

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

## **Habilitationsschrift**

# **Neue Erkenntnisse zur Pathogenese, Diagnostik und Therapie von primären Lymphomen des zentralen Nervensystems bei immunkompetenten Patienten**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité-Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. med. Kristoph Jahnke**  
**geboren am 13.04.1973 in Halle (Westf.)**

Eingereicht: Januar 2009  
Dekanin: Frau Professor Dr. med. A. Grüters-Kieslich  
1. Gutachter: Prof. Dr. U. Schlegel  
2. Gutachter: Prof. Dr. T. Pietsch

## Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	4
1 Einleitung	5
1.1 Definition und Epidemiologie primärer Lymphome des zentralen Nervensystems	5
1.2 Biologie und Pathogenese	6
1.3 Klinische Präsentation und Diagnosestellung	7
1.4 Erstlinientherapie	8
1.5 Rezidivsituation	10
1.6 Primäres intraokuläres Lymphom	11
2 Neue Erkenntnisse zur Pathogenese und Diagnostik primärer Lymphome des zentralen Nervensystems	12
2.1 Die Rolle von Chemokinen und Chemokinrezeptoren in der Pathogenese Publikation I	12 15
2.2 Detektion von subklinischen systemischen Manifestationen Publikation II	18 20
3 Tiermodelle von Lymphomen des zentralen Nervensystems	25
3.1 Entwicklung und Charakterisierung zweier Tiermodelle Publikation III	25 28
3.2 Evaluation von therapeutischen Strategien mit Hilfe eines Tiermodells Publikation IV	37 39
4 Erstlinientherapie primärer Lymphome des zentralen Nervensystems	76
4.1 Multizentrische Therapiestudie mit Carmustin, Methotrexat, Procarbazin und Dexamethason (BMPD) Publikation V	76 78
4.2 Therapietoxizität von Hochdosis-Methotrexat Publikation VI	86 88
5 Rezidierte primäre Lymphome des zentralen Nervensystems	94
5.1 Klinische Charakteristika, Überleben und prognostische Faktoren Publikation VII	94 96
5.2 Topotecan als therapeutische Option Publikation VIII	104 105
6 Niedrig maligne primäre Lymphome des zentralen Nervensystems: Charakterisierung einer Entität Publikation IX	111 113
7 Aktuelle Therapieansätze in der Behandlung des intraokulären Lymphoms	122
7.1 Ifosfamid und Trofosfamid: Effektivität und Pharmakokinetik Publikation X	122 124
7.2 Behandlung des intraokulären Lymphoms in der klinischen Routine Publikation XI	130 132

8	Diskussion	140
9	Zusammenfassung	145
10	Literatur	146
	Danksagung	154
	Erklärung	155

## Abkürzungen

ABC	Activated B-cell
BCNU	Carmustin
BMPD	BCNU (Carmustin), Methotrexat, Procarbazin, Dexamethason
DLBCL	Diffuse large B-cell lymphoma (diffus-grosszelliges B-Zell-Lymphom)
FLAIR	Fluid-attenuated inversion recovery
GCB	Germinal center B-cell
G-PCNSL-SG	German Primary Central Nervous System Lymphoma Study Group
(HD)MTX	(Hochdosis-) Methotrexat
HIV	Human immunodeficiency virus
IPCG	International Primary Central Nervous System Lymphoma Collaborative Group
MFI	Mean fluorescence intensity
MRT	Magnetresonanztomographie
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
PCNSL	Primary central nervous system lymphoma (primäres Lymphom des zentralen Nervensystems, primäres ZNS-Lymphom)
PCR	Polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
(P)IOL	(Primäres) intraokuläres Lymphom
SDF	Stromal cell-derived factor
ZNS	Zentrales Nervensystem

## **1 Einleitung**

### **1.1 Definition und Epidemiologie primärer Lymphome des zentralen Nervensystems**

Als primäre Lymphome des zentralen Nervensystems (primäre ZNS-Lymphome, PCNSL) bezeichnet man extranodale Non-Hodgkin-Lymphome (NHL), die bei Diagnosestellung auf das Gehirnparenchym, die Meningen und/oder das Rückenmark beschränkt sind (1). In ca. 15 bis 25% der Fälle sind initial die Augen in Form einer Glaskörper-, Retina- oder Uveainfiltration betroffen (primäres intraokuläres Lymphom [PIOL]) (2). Der Liquor zeigt eine Beteiligung bei bis zu 15% der Patienten (3, 4). Okkulte systemische Lymphommanifestationen bei Diagnosestellung sind beschrieben (5-8). Es besteht häufig eine Assoziation mit einem angeborenen oder erworbenen Immundefekt. Bei immunkompromittierten Patienten besteht nahezu immer eine Assoziation mit einer latenten Epstein-Barr-Virus-Infektion (9). Bei Human immunodeficiency virus (HIV)-positiven Patienten ohne hochaktive antiretrovirale Therapie besteht ein 3600-fach erhöhtes Risiko gegenüber der Normalbevölkerung, an einem PCNSL zu erkranken (10). Daher ist bei jedem erstdiagnostizierten PCNSL-Patienten ein HIV-Test obligat. Das PCNSL ist eine seltene Erkrankung und macht aktuell nur ca. 2,7% aller primären intrakraniellen Tumoren aus (11). Eine annähernde Verdreifachung der Inzidenz des PCNSL zwischen 1973 und 1984 wurde berichtet (12), allerdings scheint die Inzidenz in letzter Zeit nicht mehr weiter anzusteigen (13). Der Häufigkeitsgipfel bei immunkompetenten Patienten besteht im 6. bis 7. Lebensjahrzehnt, das mediane Alter bei Erstdiagnose beträgt ca. 53 bis 57 Jahre (1).

## 1.2 Biologie und Pathogenese

PCNSL sind in ca. 90% der Fälle diffus-grosszellige NHL vom B-Zell-Typ (Diffuse large B-cell lymphoma [DLBCL]) (14). PCNSL und extrazerebrale DLBCL unterscheiden sich morphologisch nicht. Dennoch stellt sich insbesondere aufgrund der deutlich ungünstigeren Prognose des PCNSL die Frage, ob PCNSL biologisch eine eigene NHL-Entität darstellen. Die extrazerebralen DLBCL konnten durch Genexpressions-Analysen in zwei prognostisch unterschiedliche Subgruppen unterteilt werden, die von B-Zellen unterschiedlicher Differenzierung ausgehen:

- Activated B-cell (ABC)-like: aktivierte B-Zellen,
- Germinal center B-cell (GCB)-like: B-Zellen des Keimzentrums.

Die Prognose des GCB-Typs ist deutlich günstiger als die des non-GCB (ABC)-Typs (15-17). Für das PCNSL gab es bisher nur einen Versuch, die für die nodalen DLBCL definierten Subtypen an einem größeren Patientenkollektiv zu reproduzieren (18). Bei den untersuchten Patienten wurden die Genexpressionsmuster der Subtypen etwa in gleicher Häufigkeit gefunden (8 ABC-like, 8 GCB-like). Die Ergebnisse wurden allerdings nicht mit den klinischen Verläufen korreliert. Der Versuch der Subtypisierung des PCNSL anhand immunhistologischer Befunde wurde bisher in nur wenigen kleinen Studien unternommen. In zwei Studien mit 51 bzw. 83 PCNSL-Patienten (19, 20) wurde der überwiegende Anteil der Patienten aufgrund der Koexpression von BCL6 und IRF4/MUM1 dem non-GCB-Typ zugeordnet, was unter anderem als mögliche Begründung für die im Vergleich zu nodalen DLBCL viel schlechtere Prognose angeführt wurde. Allerdings stehen diese Ergebnisse im Widerspruch zu den oben beschriebenen Genexpressions-Untersuchungen von Rubenstein (18), in der sich die jeweiligen Subtypen in etwa gleicher Häufigkeit in einem unselektierten Kollektiv fanden. Beim PCNSL wurden bisher nur wenige Versuche an relativ kleinen und daher kaum aussagekräftigen Kollektiven

unternommen, die mittels Immunhistologie ermittelte Proteinexpression verschiedener Gene mit dem klinischen Verlauf zu korrelieren. In zwei Analysen an 33 bzw. 51 Patienten war die Expression von BCL6 mit einem günstigen klinischen Verlauf assoziiert (20, 21). Im Gegensatz hierzu beschrieb Chang (22) einen negativen und Camilleri-Broët (19) einen fehlenden Einfluss der BCL6-Expression auf den klinischen Verlauf. Auch für BCL2, CD10, Survivin und IRF4/MUM1 fand sich in den bisherigen Untersuchungen kein signifikanter prognostischer Einfluss bei PCNSL (19-21, 23). Zusammenfassend konnten bisher beim PCNSL keine reproduzierbaren biologischen Prognosemarker etabliert werden. Die klinischen Charakteristika bleiben bisher die einzigen für die Prognose relevanten Parameter (siehe Kapitel 1.4 Seite 8 ff.) (24).

Neben der im Vergleich zu extrazerebralen DLBCL ungünstigen Prognose des PCNSL ist die selektive Manifestation des PCNSL im ZNS mit einer im Verlauf nur geringen Rate an extrazerebralen Rezidiven charakteristisch. Beim ZNS-Homing der B-Lymphozyten wird Chemokinen und ihren Rezeptoren zunehmend eine bedeutende Rolle zugeschrieben. Die Chemokinrezeptoren CXCR4, CXCR5 und CCR7 sowie die Chemokinliganden CXCL12 und CXCL13 werden von den Tumorzellen exprimiert, während zerebrale Endothelzellen CXCL12 und CXCL13 und reaktive Astrozyten und aktivierte Mikroglia CXCL12, CCR5 und CCR6 exprimieren. Jedoch ist das exakte Zusammenspiel zwischen Chemokinen, ihren spezifischen Rezeptoren, B-Lymphozyten, Endothelzellen und Stromazellen noch ungeklärt (25, 26).

### **1.3 Klinische Präsentation und Diagnosestellung**

Klinisch zeigen etwa 70% der Patienten fokal-neurologische Defizite und ca. 50% ein hirnorganisches Psychosyndrom, seltener sind Hirndruckzeichen und Krampfanfälle

(27). Die Magnetresonanztomographie (MRT) ist die sensitivste Nachweismethode der in der Regel intensiv Kontrastmittel aufnehmenden, oft periventrikulär lokalisierten unilokulären oder multilokulären Raumforderungen. Im Rahmen der Ausbreitungsdiagnostik sind zudem eine umfassende klinisch-neurologische Untersuchung inklusive Palpation der peripheren Lymphknoten sowie der Hoden (bei älteren Männern), eine Liquoruntersuchung, ophthalmologische Evaluation, Knochenmarkpunktion sowie eine Computertomographie des Thorax, Abdomens und Beckens obligat. Die Methode der Wahl zur Diagnosesicherung ist die stereotaktische Biopsie, wobei auf eine vorausgehende Kortikosteroidtherapie aufgrund des lymphozytolytischen Effektes von Kortikosteroiden nach Möglichkeit verzichtet werden sollte (28).

#### **1.4 Erstlinientherapie und Prognosefaktoren**

Typisch, jedoch nicht spezifisch für PCNSL ist eine Remission der zerebralen Läsionen nach Gabe von Steroiden in ca. 40 bis 85% der Fälle. Diese Remissionen sind in der Regel partiell und halten nur wenige Wochen bis Monate an (29).

Die neurochirurgische Exstirpation eines ZNS-Lymphoms ist nicht indiziert, da sie nicht mit einem Überlebensvorteil assoziiert ist und zudem zu neurologischen Komplikationen führen kann (30).

