

Aus dem
CharitéCentrum für Frauen-, Kinder- und Jugendmedizin
mit Perinatalzentrum und Humangenetik
Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Onkologie und Hämatologie
Ehemaliger Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Günter Henze
Direktorin: Prof. Dr. med. Angelika Eggert

Habilitationsschrift

Therapie der rezidierten akuten lymphoblastischen Leukämie im Kindesalter im Rahmen der ALL-REZ BFM Studien: Standard und Innovation

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Kinder- und Jugendmedizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Arend von Stackelberg
geboren in Hannover

Eingereicht: Juli 2013

Dekanin: Prof. Dr. med. Annette Grüters-Kieslich

1. Gutachter/in: ..Herr Prof. Dr. D. Steinbach/Ulm

2. Gutachter/in: ..Herr Prof. Dr. M. Stanulla/Hannover

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	5
1.1	Epidemiologie des ALL-Rezidivs im Kindesalter	5
1.2	Biologie	5
1.3	Risikofaktoren	6
1.3.1	Klinische Faktoren	7
1.3.2	Genetische Faktoren	7
1.3.3	Minimale Resterkrankung	10
1.4	Therapieoptionen	11
1.4.1	Chemotherapie	11
1.4.2	Strahlentherapie	12
1.4.3	Hämatopoetische Stammzelltransplantation	12
1.4.4	Experimentelle Therapieansätze	14
2	Eigene Arbeiten	15
2.1	Hoch versus intermediär dosiertes MTX bei Kindern mit ALL Rezidiv	18
2.2	Ergebnisse der Studie ALL-REZ BFM 90	27
2.3	Ergebnisse von Kindern mit Rezidiv eines lymphoblastischen Lymphoms	37
2.4	Ergebnisse von Kindern mit therapierefraktärem Rezidiv einer ALL	45
2.5	Zweitneoplasien bei Kindern nach Behandlung eines ALL-Rezidivs	54
2.6	Prognostische Bedeutung von MRD vor allogener HSZT bei Kindern mit ALL-Rezidiv	67
2.7	Blinatumomab bei therapierefraktärem ALL-Rezidiv	76
3	Diskussion	81
3.1	Optimierung von Standard Chemotherapie	81
3.2	Definition von Subgruppen mit Bedarf für innovative Therapien	84
3.3	Entwicklung innovativer diagnostischer Technologien	85
3.4	Entwicklung und Integration neuer Substanzen	87
3.5	Internationale Kollaboration	87
3.6	Ausblick	88
4	Zusammenfassung	89
5	Literaturangaben	91
6	Danksagung	98
7	Erklärung	99

Abkürzungen

6-MP	6-Mercaptopurin
6-TG	6-Thioguanin
ABL	Abelson membrane associated tyrosine kinase
ADCC	Antibody dependent cellular cytotoxicity
ALL	akute lymphoblastische Leukämie
ARA-C	Cytosin Arabinosid
Asp	Asparaginase
BCR	Break point cluster region
BFM	Berlin Frankfurt Münster
CCG	Childrens Cancer Group
CDC	Complement dependent cytotoxicity
CML	Chronische myeloische Leukämie
CPM	Cyclophosphamid
C(C)R	complete (continuous) remission
DNR	Daunorubicin
Dexa	Dexamethason
E2A	Transcription factor E2-alpha
EFS	event-free survival
ETV6	ETS varant 6
GVHD	graft versus host disease
GVL	graft versus leukemia
HD	hochdosis
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
G-CSF	granulocyte-colony stimulating factor
HLA	human leucocyte antigen
IDA	Idarubicin
IFO	Ifosfamid
i.th.	intrathekal
i.v.	intravenous
KM	Knochenmark
MD	matched donor
MFD	matched family donor
MMD	mismatched donor
MRC	Medical Research Council
MRD	minimal residual disease
MSD	matched sibling donor
MTX	Methotrexat

MUD	matched unrelated donor
NR	nonresponse/nonresponder
p	probability
PBC	peripheral blood cell count
PBX1	pre-B-cell leukemia transcription factor 1
PCR	Polymerase chain reaction)
PEG	Polyethylen-Glycol
POG	Pediatric Oncology Group
PPG	poor prognosis group
Pred	Prednison
REZ	Rezidiv
RQ	quantitative real-time
RUNX1	Runt-related transcription factor 1
SCT	stem-cell transplantation
SMN	secondary malignancy
SRV	survival
SZT	Stammzelltransplantation
U	unit(s)
VCR	Vincristin
VDS	Vindesin
ZNS	zentrales Nervensystem

1 EINLEITUNG

Seit 1983 hat die ALL-REZ BFM Studiengruppe konsekutive prospektive und zum Teil randomisierte Studien zur Optimierung der Diagnostik und Behandlung von Kindern mit Rezidiv einer ALL in Deutschland, Österreich und dem deutschsprachigen Teil der Schweiz durchgeführt.¹ Aus den beteiligten Ländern wurden Kinder mit Rezidiv einer akuten lymphoblastischen Leukämie (ALL) nahezu vollständig in dem Studienregister erfasst, so dass man die Ergebnisse als populationsbasiert bezeichnen kann.

Die Habilitationsarbeit umfasst Daten überwiegend aus den ALL-REZ BFM Studien, die die Etablierung der Standardtherapie und der hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSZT) für Kinder mit ALL-Rezidiv darstellen, die Behandlungsergebnisse problematischer Subgruppen wie Patienten mit Rezidiv lymphoblastischer Lymphome oder Patienten mit therapierefraktären ALL-Rezidiven beschreiben, und die die Etablierung innovativer diagnostischer Parameter wie der Quantifizierung minimaler Resterkrankung (MRD) sowie den Einsatz experimenteller neuer Therapien beschreiben.

1.1 Epidemiologie des ALL-Rezidivs im Kindesalter

Die akute lymphoblastische Leukämie ist die häufigste maligne Erkrankung im Kindesalter mit einer Inzidenz von etwa 4 / 100.000 Kindern. Durch Kombinationschemotherapie und in ausgewählten Fällen allogene HSZT erreichen heutzutage 70-80% der Patienten ein ereignisfreies Überleben (event-free survival, EFS). Etwa 15-20% der Patienten erleiden einen Rückfall der Erkrankung.²⁻⁴ Rückfälle ereignen sich im überwiegend im Knochenmark (KM), daneben gibt es isolierte oder mit einem Knochenmarkbefall kombinierte extramedulläre Rezidive, in erster Linie im zentralen Nervensystem (ZNS) sowie im Hoden. Darüber hinaus gibt es noch zahlreiche weitere seltene extramedulläre Manifestationen des ALL-Rezidivs, z.B. das Mediastinum bei Rezidiv einer T-ALL oder eines T-lymphoblastischen Lymphoms.⁵ Etwa 50% der Kinder mit ALL-Rezidiv überleben durch eine erneute intensive und zum Teil hoch dosierte Kombinationschemotherapie sowie zum überwiegenden Teil durch allogene HSZT ereignisfrei. Da ca. 15% der Kindern letztlich an der Erkrankung versterben, ist ALL nach wie vor die häufigste Todesursache bei Kindern mit malignen Erkrankungen.⁶

1.2 Biologie

Insgesamt konzentrieren sich im Patientenkollektiv mit ALL-Rezidiv prognostisch ungünstige biologische Eigenschaften, die bereits bei Ersterkrankung vorhanden waren wie z.B. die Translokation t(9;22) [BCR/ABL Fusionstranskript], bzw. es finden sich im Rezidiv-Kollektiv weniger Patienten mit prognostisch günstigen biologischen Eigenschaften wie die

Translokation t(12;21) [TEL/AML1 Fusionstranskript] oder Hyperdiploidie als bei Ersterkrankung.⁷⁻⁹ Die ALL wurde in der Vergangenheit als monoklonale Erkrankung angesehen, die im Rezidiv biologisch überwiegend identisch ist mit der ALL bei Ersterkrankung. Die Leukämie weist den gleichen Immunphänotyp sowie die gleichen genetischen Alterationen (z.B. Translokationen) auf und lässt sich in der Regel dem gleichen Klon zuordnen.¹⁰ Allerdings wurden zunehmend Abweichungen von diesem Prinzip entdeckt, die auf die Pathogenese des Rezidivs hinweisen. So können bei einem Rezidiv einer TEL/AML1 positiven ALL die Translokation und die Gen-Rearrangements der T-Zell Rezeptoren und der Immunglobulinketten klonal identisch zur Ersterkrankung sein, jedoch zusätzlich eine andere Deletion des zweiten TEL Allels vorliegen. Dieser Befund passt zu der von Mel Greaves aufgestellten Hypothese des präleukämischen Klon, der durch ein zweites genetisches Ereignis erst zu einem malignen Klon transformiert. Während der transformierte Klon durch die Ersterbehandlung vollständig eliminiert wurde, persistiert der Chemotherapie-resistente präleukämische Klon, der durch ein erneutes zweites genetisches Ereignis erneut maligne transformieren und damit das Rezidiv auslösen kann.^{11,12} Ob dieser Vorgang tatsächlich in zeitlicher Abfolge erfolgt, oder ob der Rezidiv-Klon als Sub-Klon bereits bei Erstdiagnose vorhanden war, ist Gegenstand aktueller Forschung. Wahrscheinlich sind beide Mechanismen möglich.¹³ Ebenso sind die bei Ersterkrankung identifizierten klonenspezifischen Genrekombinationen der T-Zell Rezeptoren und der Immunglobulinketten überwiegend stabil im Rezidiv vorhanden, es gibt aber auch Verluste oder Zugewinne klonaler Leukämiezellpopulationen zum Rezidiv, die ebenfalls im Verlauf entstanden sein könnten oder aber wahrscheinlicher bereits als Sub-Klon bei Ersterkrankung präsent waren und durch die Chemotherapie selektiert wurden.¹⁴ Bei dem Vergleich einer großen Serie von Kandidatengen zwischen Ersterkrankung und Rezidiv-Erkrankung wurden diverse bei Rezidiv scheinbar erworbene Mutationen im Bereich von Transkriptions-Aktivatoren, Transkriptionsfaktoren, Ras Signalweg, und Histon-Genen festgestellt, die zum Teil wiederum in kleinen Subklonen bei Erstdiagnose nachweisbar waren.¹⁵ Zunehmend wird die Leukämie als heteroklonale Erkrankung mit einer verzweigten Entwicklung von mehr oder weniger potenten Leukämie-propagierenden Zellen verstanden.^{16,17} Therapeutisches Ziel muss es daher sein, auch diese „leukämischen Stammzellen“ zu eliminieren und nicht nur die chemosensible Hauptlast der Leukämiezellen.

1.3 Risikofaktoren

In klinischen Studien konnten diverse Faktoren mit der Prognose von Kindern mit ALL-Rezidiv assoziiert werden.⁵ Ziel ist es, Patienten zu erkennen, die trotz konventioneller intensiver Chemotherapie ein hohes Risiko für einen erneuten Rückfall haben und die als Intensivierung eine HSZT benötigen. Ziel ist es auch, solche Patienten zu definieren, die mit

alleiniger Chemotherapie eines akzeptables rezidivfreies Überleben haben und die die toxische allogene HSZT nicht benötigen.¹⁸ Schließlich ist es wichtig voraussagen zu können, welche Patientengruppen mit konventioneller Chemotherapie keine zweite Remission erreichen werden oder trotz intensivierter Therapie mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Folgerezidiv erleiden werden und die damit für experimentelle Therapien in Frage kommen.

1.3.1 Klinische Faktoren

Im Verlauf der vergangenen 30 Jahre wurden simple klinische Parameter als die bis heute gültigen stärksten prognostischen Faktoren etabliert. In erster Linie wurde der Zeitpunkt des Rezidivs als entscheidender prognostischer Faktor erkannt. Dabei wird diese eigentlich kontinuierliche Variable in unterschiedlichen Studiengruppen anders definiert. Während in Europa ein sehr früher Zeitpunkt innerhalb von 18 Monaten, ein früher innerhalb von 30 Monaten (bzw. in der Regel bis 6 Monate nach Ende der Erstbehandlung) nach Erstdiagnose und damit ein später Zeitpunkt jenseits von Monat 30 (bzw. > 6 Monate nach Ende der Ersttherapie) definiert ist, wird der frühe Zeitpunkt in den US-amerikanischen Gruppen innerhalb von 36 Monaten nach Erstdiagnose und damit 6 Monate später definiert. Bei transatlantischen Vergleichen oder Kollaborationen muss dieser Unterschied beachtet werden. Patienten mit sehr frühem Rezidiv haben eine sehr schlechte Prognose nach alleiniger Chemotherapie, während Patienten mit spätem Rezidiv ein EFS von 40% bis heutzutage über 60% mit alleiniger Chemotherapie erwarten können.^{1,19-21} Als weiterer klinischer prognostischer Faktor wurde der Ort des Rezidivs erkannt. Patienten mit isoliertem KM-Rezidiv haben eine schlechtere Prognose als solche mit einem kombiniertem Rezidiv (KM und extramedullär). Die günstigste Prognose haben Patienten mit isoliert extramedullärem Rezidiv.²² Schließlich wurde als weiterer entscheidender prognostischer Faktor der Immunphänotyp erkannt. Patienten mit Rezidiv einer T-ALL haben eine signifikant schlechtere Prognose als solche mit B-Vorläufer ALL.²³ Aufgrund der schlechten Therapietoleranz haben Patienten mit Down Syndrom eine schlechtere Prognose, darüber hinaus können das Alter und das Geschlecht in Subgruppen prognostisch relevant sein.^{24,25} Die Faktoren Zeitpunkt, Ort und Immunphänotyp des Rezidivs zeigen in der multivariaten Analyse eine unabhängig prognostische Signifikanz. Aus ihnen wurde die Strategiegruppe S1-S4 etabliert, die seit 1995 in Europa weitgehend Anwendung finden.^{5,23}

1.3.2 Genetische Faktoren

1.3.2.1 B-Vorläufer ALL

Schon früh wurde bei der B-Vorläufer ALL die Translokation t(9;22) [BCR/ABL Fusionstranskript] als ungünstiger prognostischer Faktor erkannt, der mit einer hohen

Rezidivrate verbunden war. Der Anteil an Patienten mit ALL-Rezidiv war daher entsprechend groß und auch im Rezidiv war die Prognose mit alleiniger Chemotherapie ungünstig.⁷ Daher wurde frühzeitig die Indikation zu einer allogenen HSZT bereits in erster Remission gestellt. In Folge war die Anzahl an Patienten mit BCR/ABL positivem ALL-Rezidiv wieder stark rückläufig, da insgesamt weniger Rezidive und mehr Therapietodesfälle auftraten und Rezidive nach HSZT nicht in die Rezidivstudie gemeldet wurden sondern in der Regel individuell behandelt wurden.²⁶ Darüber hinaus wurden Patienten mit BCR/ABL positiven Leukämien durch die Entwicklung von spezifisch wirksamen Tyrosinkinase-Inhibitoren, insbesondere der Substanz Imatinib, zunehmend in separaten internationalen Studien behandelt und wurden kaum mehr in die nationalen Hauptstudien zur Behandlung der Ersterkrankung oder des Rezidivs einer ALL eingeschlossen.^{27,28} Das Fusionsgen *TEL/AML1* (alternative Bezeichnung: *ETV6/RUNX1*) ist bei Ersterkrankung mit einer günstigen Prognose assoziiert. Entsprechend geringer ist der Anteil im Rezidiv. Allerdings ist es immer noch eine der häufigsten genetischen Aberrationen bei Kindern mit ALL-Rezidiv. Auch bei Rezidiv zeigen die *TEL/AML1* positiven Leukämien eine vergleichsweise günstigen Prognose und günstige prognostische Faktoren wie später Zeitpunkt des Rezidivs.^{8,29} Leukämien mit stark hyperdiploidem Karyotyp (> 50 Chromosomen) kommen bei ALL-Rezidiv seltener als bei Erstdiagnose aber immer noch im Bereich von 20% vor. Sie sind mit einer günstigen Prognose assoziiert. Seltener (< 5%) und bei Ersterkrankung prognostisch ungünstige zytogenetische Aberrationen bei Kindern mit Rezidiv einer B-Vorläufer ALL sind die Translokation t(1;19) [*E2A/PBX1*], die MLL-involvierenden Aberrationen (Chromosom 11q23) und die Hypodiploidie (< 45 Chromosomen).^{30,31} Darüber hinaus finden sich eine Reihe von „nicht klassischen“ strukturellen/numerischen Aberrationen, insbesondere im Sinne von partiellen chromosomalen Deletionen. Dies betrifft z.B. Deletionen auf den Chromosomen 9(p), 17(p), 13(q), oder die intrachromosomal Amplifikation im Chromosom 21 (iAMP21).^{32,33} Zahlreiche weitere Kopienzahlvariationen von Genen wurden beschrieben und mit der Prognose von Kindern mit ALL assoziiert. Während die bei jeweils über einem Drittel der Kindern mit B-Vorläufer ALL-Rezidiv vorkommenden Deletionen von *CDKN2A* und *B* (Cycline dependent kinase inhibitor 2 A und B) keine prognostische Bedeutung aufweisen, ist die bei ebenfalls einem Drittel der Patienten vorkommende Deletion des *IKZF1* Gens (Ikaros family zinc finger 1) ebenso wie bei Ersterkrankung mit einer ungünstigen Prognose verbunden. Dies gilt auch für Patienten, die hinsichtlich der herkömmlichen prognostischen Faktoren in die günstige Standard-Risiko oder S2 Gruppe stratifiziert werden und hat damit Implikationen für zukünftige Risikoklassifikationen.⁹ Ebenfalls hat sich eine genetische Alteration des *TP53* Gens (Mutation oder Deletion) als ein prognostisch außerordentlich ungünstiger Faktor bei Kindern mit ALL-Rezidiv herausgestellt, der sowohl mit einer hohen Resistenz gegenüber der Rezidiv-Induktionstherapie als auch mit einer hohen Rate an

Folgerezidiven nach Chemotherapie oder auch HSZT einhergeht.^{9,34} In einer multivariaten Analyse mit Einschluss der oben genannten relevanten genetischen Aberrationen in Kombination mit den klassischen klinischen Faktoren bei Kindern mit Rezidiv einer B-Vorläufer ALL erwiesen sich der Zeitpunkt des Rezidivs, die Ikaros-Deletion und die TP53 Aberration als Faktoren mit unabhängiger prognostischer Relevanz.⁹ Bis auf weiteres werden jedoch die klassischen Risikofaktoren zur Stratifizierung verwandt, während die neuen genetisch determinierten prognostischen Faktoren in prospektiven Studien validiert werden.

