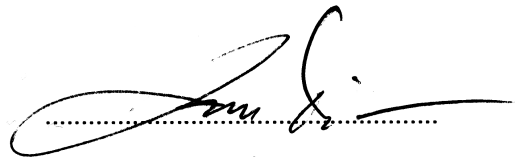
§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

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.

20.04.2010

Datum



Dr. med. Lars Fischer