Bei ca. 80% der Patienten mit PCNSL lässt sich durch eine alleinige Ganzhirnbestrahlung mit 40 bis 60 Gy eine komplette Tumorremission erreichen. Die Strahlentherapie ist jedoch nicht kurativ, da Rezidive bei mehr als 90% der Patienten auftreten. Das mediane Gesamtüberleben nach alleiniger Strahlentherapie beträgt 12 bis 18 Monate und liegt für über 60jährige Patienten noch niedriger. Neurotoxizität als Bestrahlungsfolge wird bei mindestens 10% aller Patienten beobachtet (31).

Einige Phase II-Studien und retrospektive Fallserien belegen die Wirksamkeit einer alleinigen Chemotherapie bei PCNSL. Allerdings sind Polychemotherapie-Protokolle, die bei systemischen NHL seit langem erfolgreich eingesetzt werden, bei PCNSL auf längere Sicht nicht effektiver als die Ganzhirnbestrahlung allein, was zumindest partiell auf die limitierte Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke für die verwendeten Chemotherapeutika zurückgeführt werden muss (32). Zurzeit gilt Hochdosis-Methotrexat (HDMTX) in einer Dosis von 1 bis 8 g/m<sup>2</sup> Körperoberfläche als integraler Bestandteil der PCNSL-Erstlinientherapie bei der grossen Mehrheit der Patienten. Mit HDMTX können zumindest bei einem Teil der behandelten Patienten zytotoxische Liquorkonzentrationen erreicht werden (33-35). HDMTX alleine erzielt bei PCNSL eine Ansprechrate von 38 bis 74% und ein medianes Gesamtüberleben von 22,8+ bis 25 Monaten (36, 37). Möglicherweise ist die Kombination von HDMTX mit anderen Zytostatika effektiver. Ein auf HDMTX basierendes Polychemotherapie-Protokoll führte bei 65 evaluierbaren Patienten zu einer Ansprechrate von 71%, einem medianen Gesamtüberleben von 50 Monaten und einem 5-Jahres-Überleben von 43% (38).

Um das unter alleiniger Ganzhirnbestrahlung schlechte Langzeitüberleben bei PCNSL zu verbessern, wurden in uni- und multizentrischen Phase II-Studien Behandlungskonzepte aus kombinierter Radio- und Chemotherapie geprüft. Eine auf HDMTX basierende Chemotherapie in Kombination mit Ganzhirnbestrahlung führte hierbei zu 5-Jahres-Überlebensraten bis 32% (39), allerdings mit dem Nachteil einer hohen Rate an Spätneurotoxizität, die in einer Studie sogar bei 100% der über 60jährigen Patienten zu beobachten war (40). Daher wird heute die Radiotherapie häufig bis zum Rezidiv aufgeschoben. Eine weitere prospektive Studie (Studienleiter: Prof. Dr. J. Finke, Universitätsklinikum Freiburg) kombinierte für 30 Patienten bis zum 65. Lebensjahr eine Chemotherapie bestehend aus HDMTX, Cytarabin und Thiotepa

(gefolgt von einer myeloablativen Thiotepa- und Carmustin-Behandlung mit autologer Stammzell-Rescue) mit nachfolgender Ganzhirnbestrahlung, falls keine Komplettremission vorlag. Von diesen 30 Patienten durchliefen 21 die gesamte Therapie und erreichten alle eine Komplettremission. Das 5-Jahres-Überleben betrug für die Intent to treat-Patienten 69% (41).

Die wichtigsten bislang etablierten klinischen Prognosefaktoren bei PCNSL sind das Alter und der Allgemeinzustand des Patienten (24, 42). Zudem war in einer multizentrischen deutschen Studie das Überleben signifikant mit der Behandlung an einer erfahrenen Klinik assoziiert (Publikation V S. 78 ff.).

## **1.5 Rezidivsituation**

Die Rezidivtherapie des PCNSL ist aus Mangel an aussagekräftigen vergleichenden Therapiestudien noch weniger standardisiert als die Primärtherapie. Patienten scheinen aber insgesamt von einer Rezidivtherapie zu profitieren (43). Eine erneute HDMTX-Behandlung ist insbesondere nach einem langen rezidivfreien Intervall häufig effektiv (44). Bei ausschließlich chemotherapierten Patienten ist eine Ganzhirnbestrahlung möglich (45). Bei jungen Patienten (unter 65 Jahre) in gutem Allgemeinzustand kann eine myeloablativ Hochdosis-Chemotherapie mit nachfolgender autologer Stammzelltransplantation erwogen werden (46). Weitere bislang publizierte Optionen umfassen die Temozolomid-Monotherapie (47), Temozolomid in Kombination mit dem humanisierten Anti-CD20-Antikörper Rituximab (48) oder eine Topotecan-Monotherapie (Publikation VIII S. 105 ff.).

Prognosefaktoren sind in der Rezidivsituation bislang nicht etabliert. Die bisher publizierten Daten stammen zu einem grossen Teil von Patienten, die in der Primärtherapie ohne HDMTX und/oder lediglich mit Ganzhirnbestrahlung behandelt wurden (43).

## **1.6 Primäres intraokuläres Lymphom**

Da das PIOL eine Manifestation des PCNSL darstellt, ist die Behandlung des PIOL eng mit der des PCNSL verknüpft. In Analogie zum PCNSL basieren daher die meisten der wenigen prospektiven Therapiestudien bei PIOL auf der Gabe von HDMTX (37, 49). Fokale Therapieoptionen bei PIOL sind die okuläre Radiotherapie (50) sowie die intravitreale Chemotherapie, bei der vorwiegend Methotrexat (MTX) eingesetzt wird (51).

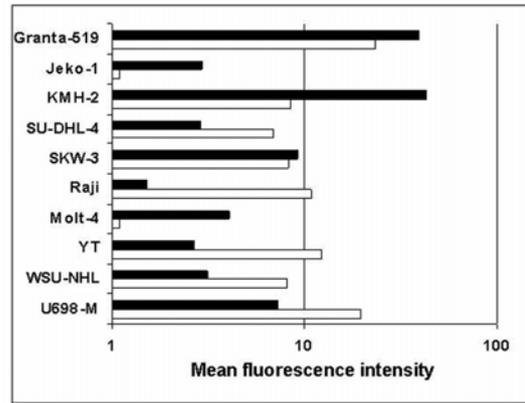
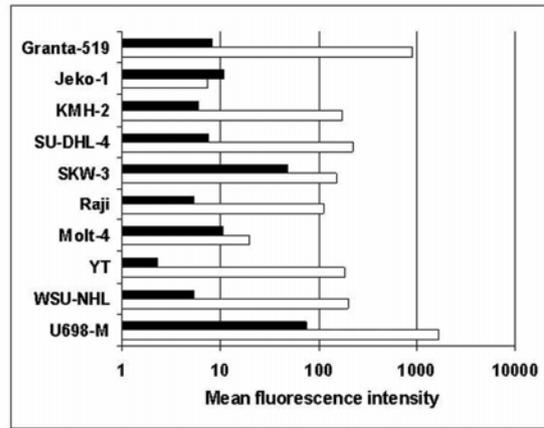
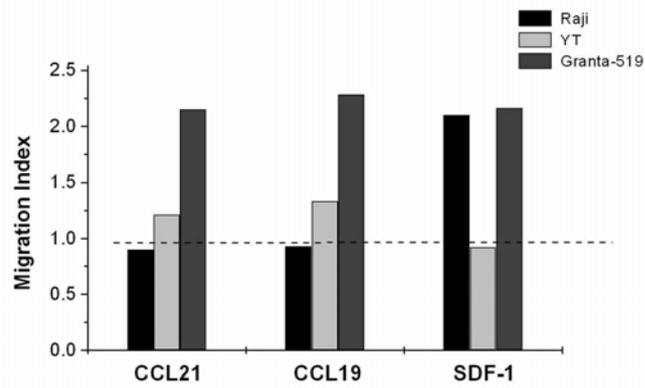
## **2 Neue Erkenntnisse zur Pathogenese und Diagnostik primärer Lymphome des zentralen Nervensystems**

### **2.1 Die Rolle von Chemokinen und Chemokinrezeptoren in der Pathogenese**

Die Frage, warum PCNSL das ZNS, welches unter physiologischen Bedingungen nur wenige B-Lymphozyten enthält, befällt, ist ebenso ungeklärt wie die Frage, warum PCNSL nur selten nach extrazerebral disseminieren. Zahlreiche Studien implizieren eine wichtige Rolle von Chemokinen und Chemokinrezeptoren in der Metastasierung von diversen Tumorentitäten, wobei für die Disseminierung von B-Lymphozyten in Lymphknoten und andere Organe insbesondere die Chemokinrezeptoren CXCR4, CXCR5 und CCR7 bedeutsam zu sein scheinen (52). Wir haben mittels Immunhistochemie und Lichtmikroskopie die Expression der Chemokinrezeptoren CXCR4, CXCR5 und CCR7 an Paraffinschnitten von 29 PCNSL-Biopsaten untersucht und der Expression dieser Rezeptoren auf 29 extrazerebralen NHL (17 DLBCL, 6 Mantelzell-Lymphome und 6 chronisch-lymphatische Leukämien vom B-Zell-Typ) gegenübergestellt. Jeweils 10 PCNSL- und extrazerebrale NHL-Präparate wurden zur Bestätigung der Ergebnisse auch fluoreszenzmikroskopisch untersucht. Alle PCNSL-Präparate zeigten lichtmikroskopisch und fluoreszenzmikroskopisch eine auf das Zytoplasma beschränkte Expression der drei Chemokinrezeptoren, in 6 Präparaten fand sich auch eine nukleäre Expression von CXCR4. Dem gegenüber exprimierte ein Grossteil der extrazerebralen NHL-Präparate die drei Rezeptoren auch auf der Zellmembran. In einem nächsten Schritt untersuchten wir, ob das Verteilungsmuster der Chemokinrezeptoren bei PCNSL eine funktionelle Bedeutung haben könnte. Da es bislang keine etablierte PCNSL-Zelllinie gibt, untersuchten wir 10 kommerziell erhältliche extrazerebrale NHL-Zelllinien auf ihr CXCR4-, CXCR5- und CCR7-Expressionsmuster. Die Zelllinie YT zeigte wie die PCNSL-Präparate eine deutliche zytoplasmatische bei Abwesenheit einer membranösen CXCR4-

Expression, bei der Zelllinie Raji fand sich dieses Expressionsmuster für den Chemokinrezeptor CCR7 (Abbildung 1 A und B). Um den Effekt der CXCR4-Liganden Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1) und der CCR7-Liganden CCL19 und CCL21 auf die Motilität der Lymphomzellen zu untersuchen, führten wir ein Transwell migration assay durch. Hierbei zeigten die YT- und Raji-Zellen ohne Oberflächenexpression von CXCR4 bzw. CCR7 keine Migration nach Stimulation durch ihre spezifischen Liganden. Hingegen zeigte die Mantelzell-Lymphom-Zelllinie Granta-519, welche CXCR4 und CCR7 auf der Zelloberfläche exprimiert, eine Migration als Antwort auf alle 3 Liganden (Abbildung 1 C). Somit konnte für die untersuchten Zelllinien gezeigt werden, dass intrazellulär exprimierte Chemokinrezeptoren funktionell inaktiv sind. Daher könnte die bei PCNSL beobachtete zytoplasmatische Expression der Chemokinrezeptoren CXCR4 und CCR7 bei gleichzeitiger Abwesenheit einer membranösen Expression einen Hinweis darauf liefern, warum PCNSL nur selten nach extrazerebral disseminieren.