1.3.2.2 T-ALL

Aktivierende Mutationen des NOTCH1 Signalweges scheinen entscheidende genetische Alterationen für die onkogene Transformation von T-Zellen zu sein.³⁵ NOTCH1 kodiert für transmembrane Proteine mit gemeinsamen strukturellen Eigenschaften wie multiple epidermale Wachstumsfaktor-Abschnitte (EGF) im Bereich der extrazellulären Domäne. Die aktivierenden Mutationen scheinen häufig mit einem Verlust im Bereich von Chromosom 9p21 einher zu gehen und damit mit einer Deletion des CDKN2A Locus.³⁶ Darüber hinaus finden sich eine Reihe von Translokationen bzw. aberrante Expressionen von onkogenetischen Transkriptionsfaktoren. Dabei werden die Transkriptionsfaktoren unter die Kontrolle von T-Zell spezifischen Verstärkern (enhancer) im Bereich der T-Zell Rezeptor beta (7q34) oder alpha – delta (14q11) Loci gestellt. Diese Transkriptionsfaktoren kommen aus der „basic helix-loop-helix“ (bHLH) Gruppe (TAL1/2, LYL1, BHLHB1), der Gruppe Lim-only (LMO) Domänen (LMO1-3), und der Gruppe der home-box Gene (HOX, TLX1/3, HOXA, NKX2.1/2).³⁷ Entsprechende aberrante Expressionen von Transkriptionsfaktoren lassen sich bestimmten biologischen Subgruppen der T-ALL zuordnen wie die aberrante Expression von Genen der Home-box Gruppe bei früher kortikaler T-ALL (CD1a, 4 und 8 positiv) und die der bHLH Gruppe (TAL1) bei der späten kortikalen T-ALL (CD3, 4, und 8 positiv). Dagegen liegen bei der frühen unreifen T-ALL (CD1a-, CD8-, CD5 schwach positiv) Aktivierungen von Transkriptionsfaktoren aus dem Bereich der Stammzellen und myeloischen Progenitoren vor, die einen stammzellnahen Ursprung vermuten lassen und in Anbetracht der schlechten Prognose mit konventioneller Therapie eine mehr myeloisch ausgerichtete Therapie gerechtfertigt erscheinen lassen.³⁸ Darüber hinaus wurden noch zahlreiche weitere genetische Aberrationen aus den funktionellen Bereichen Zell-Zyklus und Wachstum, Signal Transduktion und Chromatin Modellierung beschrieben, die sich jeweils selten bei kleinen Subgruppen von Kindern mit T-ALL finden.³⁷ Insgesamt ist damit die genetische Charakterisierung der T-ALL heterogen und bis auf NOTCH1 aktivierende Mutationen mit eher günstiger Prognose lassen sich kaum prognostisch relevante genetische Subgruppen definieren. Über die Bedeutung genetischer Veränderungen bei T-ALL Rezidiven im Kindesalter gibt es bisher keine publizierten Daten. Insgesamt ist bei T-ALL Rezidiv die

Prognose so schlecht, dass die Patienten unabhängig vom Zeitpunkt des Rezidivs der Hochrisikogruppe zugeordnet werden.

1.3.3 Minimale Resterkrankung

Die minimale Resterkrankung (MRD) ist definiert als die Präsenz von Leukämie- oder Tumorzellen unterhalb der konventionellen zytologisch lichtmikroskopischen Nachweisgrenze, die bei etwa 5/100 liegt (5×10^{-2}). Prinzipiell sind 2 Methoden etabliert, die eine MRD Detektion ermöglichen. In Europa ist der molekulargenetische Nachweis von durch PCR (polymerase chain reaction) amplifizierten klonspezifischen Rearrangements von T-Zell Rezeptor und/oder Immunglobulin Genen etabliert. Die Technologie der quantitativen „real-time“ (RQ) PCR erlaubt eine verlässliche klonspezifische Quantifizierung residueller Leukämiezellen mit einer Sensitivität von 10^{-4} – 10^{-5} (1/10.000-100.000 Zellen).³⁹ Die Detektion von genomischen Bruchpunkten von Fusionsgenen der individuellen Leukämie ist alternativ möglich aber auf Grund der Beschränkung auf die jeweilige Subgruppe weniger etabliert. Die zweite eher in Nordamerika etablierte aber zunehmend auch in Europa gebräuchliche Methode ist die multiparametrische Durchflusszytometrie. Dabei werden Kombinationen von Oberflächenmarkern durchflusszytometrisch quantifiziert, die auf Leukämiezellen qualitativ oder quantitativ aberrant exprimiert werden. Für B-Vorläufer- und T-ALL sind Standard-Kombinationen von fluoreszenzmarkierten monoklonalen Antikörpern etabliert, die auch ohne Untersuchung des Klons bei Diagnose einsetzbar sind. In Phasen der Regeneration können unreife lymphoide Zellen allerdings die Sensitivität und Spezifität der Methode einschränken.^{40,41} Während zahlreiche Studien eine weitgehende Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden belegen, finden sich auch immer einzelne erhebliche Abweichungen.⁴² Die Methoden können demnach nicht ohne weiteres ausgetauscht werden. Beide Methoden sind durch straff organisierte Konsortien in Europa gut etabliert. Regelmäßige Qualitätskontroll-Maßnahmen gewährleisten standardisierte Methoden und verlässliche Ergebnisse der beteiligten Labore.⁴³

Der Nachweis von MRD im Verlauf der Behandlung konnte bei ALL Erstererkrankung im Kindesalter als einer der wichtigsten prognostischen Faktoren etabliert werden.^{44,45} Patienten mit einer verzögerten Elimination der residuellen Leukämie haben ein erhöhtes Rezidivrisiko und werden entsprechend intensivierten Therapiestrategien, ggf. auch einer HSZT zugeführt.⁴⁶ Bei Kindern mit Rezidiv einer ALL konnte ebenfalls eine prognostische Bedeutung von MRD festgestellt werden. Patienten der intermediären Risikogruppe (S2 mit KM Beteiligung) mit $MRD \geq 10^{-3}$ nach der Induktionstherapie haben eine dramatisch schlechtere Prognose und eine entsprechend höhere Folgerezidiv-Rate nach alleiniger Chemotherapie als Patienten mit gutem Ansprechen auf MRD Ebene ($< 10^{-3}$).^{47,48} Dieser Befund wurde in der Studie ALL-REZ BFM 96 prospektiv und geblindet validiert.⁴⁹ In der

Folgestudie ALL-REZ BFM 2002 wurden Patienten mit entsprechend unzureichender MRD-Elimination konsequent einer allogenen HSZT zugeführt. Durch diese Maßnahme wurde die Prognose der Patienten mit unzureichendem Ansprechen derjenigen der Patienten mit gutem Ansprechen vollkommen angeglichen und im Vergleich zur Vorläuferstudie dramatisch verbessert. Damit konnte die ALL-REZ BFM Studiengruppe die Indikation zur allogenen HSZT in dieser Patientengruppe klar validieren. (Eckert et al, Publikation ist im Druck). Eine MRD Persistenz auf einem Niveau $\geq 10^{-4}$ bei Patienten mit HSZT Indikation zum Zeitpunkt vor der Transplantation konnte mit einem erhöhten Rezidivrisiko nach HSZT assoziiert werden.⁵⁰⁻⁵² Darüber hinaus wurde die Inzidenz und prognostische Bedeutung von MRD im KM zum Zeitpunkt der Rezidivdiagnose bei zytologisch isoliert extramedullären Rezidiven einer ALL untersucht. Dabei zeigt sich, dass bei den meisten Patienten eine submikroskopische KM-Beteiligung unterschiedlichen Ausmaßes nachweisbar ist und dass dies zumindest bei zytologisch isolierten ZNS Rezidiven prognostisch ungünstig ist.⁵³

1.4 Therapieoptionen

1.4.1 Chemotherapie

Wie bei der Erstbehandlung besteht die Therapie von Kindern mit Rezidiv einer ALL aus einer Induktions-, Konsolidierungs- und einer Dauerchemotherapie. Dabei werden in erster Linie die bereits bekannten Zytostatika, allerdings in höherer Dosierung, mehrfacher Kombination und dichter Abfolge, eingesetzt.^{54,55} Die internationale Studiengruppe ALL-R3 (Vereinigtes Königreich von England, Niederlande und Australien/Neuseeland) verfolgt eine eher kontinuierliche Chemotherapie mit einer an die übliche Erstbehandlung angelehnten 4-Medikamenten Induktionstherapie. Im Gegensatz zu den wöchentlichen Applikationen der BFM-Gruppe werden Anthrazykline an Tag 1 und 2 der Induktion eingesetzt, wobei im randomisierten Vergleich Mitoxantron mit einem besseren EFS assoziiert war als Idarubicin.⁵⁶ Eine vergleichbare Strategie wird von der Childrens Oncology Group (COG, USA) verfolgt.⁵⁷ Die ALL-REZ-BFM-Studiengruppe setzt dagegen alternierende etwa einwöchige blockartige Mehrfachkombinationen von zum Teil hoch dosierten Zytostatika ein. Anschließend folgt ein etwa zweiwöchiges therapiefreies Intervall zur Regeneration der Knochenmarkfunktion. In jedem Block erfolgt mindestens eine intrathekale Applikation von Methotrexat, Cytarabin und Prednison zur therapeutischen bzw. präventiven ZNS-Behandlung. Die Dauertherapie der ALL-REZ-BFM-Protokolle erfolgt mit täglichen Gaben von einem Antimetaboliten (6-Mercaptopurin oder Thioguanin) und ein- bis zweiwöchentlichen Gaben von niedrig dosiertem Methotrexat. Die Dauer der Chemotherapie richtet sich nach der Risikogruppe: Standardrisiko-Patienten erhalten 8 Chemotherapieblöcke und 12 Monate Dauertherapie. Intermediärrisiko-Patienten erhalten 10 Chemotherapieblöcke und

24 Monate Dauertherapie. Hochrisiko- und Untergruppen der Intermediärrisiko-Patienten erhalten nach Erreichen einer vollständigen Remission eine Stammzelltransplantation.⁵⁸

1.4.2 Strahlentherapie

Die Strahlentherapie wird bei Kindern mit ALL-Rezidiv zur Behandlung von "Extrakompartimenten" eingesetzt, in denen die Leukämiezellen vor der systemischen Chemotherapie relativ geschützt sind. Kinder mit einem ZNS-Rezidiv erhalten nach dem Ende der intensiven Therapiephase eine therapeutische Bestrahlung des ZNS. Die Dosis beträgt in der Regel 18 Gy. Es ist bis heute nicht geklärt, ob eine kraniale Bestrahlung ausreicht, oder ob die gesamte Neuroaxe bestrahlt werden sollte. Die ALL-REZ-BFM-Gruppe konnte zusätzlich zeigen, dass Kinder mit isoliertem Knochenmarkrezidiv von einer präventiven Schädelbestrahlung profitieren. Hierfür wird eine Dosis von 12 Gy als ausreichend angesehen.⁵⁹ Eine weitere Indikation zur Bestrahlung besteht beim Hodenrezidiv. In den ALL-REZ-BFM-Protokollen wird empfohlen, einen klinisch befallenen Hoden zu entfernen, während bei dem kontralateralen klinisch nicht befallenen Hoden eine lokale Bestrahlung mit 15 Gy vorgesehen ist, bzw. mit 18 Gy, wenn dieser subklinisch befallen war.⁶⁰ Nach diesen Strahlendosen kommt es in der Regel zum Eintritt einer Pubertät ohne Hormonsubstitution.⁶¹ Klinisch befallene, nicht entfernte Hoden sollten mit einer Dosis von 24 Gy bestrahlt werden. Dies führt allerdings zu einem vollständigen Funktionsverlust und zu einer Atrophie und verhindert nicht absolut sicher lokale Folgerezidive.^{62,63} Daher ist bei einem bilateralen testikulären Rezidiv eine beidseitige Orchiektomie mit anschließender Implantation einer Hodenprothese einer Bestrahlung vorzuziehen.

1.4.3 Hämatopoetische Stammzelltransplantation

Die allogene HSZT wird als Intensivierung der Therapie bei Patienten eingesetzt, die ein hohes Risiko für ein Rezidiv oder Folgerezidiv mit alleiniger Chemo/Strahlentherapie haben. Die antileukämische Wirksamkeit der Stammzelltransplantation beruht neben der ultrahochdosierten Chemo- und Strahlentherapie im Rahmen der Konditionierung auf der "Graft-versus-host"-Reaktion (GVHD), die offensichtlich einen "Graft-versus-leukemia"-Effekt (GVL-Reaktion) mit sich bringt.⁶⁴ Daher ist eine akute GVHD in Maßen, d. h. bis maximal Grad II, erwünscht.⁶⁵ Darüber hinaus gehende Reaktionen sind jedoch mit einer deutlich erhöhten Therapiemorbidity und -mortality verbunden. Sie bedürfen einer intensiven Immunsuppression, die wiederum auch den GVL-Effekt antagonisiert. Eine chronische GVHD ist mit einer besseren Rezidivfreiheit assoziiert. Eine intensivere GVHD-Prophylaxe dagegen ist mit einer erhöhten Rezidivrate assoziiert.⁶⁶

Nach einer allogenen HSZT ist die therapieassoziierte Mortalität (TRM) und Morbidity deutlich höher als nach einer Chemotherapie. Die HSZT von einem HLA-identischen

Geschwister (matched sibling donor, MSD) ist mit einer geringeren therapiebedingten Mortalität von ca. 10% assoziiert, als die Transplantationen von unverwandten Spendern (matched unrelated donor, MUD). Sie ist allerdings nur bei ca. 15% der Patienten verfügbar. Insbesondere bei der HSZT vom MUD konnte die TRM in den letzten 10 Jahren durch Standardisierung der Methodik, bessere immungenetische Technologien zur Spenderauswahl und bessere Supportivtherapie deutlich auf insgesamt unter 15% gesenkt werden.^{67,68}

Bei Transplantationen von HLA-differenten Spendern (MMD, mismatched donor) muss in der Regel eine T-Zell Depletion vorgenommen, oder die Immunsuppression muss erheblich intensiviert werden. Dadurch ist der GVL-Effekt eher reduziert. Es ist noch unklar, mit welcher Art der Immunmodulation die besten Ergebnisse erzielt werden können. Diese Art der Transplantation bleibt nur Kindern der Hochrisikogruppe vorbehalten, wenn sich kein passenderer Spender finden lässt.⁶⁹ Ein wichtiges Ziel aktueller Therapiestudien ist es, möglichst präzise die Patienten zu definieren, die von einer Transplantation eindeutig profitieren.