**Abbildung 1:** Expression und Funktion der Chemokinrezeptoren CXCR4 und CCR7 auf peripheren Lymphom-Zelllinien. Die Expression von CCR7 **(A)** und CXCR4 **(B)** wurde auf der Zelloberfläche (schwarze Balken) und nach Permeabilisierung der Zellen (weisse Balken) mittels Durchflusszytometrie analysiert. Die mittlere Fluoreszenzintensität (Mean fluorescence intensity, MFI) der spezifischen Antikörperfärbungen nach Subtraktion der MFI von Isotypkontrollen ist dargestellt. **(C)** Die Migration der Zelllinien Raji, YT und Granta-519 als Antwort auf die Stimulation durch die spezifischen CCR7-Liganden CCL19 und CCL21 und den spezifischen CXCR4-Liganden SDF-1 wurde durch ein Transwell migration assay analysiert. Die Resultate sind als Migrationsindex (Migration index, ermittelt aus 3 unabhängigen Experimenten) aufgeführt.

**A****B****C**

## **Publikation I**

Jahnke K, Coupland SE, Na IK, Loddenkemper C, Keilholz U, Korfel A, Stein H, Thiel E, Scheibenbogen C.

**Expression of the chemokine receptors CXCR4, CXCR5 and CCR7 in primary central nervous system lymphoma.**

*Blood* 2005;106:384-5.

## **2.2 Detektion von subklinischen systemischen Manifestationen**

Rezidive eines PCNSL treten fast ausschliesslich im ZNS und nur selten systemisch auf. Allerdings wurden in einigen Arbeiten nach umfassendem konventionellen Staging (siehe auch Kapitel 1.1 Seite 5 ff. und Kapitel 1.3 Seite 7 ff.) okkulte systemische Lymphommanifestationen bei bis zu 15% der untersuchten Patienten nachgewiesen (6-8), so dass diese Patienten per definitionem nicht mehr als PCNSL klassifiziert werden konnten. Wir haben zusätzlich zum üblichen Routine-Staging mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) des peripheren Blutes und Knochenmarks bei 24 konsekutiven HIV-negativen PCNSL-Patienten unserer Klinik untersucht, ob sich auch über das Routine-Staging hinaus auf molekularer Ebene bei Diagnosestellung subklinische okkulte PCNSL-Manifestationen ausserhalb des ZNS nachweisen lassen. Die angewandte PCR-Methodik untersuchte die Präparate auf klonale Rearrangements der schweren Immunglobulinketten und wurde im Rahmen einer konzertierten europäischen Initiative (BIOMED-2) entwickelt (53). Wir fanden bei 2 Patienten identische dominante PCR-Amplifikate in Blut, Knochenmark und im Tumorpräparat des ZNS-Lymphoms, womit zweifelsfrei die Existenz einer identischen Tumorzellpopulation in ZNS und den beiden extrazerebralen Kompartimenten belegt werden konnte. Bei 2 weiteren Patienten fanden sich identische dominante PCR-Produkte in Blut und Knochenmark, jedoch konnte im ZNS nur ein oligoklonales Rearrangement-Muster nachgewiesen werden, was in erster Linie auf die geringe Menge an verfügbarem Untersuchungsmaterial zurückzuführen gewesen sein dürfte. Bei 2 der 4 Patienten mit monoklonaler systemischer Tumorzellpopulation konnten auch 24 bzw. 27 Monate nach Erstdiagnose und Therapiebeginn noch monoklonale Amplifikate im peripheren Blut nachgewiesen werden, ohne dass jedoch ein durch Routine-Staginguntersuchungen detektierbares systemisches Rezidiv aufgetreten war. Unsere Ergebnisse belegen

eindeutig, dass bei Diagnosestellung subklinische systemische Tumormanifestationen bei PCNSL vorliegen können. Die klinische Relevanz unserer Ergebnisse, insbesondere für den Umfang des Routine-Stagings und die systemische Therapie, wird durch ein längeres Follow-up und an einem grösseren Patientenkollektiv verifiziert werden.

## Publikation II

Jahnke K, Hummel M, Korfel A, Burmeister T, Kiewe P, Klasen HA, Müller HH, Stein H, Thiel E.

**Detection of subclinical systemic disease in primary central nervous system lymphoma by polymerase chain reaction of the rearranged immunoglobulin heavy-chain genes.**

*Journal of Clinical Oncology* 2006;24:4754-7.

### **3 Tiermodelle von Lymphomen des zentralen Nervensystems**

#### **3.1 Entwicklung und Charakterisierung zweier Tiermodelle**

Obwohl PCNSL histologisch in der grossen Mehrzahl DLBCL entsprechen, haben sie eine deutlich schlechtere Prognose als systemische DLBCL. Als ursächliche Faktoren wurden unter anderem die Seltenheit der Erkrankung mit der Schwierigkeit der Durchführung klinischer Studien mit ausreichend grosser Fallzahl, die Unwirksamkeit zahlreicher in der Therapie systemischer NHL angewandter Chemotherapeutika durch die die Permeabilität limitierende Blut-Hirn-Schranke sowie die noch weitgehend unverstandene Biologie und Pathogenese der PCNSL postuliert. Tiermodelle von ZNS-Lymphomen, welche die klinische Situation möglichst akkurat widerspiegeln, könnten daher für die Evaluation der Biologie, Pathogenese und Therapie von PCNSL von grosser potentieller Bedeutung sein. Leider ist es bislang nicht gelungen, ein PCNSL-Tiermodell zu entwickeln. Wir haben unter Anwendung kommerziell erhältlicher Zellen eines humanen systemischen DLBCL (MC116-Lymphomzelllinie) ein intrazerebrales (Nucleus caudatus, n = 49) und ein intraventrikuläres (rechter Seitenventrikel, n = 4) ZNS-Lymphommodell in athymischen Nacktratten (rnu/rnu) entwickelt. Mit dem Ziel der Optimierung der Erfolgsquote der Tumorinokulation wurde ein Teil der Ratten mit Ganzkörperbestrahlung (4 Gy; n = 18) oder Cyclophosphamid (300 mg/m<sup>2</sup>; n = 13) zwecks Reduktion der residuellen T-Zell-Immunität vorbehandelt. Zwei bis 5 Wochen nach Tumorinokulation wurde eine MRT zur Verifizierung des Inokulationserfolges durchgeführt. Nach Tötung der Tiere zwischen Tag 19 und 44 wurde das Gehirn histologisch untersucht. Alle histologischen Schnitte wurden entweder mit Hämatoxylin oder Hämatoxylin und Eosin gefärbt und anschliessend unter Anwendung eines B-NHL-Panels immunhistochemisch untersucht. Wir konnten in 84% (n = 19) der nicht vorbehandelten Tiere ein intrazerebrales Tumorwachstum

feststellen. Ganzkörperbestrahlung konnte im Gegensatz zu Cyclophosphamid die Inokulations-Erfolgsrate nicht steigern (Erfolgsquoten 79% [n = 19] versus 92% [n = 14]). Unter Cyclophosphamid zeigten die Versuchstiere zudem ein homogeneres Tumorwachstum mit einer geringeren Spannweite des Tumolvolumens. Die MRT zeigte in der T1-Sequenz mit Gadolinium-Kontrast wie bei humanen PCNSL ausgeprägte, vorwiegend im Tumorzentrum gelegene, homogene Kontrastmittelanreicherungen und eine peritumorale Ödemzone bei den meisten untersuchten Tieren in den T2- und Fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR)-Wichtungen. Das MRT-Tumolvolumen korrelierte gut mit dem histologisch ermittelten Tumolvolumen. Wie bei humanen PCNSL fand sich auch histologisch im Tiermodell ein infiltrierendes, unscharf begrenztes Tumorwachstum mit typischer perivaskulärer Lokalisation der Lymphomzellen sowie konventionell histologischen und immunhistologischen Charakteristika eines hochmalignen B-Zell-Lymphoms. Alle 4 Tiere des intraventrikulären Lymphommodells zeigten Tumorwachstum, welches sich in der MRT vorwiegend in den FLAIR-Sequenzen als periventrikuläre Signalanhebung mit deutlich erweiterten Seitenventrikeln nachweisen liess. (Immun)histologisch zeigte sich ein meningealer Lymphombefall mit diffuser Infiltration des umgebenden Parenchyms. Um das Ansprechen des Lymphoms auf bei humanen PCNSL etablierte Therapieverfahren zu evaluieren, behandelten wir in einer Pilotstudie jeweils 5 Ratten mit in der MRT nachgewiesenem intrazerebralen Tumor an Tag 19 nach Inokulation mit einer Einzeldosis MTX (3 g/m<sup>2</sup>) bzw. Ganzhirnbestrahlung (20 Gy Einzeldosis). Bei 3 von 4 evaluierbaren mit MTX behandelten Tieren zeigte sich in der MRT eine Woche nach Behandlung ein Tumorprogress und bei einer Ratte ein stabiles Tumolvolumen. Hingegen sprachen alle mit Ganzhirnbestrahlung behandelten Ratten auf die Behandlung an. Sowohl MTX als auch Bestrahlung waren effektiv gegen MC116-Lymphomzellen in vitro.

Insgesamt teilen beide ZNS-Lymphom-Tiermodelle zahlreiche Aspekte der Radiomorphologie, Histologie und Sensitivität gegenüber Therapien mit humanen ZNS-Lymphomen und bieten so die Möglichkeit, in Folgestudien weitere Erkenntnisse über die Biologie, Pathogenese und Therapie von ZNS-Lymphomen zu gewinnen. Eine Folgestudie, die die Effektivität diverser Therapiestrategien im intrazerebralen Lymphommodell untersuchte, wird in Kapitel 3.2 (Seite 37 ff.) vorgestellt.

### **Publikation III**

Soussain C, Muldoon LL, Varallyay C, Jahnke K, DePaula L, Neuwelt EA.

**Characterization and magnetic resonance imaging of a rat model of human B-cell central nervous system lymphoma.**

*Clinical Cancer Research* 2007;13:2504-11.

### **3.2 Evaluation von therapeutischen Strategien mit Hilfe eines Tiermodells**

Wir untersuchten anhand des in Kapitel 3.1 (Seite 25 ff.) vorgestellten intrazerebralen Lymphommodells die Effektivität verschiedener Therapiestrategien. Zur Evaluation des Ansprechens wurden MRT und (Immun)histologie wie in Kapitel 3.1 (Seite 25 ff.) dargelegt herangezogen. Bei allen Ratten wurde zwischen Tag 16 und 26 eine MRT zur Verifizierung des Inokulationserfolgs durchgeführt. Am Tag der MRT-Untersuchung wurden die Ratten in einen von 4 Therapiearmen randomisiert und behandelt. Neben einer Kontrollgruppe ohne Therapie wurde die zweite Gruppe mit MTX ( $1 \text{ g/m}^2$ ), die dritte mit Rituximab ( $375 \text{ mg/m}^2$ ) und die vierte Gruppe mit einer Kombination aus MTX und Rituximab behandelt. Zur Evaluation des Ansprechens wurde eine Woche nach Therapie erneut eine MRT durchgeführt. Anschliessend wurden die Tiere getötet und die Gehirne histologisch untersucht. Der Rituximab-Arm erwies sich mit einer mittleren Tumorreduktion von 67,8% (T2/FLAIR-Sequenzen) bzw. 81,4% (T1 + Gadolinium-Sequenzen) am effektivsten, wobei diese Werte signifikant von der Kontrollgruppe differierten ( $p = 0,0051$  für die T2/FLAIR-Sequenzen und  $p = 0,0164$  für die T1 + Gadolinium-Sequenzen). MTX reduzierte zwar das Tumorstadium im Vergleich zur Kontrollgruppe, jedoch waren diese Unterschiede nicht statistisch signifikant. Die Kombination aus MTX und Rituximab erwies sich als weniger effektiv im Vergleich zu jeder der beiden Einzelsubstanzen. Wir untersuchten auch, ob hinsichtlich des Tumorstadiums im Vergleich von prä- und posttherapeutischer MRT ein Ansprechen (definiert als  $>50\%$ ige Volumenreduktion), eine stabile Situation ( $\leq 50\%$  Volumenreduktion und  $\leq 25\%$  Volumenzunahme) oder ein Tumorstadium ( $>25\%$  Volumenzunahme) vorlag. Vier von 6 mit Rituximab behandelten Tieren zeigten ein Ansprechen, demgegenüber war in der MTX-Gruppe nur bei einer Ratte ein objektives Ansprechen zu verzeichnen. Die Tumorstadien der T2/FLAIR-Sequenzen korrelierten insgesamt besser mit dem

histologischen Tumolvolumen als die T1 + Gadolinium-Sequenzen. Das intrazerebrale ZNS-Lymphommodell erwies sich in dieser Studie als gut geeignet für die präklinische Testung von therapeutischen Strategien bei ZNS-Lymphomen.

## **Publikation IV**

Jahnke K, Muldoon LL, Varallyay CG, Lewin SJ, Brown RD, Kraemer DF, Soussain C, Neuwelt EA.

**Efficacy and MRI of rituximab and methotrexate treatment in a nude rat model of CNS lymphoma.**

*Neuro-Oncology* 2008, im Druck.

## **4 Erstlinientherapie primärer Lymphome des zentralen Nervensystems**

### **4.1 Multizentrische Therapiestudie mit Carmustin, Methotrexat, Procarbazin und Dexamethason (BMPD)**

Basierend auf der allgemein akzeptierten Erkenntnis, dass die Verwendung von Polychemotherapieprotokollen bei systemischen aggressiven nodalen NHL essentiell für den Behandlungserfolg ist, wurde an unserer Klinik ein Polychemotherapie-Studienprotokoll bestehend aus den ZNS-gängigen Chemotherapeutika Carmustin (BCNU), HDMTX und Procarbazin in Kombination mit Dexamethason (BMPD-Protokoll) für die PCNSL-Erstlinientherapie initiiert. In die prospektive multizentrische Studie wurden zwischen 1998 und 2000 56 auswertbare Patienten aus 28 behandelnden Institutionen (darunter auch zahlreiche kleinere Krankenhäuser) eingeschlossen. Neben den Endpunkten Ansprechen, Überleben und Toxizität war ein weiterer wichtiger Endpunkt die systematische Evaluation von Prognosefaktoren. Eine Komplettremission nach Chemotherapie wurde bei 54% und eine partielle Remission bei 16% der Patienten erreicht. Sieben Prozent hatten eine stabile Erkrankung und bei 13% zeigte sich ein Krankheitsprogress nach BMPD. Insgesamt 21 Patienten erhielten eine Ganzhirnbestrahlung. Die mediane Zeit zur Krankheitsprogression betrug 9,9 Monate, das mediane Gesamtüberleben 11,5 Monate. Die Überlebensdaten erscheinen im Vergleich zu bis dahin publizierten multizentrischen PCNSL-Studien eher niedrig, was unter anderem auch auf die relativ hohe Therapietoxizität mit insgesamt 6 behandlungsassoziierten Todesfällen (entsprechend 11% der evaluierbaren Patienten) zurückzuführen ist. Das mediane Überleben war signifikant höher bei Chemotherapie-Respondern als bei Non-Respondern (18,2 versus 9,9 Monate,  $p = 0,02$ ). Ausserdem wurde ein signifikant längeres Überleben der Studienpatienten an Zentren festgestellt, die mindestens 4 Patienten in die Studie eingebracht hatten (31,5 versus 9,5 Monate,  $p = 0,03$ ), was

auf die Bedeutung der Behandlungserfahrung der behandelnden Institution für die Prognose des vergleichsweise selten vorkommenden PCNSL hinweist. Werden in die Auswertung der Überlebensdaten nur die Zentren einbezogen, die mindestens 4 Patienten in die Studie eingebracht haben, sind die Überlebensdaten der BMPD-Studie mit denen bereits vorpublizierter multizentrischer Studien vergleichbar.

## **Publikation V**

Korfel A, Martus P, Nowrousian MR, Hossfeld DK, Kirchen H, Brücher J, Stelljes M, Birkmann J, Peschel C, Pasold R, Fischer L, Jahnke K, Thiel E for the German Primary Central Nervous System Lymphoma Study Group (G-PCNSL-SG).

**Response to chemotherapy and treating institution predict survival in primary central nervous system lymphoma.**

*British Journal of Haematology* 2005;128:177-83.

## 4.2 Therapietoxizität von Hochdosis-Methotrexat

Im Rahmen einer Interimanalyse einer multizentrischen, prospektiven, randomisierten Phase III/IV-Studie der German Primary Central Nervous System Lymphoma Study Group (G-PCNSL-SG; Studienleitung: Prof. Dr. Dr. h.c. E. Thiel/PD Dr. A. Korfel, Charité-Universitätsmedizin Berlin und Prof. Dr. M. Weller, Universität Zürich) untersuchten wir vergleichend zwischen über 60jährigen und  $\leq 60$ jährigen Patienten die Therapietoxizität durch HDMTX. Das Studienkonzept der Studie (G-PCNSL-SG-1) ist detailliert in Publikation VI auf den Seiten 89-91 beschrieben. Die Therapietoxizität wurde anhand der ersten 154 in die Studie eingeschlossenen Patienten evaluiert. Der Hintergrund dieser Analyse war, dass eine HDMTX-Behandlung insbesondere bei älteren Patienten mit schwerer Toxizität (insbesondere Nephrotoxizität) verknüpft sein kann, weshalb gerade bei dieser Patientengruppe oft primär vor Therapiebeginn eine Dosisreduktion vorgenommen wird. Das könnte potentiell die ohnehin schlechtere Prognose älterer PCNSL-Patienten zusätzlich negativ beeinflussen (24). Die Therapie wurde in einer Dosierung von  $4 \text{ g/m}^2$  HDMTX alle 2 Wochen über maximal 6 Zyklen durchgeführt. Wir konnten bei insgesamt moderater HDMTX-Toxizität keinen statistisch signifikanten Unterschied in Inzidenz und Schweregrad der HDMTX-Toxizität zwischen über 60jährigen und  $\leq 60$ jährigen Patienten feststellen. Ebenso gab es keine signifikanten Unterschiede bei durch HDMTX-Toxizität bedingten Therapieabbrüchen sowie bei verzögerter MTX-Clearance. Allerdings musste bei den  $>60$ jährigen Patienten statistisch signifikant häufiger eine protokollgemässe HDMTX-Dosisreduktion infolge einer reduzierten glomerulären Filtrationsrate vorgenommen werden. Insgesamt kann festgehalten werden, dass eine HDMTX-Behandlung altersunabhängig sicher durchgeführt werden kann. Dies setzt allerdings die strikte Durchführung sämtlicher

Supportivmassnahmen sowie eine konsequente Dosisreduktion bei verminderter glomerulärer Filtrationsrate voraus.

## **Publikation VI**

Jahnke K, Korfel A, Martus P, Weller M, Herrlinger U, Schmittel A, Fischer L, Thiel E on behalf of the German Primary Central Nervous System Lymphoma Study Group (G-PCNSL-SG).

**High-dose methotrexate toxicity in elderly patients with primary central nervous system lymphoma.**

*Annals of Oncology* 2005;16:445-9.

## **5 Rezidierte primäre Lymphome des zentralen Nervensystems**

### **5.1 Klinische Charakteristika, Überleben und prognostische Faktoren**

Die Datenlage zu rezidierten PCNSL ist spärlich. Die meisten Daten stammen aus retrospektiven Studien mit kleinen Fallzahlen. Ein Therapiestandard sowie prognostische Faktoren in der Rezidivsituation sind nicht etabliert. Als Konsequenz erhalten zahlreiche rezidierte Patienten überhaupt keine PCNSL-spezifische Behandlung (43, 54). Die Prognose in der Rezidivsituation ist ohne Therapie mit einem medianen Überleben von 2 bis 4 Monaten sehr ungünstig (55). Wir haben die ersten 52 rezidierten PCNSL-Patienten aus 2 prospektiven Erstlinientherapie-Studien (BMPD- und G-PCNSL-SG-1-Studie, siehe Publikation V und VI, Seite 78 ff. und 88 ff.) hinsichtlich klinischer Charakteristika, Überleben und prognostischer Faktoren ausgewertet. Insgesamt erreichten von 283 Studienpatienten 143 (51%) eine Komplettremission nach Abschluss der Studientherapie. Die Rezidivrate betrug zum Zeitpunkt der Auswertung 36% (52 von 143 Patienten) bei einer medianen Beobachtungszeit von 22,5 Monaten. Die Therapie im Rezidiv war in beiden Studien nicht fest vorgegeben und wurde individuell nach Massgabe des behandelnden Zentrums festgelegt. Die grosse Mehrzahl (44 von 51 evaluierbaren Patienten) rezidierte im ZNS, 6 Patienten rezidierten systemisch, und ein Patient sowohl zerebral als auch systemisch. Das mediane Gesamtüberleben nach Rezidiv betrug 4,5 Monate. Wir konnten einen guten Allgemeinzustand zum Zeitpunkt der Diagnose des Rezidivs ( $p = 0,004$ ), ein isoliertes systemisches Rezidiv ( $p = 0,049$ ) sowie eine PCNSL-spezifische Behandlung ( $p = 0,001$ ) als unabhängige prognostisch günstige Variablen für das Überleben identifizieren. Hingegen konnte im Gegensatz zur Situation in der Erstlinientherapie (24) das Patientenalter nicht als prognostischer Faktor etabliert werden. Somit kann festgehalten werden, dass Patienten unabhängig

vom Alter auch im Rezidiv von einer PCNSL-spezifischen Behandlung profitieren können.

## **Publikation VII**

Jahnke K, Thiel E, Martus P, Herrlinger U, Weller M, Fischer L, Korfel A on behalf of the German Primary Central Nervous System Lymphoma Study Group (G-PCNSL-SG).

**Relapse of primary central nervous system lymphoma: clinical features, outcome and prognostic factors.**

*Journal of Neuro-Oncology* 2006;80:159-65.

## 5.2 Topotecan als therapeutische Option

Die schlechte Prognose und die nicht etablierte Therapie rezidivierter PCNSL erfordern die Evaluation von weiteren potentiellen therapeutischen Optionen. Wir haben die Wirksamkeit und Toxizität von Topotecan, einem semisynthetischen Camptothecin-derivat, das selektiv die Topoisomerase I in der S-Phase des Zellzyklus hemmt, bei 27 konsekutiven refraktären oder rezidivierten PCNSL-Patienten prospektiv in einer multizentrischen Phase II-Studie untersucht. Topotecan kann Liquorkonzentrationen von über 30% der Plasmakonzentration erreichen (56, 57) und wurde bereits erfolgreich in der Therapie systemischer NHL (58) und Hirnmetastasen (59) eingesetzt. Topotecan wurde in einer Dosierung von 1,5 mg/m<sup>2</sup> Körperoberfläche intravenös an den Tagen 1-5 appliziert. Maximal wurden 6 Zyklen in dreiwöchigen Abständen verabreicht. Die Patienten waren mit bis zu 4 verschiedenen Therapien (inklusive HDMTX) vorbehandelt, darunter 14 mit Ganzhirnbestrahlung. Die Gesamtansprechrate unter Topotecan-Therapie lag bei 33%, darunter waren 5 komplette und 4 partielle Remissionen. Bei 6 Patienten wurde eine stabile Erkrankung und bei 11 Patienten ein Krankheitsprogress festgestellt. Das mediane Gesamtüberleben nach Topotecan war 8,4 Monate. Das Ein- und 2-Jahresüberleben betragen 39% bzw. 33%. Fünf Patienten erzielten eine Langzeitremission, die für 7,5, 10,5, 15,8, 24,1+ bzw. 28,6 Monate anhielt. Die Toxizität war fast ausschliesslich hämatologischer Natur. Insgesamt konnte gezeigt werden, dass Topotecan eine valide Option für die Behandlung von rezidivierten PCNSL darstellt, und dass ein nicht unerheblicher Anteil der Patienten auch langfristig von dieser Therapie profitieren kann. Die Überlebensdaten entsprechen in etwa denen vorpublizierter Studien zu rezidivierten PCNSL, wobei in diesen Studien jedoch teilweise eine deutlich höhere Toxizität zu verzeichnen war (46).