Die Studie ALL SZT-BFM 2003 zur HSZT von Kindern mit ALL in erster, zweiter oder größer als zweiter Remission hatte die Vereinheitlichung der Methodik zum Ziel, darüber hinaus die Hypothese, dass eine HSZT von einem gut HLA kompatiblen unverwandten Spender keine schlechteren Ergebnisse als die HSZT vom HLA-identischen Geschwister bringt. Letzteres konnte bestätigt werden (Peters et al., zur Veröffentlichung eingereicht).⁶⁸ Daher wird inzwischen hinsichtlich der Indikation kein Unterschied mehr gemacht zwischen HLA kompatiblen unverwandten oder verwandten Spendern, die nun als „matched donor“ (MD) bezeichnet werden. Während die SZT von einem MD oder einem MMD bei allen Kindern mit ALL-Rezidiv der Hochrisiko Gruppe S3/4 indiziert ist, ist die MD/MMD HSZT in der Standardrisikogruppe (S1/2) nur bei Patienten mit schlechtem MRD Ansprechen ($\geq 10^{-3}$ nach der Induktion) indiziert. Ausnahmen stellen Patienten der SR Gruppe mit frühem extramedullärem Rezidiv da, bei denen zurzeit auch bei gutem Ansprechen auf MRD Ebene eine HSZT vom MD geprüft wird.^{49,70}

Voraussetzung für die Transplantation ist in der Regel eine vollständige Remission. Nur in Einzelfällen konnten längerfristige Remissionen auch bei Patienten mit anhaltendem Rezidiv vor der SZT erreicht werden. Selbst der Nachweis von MRD unterhalb der zytologischen Nachweisgrenze ist mit einem sehr hohen Rezidivrisiko nach SZT assoziiert (Bader et al. 2002; Knechtli et al. 1998).^{52,71} Die autologe HSZT ist wesentlich weniger toxisch als die allogene, ist aber mit folgenden Nachteilen verbunden: Es fehlt der allogene GVL-Effekt. Zusätzlich besteht die Gefahr, dass man im Anschluss an die Hochdosiskonditionierung mit dem autologen Transplantat residuelle Leukämiezellen retransfundiert. Die antileukämische

Wirksamkeit ist daher deutlich geringer als bei der allogenen SZT. Ein Vorteil der autologen SZT gegenüber alleiniger Chemotherapie konnte von der ALL-REZ-BFM-Gruppe nicht belegt werden.⁷² Lediglich in einer monozentrischen Studie der Italienischen Gruppe konnte im gepaarten Vergleich mit ALL-REZ BFM Patienten gezeigt werden, dass die autologe HSZT bei Patienten der SR Gruppe mit KM-Beteiligung vorteilhaft sein kann.⁷³

1.4.4 Experimentelle Therapieansätze

Etwa 50% der Kinder mit Rezidiv einer ALL erreichen ein längerfristiges Überleben, die Hälfte verstirbt an der Erkrankung oder den Therapiemaßnahmen.^{56,74} Durch definierte Risikokonstellationen können Patienten erkannt werden, die durch die Standard Therapie keine Heilungschance haben. Dies sind Patienten mit fehlendem Ansprechen auf die Induktionstherapie (Nonresponder, NR),⁷⁵ Patienten mit hoher MRD Last nach der Konsolidierung (vor HSZT), und Patienten mit einem Folgerezidiv nach Chemotherapie oder nach HSZT. Für diese Patienten können ggf. neue gezielt oder anders wirksame Substanzen eine Chance zur Erreichen einer Remission und damit einer kurativen Weiterbehandlung durch eine allogene HSZT sein. Sie stellen damit das geeignete Kollektiv für Studien mit dem Zweck der Medikamentenentwicklung dar.^{76,77} Dies sind in erster Linie Phase I Studien zur Dosisfindung einer Einzelsubstanz in der Indikation, Phase II Studien zur Etablierung einer empfohlenen Dosis einer Einzelsubstanz, Phase I/II Kombinationsstudien zur Integrierung einer neuen Substanz in ein Therapieelement, und ggf. randomisierte Phase II Studien zur Prüfung der Wirksamkeit einer neuen Substanzen einem kurativen Kontext im Vergleich mit einer Standard Therapie. Bei entsprechend entwickelten Substanzen mit einem attraktiven Wirkungs- und Nebenwirkungsprofil muss in einer randomisierten Phase III Studie geprüft werden, ob sie tatsächlich einen Vorteil für die Patienten der Indikation im Vergleich zur Standard Therapie bringen. Dies kann eine Verbesserung des ereignisfreien oder gesamten Überlebens sein oder geringere Nebenwirkungen bei gleichem Überleben.

Biologische, biochemische, molekulargenetische und immunologische Erkenntnisse und Technologie führen zu Entwicklung einer Vielzahl von neuen Medikamenten mit dem Potenzial einer Verbesserung der Behandlung für Kinder mit ALL.⁷⁸ Eine wichtig Gruppe sind die sogenannten „small molecules“, kleine mehr oder weniger gezielt in intrazelluläre Signalwege eingreifende Substanzen. Dazu gehören die Tyrosinkinase-Inhibitoren, die inzwischen in mehreren Generationen entwickelt und auf den Markt gekommen sind. Imatinib ist in dieser Gruppe der Vorreiter, der inzwischen zur Standard Therapie der BCR-ABL positiven Leukämie gehört und der zu einer deutlichen Verbesserung des Überlebens bei Reduktion der Transplantationsrate in dieser Patientengruppe geführt hat.⁷⁹ Dazu gehört auch Bortezomib als Proteasom-Inhibitor, das in klinischen Studien bei Kindern mit ALL-Rezidiv bereits erfolgreich getestet wurde oder der pan-BCL2 Inhibitor Obatoclax.⁸⁰⁻⁸³ Eine

weitere große Gruppe neuer Substanzen sind monoklonale Antikörper. Diese können gegen leukämieassoziierte oder -spezifische Antigene gerichtet sein und nach Bindung eine Antikörper-abhängige zelluläre Zytotoxizität (ADCC) über Fc-Rezeptor positive Effektorzellen (i.d.R. NK-Zellen), Komplement-abhängige direkte Zytotoxizität (CDC), oder auch direkt Apoptose induzieren.⁸⁴ Beispiel hierfür ist das gegen CD20 errichtete Rituximab oder das gegen CD22 gerichtete Epratuzumab.⁸⁵⁻⁸⁷ Immunotoxine sind dagegen mit toxischen Substanzen gekoppelte monoklonale Antikörper, die nach Bindung an ein leukämieassoziiertes Antigen internalisiert werden und nach intrazellulärem Ablösen des Toxins zu einer Zellschädigung/Zerstörung führen. Beispiel hierfür sind die gegen CD22 gerichtete monoklonale Immunotoxin Moxetumomab Pasudotox (verbunden mit einem Pseudomonastoxin), Inotuzumab Ozogamicin (verbunden mit dem DNA Toxin Calicheamicin), sowie das gegen CD19 gerichtete Immunotoxin SAR3419 (verbunden mit dem Tubulin Polymerisations-Inhibitor Maytansinoid).⁸⁸⁻⁹² Schließlich sind innovative Konstrukte in der Entwicklung wie z.B. der bispezifische gegen CD3 und 19 gerichtete T-Zell involvierende (BITE®) einkettige monoklonale Antikörper Blinatumoab, der bei Erwachsenen mit MRD positiver oder rezidivierter ALL eine sehr eindrucksvolle Effektivität gezeigt hat und der bei Kindern mit refraktärem ersten oder zweiten Rezidiv einer ALL in einer Phase I/II Studie hinsichtlich optimaler Dosis, Verträglichkeit und Effektivität untersucht wird.^{93,94} Eine Vielzahl weiterer monoklonaler Antikörper mit potenziellem Einsatz bei Patienten mit ALL sind in der Entwicklung. Aufgabe der akademischen Experten für diese Erkrankungsentität ist es, die geeignetsten Substanzen zu priorisieren und in Zusammenarbeit mit der Industrie und den Behörden ein für die Patienten optimales Entwicklungsprogramm für neue Substanzen frei von kommerziellen Interessen zu gewährleisten.⁸⁴

2 EIGENE ARBEITEN

Die in der Habilitationsschrift zusammengestellten eigenen Arbeiten zeigen Ergebnisse von klinischen Studien der ALL-REZ BFM Gruppe, deren Koordinator der Autor seit dem Jahr 2000 und deren durch die Fachgesellschaft GPOH gewählter Leiter der Autor seit dem Jahr 2010 ist. Die ersten 5 Arbeiten zeigen Ergebnisse der Standardtherapie, die im Rahmen der ALL-REZ BFM Studien zum Einsatz kamen sowie die Definition von Subgruppen, die nicht hinreichend von diesem Therapieansatz profitieren können. Die Arbeiten 6 und 7 zeigen einen innovativen diagnostischen Ansatz (MRD vor HSZT), der eine Rationale für experimentelle Therapieansätze gewährt, sowie den zunächst individuellen Einsatz eines innovativen monoklonalen Antikörpers bei Patienten mit refraktären Erkrankungen als Rationale für eine strukturierte Phase I/II Studie.

Exemplarisch zeigt die Arbeit „Hoch versus intermediär dosiertes MTX zur Behandlung von Kindern mit ALL Rezidiv“ (Kapitel 2.1, Seite 18) die Optimierung von kurativer Standard Therapie im Rahmen einer prospektiven randomisierten Phase III Studie. Dagegen zeigt die Arbeit „Ergebnisse der Studie ALL-REZ BFM 90“ (Kapitel 2.2, Seite 27), welche umfangreichen und klinisch relevanten Erkenntnisse aus den nicht randomisierten Daten einer klinischen Studien und den parallel erhobenen Register Daten zu gewinnen sind. Die folgenden 3 Arbeiten beschreiben problematische Subgruppen der Kinder mit ALL-Rezidiv, die durch die konventionelle Therapie im Rahmen der Therapieoptimierungsstudien nicht heilbar sind und daher für neue experimentelle Therapieansätze in Frage kommen. Während Rezidive eines lymphoblastischen Lymphoms (Kapitel 2.3, Seite 37) eine biologisch etwas distinkte Entität darstellen, die mit dem konventionellen Therapieansatz inklusive einer HSZT mit schlechten Remissionsraten und hohen Folgerezidivraten einhergeht, kommen Patienten mit fehlendem Ansprechen auf die Rezidivtherapie kaum durch weitere intensivierete Maßnahmen in Remission und haben eine infauste Prognose (Kapitel 2.4, Seite 45). Ein katastrophaler Endpunkt einer klinischen Studie ist das Zweitmalignom. Chemotherapien sollten so ausgerichtet werden, dass Elemente, die mit der Entstehung von Zweitmalignomen assoziiert sind, möglichst vermieden werden. Die Arbeit „Zweitneoplasien bei Kindern nach Behandlung eines ALL-Rezidivs“ (Kapitel 2.5, Seite 54) exploriert Assoziationen von im Rahmen der ALL-REZ BFM Studien eingesetzten Therapieelementen mit der Entstehung von Zweitmalignomen und gibt damit eine Rationale für das Design zukünftiger Studien mit dem Ziel, entsprechende Elemente zu vermeiden.

Die Arbeit „Prognostische Bedeutung minimaler Resterkrankung vor allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation bei Kindern mit ALL-Rezidiv,“ (Kapitel 2.6, Seite 67) etabliert MRD als Parameter für Therapiemodifikationen und experimentelle Therapieansätze, da Patientengruppen mit schlechter Prognose mit dem Standard-Vorgehen einer konventionellen allogene HSZT klar definiert werden. Die Arbeit „Blinatumomab zur Remissionsinduktion bei therapierefraktärem ALL-Rezidiv,“ (Kapitel 2.7, Seite 76) zeigt exemplarisch die Anwendung von innovativen neuen Substanzen bei Kindern mit ALL Rezidiv, die mit konventionellen Mitteln nicht heilbar sind. Die in der Arbeit eingeschlossenen Patienten wurden im Rahmen von individuellen Heilversuchen in zwei Institutionen behandelt. Die Ergebnisse bieten eine Grundlage für das Design der inzwischen laufenden formalen Phase I und II Studie zur Entwicklung des Medikamentes bei Kindern mit ALL.

2.1 Hoch versus intermediär dosiertes MTX zur Behandlung von Kindern mit ALL Rezidiv

Hochdosis Methotrexat (MTX) ist ein etabliertes Therapieelement bei der Behandlung von Kindern mit ALL. Bei ALL Ersterkrankung im Rahmen der BFM Studien wird MTX mit einer Dosis von 5 g/m² in einer 24 Stunden-Infusion und einer anschließenden Leukovorin Rescue verabreicht. Wegen der schlechteren Therapietoleranz von Kindern mit Rezidiv der Erkrankung wurde Methotrexat in den frühen ALL-REZ BFM Studien in einer Dosis von nur 1 g/m² allerdings in einer 36 Stunden Infusion und einer reduzierten Leukovorin Rescue verabreicht. Allerdings bestand Unklarheit, ob die Dosis von 1 g/m² eine ausreichende antileukämische Wirkung aufweist. Daher wurden im Rahmen der Studie ALL-REZ BFM 90 die beiden etablierten Dosierungen und Applikationsformen randomisiert verglichen. Dabei erwies sich die Dosis von 5 g/m² hinsichtlich der ereignisfreien Überlebenschance als der Dosis von 1 g/m² nicht überlegen. Damit konnte die Dosis von 1 g/m² als nun etablierter Standard bei Kindern mit ALL-Rezidiv in zukünftigen Studien weiter verwendet und auch international empfohlen werden.

High-dose compared with intermediate-dose methotrexate in children with a first relapse of acute lymphoblastic leukemia

Arend von Stackelberg, Reinhard Hartmann, Christoph Bühner, Rüdiger Fengler, Gritta Janka-Schaub, Alfred Reiter, Georg Mann, Kjeld Schmiegelow, Richard Ratei, Thomas Klingebiel, Jörg Ritter, Günter Henze

Blood. 2008 Mar 1;111(5):2573-80; URL: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2007-07-102525>

Abstract

High-dose methotrexate (MTX) has been extensively used for treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL). To determine the optimal dose of MTX in childhood relapsed ALL, the ALL Relapse Berlin-Frankfurt-Münster (ALL-REZ BFM) Study Group performed this prospective randomized study. A total of 269 children with a first early/late isolated (n = 156) or combined (n = 68) bone marrow or any isolated extramedullary relapse (n = 45) of precursor B-cell (PBC) ALL (excluding very early marrow relapse within 18 months after initial diagnosis) were registered at the ALL-REZ BFM90 trial and randomized to receive methotrexate infusions at either 1 g/m² over 36 hours (intermediate dose, ID) or 5 g/m² over 24 hours (high dose, HD) during 6 (or 4) intensive polychemotherapy courses. Intensive induction/consolidation therapy was followed by cranial irradiation, and by conventional-dose maintenance therapy. Fifty-five children received stem-cell transplants. At a median follow-up of 14.1 years, the 10-year event-free survival probability was .36 (± .04) for the ID group (n = 141), and .38 (± .04) for the HD group (n = 128, P = .919). The 2 groups did not differ in terms of prognostic factors and other therapeutic parameters. In conclusion, methotrexate infusions at 5 g/m² per 24 hours, compared with 1 g/m² per 36 hours, are not associated with increased disease control in relapsed childhood PBC acute lymphoblastic leukemia.

2.2 Ergebnisse der Studie ALL-REZ BFM 90

Aus den vorangegangenen Studien der ALL-REZ BFM Gruppe der 80er Jahre (ALL-REZ BFM 83, 85 und 87)^{1,19} hatte sich die Riskogruppeneinteilung A-C etabliert, die den Zeitpunkt und den Ort des Rezidivs zur Grundlage hatte. In den Vorläuferstudien hatte sich herausgestellt, dass Patienten mit sehr frühen KM-Rezidiven (innerhalb von 18 Monaten nach Erstdiagnose) einer ALL oder mit KM-Rezidiv einer T-ALL eine schlechte Remissionsrate und eine extrem schlechte ereignisfreie Überlebensrate haben. Daher wurde diese Gruppe als „Poor-Prognosis-Group“ (PPG) aus der Hauptstudie der ALL-REZ BFM 90 Studie herausgenommen und experimentellen Pilotstudien zugeführt. Die Struktur der Chemotherapie mit kurzen intensiven Polychemotherapie Blöcken wurde aus den vorangegangenen Studien übernommen. Neben der in Kapitel 2.1 beschriebenen Randomisation „hoch versus mittelhoch dosiertes MTX“ wurde ein zusätzliches Element R3 mit dem Schwerpunkt hoch dosiertes Cytarabin und Etoposid jeweils nach den Blöcken R1 und R2 eingeführt mit der Frage, ob dies zu einer Verbesserung des EFS im Vergleich zu der historischen Kontrolle führt. Darüber hinaus wurde untersucht, ob die Patienten der PPG durch diverse experimentelle Ansätze, insbesondere der „Tailored Therapy“ eine im historischen Vergleich bessere Prognose erlangen. Bei der „Tailored Therapy“ wurden individuell zusammengestellte intensive und toxische Therapieelemente auf der Basis von in vitro Sensitivitätstestung (MTT Technologie) der Leukämiezellen gegenüber einer Serie von Chemotherapeutika verabreicht.^{95,96}

Die Einführung des R3 Elementes führte nicht zu einer Verbesserung des EFS oder des Überlebens und die experimentellen Ansätze für die PPG waren ebenfalls nicht vorteilhaft. Das Ergebnis der Vorläuferstudien konnte nicht verbessert werden. Patienten der Risikogruppe A und der PPG konnten von einer allogenen HSZT profitieren.