## **Publikation VIII**

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

**Prospective trial on topotecan salvage therapy in primary CNS lymphoma.**

*Annals of Oncology* 2006;17:1141-5.

## **6 Niedrig maligne primäre Lymphome des zentralen Nervensystems: Charakterisierung einer Entität**

Histologisch sind PCNSL in der Regel aggressive DLBCL mit einer Wachstumsfraktion von mindestens 50% sowie typischen klinischen und radiographischen Charakteristika (siehe Kapitel 1 Seite 5 ff.) (14). Abweichend von diesen klassischen PCNSL sind in wenigen Fallberichten (60) und kleineren retrospektiven Studien (61, 62) jedoch auch PCNSL mit Wachstumsfraktionen von 20% oder weniger und teilweise atypischem klinischen und paraklinischen Verlauf (niedrig maligne oder low-grade PCNSL) beschrieben. Allerdings fehlen anhand von grösseren Patientenkollektiven validierte Daten zu dieser PCNSL-Entität. Wir haben unter dem Dach der International Primary Central Nervous System Lymphoma Collaborative Group (IPCG), einem internationalen, interdisziplinären Verbund von neuroonkologisch tätigen Ärzten und Wissenschaftlern aus Nordamerika, Europa und Australien, Inzidenz, klinischen Verlauf sowie pathologische und radiographische Charakteristika von niedrig malignen PCNSL untersucht. Die insgesamt 18 teilnehmenden Therapiezentren aus 5 Nationen führten hierzu einen systematischen Review ihrer PCNSL-Datenbanken durch. Insgesamt konnten 40 PCNSL-Patienten mit einem Tumor-Proliferationsindex von 20% oder weniger identifiziert werden. Im Vergleich mit klassischen hochmalignen PCNSL wiesen die niedrig malignen PCNSL zahlreiche bemerkenswerte klinische und paraklinische Unterschiede auf. So erstmanifestierten sich niedrig maligne PCNSL relativ häufig mit Krampfanfällen (44%), und die radiographischen Charakteristika waren variabel und oft atypisch. Das könnte erklären, warum die mittlere Zeit von der Symptompräsentation bis zur Diagnosestellung bei niedrig malignen PCNSL mit 14,8 Monaten länger war als bei klassischen PCNSL. Weitere Charakteristika waren ein relativ hoher Anteil an T-Zell-Lymphomen (20%) sowie ein gegenüber hochmalignen PCNSL deutlich längeres

Überleben trotz teilweise für das klassische PCNSL nicht adäquater, lokaler oder lediglich supportiver Therapie. Die Überlebensdaten erscheinen selbst dann vorteilhaft, wenn sie mit denen von aktuellen prospektiven Studien verglichen werden, in die nahezu ausschliesslich Patienten mit klassischem PCNSL eingeschlossen wurden (siehe Tabelle 1). Das Patientenalter erwies sich analog zu den klassischen PCNSL (24) auch bei den niedrig malignen PCNSL als der wichtigste Prognosefaktor.

**Tabelle 1:** Vergleich der Überlebensdaten von niedrig malignen PCNSL (Publikation IX Seite 113 ff.) und aktuellen prospektiven PCNSL-Studien, in die beinahe ausschliesslich klassische hochmaligne PCNSL eingeschlossen wurden.

	N	Medianes Alter (Jahre)	2-Jahres-ÜL (%)	5-Jahres-ÜL (%)	Medianes Gesamt-ÜL (Monate)
<b>DeAngelis, 2002 (39)</b>	102	56,5	n.b.	42	40,7
<b>Ferreri, 2002 (63)</b>	370	61	37	n.b.	n.b.
<b>Pels, 2003 (38)</b>	65	62	69	43	50
<b>Poortmans, 2003 (64)</b>	52	51	52	n.b.	46
<b>Illerhaus, 2006 (41)</b>	30	54	n.b.	69 <sup>a</sup>	n.b.
<b>Jahnke, 2006<sup>b</sup></b>	40	60	75	67	79

<sup>a</sup>87% bei Patienten, die mit Hochdosischemotherapie und autologem Stammzellsupport behandelt wurden (n = 23).

<sup>b</sup>Studie zu niedrig maligne PCNSL, siehe Publikation IX (Seite 113 ff.).  
Abkürzungen: ÜL = Überleben, n.b. = nicht berichtet.

## **Publikation IX**

Jahnke K, Korfel A, O'Neill BP, Blay JY, Abrey LE, Martus P, Poortmans PMP, Shenkier TN, Batchelor TT, Neuwelt EA, Raizer JJ, Schiff D, Pels H, Herrlinger U, Stein H, Thiel E.

**International study on low-grade primary central nervous system lymphoma.**

*Annals of Neurology* 2006;59:755-62.

## **7 Aktuelle Therapieansätze in der Behandlung des intraokulären Lymphoms**

### **7.1 Ifosfamid und Trofosfamid: Effektivität und Pharmakokinetik**

Das intraokuläre Lymphom (IOL) ist entweder eine okuläre Manifestation eines PCNSL (= PIOL) oder eines systemischen NHL (= sekundäres IOL). Pathogenese, Diagnostik und Therapie des IOL sind daher eng mit der des PCNSL bzw. systemischen NHL verknüpft. Sechzig bis 80% der PIOL-Patienten entwickeln nach einer mittleren Zeitdauer von 29 Monaten einen zerebralen Lymphombefall (65-67). Die Prognose des PIOL ist insbesondere bei gleichzeitig bestehendem zerebralen Befall schlecht. Das mediane Gesamtüberleben bei isoliertem PIOL beträgt 57 Monate, während es bei vorhandener zerebraler Manifestation nur 33 Monate beträgt (68, 69). Die optimale Behandlung des IOL ist kontrovers und nicht definiert, was im Wesentlichen auf das Fehlen prospektiver, randomisierter Studien aufgrund der Seltenheit der Erkrankung zurückzuführen ist. Mit lokalen Therapiemaßnahmen wie okulärer Radiotherapie und intraokulärer Chemotherapie werden lediglich die okulären Tumormanifestationen behandelt. Systemische Chemotherapie hat den Vorteil einer gleichzeitigen Therapie der mikroskopischen oder makroskopischen intrakraniellen oder systemischen Manifestation des IOL. Die Blut-Retina- und die Blut-Kammerwasser-Schranke stellen physiologische Barrieren für eine Diffusion von Substanzen aus dem Blut in okuläre Gewebe dar (siehe Publikation X Seiten 126-127). Wir haben prospektiv bei 10 Patienten mit IOL, davon 8 PIOL und 2 sekundäre IOL, die Wirksamkeit, Toxizität und Pharmakokinetik der alkylierenden Oxazaphosphorinderivate Ifosfamid und Trofosfamid untersucht. Beide Substanzen sind bei systemischen NHL wirksam (70, 71). Für Ifosfamid sind eine gute Liquorgängigkeit (72) sowie Wirksamkeit bei PCNSL (38) belegt. Bei Studieneinschluss waren 4 Patienten erstdiagnostiziert und 6 nach Vorbehandlung

rezidiert. Sechs Patienten erhielten Ifosfamid in einer Dosierung von 1500 bis 2000 mg/m<sup>2</sup> Körperoberfläche/Tag an den Tagen 1-3. Trofosfamid wurde 4 Patienten mit ambulantem Therapiewunsch in einer Dosis von 150 bis 400 mg/Tag nach einem kontinuierlichen oder intermittierenden Dosierungsschema oral verabreicht. Alle behandelten Patienten sprachen auf die Behandlung an. Die Toxizität war überwiegend hämatologischer Natur und gut beherrschbar. Innerhalb einer Stunde nach Ifosfamid-Gabe (n = 6) und 4 bis 16 Stunden nach Trofosfamidapplikation (n = 3) haben wir die Ifosfamidkonzentration sowie die Konzentration der aktiven 4-Hydroxy-Metabolite von Ifosfamid und Trofosfamid im Kammerwasser bestimmt. Bei 6 von 6 mit Ifosfamid und bei einem von 3 mit Trofosfamid behandelten Patienten konnten wir aktive Metabolite im Kammerwasser nachweisen. Bei den mit Ifosfamid behandelten Patienten lag die Kammerwasser/Serum-Ratio der 4-Hydroxy-Metabolite zwischen 0,19 und 0,54. Insgesamt belegen die Daten eine gute Wirksamkeit von Ifosfamid und Trofosfamid bei IOL bei tolerabler Toxizität. Zudem konnte eine Penetration der aktiven Metabolite in das okuläre Kompartiment nachgewiesen werden.

## **Publikation X**

Jahnke K, Wagner T, Bechrakis NE, Willerding G, Coupland SE, Fischer L, Thiel E, Korfel A.

**Pharmacokinetics and efficacy of ifosfamide or trofosfamide in patients with intraocular lymphoma.**

*Annals of Oncology* 2005;16:1974-8.

## **7.2 Behandlung des intraokulären Lymphoms in der klinischen Routine**

Obwohl bei IOL eine Standardbehandlung nicht etabliert ist, so hat sich doch in den vergangenen Jahren das Spektrum der therapeutischen und auch diagnostischen Optionen erweitert. Durch das Fehlen von Studien mit grösserer Fallzahl ist jedoch unklar, inwiefern hierdurch diagnostisches und therapeutisches Management in der klinischen Routine sowie die Prognose von IOL-Patienten beeinflusst worden sind. Wir haben daher retrospektiv klinische Charakteristika, Therapie und Prognose von 19 Patienten mit PIOL und 3 Patienten mit sekundärem IOL aus 7 deutschen Therapiezentren, die ihre histologischen IOL-Präparate referenzpathologisch in unserem Hause (Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, Konsultations- und Referenzzentrum für Lymphknoten- und Hämatopathologie; Direktor: Prof. Dr. H. Stein) diagnostizieren lassen, untersucht. Hierbei wurden Patienten berücksichtigt, die zwischen Januar 2000 und September 2004 erstdiagnostiziert und bis Juni 2005 klinisch weiterverfolgt wurden. Von den 19 PIOL-Patienten waren 13 erstdiagnostiziert, während 6 ein intraokuläres Rezidiv eines zerebralen Lymphoms aufwiesen. Die mediane Zeit von initialer Symptompräsentation bis zur Diagnose war mit 6 Monaten im Vergleich zu vorpublizierten Daten relativ kurz, was auf ein gewachsenes Bewusstsein von Klinikern und Pathologen für die Erkrankung wie auch verbesserte diagnostische Möglichkeiten wie chorioretinale Biopsie, Immunzytologie/-histologie und PCR zurückzuführen sein könnte. Die Erstlinientherapie der IOL-Patienten bestand in systemischer Chemotherapie (n = 13), okulärer Radiotherapie (n = 6) und intraokulärer Chemotherapie (n = 3). Bei einem medianen progressionsfreien Überleben von 10 Monaten und einem medianen Gesamtüberleben von 22,5 Monaten war die Prognose der Studienpatienten mit den vorpublizierten Überlebensdaten von PCNSL ohne okuläre Beteiligung vergleichbar. Auffällig war

das vorteilhaftere mediane progressionsfreie Überleben von mit systemischer Therapie behandelten Patienten (12 Monate) gegenüber dem von lediglich lokal behandelten Patienten (5,5 Monate). Dieser Befund deckt sich mit Daten aus anderen Studien, die ein verbessertes Überleben von Patienten mit PIOL und begleitender zerebraler Beteiligung bei Anwendung systemischer Chemotherapie berichten (69, 73). Zudem erlitt nur einer von 13 mit systemischer Therapie behandelten Patienten ein zerebrales Rezidiv (bei einem weiteren Patient wurde ein systemisches Rezidiv diagnostiziert). Hingegen trat bei 6 von 9 fokal okulär behandelten Patienten ein zerebrales Rezidiv auf, welches die potentiell bedeutsame Rolle systemischer Therapie bei der Verhinderung von zerebralen Lymphommanifestationen unterstreicht (siehe auch Publikation X Seite 124 ff.).

## **Publikation XI**

Jahnke K, Korfel A, Komm J, Bechrakis NE, Stein H, Thiel E, Coupland SE.

**Intraocular lymphoma 2000-2005: results of a retrospective multicentre trial.**

*Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 2006;244:663-9.

## 8 Diskussion

In den letzten drei Jahrzehnten wurde von einigen Autoren über einen deutlichen Anstieg der Inzidenz des PCNSL berichtet (12). Somit scheint das PCNSL epidemiologisch immer weiter an Bedeutung zu gewinnen, bleibt aber dennoch eine seltene Erkrankung. Hierdurch bleibt die Durchführung von Studien mit aussagekräftigen Fallzahlen eine Herausforderung. Eine Stratifizierung von Prognose und Therapie der PCNSL anhand von biologischen Faktoren ist wünschenswert, konnte aber bislang noch nicht etabliert werden. Für systemische NHL sind bereits prognostische Biomarker publiziert worden (74), allerdings haben sie noch keinen Eingang in die Behandlungsroutine gefunden. In jüngster Zeit wurde bei immunkompetenten Patienten über eine Rolle von Chemokinen und ihren Rezeptoren in der Pathogenese des PCNSL und PIOL berichtet. Während das von uns erstmalig beschriebene Fehlen der membranösen Expression der Chemokinrezeptoren CXCR4, CXCR5 und CCR7 eine mögliche Erklärung für die geringe extrazerebrale Disseminierungstendenz der PCNSL liefert (Publikation I Seite 15 ff.), ist die Rolle von Chemokinen und ihren Rezeptoren beim Homing von B-Lymphozyten im ZNS weitgehend ungeklärt. Zwar wurde von einigen Autoren eine Rolle von CXCL12 und CXCL13 und ihren spezifischen Rezeptoren CXCR4 und CXCR5 in der Pathogenese des PCNSL und PIOL postuliert (75, 76), jedoch ist es bis heute nicht gelungen, ein spezifisches Muster von Molekülen und Rezeptoren zu identifizieren, die in das ZNS-Homing involviert sind (26).

Die von uns mittels PCR gefundene Rate an okkulten systemischen PCNSL-Manifestationen von 17% (Publikation II Seite 20 ff.) ist höher als die mit anderen (z.B. bildgebenden) Verfahren detektierten Häufigkeiten (5-8). Die klinische Bedeutung dieses Befundes ist noch unklar. Eine längere Beobachtungszeit der untersuchten Patienten sowie eine Validierung der Befunde anhand von grösseren

Patientenkollektiven könnte hinsichtlich der prognostischen Bedeutung Klarheit schaffen. Hierbei sollte insbesondere auch die Frage untersucht werden, ob eine Therapie, die auf die Eradikation der subklinischen systemischen Lymphommanifestationen abzielt, eine geringere Rate an extrazerebralen Rezidiven oder ein besseres Überleben zur Folge hat, was bereits für systemische NHL belegt werden konnte (77).

Durch die Seltenheit des PCNSL und die dadurch erschwerte Durchführung klinischer Studien mit ausreichender Fallzahl kommt dem tumorbiologischen, pathogenetischen und therapeutischen Erkenntnisgewinn durch ZNS-Lymphom-Tiermodelle eine besondere Bedeutung zu. Wir haben ein intrazerebrales und intraventrikuläres Tiermodell entwickelt und konnten zeigen, dass die Modelle die pathologische, radiologische und therapeutische Situation des humanen PCNSL in vielen bedeutenden Aspekten präzise widerspiegeln (Publikation III Seite 28 ff. und Publikation IV Seite 39 ff.). Die einzige zuvor publizierte Arbeit zu einem humanen zerebralen B-Zell-Lymphommodell konzentrierte sich auf pathologische Aspekte (78). Auch ein Modell eines intraokulären Lymphoms ist mittlerweile verfügbar (79). Mögliche zukünftige Projekte anhand dieser Tiermodelle beinhalten die Untersuchung von neuartigen bildgebenden Verfahren wie z.B. der dynamischen MRT, welche die nichtinvasive in vivo-Quantifizierung von Parametern der Tumervaskularisierung wie Blutvolumen, Blutfluss und Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke erlaubt, so dass ein Therapieansprechen des Tumors bereits vor Änderungen des Tumolvolumens erfasst werden kann (80). Weitere mögliche Zukunftsprojekte beinhalten Untersuchungen zu Biologie und Pathogenese sowie die Erfassung von früher therapieassoziiertes Neurotoxizität mittels diffusionsgewichteter MRT (81) und die Evaluation von weiteren therapeutischen Strategien analog Publikation IV (Seite 39 ff.).

Das rezidierte PCNSL bleibt trotz einer mittlerweile verfügbaren Vielzahl an Behandlungsoptionen (siehe Kapitel 1.5 Seite 10 ff. und Publikation VIII Seite 105 ff.) eine therapeutische Herausforderung. Unsere Daten zu rezidierten PCNSL mit relativ hoher Fallzahl beziehen sich auf Patienten, die eine PCNSL-spezifische, d.h. HDMTX-basierte Primärtherapie erhalten haben. Die Bedeutung der Definierung von Prognosefaktoren im Rezidiv liegt in der Identifizierung derjenigen Patienten, die von einer Rezidivtherapie profitieren können. Das anatomische Rezidivmuster, die hohe Rezidivrate nach Primärtherapie, das geringe mediane Gesamtüberleben nach Rezidiv, eine PCNSL-spezifische Rezidivtherapie als günstiger Prognosefaktor sowie das Fehlen des Patientenalters als prognostischer Faktor decken sich im Wesentlichen mit vorpublizierten Daten (36, 37, 39, 43, 64). Wir konnten erstmalig Allgemeinzustand und ausschliesslich extrazerebrales Rezidiv als unabhängige günstige prognostische Variablen identifizieren (Publikation VII Seite 96 ff.). Zur Verbesserung der Prognose rezidivierter PCNSL ist die Durchführung prospektiver Studien mit ausreichend hoher Fallzahl erforderlich.

Wir konnten im Rahmen eines internationalen Kooperationsprojektes zeigen, dass die sehr seltene Subentität der niedrig malignen PCNSL gegenüber den klassischen PCNSL unterschiedliche klinische, pathologische und radiographische Charakteristika aufweist. Trotz der teilweisen Anwendung von Therapiekonzepten, die für klassische PCNSL als inadäquat angesehen werden (z.B. lokale oder rein supportive Therapie), weisen die niedrig malignen PCNSL gegenüber den klassischen DLBCL-PCNSL ein deutlich vorteilhafteres Überleben auf, so dass für diese Subentität eine deeskalierte Therapie (z.B. lokale Radiotherapie) und damit reduzierte Toxizität postuliert werden kann (Publikation IX Seite 113 ff.). Der eher geringe Überlebensvorteil von mit Chemotherapie behandelten Patienten mit niedrig malignen PCNSL steht im Einklang mit der Situation bei Patienten mit systemischen

niedrig malignen NHL. Eine Bestätigung dieser Daten anhand von grösseren Patientenkollektiven ist wünschenswert, wird jedoch durch die Rarität der Erkrankung erschwert.

Wir haben bei PIOL in einer prospektiven unizentrischen Serie erstmalig eine sehr gute Wirksamkeit und okuläre Penetration von Ifosfamid und Trofosfamid belegen können (Publikation X Seite 124 ff.). Trofosfamid erwies sich bereits in einem Fallbericht bei 2 Patienten mit PIOL als wirksam (82). Die Langzeitresultate, insbesondere Rezidivrate, Überleben und Langzeittoxizität, bleiben abzuwarten und werden derzeit analysiert. Daten zu systemischen aggressiven NHL lassen vermuten, dass eine Langzeitkontrolle der Erkrankung vermutlich nicht durch eine Monotherapie erzielt werden kann. Aufgrund ihrer geringen Toxizität erscheinen Ifosfamid und Trofosfamid adäquate Kombinationspartner für andere Zytostatika zu sein, die in der Behandlung des PCNSL und des PIOL eingesetzt werden (z.B. HDMTX). Die orale Verfügbarkeit von Trofosfamid macht die Substanz zudem als mögliche Option für eine Erhaltungstherapie bei PCNSL und PIOL attraktiv. Bislang vorliegende Daten deuten auf einen Überlebensvorteil für PIOL mit gleichzeitiger zerebraler Beteiligung hin, wenn systemische Chemotherapie zur Anwendung kommt (Publikation XI Seite 132 ff.) (69, 73). Eine Bestätigung dieser Daten an grösseren Patientenkollektiven ist wünschenswert. Eine hierauf abzielende bundesweite Registerstudie zur Behandlung des PIOL in der klinischen Routine ist seit August 2008 aktiv.

In einer multizentrischen, prospektiven, randomisierten Phase III/IV-Studie der G-PCNSL-SG (G-PCNSL-SG-1-Studie; Studienleitung: Prof. Dr. Dr. h.c. E. Thiel/PD Dr. A. Korfel, Charité-Universitätsmedizin Berlin und Prof. Dr. M. Weller, Universität Zürich) wird in Deutschland seit dem Jahr 2000 eine sofortige adjuvante Schädelbestrahlung mit einer Schädelbestrahlung im Rezidiv bei PCNSL-Patienten

mit Komplettremission nach systemischer HDMTX-Therapie verglichen. Das Konzept der Studie (G-PCNSL-SG-1) ist im Detail in Publikation VI auf den Seiten 89-91 beschrieben. Bei Patienten, die nach HDMTX keine Komplettremission erreicht haben, wird eine Rescuetherapie mit Hochdosis-Cytarabin versus Ganzhirnbestrahlung vergleichend untersucht. Seit November 2006 wird HDMTX kombiniert mit Hochdosis-Ifosfamid verabreicht. Die Auswertung der Studie wird für Mitte 2009 erwartet. Derzeit gilt HDMTX als wichtiger Bestandteil der PCNSL-Erstlinientherapie bei der Mehrheit der Patienten. Vorpublizierte Daten zur Toxizität von HDMTX sind rar und stammen aus kleineren Studien. Zudem liegen keine Daten zum Vergleich der Toxizität zwischen älteren und jüngeren Patienten vor. Wir konnten im Rahmen einer Interimanalyse zeigen, dass bei adäquater Nierenfunktion und unter strenger Einhaltung der erforderlichen Supportivmassnahmen eine Therapie mit 4 g/m<sup>2</sup> HDMTX (über 6 Zyklen, alle 2 Wochen) auch bei über 60jährigen Patienten mit akzeptabler Toxizität durchführbar ist. Anhand der Ergebnisse dieser Studie stellt das Patientenalter allein keinen Grund für eine HDMTX-Dosisreduktion dar (Publikation VI Seite 88 ff.).