Konsequenz dieser Ergebnisse war die Revision der Risiko-Klassifizierung und Entwicklung der Strategieguppen S1-4. Darüber hinaus wurde der R3 Block nicht in zukünftige Strategien integriert und die Strategie der Tailored Therapie für PPG Patienten wurde verlassen. Die PPG Patienten wurden in die Gesamt Gruppe zurück genommen und gemäß der S-Gruppen klassifiziert. Patienten mit hohem Folgerezidiv-Risiko (Gruppe A und PPG bzw. nach neuer Einteilung die Gruppen S3 und S4) wurden zukünftig konsequent einer allogenen HSZT zugeführt. Dies wurde durch die zunehmende Verfügbarkeit von unverwandten Spendern über die anwachsenden Spender-Register erleichtert.

Long-Term Outcome in Children With Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia After Time-Point and Site-of-Relapse Stratification and Intensified Short-Course Multidrug Chemotherapy: Results of Trial ALL-REZ BFM 90

Gesche Tallen, Richard Ratei, Georg Mann, Gertjan Kaspers, Felix Niggli, Alexandr Karachunsky, Wolfram Ebell, Gabriele Escherich, Martin Schrappe, Thomas Klingebiel, Ruediger Fengler, Günter Henze and Arend von Stackelberg

J Clin Oncol. 2010 May 10;28(14):2339-47; URL: <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2009.25.1983>

Abstract

Purpose: The multicenter trial ALL-REZ BFM (ie, Acute Lymphoblastic Leukemia Relapse Berlin-Frankfurt-Münster) 90 was designed to improve prognosis for children with relapsed acute lymphoblastic leukemia (ALL) by time-to-relapse- and site-of-relapse-adapted stratification and by introduction of novel chemotherapy elements and to evaluate new prognostic parameters in a large, population-based cohort.

Patients and Methods: Five hundred twenty-five patients stratified into risk groups A (early bone marrow [BM] relapses), B (late BM relapses), and C (isolated extramedullary relapses) received alternating short-course intensive polychemotherapy (in blocks R1, R2, or R3) and cranial/craniospinal irradiation followed by maintenance therapy. Block R3 (high-dose cytarabine and etoposide) was introduced to improve the outcome compared with historical controls. Patients with early BM or T-ALL relapse (poor prognosis group [PPG]) were eligible for experimental regimens. One hundred seventeen patients received stem-cell transplantation (SCT).

Results: The probabilities (and standard deviations) of event-free survival (pEFS) and overall survival (pOS) at 10 years were $0.30 \pm .02$ and $0.36 \pm .02$, respectively. Significant differences existed between strategic groups (pEFSA = $.17 \pm .03$; pEFSB = $.43 \pm .04$; pEFSC = $.54 \pm .06$; pEFSPPG = $.15 \pm .03$; log-rank $P < .001$). Patients of high-risk groups A plus PPG did better with SCT than with chemotherapy (pEFS = $.33 \pm .05$ v $0.20 \pm .05$; $P = .005$). The pEFS was similar to trials ALL-REZ BFM 85/87 ($.36 \pm .03$ v $0.37 \pm .03$; $P = .419$; PPG excluded). Time point, site of relapse, immunophenotype, and SCT were significant predictors of pEFS in multivariate analyses.

Conclusion: More than one third of patients in this large, population-based trial were cured. Neither R3 nor adaptation of chemotherapy intensity was capable of improving pEFS or of overcoming prognostic factors. In high-risk patients, remission induction regimens must be improved, and allogeneic SCT should be recommended in patients achieving second complete remission.

2.3 Behandlungsergebnisse von Kindern mit Rezidiv eines lymphoblastischen Lymphoms

Lymphoblastische Lymphome (LBL) vom T- oder B-Vorläufertyp sind lymphoblastischen Leukämien klinisch und biologisch so ähnlich, dass sie in der Regel mit gleichen therapeutischen Strategien behandelt werden. Die Prognose der LBL bei Erstmanifestation ist hervorragend, so dass insgesamt nur wenig Patienten einen Rückfall erleiden (ca. 10%). Dabei gibt es sowohl lymphoblastische Leukämien, die sich im Rezidiv als isoliert extramedulläre Erkrankung (z.B. im Mediastinum bei T-ALL) manifestieren, als auch LBL, die im Rezidiv disseminiert im Knochenmark auftreten. Patienten mit Rezidiv eines LBL wurden daher in den ALL-REZ BFM Studien eingeschlossen. Da es sich häufig um Rezidive von Erkrankungen mit T-Immunphänotyp handelt oder um frühe bzw. sehr frühe Rezidive, wurden die Kinder mit LBL-Rezidiv meist den Hochrisikogruppen A und PPG bzw. S3 und S4 zugeordnet und mit diesen gemeinsam ausgewertet. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit einer retrospektiven isolierten Betrachtung von Kindern mit LBL-Rezidiv und der Frage, ob diese mit der konventionellen ALL-REZ BFM Strategie adäquat behandelt sind.

Die Arbeit kommt zu dem Ergebnis, dass nur etwa ein Drittel der Patienten eine zweite Remission der Erkrankung erreichen konnte. Nur 14% der Patienten konnte den Rückfall der Erkrankung längerfristig überleben. Alle Überleben hatten nach Erreichen der zweiten Remission eine allogene HSZT erhalten. Einer der Überlebenden entwickelte im Verlauf ein Adenokarzinom des Kolons als Zweitmalignom.

Die Prognose von Patienten mit LBL-Rezidiv ist noch schlechter als die der ungünstigen ALL-Rezidiv-Gruppen, denen sie aufgrund ihres Risikoprofils zugeordnet werden. Zurzeit fehlen alternative therapeutische Ansätze, die eine Verbesserung der Prognose dieser speziellen Gruppe erlauben. Patienten mit LBL-Rezidiv, die eine zweite Remission erreichen, werden konsequent einer allogenen HSZT zugeführt. Darüber hinaus werden Patienten mit LBL-Rezidiv und unzureichendem initialen Ansprechen auf die konventionelle Rezidivtherapie frühzeitig in Phase I/II Studien mit neuen Substanzen eingeschlossen, die durch andere Wirkmechanismen die Therapieresistenz möglicherweise durchbrechen können. Insbesondere bei Erkrankungen mit T-Immunphänotyp gibt es aktuell allerdings wenig spezifisch wirksame Substanzen.

Poor Outcome for Children and Adolescents With Progressive Disease or Relapse of Lymphoblastic Lymphoma: A Report From the Berlin-Frankfurt-Muenster Group

Birgit Burkhardt, Alfred Reiter, Eva Landmann, Peter Lang, Lisa Lassay, Roswitha Dickerhoff, Max Lakomek, Günter Henze and Arend von Stackelberg

J Clin Oncol. 2009 Jul 10;27(20):3363-9; URL: <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2008.19.3367>

Abstract

Purpose: Little is known about the outcome of pediatric patients with lymphoblastic lymphoma (LBL) who suffer from progressive disease or relapse.

Patients and Methods: We analyzed the pattern of LBL relapses after current non-Hodgkin's lymphoma Berlin-Frankfurt-Muenster (BFM) frontline therapy between April 1990 and March 2003. Relapse therapy was according to acute lymphoblastic leukemia (ALL) –Relapse-BFM protocols or ALL-BFM protocols for high-risk patients.

Results: Twenty-eight (11%) of 251 registered patients with precursor T-cell LBL (T-LBL) and six (8%) of 73 patients with precursor B-cell LBL (pB-LBL) suffered from relapse. Of the 28 patients with T-LBL, one died from infection during relapse chemotherapy, 18 failed to achieve stable remission and died from disease progression, and nine reached allogeneic stem-cell transplantation (SCT). Two of these nine patients who underwent SCT died from transplantation-associated toxicity, three died from disease progression, and four are still alive. These four patients are in second remission of their lymphoma for 48, 68, 125, and 131 months, respectively, after allogeneic SCT. One of the four patients developed colon adenocarcinoma 47 months after SCT. Of the six patients with pB-LBL who experienced relapse, one patient died as a result of toxicity of relapse chemotherapy, two died from disease progression after chemotherapy, and three received allogeneic SCT. Of these, two died from subsequent disease progression, and one is still alive 57 months after allogeneic SCT.

Conclusion: Using modern conventional therapy in the frontline treatment of LBL, 10% of patients suffer from progressive disease or relapse. Because of the extremely poor reinduction success, the salvage rate for these patients is poor, with only a 14% (SE = 6%) overall survival. Long-term survival was only achieved in those few patients who were able to undergo an allogeneic SCT.

2.4 Behandlungsergebnisse von Kindern mit therapierefraktärem Rezidiv einer ALL

Die Arbeit befasst sich mit Patienten der Studien ALL-REZ BFM 90 und 95/96, die nicht auf die protokollgemäße Induktionstherapie angesprochen haben und damit als „nonresponder“ (NR) klassifiziert wurden. NR ist in den Studien als primärer Endpunkt definiert, das heißt die Patienten werden nicht weiter im Rahmen der Protokolltherapie behandelt. Andererseits gab es keine Studien oder Empfehlungen, wie Patienten mit NR behandelt werden sollten so dass die weitere Therapie auf der Basis individueller Entscheidungen der behandelnden Ärzte erfolgte. Da in dieser Situation die therapeutischen Strategien von einer Palliativtherapie mit rein supportivtherapeutischen Maßnahmen bis zu intensivierter hochdosierter Chemotherapie und HSZT reichten, hatte die Arbeit zum Ziel, die therapeutischen Strategien zu klassifizieren und Risiko und Nutzen dieser Therapien für die Patienten abzuwägen.

Von 93 eingeschlossenen Kindern mit NR nach Rezidiv-Induktionstherapie haben nur 2 überlebt, beide nach allogener HSZT. Das mediane Überleben von Patienten, die mit kurativer Intention behandelt wurden, war signifikant länger als das der Patienten die nur niedrig dosierte Chemotherapie mit palliativer Intention oder ausschließlich Supportivtherapie erhalten haben. Während die palliativ behandelten Patienten überwiegend zu Hause verstarben, verstarben die kurativ behandelten Patienten überwiegend an den Nebenwirkungen der Therapie oder an erneutem Krankheitsprogress trotz intensiver Therapie im Krankenhaus. Eine empfehlenswerte Strategie mit besseren kurativen Aussichten konnte aus den Daten nicht gewonnen werden. Allerdings kann man den Schluss ziehen, dass Patienten mit NR nicht individuell mit intensiver Therapie behandelt werden sollten, da dies nicht zu einer Verbesserung der Überlebens, aber zu einer Verschlechterung der Qualität der verbliebenen Lebenszeit führt. Dagegen kann man schlussfolgern, dass für Kinder mit NR keine Standard-Therapie mit kurativer Aussicht vorliegt und dass diese Patientengruppe damit offen für Phase I/II Studien mit neuen Medikamenten sein sollte. Hier könnte durch das Einbringen neuer Wirkmechanismen möglicherweise doch noch eine gute zweite Remission erreicht werden und damit eine kurative Chance eröffnet werden. Die Arbeit bietet damit eine klare Rationale für die Definition von Patientenkollektiven für Phase I/II Studien.

Outcome of children and adolescents with relapsed acute lymphoblastic leukaemia and non-response to salvage protocol therapy: A retrospective analysis of the ALL-REZ BFM Study Group

Arend von Stackelberg, Enrico Völzke, Jörn-Sven Köhl, Karl Seeger, André Schrauder, Gabriele Escherich, Günter Henze, Gesche Tallen, for the ALL-REZ BFM Study Group

Eur J Cancer. 2011 Jan;47(1):90-7; URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2010.09.020>

Abstract

Aim of the study: Non-response (NR) to treatment of childhood relapsed acute lymphoblastic leukaemia (ALL) is an end-point of protocol therapy. Subsequent management has not yet been standardised. This study analyses different approaches after NR to aid optimising future strategies.

Patients and methods: Ninety-three children with NR to treatment according to ALL relapse-protocols of the Berlin/Frankfurt/Muenster (BFM) Study Group (03/1990–2006/1999) were retrospectively assigned to a curative (C: intensive polychemotherapies, stem cell transplantation (SCT); n = 51), palliative (P: 1–2 antineoplastic agents; n = 23) or supportive (S: no antineoplastic therapy; n = 19) treatment approach.

Results: Median survival after diagnosis of NR were 121 (C), 89 (P) and 42 (S) days, respectively ($p < 0.001$). In cohort C, a complete remission (2ndCR) was obtained in 16/51 patients, among these 13 only after SCT, and nine children achieved partial remission. Ten of the 51 patients died from treatment-related complications, 39/51 from disease progression. Today, two patients are still in continuous CR after SCT. Adverse prognostic factors were overrepresented in the non-curative cohorts. Time-point of relapse and treatment after NR were independent predictors of survival duration. Most patients without antineoplastic treatment died at home, the majority of the others in the hospital.

Conclusions: Treatment after NR has been heterogeneous and customised. Therapies with curative intent are capable of inducing 2ndCR but associated with high treatment-related morbidity, -mortality and minimal survival. NR patients may, therefore, be ideal candidates for controlled phase I/II trials, thus offering them a chance to benefit from new drugs and promoting drug development for cohorts with better prognosis.

2.5 Zweitneoplasien bei Kindern nach Behandlung eines ALL-Rezidivs

Ein weiteres fatales Ereignis, das das ereignisfreie Überleben beeinträchtigt und damit als Studienendpunkt definiert ist, ist das Zweitmalignom. Zweitmalignome (SMN, secondary malignancy) entstehen aufgrund der hohen kumulativen Toxizität bestimmter Substanzen und Therapiemaßnahmen, wie z.B. dem Einsatz von Epipodophyllotoxinen (z.B. Etoposid) und Strahlentherapie.⁹⁷ Die vorliegende Arbeit stellt die Patienten mit SMN nach Behandlung im Rahmen der ALL-REZ BFM Studien zusammen. Die Hypothese dabei war, dass die Rate an SMN aufgrund der höheren kumulativen Belastung mit toxischen und SMN-induzierenden Substanzen höher ausfallen müsse, als bei Patienten mit ALL, die nur eine Ersttherapie erhalten haben. Darüber hinaus sollte das Entstehen der Zweitmalignome mit definierten Therapieelementen assoziiert werden, um das Risiko für SMN individuell einschätzen zu können und ggf. Elemente, die mit einer hohen SMN-Rate assoziiert sind, in zukünftigen Protokollen zu vermeiden oder zu reduzieren.

Die kumulative Inzidenz von Zweitmalignomen bei Kindern mit ALL-Rezidiv, die im Rahmen der ALL-REZ BM Studien behandelt wurden, liegt nach 15 Jahren bei 1,2% und damit nicht höher als bei Analysen der ALL-Ersterkrankung. Hohe kumulative Dosen von Etoposid, Cyclophosphamid und Schädelbestrahlung sowie die Durchführung einer allogenen HSZT waren assoziiert mit signifikant erhöhten SMN-Raten. Dabei blieben in einer multivariaten Analyse nur Etoposid und Cyclophosphamid unabhängige Risikofaktoren für die Entstehung von SMN.

Insgesamt kann damit das SMN in Anbetracht der anderen Risiken von Kindern mit ALL-Rezidiv wie die akute Therapietoxizität und das Folgerezidivrisiko als eher gering eingeschätzt werden. Allerdings zeigt das Entstehen von SMN insgesamt die Problematik der bislang unspezifisch toxisch ausgerichteten Polychemo- und Strahlentherapie auf und bietet eine Rationale („medical need“) für die Entwicklung neuer gezielter wirksamer Substanzen und deren Integration in kurative Therapiestrategien. Langfristiges Ziel ist der Ersatz unspezifisch toxischer Chemotherapie durch spezifisch wirksame wenig toxische Substanzen. Darüber hinaus bietet die Entstehung von Zweitmalignomen den Hinweis auf mögliche zugrunde liegende Tumorsyndrome wie das Li-Fraumeni Syndrom, oder mit Mismatch-Repair-Gen Mutationen eihergehende Syndrome (CCS, childhood cancer syndrome).^{34,98}

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

Borgmann A, Zinn C, Hartmann R, Herold R, Kaatsch P, Escherich G, Mörcke A, Henze G, von Stackelberg A; ALL-REZ BFM Study Group.

Eur J Cancer. 2008 Jan;44(2):257-68; URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2007.09.019>

Abstract

Purpose: To investigate the cumulative incidence of and the risk factors for developing second malignant neoplasms (SMN) in children and adolescents following treatment for relapse of acute lymphocytic leukaemia (ALL).