## 9 Zusammenfassung

Primäre Lymphome des zentralen Nervensystems (primäre ZNS-Lymphome, PCNSL) sind selten, aber in ihrer Inzidenz zunehmend. Dennoch sind durch die Rarität der Erkrankung viele Aspekte der Biologie, Pathogenese, Therapie und Prognose der PCNSL ungeklärt. In jüngster Zeit wurde zunehmend eine Rolle von Chemokinen und ihren Rezeptoren bei der Pathogenese des PCNSL postuliert. Ausserdem konnte gezeigt werden, dass bei zahlreichen PCNSL subklinische systemische Krankheitsmanifestationen vorkommen, deren prognostische und therapeutische Implikationen noch abzuwarten bleiben. Es ist gelungen, ein ZNS-Lymphom-Tiermodell zu etablieren, anhand dessen derartige und weitere biologische, pathogenetische, therapeutische und prognostische Aspekte des PCNSL untersucht werden können. In der Erstlinientherapie des PCNSL ist Hochdosis-Methotrexat (HDMTX) ein unverzichtbarer Bestandteil für die Mehrheit der Patienten und wird auch von älteren Patienten gut vertragen. Die Rolle der adjuvanten Ganzhirnbestrahlung nach HDMTX-haltiger Chemotherapie ist derzeit Gegenstand einer prospektiven Phase III/IV-Studie. Für die Rezidivsituation ist es gelungen, neue prognostische Faktoren und Therapieoptionen zu entwickeln, dennoch bleibt die Therapie dieser Patienten schwierig und nicht standardisiert. Niedrig maligne PCNSL und primäre intraokuläre Lymphome (PIOL) sind Sonderformen des PCNSL mit möglicherweise distinkten klinischen, therapeutischen und prognostischen Charakteristika, die in nationalen und internationalen Kooperationsprojekten näher spezifiziert werden konnten. Ein wichtiges Zukunftsziel in der Therapie des PCNSL ist die anhand von biologischen und klinischen Faktoren stratifizierte und individualisierte Therapie, die jedoch durch die Seltenheit der Erkrankung und die dadurch bedingte Schwierigkeit der Durchführung kontrollierter randomisierter Studien wesentlich kompliziert wird.

## 10 Literatur

1. Batchelor T, Loeffler JS. Primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2006;24:1281-8.
2. Hochberg FH, Miller DC. Primary central nervous system lymphoma. *J Neurosurg* 1988;68:835-53.
3. Balmaceda C, Gaynor JJ, Sun M, Gluck JT, DeAngelis LM. Leptomeningeal tumor in primary central nervous system lymphoma: Recognition, significance, and implications. *Ann Neurol* 1995;38:202-9.
4. Fischer L, Martus P, Weller M, Klasen HA, Rohden B, Röth A, Storek B, Hummel M, Nägele T, Thiel E, Korfel A. Meningeal dissemination in primary CNS lymphoma: prospective evaluation of 282 patients. *Neurology* 2008;71:1102-8.
5. Loeffler JS, Ervin TJ, Mauch P, Skarin A, Weinstein HJ, Canellos G, Cassady JR. Primary lymphomas of the central nervous system: Patterns of failure and factors that influence survival. *J Clin Oncol* 1985;3:490-4.
6. O'Neill BP, Dinapoli RP, Kurtin PJ, Habermann TM. Occult systemic non-Hodgkin's lymphoma (NHL) in patients initially diagnosed as primary central nervous system lymphoma (PCNSL): how much staging is enough? *J Neurooncol* 1995;25:67-71.
7. Ferreri AJ, Reni M, Zoldan MC, Terreni MR, Villa E. Importance of complete staging in non-Hodgkin's lymphoma presenting as a cerebral mass lesion. *Cancer* 1996;77:827-33.
8. Mohile NA, Deangelis LM, Abrey LE. The utility of body FDG PET in staging primary central nervous system lymphoma. *Neuro Oncol* 2008;10:223-8.
9. Tuailon N, Chan CC. Molecular analysis of primary central nervous system and primary intraocular lymphomas. *Curr Mol Med* 2001;1:259-72.
10. Côté TR, Manns A, Hardy CR, Yellin FJ, Hartge P. Epidemiology of brain lymphoma among people with or without acquired immunodeficiency syndrome. AIDS/Cancer Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:675-9.
11. Central Brain Tumor Registry of the United States: Primary Brain Tumors in the United States 1995-1999: Statistical Report. Chicago, IL, CBTRUS, 2002-2003.
12. Eby NL, Grufferman S, Flannelly CM, Schold SC Jr, Vogel FS, Burger PC. Increasing incidence of primary brain lymphoma in the U.S. *Cancer* 1988;62:2641-65.
13. Kadan-Lottick NS, Skluzarek MC, Gurney JG. Decreasing incidence rates of primary central nervous system lymphoma. *Cancer* 2002;95:193-202.
14. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press, 2001.

15. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, Boldrick JC, Sabet H, Tran T, Yu X, Powell JI, Yang L, Marti GE, Moore T, Hudson J Jr, Lu L, Lewis DB, Tibshirani R, Sherlock G, Chan WC, Greiner TC, Weisenburger DD, Armitage JO, Warnke R, Levy R, Wilson W, Grever MR, Byrd JC, Botstein D, Brown PO, Staudt LM. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-11.
16. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI, Gascoyne RD, Müller-Hermelink HK, Smeland EB, Giltane JM, Hurt EM, Zhao H, Averett L, Yang L, Wilson WH, Jaffe ES, Simon R, Klausner RD, Powell J, Duffey PL, Longo DL, Greiner TC, Weisenburger DD, Sanger WG, Dave BJ, Lynch JC, Vose J, Armitage JO, Montserrat E, López-Guillermo A, Grogan TM, Miller TP, LeBlanc M, Ott G, Kvaloy S, Delabie J, Holte H, Krajci P, Stokke T, Staudt LM; Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:1937-47.
17. Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, Weng AP, Kutok JL, Aguiar RC, Gaasenbeek M, Angelo M, Reich M, Pinkus GS, Ray TS, Koval MA, Last KW, Norton A, Lister TA, Mesirov J, Neuberg DS, Lander ES, Aster JC, Golub TR. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med* 2002;8:68-74.
18. Rubenstein JL, Fridlyand J, Shen A, Aldape K, Ginzinger D, Batchelor T, Treseler P, Berger M, McDermott M, Prados M, Karch J, Okada C, Hyun W, Parikh S, Haqq C, Shuman M. Gene expression and angiotropism in primary CNS lymphoma. *Blood* 2006;107:3716-23.
19. Camilleri-Broët S, Crinière E, Broët P, Delwail V, Mokhtari K, Moreau A, Kujas M, Raphaël M, Iraqi W, Sautès-Fridman C, Colombat P, Hoang-Xuan K, Martin A. A uniform activated B-cell-like immunophenotype might explain the poor prognosis of primary central nervous system lymphomas: analysis of 83 cases. *Blood* 2006;107:190-6.
20. Lin CH, Kuo KT, Chuang SS, Kuo SH, Chang JH, Chang KC, Hsu HC, Tien HF, Cheng AL. Comparison of the expression and prognostic significance of differentiation markers between diffuse large B-cell lymphoma of central nervous system origin and peripheral nodal origin. *Clin Cancer Res* 2006;12:1152-6.
21. Braaten KM, Betensky RA, de Leval L, Okada Y, Hochberg FH, Louis DN, Harris NL, Batchelor TT. BCL-6 expression predicts improved survival in patients with primary central nervous system lymphoma. *Clin Cancer Res* 2003;9:1063-9.
22. Chang CC, Kampalath B, Schultz C, Bunyi-Teopengco E, Logan B, Eshoa C, Dincer AP, Perkins SL. Expression of p53, c-Myc, or Bcl-6 suggests a poor prognosis in primary central nervous system diffuse large B-cell lymphoma among immunocompetent individuals. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:208-12.
23. Karabatsou K, Pal P, Dodd S, Mat A, Haylock B, Aguirreburualde M, Moxam N, Pinson-Ellis W, Broome J, Rainov NG. Expression of survivin, platelet-derived growth

factor A (PDGF-A) and PDGF receptor alpha in primary central nervous system lymphoma. *J Neurooncol* 2006;79:171-9.

24. Ferreri AJ, Blay JY, Reni M, Pasini F, Spina M, Ambrosetti A, Calderoni A, Rossi A, Vavassori V, Conconi A, Devizzi L, Berger F, Ponzoni M, Borisch B, Tinguely M, Cerati M, Milani M, Orvieto E, Sanchez J, Chevreau C, Dell'Oro S, Zucca E, Cavalli F. Prognostic scoring system for primary CNS lymphomas: the International Extranodal Lymphoma Study Group experience. *J Clin Oncol* 2003;21:266-72.

25. Brunn A, Montesinos-Rongen M, Strack A, Reifenberger G, Mawrin C, Schaller C, Deckert M. Expression pattern and cellular sources of chemokines in primary central nervous system lymphoma. *Acta Neuropathol* 2007;114:271-6.

26. Montesinos-Rongen M, Siebert R, Deckert M. Primary lymphoma of the central nervous system: just DLBCL or not? *Blood* 2009;113:7-10.

27. Bataille B, Delwail V, Menet E, Vandermarcq P, Ingrand P, Wager M, Guy G, Lapiere F. Primary intracerebral malignant lymphoma: A report of 248 cases. *J Neurosurg* 2000;92:261-6.

28. Abrey LE, Batchelor TT, Ferreri AJ, Gospodarowicz M, Pulczynski EJ, Zucca E, Smith JR, Korfel A, Soussain C, DeAngelis LM, Neuwelt EA, O'Neill BP, Thiel E, Shenkier T, Graus F, van den Bent M, Seymour JF, Poortmans P, Armitage JO, Cavalli F; International Primary CNS Lymphoma Collaborative Group. Report of an international workshop to standardize baseline evaluation and response criteria for primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2005;23:5034-43.

29. Herrlinger U, Schabet M, Eichhorn M, Petersen D, Grote EH, Meyermann R, Dichgans J. Prolonged corticosteroid induced remission in primary central nervous system lymphoma: report of a case and review of the literature. *Eur Neurol* 1996;36:241-3.

30. DeAngelis LM, Yahalom J, Heinemann MH, Cirrincione C, Thaler HT, Krol G. Primary CNS lymphoma: combined treatment with chemotherapy and radiotherapy. *Neurology* 1990;40:80-6.

31. Nelson DF. Radiotherapy in the treatment of primary central nervous system lymphoma (PCNSL). *J Neurooncol* 1999;43:241-7.

32. Stewart DJ, Russell N, Atack EA. Cyclophosphamide, Adriamycin, vincristine, and dexamethasone in the treatment of bulky central nervous system lymphoma, in Walker MD, Thomas DGT (eds): *Biology of Brain Tumors*. Boston: Martinus-Nijoff, 1986, pp 433-436.

33. Milano G, Thyss A, Serre Debeauvais F, Laureys G, Benoit Y, Deville A, Dutour C, Robert A, Otten J, Behar C, et al. CSF drug levels for children with acute lymphoblastic leukemia treated by 5 g/m<sup>2</sup> methotrexate. A study from the EORTC Children's Leukemia Cooperative Group. *Eur J Cancer* 1990;26:492-5.