Methods: Patients (1376) up to 18 years of age with first relapse of non-B-cell ALL were treated and achieved a 2nd complete remission (CR). The treatment followed trial protocol in five consecutive multicentre trials of the ALL-REZ BFM Study Group between March 1983 and December 2001. The incidence of SMN was analysed, correlated with clinical and therapeutic parameters, and compared to the age-specific incidence rates of cancers as cited in German cancer registries.

Results: Out of the 1376 patients 21 were diagnosed with SMN including non-lymphoblastic leukaemia/myelodysplastic syndrome (n = 6), osteo-/Ewing's-/fibroblastic sarcoma (n = 4), B-cell ALL/lymphoma (n = 2), thyroid carcinoma (n = 2), basal cell carcinoma, adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, meningioma, malignant histiocytosis, glioblastoma and anaplastic astrocytoma (n = 1 each). The overall cumulative risk of SMN at 15 years (median follow-up of 13.1 years) was 1.26% ± 0.38% (SE). SMN was found to be significantly associated with stem cell transplantation (SCT), and high cumulative doses of cranial irradiation, etoposide and cyclophosphamide. In multivariate analysis etoposide (VP16) and cyclophosphamide (CY) were found to be independently associated with SMN (p = 0.047 and 0.002). Compared to the incidence of neoplasm in the age-matched population, there was a 10-fold increase of neoplasia.

Conclusions: Despite repeated exposure to intense frontline and relapse treatment (including multiagent chemotherapy, cranial irradiation and stem cell transplantation in some patients) the cumulative incidence of SMN was unexpectedly low, though significantly higher than in the general age-matched population. The association of SMN to SCT seemed to be a secondary effect at least partially mediated by exposure to high doses of VP16 and CY given for conditioning therapy.

2.6 Prognostische Bedeutung minimaler Resterkrankung vor allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation bei Kindern mit ALL-Rezidiv

Die Quantifizierung der minimalen Resterkrankung (MRD) nach Induktion einer zweiten Remission von Patienten mit intermediärem Risiko und KM Beteiligung hat zu einer klaren Indikation für eine allogene HSZT bei solchen mit unzureichendem Ansprechen geführt. Die vorliegende Arbeit fasst Daten einer Studie zusammen, die die Bedeutung der MRD-Last vor allogener HSZT untersucht. Obwohl Patienten in zweiter zytologischer Remission transplantiert wurden, erleiden etliche von ihnen ein Folgerezidiv nach HSZT. Hypothese der Arbeit war, dass Folgerezidive nach HSZT mit einer hohen MRD Last vor HSZT assoziiert sind und damit vorhergesagt werden können.

Die MRD Quantifizierung erfolgte mittels RQ-PCR und der bei Rezidivdiagnose erstellten klonspezifischen Markersonden. Die kumulative Inzidenz von Folgerezidiven nach HSZT war höher, je höher die MRD last vor SZT war. Die beste Diskriminierung von Patienten mit hohem Rezidivrisiko gegenüber solchen mit geringem Rezidivrisiko gelang durch den Grenzwert (cut-off) 10^{-4} . Patienten mit einer MRD Last von $\geq 10^{-4}$ hatten ein signifikant höheres Rezidivrisiko von 57% gegenüber den Patienten mit MRD $< 10^{-4}$ mit einer kumulativen Folgerezidivraten von 13%. Der Unterschied war bei Patienten mit intermediärem Risiko (S2) und HSZT Indikation prominenter als bei Patienten mit hohem Risiko (S3/4). In einer multivariaten Analyse war die MRD-Last vor HSZT der einzige unabhängige prognostische Faktor.

Die Daten zeigen, dass eine zytologische Remission hinsichtlich der subzytologischen Tumorlast heterogen ist und dass eine möglichst gute Remission mit einer möglichst niedrigen MRD Last vor HSZT anzustreben sind. Die Studie bietet eine Rationale für interventionelle Maßnahmen zur Senkung der MRD Last vor HSZT. Darüber hinaus bietet sie eine Rationale für die Modifikation von Maßnahmen nach HSZT bei Patienten mit hoher MRD Last, um den allogenen antileukämischen Immuneffekt zu intensivieren. Dies betrifft insbesondere eine frühzeitige Reduktion der immunsuppressiven Maßnahmen und der Einsatz von monoklonalen Antikörpern nach HSZT. Die Arbeit geht darüber hinaus ein in die Diskussion mit den Behörden und der Industrie, ob MRD ein Eintritts- und Endpunkt für klinische Studien ggf. mit Zulassungsrelevanz sein kann.

Prognostic value of minimal residual disease quantification before allogeneic stem-cell transplantation in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia: the ALL-REZ BFM Study Group.

Bader P, Kreyenberg H, Henze GH, Eckert C, Reising M, Willasch A, Barth A, Borkhardt A, Peters C, Handgretinger R, Sykora KW, Holter W, Kabisch H, Klingebiel T, von Stackelberg A; ALL-REZ BFM Study Group.

J Clin Oncol. 2009 Jan 20;27(3):377-84; URL: <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2008.17.6065>

Abstract

PURPOSE: Minimal residual disease (MRD) before allogeneic stem-cell transplantation was shown to predict outcome in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia (ALL) in retrospective analysis. To verify this, the Acute Lymphoblastic Leukemia Relapse Berlin-Frankfurt-Münster (ALL-REZ BFM) Study Group conducted a prospective trial.

PATIENTS AND METHODS: Between March 1999 and July 2005, 91 children with relapsed ALL treated according to the ALL-REZ BFM 96 or 2002 protocols and receiving stem-cell transplantation in \geq second remission were enrolled. MRD quantification was performed by real-time polymerase chain reaction using T-cell receptor and immunoglobulin gene rearrangements.

RESULTS: Probability of event-free survival (pEFS) and cumulative incidence of relapse (CIR) in 45 patients with MRD $\geq 10^{-4}$ leukemic cells was 0.27 and 0.57 compared with 0.60 and 0.13 in 46 patients with MRD less than 10^{-4} leukemic cells (EFS, $P = .004$; CIR, $P < .001$). Intermediate-risk patients (strategic group S1) with MRD $\geq 10^{-4}$ leukemic cells ($n = 14$) had a pEFS of 0.20 and CIR of 0.73, whereas patients with MRD less than 10^{-4} leukemic cells ($n = 21$) had a pEFS of 0.68 and CIR of 0.09 (EFS, $P = .020$; CIR, $P < .001$). High-risk patients (S3/4, third complete remission) who received transplantation with an MRD load of less than 10^{-4} leukemic cells ($n = 25$) showed a pEFS and CIR of 0.53 and 0.18, respectively. In contrast, pEFS and CIR were 0.30 and 0.50 in patients who received transplantation with an MRD load of $\geq 10^{-4}$ leukemic cells. Multivariate Cox regression analysis revealed MRD as the only independent parameter predictive for EFS ($P = .006$).

CONCLUSION: MRD is an important predictor for post-transplantation outcome. As a result, new strategies with modified stem-cell transplantation procedures will be evaluated in ALL-BFM trials.

2.7 Blinatumomab zur Remissionsinduktion bei therapierefraktärem ALL-Rezidiv

Die in der Habilitationsschrift aufgeführten Arbeiten zeigen einen klaren Bedarf für die Entwicklung neuer gezielt wirksamer Substanzen auf, zunächst für Patienten mit unzureichender Heilungschance mit konventioneller Therapie, im Weiteren aber auch für alle Patienten zur Vermeidung von unnötiger Organtoxizität und genetischen Risiken wie SMN. Die vorliegende Arbeit zeigt exemplarisch den Einsatz eines neuen Medikamentes mit einem völlig neuen Wirkmechanismus, der in der Lage ist, bislang unüberwindbare Resistenzen der Leukämieklone zu durchbrechen und damit bislang palliativen Patienten eine kurative Chance zu eröffnen.

Blinatumomab ist ein artifizierender T-Zell aktivierender bispezifischer Antikörper (BiTE), der aus einer Immunglobulinkette mit zwei antigenspezifischen Domänen besteht. Er bindet T-Zellen (effector memory cells) über das CD3 Antigen an CD19 positive lymphoblastische Leukämiezellen und induziert damit eine T-Zell-vermittelte Zytolyse der Leukämiezelle. Dieser Effekt erfolgt bei kleinsten Mengen des Antikörpers, so dass er im Mikrogramm-Bereich dosiert wird. Die Reaktion der T-Zellen ist insofern unspezifisch, als dass sie für ein beliebiges anderes Antigen „geprimt“ sind, und nur über den Antikörper an die Zielzelle gebunden werden und damit ihre zelluläre Toxizität gegen diese Zelle richten. Blinatumomab wurde bei erwachsenen Patienten mit MRD positiver ALL sehr erfolgreich eingesetzt und gut vertragen.⁹⁹ Daher wurden im begrenzten Maße individuelle Heilversuche erlaubt, um den Mechanismus bei Kindern in sonst aussichtsloser Situation zur Anwendung zu bringen, bevor eine formale Phase I/II aufgesetzt werden kann.

Die vorliegende Arbeit beschreibt die Behandlung von 3 Kindern/Jugendlichen mit mehrfachem und refraktärem Rezidiv einer ALL. Alle 3 Patienten erreichten mit Blinatumomab rasch eine MRD negative Remission. Ein Patient wurde erneut von einem haploidenten Spender transplantiert und befindet sich seitdem in anhaltender Remission seiner Erkrankung. Ein Patient wurde aufgrund seines bereits vor Therapiebeginn bestehenden schlechten Allgemeinzustandes nicht weiter behandelt in der Hoffnung, dass die antileukämische Reaktion der T-Zellen anhalten werde. Er erlitt rasch ein Folgerezidiv und verstarb. Der dritte Patient wurde wegen seiner intensiven Vorbehandlung ebenfalls nicht erneut transplantiert und erhielt mehrere 28-Tage-Zyklen des Medikaments mit einer hervorragenden Lebensqualität. Letztendlich erlitt auch er ein Folgerezidiv und verstarb.

Die Arbeit beschreibt zum ersten Mal den Einsatz von Blinatumomab bei Kindern und bei Patienten mit Zustand nach allogener HSZT. Sie zeigt, dass Blinatumomab auch in einer alloimmunologischen Situation eingesetzt werden kann, ohne eine GVHD zu induzieren. Sie

zeigt auch, dass Patienten mit einer bislang palliativen Situation durch eine neue Substanz doch noch kurativ behandelt werden können. Die Arbeit war Grundlage für die Konzeption einer formalen Phase I Studie mit Blinatumomab zur Dosisfindung bei Kindern und Jugendlichen sowie einer anschließenden Phase II Studie zur Evaluierung der Effektivität und Verträglichkeit der gefundenen Dosis bei einer größeren Gruppe von Patienten mit zweitem oder refraktärem Rezidiv einer ALL. Das Vorgehen bei Blinatumomab kann als exemplarisch angesehen werden für die Entwicklung zahlreicher weitere neuer Substanzen bei Kindern mit ALL.

Complete remission after blinatumomab-induced donor T-cell activation in three pediatric patients with post-transplant relapsed acute lymphoblastic leukemia.

Handgretinger R, Zugmaier G, Henze G, Kreyenberg H, Lang P, von Stackelberg A

Leukemia. 2011 Jan;25(1):181-4. URL: <http://dx.doi.org/10.1038/leu.2010.239>

No abstract

3 DISKUSSION

Die akute lymphoblastische Leukämie ist die häufigste bösartige Erkrankung im Kindesalter. Obwohl die Rezidivinzidenz durch Optimierung der Chemotherapie-Protokolle und Verbesserung der risikoadaptierten Behandlung deutlich gesenkt werden konnte und auch die Ergebnisse der Rezidivbehandlung verbessert werden konnten, sterben an der ALL immer noch mehr Kinder als an jeder anderen bösartigen Erkrankung.⁶ Somit besteht nach wie vor ein hoher Bedarf für eine Verbesserung der Behandlungsergebnisse. Gerade bei der Behandlung von Kindern mit ALL-Rezidiv gibt es ein erhebliches Verbesserungspotential, da nur etwa 50% der Patienten den Rückfall längerfristig überlebt. Seit 1983 hat die ALL-REZ BFM Studiengruppe konsequent Therapieoptimierungsstudien durchgeführt, um die Prognose auch von Patienten mit ALL-Rezidiv zu verbessern. Während die ALL-REZ BFM Studiengruppe auf langjährige prospektiv erhobene und gut dokumentierte Daten von Patienten mit ALL-Rezidiv zurückgreifen kann, wurden diese Patienten in anderen Studiengruppen oft individuell oder in kleinen Phase II Studien behandelt, so dass über die eigentliche Therapie kaum Aussagen gemacht werden kann.²¹ Dies hat sich in den letzten Jahren geändert, da Kinder mit ALL-Rezidiv der Schlüssel zur Entwicklung neuer Substanzen sind, die erst bei Patienten mit schlechter Prognose nach konventioneller Therapie angewandt werden können, bevor ihr Einsatz bei Patienten mit Ersterkrankung und guter Prognose gerechtfertigt ist.^{56,57} Aufgrund der langjährigen konsequenten Entwicklung der ALL-REZ BFM Studien gelten diese als Standard-Therapie für Kinder mit ALL-Rezidiv weltweit und die ALL-REZ BFM Studienzentrale in Berlin erreichen täglich Anfragen aus aller Welt zu Patienten, die nach den etablierten ALL-REZ BFM Protokollen behandelt werden. Die ALL-REZ BFM Studiengruppe hat maßgeblich die Therapiestrategie für Kinder mit ALL-Rezidiv in Europa und in der Internationalen BFM Studiengruppe (I-BFM SG) zugehörigen Ländern beeinflusst. Die Risikostratifizierung S1-4 wird von den beteiligten Gruppen angewandt und zukünftige Studien sehen die ALL-REZ BFM Therapie als Standard-Therapie an, die als Grundlage für den Vergleich mit anderen, neuen und innovativen Konzepten dient.¹⁰⁰ Die in der Habilitationsschrift eingeschlossenen Arbeiten zeigen schlaglichtartig und exemplarisch wichtige Entwicklungsphasen der ALL-REZ BFM Studien, relevante, da problematische Patienten-Subgruppen, für die die Standard Therapie keine ausreichenden Heilungsaussichten gewährt, und Ansätze, wie es zu einer Verbesserung der prognostischen Klassifizierung und der Therapie durch Integration neuer Substanzen kommen kann.

3.1 Optimierung von Standard Chemotherapie

Seit Beginn der 1970er Jahre sind kaum neue Substanzen zur Behandlung von ALL entwickelt worden und auf den Markt gekommen. Die enorme Verbesserung der Prognose

von Kindern mit ALL wurde alleinig durch Kombination der vorhandenen Standard Präparate, Optimierung der Therapieabfolge und -dauer sowie Entwicklung von prognostischen Parametern erreicht. Selbst die Therapieerfolge des letzten Jahrzehntes wurden durch Optimierung der „guten alten“ antileukämischen Substanzen wie der Glucokortikoide, der Nukleosidanaloga und Antimetabolite, der Anthrazykline, sowie der Asparaginase-Präparate erreicht.^{2,4,101} Eine wichtige Entwicklung bei der Behandlung der ALL ist die hämatopoetische Stammzelltransplantation, die durch den allogenen Immuneffekt einen völlig neuen antileukämischen Wirkmechanismus entfaltet, die aber durch erhebliche akute Toxizität und Spätfolgen wie chronische GVDH, Infertilität, Katarakt und Zweitmalignome nur Patienten mit ansonsten inakzeptabler Prognose vorbehalten bleibt.⁶⁸ Eine weitere entscheidende Entwicklung ist die therapeutische Protektion des ZNS. Diese wurde in den 70er Jahren durch Schädelbestrahlung gewährleistet.^{102,103} Da die Bestrahlung des ZNS mit neuro-psychologischen Entwicklungsdefiziten und mit der Entstehung von Zweitmalignomen assoziiert ist, wurde sie zunehmend und wirkungsvoll durch intrathekale Chemotherapie ersetzt.¹⁰⁴

Vergleichbar war die Entwicklung der Behandlung von Kindern mit Rezidiv einer ALL. Mit dem Einsatz der gleichen antileukämisch wirksamen Substanzen allerdings in intensivierter Form konnten zweite Remissionen mit zum Teil anhaltender Rezidivfreiheit erreicht werden. Im Vergleich zur Erstbehandlung waren die Ergebnisse immer deutlich schlechter. Daher wurde für einen erheblich größeren Anteil an Patienten die Indikation für eine allogene HSZT gestellt.^{1,19}

In diesem Kontext sind die Ergebnisse der Studie ALL-REZ BFM 90 zu interpretieren (Kapitel 2.1 und 2.2, Seiten 18 und 27). Die Randomisierung der MTX Dosis 1 versus 5 g/m² führte zu der Erkenntnis, dass die niedrige Dosis ausreichend für Patienten mit ALL-Rezidiv war. Damit konnte für zukünftige Patienten die höhere kumulative Dosis und das aufwändigere Management der höheren Dosis vermieden werden. Die Einführung des Blockes R3 entsprach ebenfalls dem Einsatz bereits bekannter und etablierter Medikamente in einer modifizierten Kombination und Dosis. Auch hier kam es zu keiner Verbesserung der Ergebnisse, so dass der Block in zukünftigen Studien nicht mehr zur Anwendung kam. Bei ungeprüfter Hinzunahme des R3 Blockes wäre dieser möglicherweise unkritisch beibehalten worden und hätte sich als Standard Therapie etablieren können. Während die Hauptstudienfragen eher „Negativergebnisse“ hervorbrachten, konnten viele weitere wertvolle Erkenntnisse gewonnen werden, die für die Optimierung der Therapie von Kindern mit ALL-Rezidiv entscheidend waren. Dies betrifft die Bestätigung der Indikation für eine HSZT bei Patienten der Hochrisikogruppen, die Bestätigung von Zeitpunkt, Ort und Immunphänotyp als entscheidende Risikofaktoren, und die Reintegration von PPG Patienten in die nachfolgenden

Hauptstudien. Neben diesen Erkenntnissen gewährleistet die Studienstruktur eine optimierte Referenzdiagnostik der Patienten und eine rationale Diagnostik und Therapie sowie eine individuelle Beratung bei Problemfällen.

Die britische Studiengruppe hatte in Kollaboration mit anderen Gruppen parallel zur ALL-REZ BFM Gruppe eine differente Therapiestrategie entwickelt, die mit eher kontinuierlichen als mit blockartigen Therapien vergleichbar gute Ergebnisse zeigte. Da in den 90er Jahren die Erstbehandlungsergebnisse der britischen Gruppe deutlich schlechter als die der BFM Gruppe waren, waren die Ergebnisse der Rezidivstrategien nur eingeschränkt vergleichbar. Die in den 2000er Jahren durchgeführte ALL-R3 Studie verglich die Wirksamkeit und Verträglichkeit der Anthrazykline Idarubicin und Mitoxantron im Rahmen der Induktionstherapie. Beide Medikamente wurden jeweils an Tag 1 und 2 der Induktionstherapie verabreicht. Dabei zeigte die Gruppe mit Mitoxantron ein signifikant besseres EFS als die mit Idarubicin, so dass die Studie nach einer entsprechenden Interimanalyse abgebrochen werden musste. Interessanterweise schlug sich die unterschiedliche Effektivität beider Substanzen nicht in einer differenten Remissionsrate oder einem unterschiedlichen Ansprechen auf MRD Ebene nieder sondern kam erst durch eine unterschiedliche Rezidivfreiheit überwiegend nach allogener HSZT zum Vorschein.⁵⁶ Die Ergebnisse fanden international großen Anklang und Mitoxantron gilt seit der prominenten Publikation der Daten als das attraktive Anthrazyklin für Patienten mit ALL-Rezidiv. Die US-amerikanische COG stellte auf dieser Basis die Rezidiv Therapie auf die ALL-R3 Strategie des Mitoxantron Armes um. Im Vergleich der ALL-R3 Daten mit den ALL-REZ BFM Daten der aktuellen Studie 2002 muss man jedoch feststellen, dass der Mitoxantronzweig im Ergebnis beider randomisierten Zweigen der (Protokoll II-IDA versus R-Blocke) entspricht, während der Idarubicin Zweig zu einer deutlich schlechteren EFS Rate führt.⁷⁴ Da Idarubicin entscheidender Bestandteil des Protokoll II-IDA der BFM Studie darstellt, muss angenommen werden, dass Idarubicin mit einer Gabe an Tag 1 und 2 im Gegensatz zu der sonst üblichen wöchentlichen Gabe z.B. für 4 Wochen möglicherweise nicht adäquat eingesetzt wurde und dass das ALL-R3 Ergebnis nicht eine bessere Wirksamkeit von Mitoxantron belegt, sondern allenfalls Hinweise auf die erforderliche Applikationsweise von Idarubicin gibt.

Patienten, die nach mehrfacher intensiver Chemotherapie und ggf. allogener HSZT als geheilt angesehen werden, tragen eine große Bürde an kumulativer Therapietoxizität mit sich, die die Organfunktionen betreffen kann, die aber auch das mit zunehmender Zeitdauer ansteigende kumulative Risiko an einem Zweitmalignom zu erkranken, beinhaltet. Die in der Schrift zitierte und diskutierte Arbeit zeigt exemplarisch die Bemühungen, Therapieelemente zu identifizieren, die mit dem Auftreten von Zweitmalignomen assoziiert sind. Da es sich aber

meist um essentielle Bestandteile der Standard Therapie handelt, kann nicht ohne ein erhöhtes Risiko für einen Rückfall der Erkrankung auf solche Element verzichtet werden. Die Entwicklung von neuen gezielten wirksamen Substanzen verspricht allerdings, zukünftig konventionelle Therapie ohne Wirkungsverlust durch diese Substanzen ersetzen zu können und damit das Risiko für Zweitmalignome reduzieren oder sogar eliminieren zu können.

3.2 Definition von Subgruppen mit Bedarf für innovative Therapien

Aktuelle Analysen der ALL-BFM und anderer Gruppen zeigen eine Überlebensrate der Patienten von über 90%. Da in der Erstbehandlung kaum Patienten in Remission versterben, stammen die letztlich nicht überlebenden Patienten überwiegend aus denen mit Rückfall der Erkrankung. Innerhalb der Patienten mit ALL-Rezidiv überleben gut 50% der Kinder. Somit ist es essentiell, die Patientengruppen zu definieren, die im Rezidiv trotz intensiver Standard Therapie und in den meisten Fällen allogener HSZT nicht ihre Erkrankung überleben und damit Kandidaten für alternative experimentelle Strategien sind.

Die Arbeit über Patienten mit Rezidiv lymphoblastischer Lymphome zeigt, dass diese Patientengruppe ein katastrophales Ergebnis mit konventionellen intensiven Therapiestrategien hat. Die schlechte Remissionsrate rechtfertigt schon bei Induktion den Einsatz alternativer experimenteller Ansätze. Leider gibt es kaum immuntherapeutische Ansätze für die Behandlung von T-ALL/LBL im Gegensatz zu B-Vorläufer Erkrankungen, für die zahlreiche hochattraktive monoklonale Antikörper in Entwicklung sind. Zwei neue Substanzen weisen eine gewisse T-Spezifität auf: Forodesin ist ein Purin Nukleosid Phosphorylase (PNP) Inhibitor. Durch diese Inhibition entsteht ein intrazellulärer Exzess von dem zytotoxischen Deoxiguanosin Triphosphat, welches zum Zelltod führt. Da T-Zellen und T-Zell Leukämien und Lymphome über eine starke Kinase Aktivität hin zur Kumulation der toxischen Substanz und über eine geringe Nukleotidaseaktivität zum Abbau der toxischen Substanz verfügen, sind sie besonders empfindlich gegenüber der Substanz. Forodesin wurde in einer Phase I/II Studie in Europa bei Kindern mit refraktärer T-ALL geprüft.^{105,106} Diese Studie wurde jedoch wegen mangelnder Effektivität der Substanz in der eingeschlossenen Patientengruppe und auch wegen unzureichender Rekrutierung vorzeitig und ohne Ergebnis geschlossen. Ein weiteres Nukleosid Analogon, Nelarabin, zeigte dagegen eine gute antileukämische Wirksamkeit bei Patienten mit T-ALL und hat eine Zulassung für zweite oder refraktäre Rezidive einer T-ALL.¹⁰⁷⁻¹⁰⁹ Aktuell wird eine Phase I Kombinations-Studie zur Etablierung der Kombination Nelarabin / Cyclophosphamid / Etoposid durchgeführt. Es ist geplant, das etablierte Element bei der Induktion von Patienten mit T-ALL/LBL Rezidiv im Rahmen einer Phase II Studie einzusetzen und mit einer historische Kontrolle zu vergleichen.

Patienten mit Nonresponse auf die Rezidiv-Induktionstherapie haben nach Daten der in der Habilitationsschrift eingeschlossenen Arbeit eine infauste Prognose unabhängig von der Art und Intensität der eingesetzten Therapie. Sie benötigen entweder eine adäquate palliative möglichst häusliche Betreuung mit dem Ziel die Qualität der noch verbliebenen Lebenszeit aufrecht zu erhalten und aufwändige stationäre Behandlungen zu vermeiden; oder sie werden in Phase I/II Studien zur Entwicklung von neuen Substanzen eingeschlossen, die aufgrund der neuen Wirkmechanismen möglicherweise Resistenzen der Erkrankung durchbrechen können. Auch bei solchen Studien muss die prinzipiell palliative Situation der Patienten beachtet werden und die Patienten dürfen nicht mit studienbedingten stationären Aufenthalten, aufwändigen Serien von Blutentnahme für pharmakokinetische Studien und regulatorischen Formalitäten über die Maßen belastet werden. Darüber hinaus darf ihnen keine falsche Hoffnung gemacht werden. Meist sind Familien in einer solchen Situation und bei einem angemessenen Aufwand interessiert, an Phase I/II Studien teilzunehmen, insbesondere wenn die zu prüfende Substanz einigermaßen gut verträglich ist. Um den Interessenskonflikt der beteiligten Ärzte und den individuellen Konflikt der betroffenen Familien zu beleuchten und eine für alle Seiten angemessene Strategie für die Medikamentenentwicklung bei Patienten in palliativer Situation zu entwickeln, ist ein von Elternvertretern und Sozialwissenschaftlern besetztes Ethik-Board begleitend zu der aktuellen internationalen Studien zur Behandlung von Kindern mit ALL-Rezidiv IntReALL 2010 einberufen worden. Dieses soll den Prozess der Studienentstehung und der Entwicklung längerfristiger Strategien begleiten und mitgestalten.¹¹⁰

3.3 Entwicklung innovativer diagnostischer Technologien

Die Diagnostik von akuten lymphoblastischen Leukämien befindet sich in einer konstanten Entwicklung. Biotechnologische Fortschritte erlauben dabei eine umfassende Charakterisierung der Leukämiezellen. Die Quantifizierung der minimalen Resterkrankung mit hoch sensitiven Methoden wie der Durchflusszytometrie oder der RQ-PCR erlaubt eine Nachverfolgung des leukämischen Klons im Therapieverlauf bis weit unter die zytologische Nachweisgrenze. Während in den USA die durchflusszytometrische MRD Quantifizierung etabliert wurde, hat sich in Europa als goldener Standard die Quantifizierung von T-Zell Rezeptor und Immunglobulin-Rearrangements durch RQ-PCR durchgesetzt und ist inzwischen fester Bestandteil der Standarddiagnostik im Rahmen von Therapieprotokollen der ALL. Während in der Vergangenheit die Methoden eher in einer konkurrierenden Situation war genommen und diskutiert wurden,¹¹¹ werden sie inzwischen parallel eingesetzt und ergänzend interpretiert. Die Viel-Farben Durchflusszytometrie erlaubt die gleichzeitige Anfärbung und Quantifizierung von Antigenexpression von 8 verschiedenen Farben. Damit können gleichzeitig aberrante Expressionen auf einer Zelle identifiziert werden, die diese als

Leukämiezelle auch in einem sehr niedrigen quantitativen Bereich erkennen lässt. Gleichzeitig kann der Hintergrund der normalen hämatopoetischen Zellen beurteilt und auf die Restleukämie bezogen werden. Damit eignet sich die Methode zur Quantifizierung minimaler Resterkrankung und wird als solche inzwischen auch weltweit eingesetzt.^{40,41,43} Hochinteressant ist der Einsatz von durchflusszytometrischen Methoden auch deshalb, weil ein Ziel-Antigen einer immunologischen Therapie parallel quantifiziert werden kann und damit die Herabregulierung eines solchen Antigens oder auch eine Selektion eines Antigen negativen Sub-Klons beurteilt werden kann. Damit wird die Durchflusszytometrie zunehmend parallel zu der RQ-PCR vermittelten MRD Quantifizierung eingesetzt, um dissoziierte Effekte durch gezielte antileukämische Therapie und Selektion von durchflusszytometrisch erkennbaren Subklonen sicher beurteilen zu können. Schließlich befindet sich die genetische Charakterisierung von Leukämiezellen in einer dramatischen Entwicklung. Während in der vergangenen Dekade die Diagnostik bestimmt war von der Detektion klassischer zytogenetischer struktureller Aberration wie der Translokationen t(9;22), t(12;21); t(4;11) und t(1,19), werden zunehmend klinisch relevante nicht klassische numerische Aberrationen und Mutationen entdeckt, die sowohl prognostisch relevant sein können als auch eine Angriffsfläche für gezielt wirksame Substanzen bieten können. Ein aktuelles Beispiel ist die mit CRLF2 Mutation assoziierte JAK Mutation, die zu einer Aktivierung des JAK-Stat Signalweges und damit zu einer aberranten Transkription und Proliferation führt.¹¹² Dieser Effekt kann durch den JAK-Inhibitor Ruxolitinib blockiert werden, der somit spezifisch antileukämisch wirksam werden kann.¹¹³ Frühe klinische Studien mit der Substanz werden zurzeit durchgeführt. Die in dieser Schrift aufgeführte Arbeit zu MRD vor allogener HSZT belegt exemplarisch die klinische Bedeutsamkeit von innovativen diagnostischen Methoden. Die Methode erlaubt erstmalig Patienten-Gruppen zu identifizieren, die eine akzeptable Rezidivfreiheit nach allogener HSZT haben und damit mit diesem Standardvorgehen zunächst angemessen behandelt sind, sowie dagegen solche, die ein hohes Risiko für ein Folgerezidiv nach allogener HSZT haben und für die neue und alternative Behandlungsstrategien entwickelt werden müssen. In diesem Zusammenhang wird intensiv diskutiert, inwiefern MRD ein Einschlusskriterium und / oder ein Endpunkt für klinische Studien sein kann. Die Phase II Studie mit dem Einsatz von Blinatumomab bei erwachsenen Patienten mit ALL und persistierendem MRD ist ein Beispiel für die klinische Relevanz von MRD als Einschlusskriterium und für die klinische Bedeutung von MRD Reduktion und Elimination.⁹⁹ Die Etablierung des molekularen Rezidivs als Endpunkt für klinische Studien hätte allerdings erhebliche Implikationen für das statistische Design der Studien und müsste zunächst von den regulatorischen Behörden anerkannt werden. Dagegen ist so gut wie wiederlegt, dass sich MRD nach Induktionstherapie als Surrogatparameter für ereignisfreies oder gar Gesamt-Überleben eignet. Während MRD bei homogener Induktionstherapie gut

Patientengruppen mit sensiblen und resistenten Erkrankungen differenzieren kann, kann man bei unterschiedlichen Induktionstherapien nicht auf deren längerfristige Effektivität (EFS) schließen, wenn man den MRD-Response vergleicht. Dies konnte bei dem Vergleich von Mitoxantron versus Idarubicin bei Kindern mit ALL-Rezidiv durch die ALL-R3 Studie eindrucksvoll belegt werden.⁵⁶

3.4 Entwicklung und Integration neuer Substanzen

Die Entwicklung von neuen Substanzen mit Wirkmechanismen, die völlig anders sind als die der bisher eingesetzten Chemotherapie, geschieht zunächst bei Patienten, die mit der herkömmlichen Therapie kaum Aussicht auf Heilung haben und bei denen das Risiko, eine noch relativ unbekannte Substanz einzusetzen, vertretbar ist. Die in der Schrift zitierten individuellen Heilversuche zeigen eine eindrucksvolle Aktivität von Blinatumomab bei Patienten mit komplett therapierefraktären Erkrankungen. Immerhin einer von drei Patienten konnte mit einer anschließenden Zweit-Stammzelltransplantation längerfristig überleben. Patienten mit refraktären Leukämien befinden sich prinzipiell in einer palliativen Situation und haben ein hohes Risiko, in Kürze zu versterben. In dieser Situation stellt die Implementierung von Phase I/II Studien zur Entwicklung von Medikamenten ein ethisches Dilemma dar, da Patienten in dieser Situation in erster Linie zu Hause sein sollten und sich auf die familiären und persönlichen Aspekte konzentrieren sollten. Eine frühe klinische Studie bedeutet immer eine erneute intensivere Anbindung an das behandelnde Krankenhaus und meist relativ umfangreiche Diagnostik und Dokumentation. Die Implementierung von Studien mit neuen Substanzen in der Kinderonkologie sollte diesen Aspekt und damit die individuellen persönlichen Interessen der betroffenen Patienten und Familien angemessen berücksichtigen.⁷⁵ Die klinische Anwendung der Substanz Blinatumomab zeigt aber auch exemplarisch, dass neue Substanzen mit einem günstigen Nebenwirkungsprofil sich gut als Palliativtherapeutika eignen können. Bei Senioren, die nach Erreichen einer MRD negativen Remission aus gesundheitlichen Gründen nicht einer toxischen allogenen HSZT ausgesetzt werden können, wurden bis zu 5 jeweils 6-wöchige Zyklen der Substanz im häuslichen Umfeld und bei hervorragender Lebensqualität verabreicht.⁹⁴ Längerfristiges Ziel ist es, neue Substanzen, die sich in den frühen klinischen Studien bewährt haben, systematisch und kontrolliert in die kurativen Therapiekonzepte zu integrieren und letztlich unspezifische toxische Therapie durch gezielte gut verträgliche Therapie zu ersetzen.

3.5 Internationale Kollaboration

Selbst die ALL als häufigste bösartige Erkrankung im Kindesalter erfüllt die Kriterien einer seltenen Erkrankung. Patienten mit rezidivierender ALL sind dementsprechend noch seltener, extrem selten sind Patienten mit refraktärer ALL oder zweitem Rezidiv. Die Erfahrung der

letzten 15 Jahre zeigen, dass bei Kindern mit ALL-Rezidiv Phase III Studien mit kurativer Intention nicht mehr im nationalen Kontext durchführbar sind sondern dass es internationaler Kollaborationen bedarf, um genügend Patienten für prospektive kontrollierte Phase III Studien rekrutieren zu können. Eine solche Kollaboration wurde durch das IntReALL Konsortium gegründet. Die Gruppe befasst sich mit der Diagnostik und Behandlung von Kindern mit Rezidiv einer ALL sowie mit der Implementierung von frühen Arzneimittelstudien für Kinder mit refraktärer oder mehrfach rezidivierter ALL in Europa und einigen außereuropäischen Ländern. Das IntReALL Projekt erhält eine umfangreiche Förderung durch die Europäische Union im Rahmen der 7. Rahmen Programms (FP7).¹¹⁰ Dadurch wird die gemeinnützige Intention der Gruppe anerkannt und unterstützt, Therapiekonzepte für Kinder mit ALL-Rezidiv zu optimieren, neue Substanzen und untersuchen und ggf. in die kurativen Therapiekonzepte zu integrieren ohne kommerzielle Interessen und somit im alleinigen Interesse der betroffenen Patienten. Das IntReALL Konsortium kollaboriert eng zusammen mit anderen akademischen Organisationen, die die Behandlung von krebskranken Kindern und die Entwicklung neuer Substanzen bei diesen zum Ziel hat. Dies ist einerseits das ENCCA Projekt¹¹⁴ und andererseits das Projekt ITCC (Innovative Therapies for Children and Adolescents with Cancer).¹¹⁵ Frühe Studien zur Testung neuer Substanzen finden nicht nur im internationalen Europäischen Rahmen statt sondern zunehmend auch im transatlantischen Kontext. Dies betrifft die Phase I/II Studie zur Etablierung einer sicheren Dosis und zur Untersuchung der Verträglichkeit und Aktivität von Blinatumomab bei Kindern mit refraktärem oder zweiten Rezidiv einer ALL und Studien bei Kindern mit T-ALL.

3.6 Ausblick

Weiterhin ist die Durchführung von Therapieoptimierungsstudien bei Kindern mit ALL notwendig. Während in der Vergangenheit solche Studien überwiegend Therapieintensivierungen mit sich gebracht haben, werden zunehmend auch Therapiereduktionen bei Kindern mit sehr guter Prognose geprüft. Solche Patientengruppen werden überwiegend durch die Quantifizierung von MRD identifiziert. Diese Gruppen werden wahrscheinlich überbehandelt und einer unnötigen Toxizität ausgesetzt. Dies zu belegen ist schwierig und bedarf großer „Nicht-Unterlegenheitsstudien“. Die weitere Entwicklung gezielt wirksamer Substanzen verspricht individualisierte effektivere Therapiestrategien mit deutlich weniger akuten und langfristigen Nebenwirkungen. Vordringliche Aufgabe der akademischen Studiengruppen ist es hier, eine kritische wissenschaftliche Haltung zu bewahren, bei aller Mühsal gute und aussagekräftige Studien zu organisieren und das Feld der Behandlung und Heilung von krebskranken Menschen nicht der überwiegend kommerziell getriebenen Initiative der pharmazeutischen Industrie zu überlassen.

4 ZUSAMMENFASSUNG

Die akute lymphoblastische Leukämie im Kindesalter hat mit heutigen Methoden eine Heilungsrate von über 90%. Dagegen überleben nur etwa 50% der Kinder mit Rückfall einer ALL trotz intensiver Chemotherapie und HSZT bei den meisten Patienten. Somit besteht bei Kindern mit ALL-Rezidiv ein dringender Bedarf für die weitere Optimierung der Standardtherapie, der besseren Charakterisierung von biologischen und prognostischen Subgruppen sowie für neue Medikamente mit anderen idealerweise gezielteren Wirkmechanismen, die in der Lage sind, Therapieresistenz der leukämischen Klone zu durchbrechen. Die ALL-REZ BFM Studiengruppe hat seit nunmehr 30 Jahren Therapieoptimierungsstudien durchgeführt und damit die Prognose der Kinder mit ALL-Rezidiv konsequent verbessert. Dabei wurde insbesondere die Dosierung und der Verabreichungsmodus von hoch dosiertem Methotrexat in prospektiven randomisierten Studien untersucht, wobei in der Studie ALL-REZ BFM 90 die Dosis von 1g/m^2 mit einer Infusionsdauer von 36 und einer reduzierten Leukovorin Rescue als optimales Konzept etabliert werden konnten. Neben den randomisierten Fragen konnte diese Studie eine Reihe weiterer Erkenntnisse über die biologische Charakteristik der Erkrankung, prognostische Faktoren und Therapieverbesserungen im historischen Vergleich erarbeiten. Die intensive Chemotherapie und die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation ist verbunden mit akuten Nebenwirkungen und Spätfolgen zu denen auch das Auftreten von Zweitmalignomen gehört. Im Verlauf der ALL-REZ BFM Studien konnten Patientengruppen definiert werden, die eine besonders schlechte Prognose haben und mit konventioneller Therapie nicht heilbar sind. Zu diesen zählen Patienten mit Rezidiv von lymphoblastischen Lymphomen, sowie Patienten mit Nonresponse auf die konventionelle Rezidiv-Induktionstherapie. Innovative diagnostische Verfahren erlauben darüber hinaus, weitere Patientengruppen zu definieren, die ein hohes Folgerezidivrisiko trotz intensiver konventioneller Therapie haben. Dazu zählt die Quantifizierung minimaler Resterkrankung im Therapieverlauf durch molekularbiologische Methoden. Insbesondere Patienten mit einer hohen minimalen Resterkrankung vor allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation haben ein hohes Risiko für ein erneutes ALL-Rezidiv mit dann infauster Prognose. Die so definierten Patientengruppen haben neben solchen mit Folgerezidiv einer ALL einen dringenden Bedarf für die Einführung von neuen Substanzen mit anderen Wirkmechanismen als die der konventionellen Chemotherapie und idealerweise mit gezielter leukämiespezifischer Aktivität und geringeren akuten und langfristigen Nebenwirkungen. Die ALL-REZ BFM Studiengruppe beteiligt sich an einem Programm zur Entwicklung von neuen Substanzen bei ALL im Kindesalter, das eine enge Interaktion mit den zuständigen Behörden, der pharmazeutischen Industrie und den involvierten akademischen Gruppen

erfordert. Die zukünftigen Strategien zur Behandlung von Kindern mit rezidivierender und/oder refraktärer ALL werden in einem durch die EU finanzierten Projekt international harmonisiert und erlauben die Durchführung von prospektiven randomisierten Studien in biologischen Subgruppen, um neue Substanzen nach erfolgreichen Phase I/II Studien in kurative Therapiekonzepte integrieren zu können. Die aus dieser Entwicklung erwachsene Vision ist eine nebenwirkungsarme gezielte und individualisierte Behandlung von Kindern mit ALL mit möglichst vollständiger Vermeidung von Rückfällen der Erkrankung.

5 LITERATURANGABEN

1. Henze G, Fengler R, Hartmann R, 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):1166-1172.
2. Moricke A, Zimmermann M, Reiter A, et al. Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia*. 2009;24(2):265-284.
3. Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*. 2008;371(9617):1030-1043.
4. Mitchell C, Richards S, Harrison CJ, Eden T. Long-term follow-up of the United Kingdom medical research council protocols for childhood acute lymphoblastic leukaemia, 1980-2001. *Leukemia*. 2010;24(2):406-418.
5. Henze G, von Stackelberg A. Treatment of Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia. In: Pui CH, ed. *Treatment of Acute Leukemias New Directions for Clinical Research*. Totova, USA: Humana Press; 2002:199-219.
6. Gaynon PS. Childhood acute lymphoblastic leukaemia and relapse. *Br J Haematol*. 2005;131(5):579-587.
7. Beyermann B, Agthe AG, Adams HP, et al. Clinical features and outcome of children with first marrow relapse of acute lymphoblastic leukemia expressing BCR-ABL fusion transcripts. BFM Relapse Study Group. *Blood*. 1996;87(4):1532-1538.
8. Seeger K, Buchwald D, Peter A, et al. TEL-AML1 fusion in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1999;94(1):374-376.
9. Krentz S, Hof J, Mendioroz A, et al. Prognostic value of genetic alterations in children with first bone marrow relapse of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2012;[Epub ahead of print].
10. Eckert C, Einsiedel HG, Hartmann R, et al. Clonal stability of initial leukemia in a child with central nervous system relapse 7.4 years after bone marrow relapse of common acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2004;89(7):ECR23.
11. Ford AM, Fasching K, Panzer-Grumayer ER, Koenig M, Haas OA, Greaves MF. Origins of "late" relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia with TEL-AML1 fusion genes. *Blood*. 2001;98(3):558-564.
12. Zuna J, Ford AM, Peham M, et al. TEL deletion analysis supports a novel view of relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res*. 2004;10(16):5355-5360.
13. Konrad M, Metzler M, Panzer S, et al. Late relapses evolve from slow-responding subclones in t(12;21)-positive acute lymphoblastic leukemia: evidence for the persistence of a preleukemic clone. *Blood*. 2003;101(9):3635-3640.
14. Eckert C, Flohr T, Koehler R, et al. Very early/early relapses of acute lymphoblastic leukemia show unexpected changes of clonal markers and high heterogeneity in response to initial and relapse treatment. *Leukemia*. 2011.
15. Mullighan CG, Zhang J, Kasper LH, et al. CREBBP mutations in relapsed acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 2010;471(7337):235-239.
16. Notta F, Mullighan CG, Wang JC, et al. Evolution of human BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia-initiating cells. *Nature*. 2011;469(7330):362-367.
17. Mullighan CG, Phillips LA, Su X, et al. Genomic analysis of the clonal origins of relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Science*. 2008;322(5906):1377-1380.

18. Borgmann A, von Stackelberg A, Hartmann R, 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):3835-3839.
19. Einsiedel HG, von Stackelberg A, Hartmann R, 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):7942-7950.
20. Tallen G, Ratei R, Mann G, et al. Long-term outcome in children with relapsed acute lymphoblastic leukemia after time-point and site-of-relapse stratification and intensified short-course multidrug chemotherapy: results of trial ALL-REZ BFM 90. *J Clin Oncol*. 2010;28(14):2339-2347.
21. Gaynon PS, Qu RP, Chappell RJ, et al. Survival after relapse in childhood acute lymphoblastic leukemia: Impact of site and time to first relapse - the Children's Cancer Group Experience. *Cancer*. 1998;82(7):1387-1395.
22. Buehrer C, Hartmann R, Fengler R, et al. Superior prognosis in combined compared to isolated bone marrow relapses in salvage therapy of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol*. 1993;21(7):470-476.
23. Locatelli F, Schrappe M, Bernardo ME, Rutella S. How I treat relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2012;120(14):2807-2816.
24. von Stackelberg A, Baumann B, Escherich G, Schrappe M, Henze G. Down syndrome with relapsed ALL - inferior outcome due to worse tolerance to treatment. A matched pair analysis of the ALL-REZ BFM Study Group (abstract). *Pediatr Blood Cancer*. 2007;49(4):435.
25. Von Stackelberg A, Harms D, Klingebiel T, et al. Gender and age at initial diagnosis are independent prognostic factors in childhood isolated CNS relapse (abstract). *Med Pediatr Oncol*. 2002;39(4):277.
26. Arico M, Schrappe M, Hunger SP, et al. Clinical outcome of children with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treated between 1995 and 2005. *J Clin Oncol*. 2010;28(31):4755-4761.
27. Biondi A, Schrappe M, De Lorenzo P, et al. Imatinib after induction for treatment of children and adolescents with Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia (EsPhALL): a randomised, open-label, intergroup study. *Lancet Oncol*. 2012;13(9):936-945.
28. Schultz KR, Bowman WP, Aledo A, et al. Improved early event-free survival with imatinib in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: a children's oncology group study. *J Clin Oncol*. 2009;27(31):5175-5181.
29. Seeger K, Stackelberg AV, Taube T, et al. Relapse of TEL-AML1--positive acute lymphoblastic leukemia in childhood: a matched-pair analysis. *J Clin Oncol*. 2001;19(13):3188-3193.
30. Reismuller B, Attarbaschi A, Peters C, et al. Long-term outcome of initially homogenously treated and relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia in Austria--a population-based report of the Austrian Berlin-Frankfurt-Munster (BFM) Study Group. *Br J Haematol*. 2009;144(4):559-570.
31. Wehrli LA, Braun J, Buetti LN, et al. Non-classical karyotypic features in relapsed childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet*. 2009;189(1):29-36.
32. Moorman AV, Richards SM, Robinson HM, et al. Prognosis of children with acute lymphoblastic leukemia (ALL) and intrachromosomal amplification of chromosome 21 (iAMP21). *Blood*. 2007;109(6):2327-2330.
33. Moorman AV, Ensor HM, Richards SM, et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL97/99 randomised trial. *Lancet Oncol*. 2010;11(5):429-438.

34. Hof J, Krentz S, Van Schewick C, et al. Mutations and deletions of the TP53 gene predict non-response and poor outcome in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2011.
35. Weng AP, Ferrando AA, Lee W, et al. Activating mutations of NOTCH1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia. *Science*. 2004;306(5694):269-271.
36. Ferrando AA, Neuberg DS, Staunton J, et al. Gene expression signatures define novel oncogenic pathways in T cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell*. 2002;1(1):75-87.
37. Van Vlierberghe P, Ferrando A. The molecular basis of T cell acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest*. 2012;122(10):3398-3406.
38. Coustan-Smith E, Mullighan CG, Onciu M, et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol*. 2009;10(2):147-156.
39. van der Velden VH, Panzer-Grumayer ER, Cazzaniga G, et al. Optimization of PCR-based minimal residual disease diagnostics for childhood acute lymphoblastic leukemia in a multi-center setting. *Leukemia*. 2007;21(4):706-713. Epub 2007 Feb 2008.
40. Dworzak MN, Froschl G, Printz D, et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2002;99(6):1952-1958.
41. Campana D, Coustan-Smith E. Advances in the immunological monitoring of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2002;15(1):1-19.
42. Neale GA, Coustan-Smith E, Stow P, et al. Comparative analysis of flow cytometry and polymerase chain reaction for the detection of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*. 2004;18:18.
43. Bruggemann M, Schrauder A, Raff T, et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the Second International Symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18-20 September 2008. *Leukemia*. 2009;24(3):521-535.
44. van Dongen JJ, Seriu T, Panzer-Grumayer ER, et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *Lancet*. 1998;352(9142):1731-1738.
45. Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2000;96(8):2691-2696.
46. Conter V, Bartram CR, Valsecchi MG, et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood*. 2010.
47. Eckert C, Biondi A, Seeger K, et al. Prognostic value of minimal residual disease in relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*. 2001;358(9289):1239-1241.
48. Coustan-Smith E, Gajjar A, Hijjiya N, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia after first relapse. *Leukemia*. 2004;18(3):499-504.
49. Eckert C, von Stackelberg A, Seeger K, et al. Minimal residual disease after induction is the strongest predictor of prognosis in intermediate risk relapsed acute lymphoblastic leukaemia - Long-term results of trial ALL-REZ BFM P95/96. *Eur J Cancer*. 2012.
50. Bader P, Hancock J, Kreyenberg H, 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):1668-1672.
51. Bader P, Kreyenberg H, Henze GH, et al. Prognostic value of minimal residual disease quantification before allogeneic stem-cell transplantation in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia: the ALL-REZ BFM Study Group. *J Clin Oncol*. 2009;27(3):377-384.
52. Knechtli CJ, Goulden NJ, Hancock JP, et al. Minimal residual disease status before allogeneic bone marrow transplantation is an important determinant of successful outcome

- for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1998;92(11):4072-4079.
53. Hagedorn N, Acquaviva C, Fronkova E, 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):4022-4029. Epub 2007 Aug 4024.
54. Chessells JM, Leiper AD, Richards SM. A second course of treatment for childhood acute lymphoblastic leukaemia: Long-term follow-up is needed to assess results. *Br J Haematol*. 1994;86(1):48-54.
55. Henze G, Fengler R, Hartmann R. Chemotherapy for relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia: Results of the BFM Study Group. *Haematol Blood Transfus*. 1994;36:374-379.
56. Parker C, Waters R, Leighton C, et al. Effect of mitoxantrone on outcome of children with first relapse of acute lymphoblastic leukaemia (ALL R3): an open-label randomised trial. *Lancet*. 2011;376(9757):2009-2017.
57. Raetz EA, Borowitz MJ, Devidas M, et al. Reinduction platform for children with first marrow relapse of acute lymphoblastic Leukemia: A Children's Oncology Group Study[corrected]. *J Clin Oncol*. 2008;26(24):3971-3978.
58. Henze G, Charite University Berlin, Germany. ALL-REZ BFM 2002: Multi-Center Study for Children With Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia. In: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 2000- [cited 2009 Jul 18]. available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00114348>. NLM identifier: NCT00114348.; 2005.
59. Buehrer C, Hartmann R, Fengler R, et al. Importance of effective central nervous system therapy in isolated bone marrow relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 1994;83(12):3468-3472.
60. Wolfrom C, Hartmann R, Brühmüller S, et al. Similar outcome on boys with isolated and combined testicular acute lymphoblastic leukemia relapse after stratified BFM salvage therapy. *Haematol Blood Transfus*. 1997;38:647-651.
61. Castillo LA, Craft AW, Kernahan J, Evans RG, Aynsley-Green A. Gonadal function after 12-Gy testicular irradiation in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Med Pediatr Oncol*. 1990;18(3):185-189.
62. Leiper AD, Grant DB, Chessells JM. Gonadal function after testicular radiation for acute lymphoblastic leukaemia. *Arch Dis Child*. 1986;61(1):53-56.
63. Grundy RG, Leiper AD, Stanhope R, Chessells JM. Survival and endocrine outcome after testicular relapse in acute lymphoblastic leukaemia. *Arch Dis Child*. 1997;76(3):190-196.
64. Passweg JR, Tiberghien P, Cahn JY, et al. Graft-versus-leukemia effects in T lineage and B lineage acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 1998;21(2):153-158.
65. Weisdorf DJ, Nesbit ME, Ramsay NK, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for acute lymphoblastic leukemia in remission: prolonged survival associated with acute graft-versus-host disease. *J Clin Oncol*. 1987;5(9):1348-1355.
66. Locatelli F, Zecca M, Rondelli R, et al. Graft versus host disease prophylaxis with low-dose cyclosporine-A reduces the risk of relapse in children with acute leukemia given HLA-identical sibling bone marrow transplantation: results of a randomized trial. *Blood*. 2000;95(5):1572-1579.
67. Schrauder A, von Stackelberg A, Schrappe M, Cornish J, Peters C. Allogeneic hematopoietic SCT in children with ALL: current concepts of ongoing prospective SCT trials. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41 Suppl 2:S71-74.
68. Peters C, Schrauder A, Schrappe M, 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:S9-S11.

69. Klingebiel T, Cornish J, Labopin M, et al. Results and factors influencing outcome after fully haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in children with very high-risk acute lymphoblastic leukemia: impact of center size: an analysis on behalf of the Acute Leukemia and Pediatric Disease Working Parties of the European Blood and Marrow Transplant group. *Blood*. 2010;115(17):3437-3446.
70. Eckert C, Stackelberg A, Hagedorn N, Barth A, Seeger K, Henze G. Molecular Response to Treatment Predicts Outcome in Isolated, but Not in Combined Bone Marrow Relapses of Childhood Acute Lymphoblastic Leukaemia: Interim Results of Trial ALL-REZ BFM 2002. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2008;112(11):2515-.
71. Bader P, Kreyenberg H, Henze G, et al. Predictive value of MRD monitoring after allogeneic SCT in relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia: analysis of the ALL-REZ BFM Group (abstract). *BMT*. 2009;43(S1):40.
72. Borgmann A, Schmid H, Hartmann R, 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):873-876.
73. Balduzzi A, Galimberti S, Valsecchi MG, et al. Autologous purified peripheral blood stem cell transplantation compare to chemotherapy in childhood acute lymphoblastic leukemia after low-risk relapse. *Pediatr Blood Cancer*. 2011;57(4):654-659.
74. von Stackelberg A, Yamanaka J, Escherich G, et al. Conventional Reinduction/Consolidation-Type Therapy Versus Short Course High Intensity Combination Chemotherapy As Post-Induction Treatment for Children with Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia. Early Results of Study ALL-REZ BFM 2002. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2011;118(21):871-.
75. von Stackelberg A, Volzke E, Kuhl JS, et al. Outcome of children and adolescents with relapsed acute lymphoblastic leukaemia and non-response to salvage protocol therapy: a retrospective analysis of the ALL-REZ BFM Study Group. *Eur J Cancer*. 2011;47(1):90-97.
76. Yamanaka J, Bon V, Schrauder A, Peters C, Henze G, von Stackelberg A. Risk Factors, Treatment and Outcome of 2nd Relapse of Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. Results of the ALL-REZ BFM Registry. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2012;120(21):668-.
77. Ko RH, Ji L, Barnette P, et al. Outcome of patients treated for relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia: a Therapeutic Advances in Childhood Leukemia Consortium study. *J Clin Oncol*. 2010;28(4):648-654.
78. Pui CH, Jeha S. New therapeutic strategies for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Drug Discov*. 2007;6(2):149-165.
79. Hunger SP. Tyrosine kinase inhibitor use in pediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011:361-365.
80. Messinger YH, Gaynon PS, Raetz E, et al. Remarkable Activity of Bortezomib Combined with Chemotherapy in a Phase I Study of Relapsed Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). A Report from the Therapeutic Advances in Childhood Leukemia (TACL) Consortium. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2008;112(11):1919-.
81. Messinger YH, Gaynon P, Sposto R, et al. Bortezomib Combined with VXLD Chemotherapy Is Highly Effective In Advanced B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia Allowing Early Study Termination Due to Efficacy. A Therapeutic Advances in Childhood Leukemia (TACL) Consortium Phase II Study. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2011;118(21):251-.
82. Schimmer AD, O'Brien S, Kantarjian H, et al. A phase I study of the pan bcl-2 family inhibitor obatoclax mesylate in patients with advanced hematologic malignancies. *Clin Cancer Res*. 2008;14(24):8295-8301.

83. Bonapace L, Bornhauser BC, Schmitz M, et al. Induction of autophagy-dependent necroptosis is required for childhood acute lymphoblastic leukemia cells to overcome glucocorticoid resistance. *J Clin Invest*. 2010;120(4):1310-1323.
84. von Stackelberg A. Monoclonal Antibodies in Paediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. In: Saha V, Kearns P, eds. *New Agents for the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukaemia*. New York, USA: Springer Science and Business Media; 2011:221-271.
85. Claviez A, Eckert C, Seeger K, et al. Rituximab plus chemotherapy in children with relapsed or refractory CD20-positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2006;91(2):272-273.
86. Raetz EA, Cairo MS, Borowitz MJ, et al. Reinduction Chemoimmunotherapy with Epratuzumab in Relapsed Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) in Children, Adolescents and Young Adults: Results From Children's Oncology Group (COG) Study ADVL04P2. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2011;118(21):573-.
87. Raetz EA, Cairo MS, Borowitz MJ, et al. Chemoimmunotherapy reinduction with epratuzumab in children with acute lymphoblastic leukemia in marrow relapse: a Children's Oncology Group Pilot Study. *J Clin Oncol*. 2008;26(22):3756-3762.
88. de Vries JF, Zwaan CM, De Bie M, et al. The novel calicheamicin-conjugated CD22 antibody inotuzumab ozogamicin (CMC-544) effectively kills primary pediatric acute lymphoblastic leukemia cells. *Leukemia*. 2012;26(2):255-264.
89. Kantarjian H, Thomas D, Jorgensen J, et al. Inotuzumab ozogamicin, an anti-CD22-calicheamicin conjugate, for refractory and relapsed acute lymphocytic leukaemia: a phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2012;13(4):403-411.
90. Kreitman RJ, Pastan I. Antibody fusion proteins: anti-CD22 recombinant immunotoxin moxetumomab pasudotox. *Clin Cancer Res*;17(20):6398-6405.
91. Younes A, Kim S, Romaguera J, et al. Phase I multidose-escalation study of the anti-CD19 maytansinoid immunoconjugate SAR3419 administered by intravenous infusion every 3 weeks to patients with relapsed/refractory B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2012;30(22):2776-2782.
92. Blanc V, Bousseau A, Caron A, Carrez C, Lutz RJ, Lambert JM. SAR3419: an anti-CD19-Maytansinoid Immunoconjugate for the treatment of B-cell malignancies. *Clin Cancer Res*. 2011;17(20):6448-6458.
93. Topp MS, Kufer P, Gokbuget N, et al. Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *J Clin Oncol*. 2011;29(18):2493-2498.
94. Topp MS, Gokbuget N, Zugmaier G, et al. Long-term follow-up of hematologic relapse-free survival in a phase 2 study of blinatumomab in patients with MRD in B-lineage ALL. *Blood*. 2012;120(26):5185-5187.
95. Dörffel W, Hartmann R, Schober S, et al. Drug resistance testing as a basis for tailored therapy in children with refractory or relapsed acute lymphoblastic leukemia. In: Kaspers GJ, Pieters R, Twentyman PR, Weisenthal LM, Veerman AJ, eds. *Drug resistance in leukemia and lymphoma*. Chur: Harwood Academic Publishers; 1993:353-357.
96. Henze G, Agthe AG, Neuendank A, et al. Tailored therapy for relapsed or refractory childhood acute lymphoblastic leukemia (abstract). *Leukemia*. 1995;9:538.
97. Loning L, Zimmermann M, Reiter A, et al. Secondary neoplasms subsequent to Berlin-Frankfurt-Munster therapy of acute lymphoblastic leukemia in childhood: significantly lower risk without cranial radiotherapy. *Blood*. 2000;95(9):2770-2775.
98. Kruger S, Kinzel M, Walldorf C, et al. Homozygous PMS2 germline mutations in two families with early-onset haematological malignancy, brain tumours, HNPCC-associated tumours, and signs of neurofibromatosis type 1. *Eur J Hum Genet*. 2007;12:12.
99. Topp M, Goekbuget N, Kufer P, et al. Treatment with Anti-CD19 BiTE Antibody Blinatumomab (MT103 / MEDI-538) Is Able to Eliminate Minimal Residual Disease (MRD) in

Patients with B-Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL): First Results of An Ongoing Phase II Study. *ASH Annual Meeting Abstracts*. 2008;112(11):1926-.

100. Von Stackelberg A, Pieters R, Biondi A, Schrappe M. I-BFM SG trials on childhood ALL (abstract). *Eur J Cancer Suppl*. 2009;7(2):27.

101. Moricke A, Reiter A, Zimmermann M, et al. Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95. *Blood*. 2008;111(9):4477-4489.

102. Aur RJ, Simone J, Hustu HO, et al. Central nervous system therapy and combination chemotherapy of childhood lymphocytic leukemia. *Blood*. 1971;37(3):272-281.

103. Evans AE, Gilbert ES, Zandstra R. The increasing incidence of central nervous system leukemia in children (Children's Cancer Study Group A). *Cancer*. 1970;26(2):404-409.

104. Pui CH, Campana D, Pei D, et al. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *N Engl J Med*. 2009;360(26):2730-2741.

105. Mundipharma-Research-Ltd. Pharmacokinetic Study of Forodesine in Children With Relapsed or Refractory T-cell or B-cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukaemia or T-cell Non-Hodgkin's Lymphoma. (BCX1777-108). ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 2000- [cited 2010 Feb 25]. available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00742495>. NLM identifier: NCT00742495.; 2008.

106. BioCryst-Pharmaceuticals. Study of Forodesine Hydrochloride in Patients With Relapsed/Refractory Precursor T-Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma Who Have Failed Two or More Prior Treatment Regimens.: ClinicalTrials.gov [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US). 2000- [cited 2010 Feb 25]. available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00419081>. NLM identifier: NCT00419081.; 2007.

107. Kurtzberg J, Ernst TJ, Keating MJ, et al. Phase I study of 506U78 administered on a consecutive 5-day schedule in children and adults with refractory hematologic malignancies. *J Clin Oncol*. 2005;23(15):3396-3403.

108. Gökuşbuğ N, Basara N, Baurmann H, et al. High single-drug activity of nelarabine in relapsed T-lymphoblastic leukemia/lymphoma offers curative option with subsequent stem cell transplantation 10.1182/blood-2011-01-329441. *Blood*. 2011;118(13):3504-3511.

109. Berg SL, Blaney SM, Devidas M, et al. Phase II study of nelarabine (compound 506U78) in children and young adults with refractory T-cell malignancies: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2005;23(15):3376-3382.

110. IntReALL 2010. Vol. 2013: IntReALL consortium, rep by tp21 [cited 2013 May 13]. available from: <http://www.intreall-fp7.eu/>.

111. von Stackelberg A, Seeger K, Henze G, Eckert C. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia after first relapse. *Leukemia*. 2004;18(10):1727-1728; author reply 1728-1729.

112. Roberts KG, Morin RD, Zhang J, et al. Genetic alterations activating kinase and cytokine receptor signaling in high-risk acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Cell*. 2012;22(2):153-166.

113. Maude SL, Tasian SK, Vincent T, et al. Targeting JAK1/2 and mTOR in murine xenograft models of Ph-like acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2012;120(17):3510-3518.

114. European Network for Cancer Research in Children and Adolescents: ENCCA Consortium, [cited 2013 May 13]. available from: <https://encca.eu/>.

115. ITCC - Innovative Therapies for children with Cancer: ITCC Consortium, [cited 2013 May 13]. available from: <http://www.itcc-consortium.org/>.

6 DANKSAGUNG

Ich danke in ganz besonderem Maße meinem Lehrer, Mentor, Doktorvater und Freund Herrn Prof. Dr. Günter Henze für die Jahrzehnte lange herausragende Aufbauarbeit der ALL-REZ BFM Studien, für die Jahre gemeinsamer Arbeit an diesem Projekt, die Einarbeitung in die klinische und referenzzytologische Betreuung dieser Studien, die wissenschaftlichen Diskussionen, die Beharrlichkeit in der Sache, und für die immer vorhandene Zeit für Spaß und natürlich auch für gemeinsames Musizieren.

In danke den Kolleginnen und Kollegen der Klinik für Pädiatrie m.S. Onkologie/Hämatologie der Charité für die jahrelange Unterstützung und das Verständnis für ausufernde Dienstreisen und Arbeitsgruppenbesprechungen.

Ich danke meiner Arbeitsgruppe für die gute und vertrauensvolle Zusammenarbeit und die fleißige Zuarbeit, die für die Generierung dieser Daten unabdingbar ist.

Ich danke den Kolleginnen und Kollegen des ALL-REZ BFM Referenzlabors, insbesondere Frau Dr. Cornelia Eckert, für den intensiven Austausch zwischen Labor und Klinik und die daraus immer wieder erwachsenden kreativen Ideen.

Ich danke meinen Kollegen und Freunden der Internationalen Resistant Disease Gruppe der I-BFM SG und des IntReALL Konsortiums für die jahrelange vertrauensvolle Zusammenarbeit und die wunderbaren konzentrierten und hocheffektiven Arbeitstreffen.

Ich danke den finanziellen Förderern meiner Arbeit für die Unterstützung, ohne die viel weniger Kinder mit ALL-Rezidiv geheilt worden wären. Insbesondere danke ich der Deutschen Jose Carreras Leukämie Stiftung für die Gewährung des ersten DJCLS Career Awards, der mir für zwei Jahre eine weitgehende Freistellung von der klinischen Arbeit erlaubte, der Deutschen Kinderkrebsstiftung für Finanzierung der ALL-REZ BFM Studien und der Europäischen Kommission für die umfangreiche Förderung des IntReALL Projektes.

Ich danke meiner Familie für ihr Verständnis und die Unterstützung trotz viel zu langer Arbeitstage und viel zu vielen Dienstreisen und der dennoch beharrlichen Beanspruchung für familiäre Belange.

7 ERKLÄRUNG

Eidesstattliche Versicherung gemäß Habilitationsordnung der Medizinischen Fakultät Charité Berlin:

Hiermit erkläre ich, dass

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

Berlin, den 10. Juli, 2013

Dr. Arend von Stackelberg