34. Millot F, Rubie H, Mazingue F, Mechinaud F, Thyss A. Cerebrospinal fluid drug levels of leukemic children receiving 5 g/m<sup>2</sup> methotrexate. *Leuk Lymphoma* 1994;14:141-4.
35. Thyss A, Milano G, Deville A, Manassero J, Renee N, Schneider M. Effect of dose and repeat intravenous 24 hr infusions of methotrexate on cerebrospinal fluid availability in children with hematological malignancies. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987;23:843-7.
36. Herrlinger U, Schabet M, Brugger W, Kortmann RD, Küker W, Deckert M, Engel C, Schmeck-Lindenau HJ, Mergenthaler HG, Krauseneck P, Benöhr C, Meisner C, Wiestler OD, Dichgans J, Kanz L, Bamberg M, Weller M. German Cancer Society Neuro-Oncology Working Group NOA-03 multicenter trial of single-agent high-dose methotrexate for primary central nervous system lymphoma. *Ann Neurol* 2002;51:247-52.
37. Batchelor T, Carson K, O'Neill A, Grossman SA, Alavi J, New P, Hochberg F, Priet R. Treatment of primary CNS lymphoma with methotrexate and deferred radiotherapy: a report of NABTT 96-07. *J Clin Oncol* 2003;21:1044-9.
38. Pels H, Schmidt-Wolf IG, Glasmacher A, Schulz H, Engert A, Diehl V, Zellner A, Schackert G, Reichmann H, Kroschinsky F, Vogt-Schaden M, Egerer G, Bode U, Schaller C, Deckert M, Fimmers R, Helmstaedter C, Atasoy A, Klockgether T, Schlegel U. Primary central nervous system lymphoma: results of a pilot and phase II study of systemic and intraventricular chemotherapy with deferred radiotherapy. *J Clin Oncol* 2003;21:4489-95.
39. DeAngelis LM, Seiferheld W, Schold SC, Fisher B, Schultz CJ; Radiation Therapy Oncology Group Study 93-10. Combination chemotherapy and radiotherapy for primary central nervous system lymphoma: Radiation Therapy Oncology Group Study 93-10. *J Clin Oncol* 2002;20:4643-8.
40. Abrey LE, DeAngelis LM, Yahalom J. Long-term survival in primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 1998;16:859-63.
41. Illerhaus G, Marks R, Ihorst G, Guttenberger R, Ostertag C, Derigs G, Frickhofen N, Feuerhake F, Volk B, Finke J. High-dose chemotherapy with autologous stem-cell transplantation and hyperfractionated radiotherapy as first-line treatment of primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2006;24:3865-70.
42. Abrey LE, Ben-Porat L, Panageas KS, Yahalom J, Berkey B, Curran W, Schultz C, Leibel S, Nelson D, Mehta M, DeAngelis LM. Primary central nervous system lymphoma: the Memorial Sloan-Kettering Cancer Center prognostic model. *J Clin Oncol* 2006;24:5711-5.
43. Reni M, Ferreri AJ, Villa E. Second-line treatment for primary central nervous system lymphoma. *Br J Cancer* 1999;79:530-4.
44. Plotkin SR, Betensky RA, Hochberg FH, Grossman SA, Lesser GJ, Nabors LB, Chon B, Batchelor TT. Treatment of relapsed central nervous system lymphoma with high-dose methotrexate. *Clin Cancer Res* 2004;10:5643-6.

45. Nguyen PL, Chakravarti A, Finkelstein DM, Hochberg FH, Batchelor TT, Loeffler JS. Results of whole-brain radiation as salvage of methotrexate failure for immunocompetent patients with primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol* 2005;23:1507-13.
46. Soussain C, Suzan F, Hoang-Xuan K, Cassoux N, Levy V, Azar N, Belanger C, Achour E, Ribrag V, Gerber S, Delattre JY, Leblond V. Results of intensive chemotherapy followed by hematopoietic stem-cell rescue in 22 patients with refractory or recurrent primary CNS lymphoma or intraocular lymphoma. *J Clin Oncol* 2001;19:742-9.
47. Reni M, Zaja F, Mason W, Perry J, Mazza E, Spina M, Bordonaro R, Ilariucci F, Faedi M, Corazzelli G, Manno P, Franceschi E, Pace A, Candela M, Abbadessa A, Stelitano C, Latte G, Ferreri AJ. Temozolomide as salvage treatment in primary brain lymphomas. *Br J Cancer* 2007;26:864-7.
48. Enting RH, Demopoulos A, DeAngelis LM, Abrey LE. Salvage therapy for primary CNS lymphoma with a combination of rituximab and temozolomide. *Neurology* 2004;63:901-3.
49. Batchelor TT, Kolak G, Ciordia R, Foster CS, Henson JW. High-dose methotrexate for intraocular lymphoma. *Clin Cancer Res* 2003;9:711-5.
50. Margolis L, Fraser R, Lichter A, Char DH. The role of radiation therapy in the management of ocular reticulum cell sarcoma. *Cancer* 1980;45:688-92.
51. Smith JR, Rosenbaum JT, Wilson DJ, Doolittle ND, Siegal T, Neuwelt EA, Pe'er J. Role of intravitreal methotrexate in the management of primary central nervous system lymphoma with ocular involvement. *Ophthalmology* 2002;109:1709-16.
52. López-Giral S, Quintana NE, Cabrerizo M, Alfonso-Perez M, Sala-Valdes M, De Soria VG, Fernandez-Ranada JM, Fernandez-Ruiz E, Munoz C. Chemokine receptors that mediate B cell homing to secondary lymphoid tissues are highly expressed in B cell chronic lymphocytic leukemia and non-Hodgkin lymphomas with widespread nodular dissemination. *J Leukoc Biol* 2004;76:462-71.
53. van Dongen JJ, Langerak AW, Brüggemann M, Evans PA, Hummel M, Lavender FL, Delabesse E, Davi F, Schuurin E, García-Sanz R, van Krieken JH, Droese J, González D, Bastard C, White HE, Spaargaren M, González M, Parreira A, Smith JL, Morgan GJ, Kneba M, Macintyre EA. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia* 2003;17:2257-317.
54. Reni M, Ferreri AJM. Therapeutic management of refractory or relapsed primary central nervous system lymphomas. *Ann Hematol* 2001;80:B113-B117.
55. DeAngelis LM. Primary CNS lymphoma: treatment with combined chemotherapy and radiotherapy. *J Neurooncol* 1999;43:249-57.

56. Baker SD, Heideman RL, Crom WR, Kuttesch JF, Gajjar A, Stewart CF. Cerebrospinal fluid pharmacokinetics and penetration of continuous infusion topotecan in children with central nervous system tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996;37:195-202.
57. Herben VM, ten Bokkel Huinink WW, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of topotecan. *Clin Pharmacokinet* 1996;31:85-102.
58. Cabanillas F. The role of topoisomerase-I inhibitors in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Hematol* 1999;36(4 Suppl 8):11-5.
59. Korfel A, Oehm C, von Pawel J, Keppler U, Deppermann M, Kaubitsch S, Thiel E. Response to topotecan of symptomatic brain metastases of small-cell lung cancer also after whole-brain irradiation. A multicentre phase II study. *Eur J Cancer* 2002;38:1724-9.
60. Braks E, Urbach H, Pels H, Träber F, Block W, Schild HH. Primary central nervous system immunocytoma: MRI and spectroscopy. *Neuroradiology* 2000;42:738-41.
61. Jahnke K, Schilling A, Heidenreich J, Stein H, Brock M, Thiel E, Korfel A. Radiologic morphology of low-grade primary central nervous system lymphoma in immunocompetent patients. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26:2446-54.
62. Jahnke K, Thiel E, Schilling A, Herrlinger U, Weller M, Coupland SE, Krümpelmann U, Stein H, Korfel A. Low-grade primary central nervous system lymphoma in immunocompetent patients. *Br J Haematol* 2005;128:616-24.
63. Ferreri AJ, Reni M, Pasini F, Calderoni A, Tirelli U, Pivnik A, Aondio GM, Ferrarese F, Gomez H, Ponzoni M, Borisch B, Berger F, Chassagne C, Iuzzolino P, Carbone A, Weis J, Pedrinis E, Motta T, Jouvett A, Barbui T, Cavalli F, Blay JY. A multicenter study of treatment of primary CNS lymphoma. *Neurology* 2002;58:1513-20.
64. Poortmans PM, Kluin-Nelemans HC, Haaxma-Reiche H, Van't Veer M, Hansen M, Soubeyran P, Taphoorn M, Thomas J, Van den Bent M, Fickers M, Van Imhoff G, Rozewicz C, Teodorovic I, van Glabbeke M; European Organization for Research and Treatment of Cancer Lymphoma Group. High-dose methotrexate-based chemotherapy followed by consolidating radiotherapy in non-AIDS-related primary central nervous system lymphoma: European Organization for Research and Treatment of Cancer Lymphoma Group Phase II Trial 20962. *J Clin Oncol* 2003;21:4483-8.
65. Freeman LN, Schachat AP, Knox DL, Michels RG, Green WR. Clinical features, laboratory investigations, and survival in ocular reticulum cell sarcoma. *Ophthalmology* 1987;94:1631-9.
66. Whitcup SM, de Smet MD, Rubin BI, Palestine AG, Martin DF, Burnier M Jr, Chan CC, Nussenblatt RB. Intraocular lymphoma. Clinical and histopathologic diagnosis. *Ophthalmology* 1993;100:1399-406.

67. Akpek EK, Ahmed I, Hochberg FH, Soheilian M, Dryja TP, Jakobiec FA, Foster CS. Intraocular-central nervous system lymphoma. Clinical features, diagnosis and outcome. *Ophthalmology* 1999;106:1805-10.
68. Grimm SA, Pulido JS, Jahnke K, Schiff D, Hall AJ, Shenkier TN, Siegal T, Doolittle ND, Batchelor T, Herrlinger U, Neuwelt EA, Laperriere N, Chamberlain MC, Blay JY, Ferreri AJM, Omuro AMP, Thiel E, Abrey LE. Primary intraocular lymphoma: an International Primary Central Nervous System Lymphoma Collaborative Group report. *Ann Oncol* 2007;18:1851-5.
69. Grimm SA, Pulido JS, Omuro AMP, Ferreri AJM, Blay JY, Neuwelt EA, Siegal T, Batchelor T, Jahnke K, Shenkier TN, Hall AJ, Graus F, Herrlinger U, Schiff D, Raizer J, Rubenstein J, Laperriere N, Thiel E, Doolittle N, Abrey LE. Primary CNS lymphoma (PCNSL) with intra-ocular involvement: an International PCNSL Collaborative Group Report. *Neurology* 2008;71:1355-60.
70. Sneller V, Armitage J. Current role and future perspectives for ifosfamide in the treatment of malignant non-Hodgkin's lymphoma-results from an expert meeting. *Ann Oncol* 2003;14(Suppl 1):i1-i3.
71. Wagner A, Hempel G, Boos J. Trofosfamide: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in the oral treatment of cancer. *Anticancer Drugs* 1997;8:419-31.
72. Yule SM, Price L, Pearson AD, Boddy AV. Cyclophosphamide and ifosfamide metabolites in the cerebrospinal fluid of children. *Clin Cancer Res* 1997;3:1985-92.
73. Hormigo A, Abrey L, Heinemann MH, DeAngelis LM. Ocular presentation of primary central nervous system lymphoma: diagnosis and treatment. *Br J Haematol* 2004;126:202-8.
74. Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006;24:995-1007.
75. Chan CC, Shen D, Hackett JJ, Buggage RR, Tuailon N. Expression of chemokine receptors, CXCR4 and CXCR5, and chemokines, BLC and SDF-1, in the eyes of patients with primary intraocular lymphoma. *Ophthalmology* 2003;110:421-6.
76. Smith JR, Braziel RM, Paoletti S, Lipp M, Ugucioni M, Rosenbaum JT. Expression of B-cell-attracting chemokine 1 (CXCL13) by malignant lymphocytes and vascular endothelium in primary central nervous system lymphoma. *Blood* 2003;101:815-21.
77. Zwicky CS, Maddocks AB, Andersen N, Gribben JG. Eradication of polymerase chain reaction detectable immunoglobulin gene rearrangement in non-Hodgkin's lymphoma is associated with decreased relapse after autologous bone marrow transplantation. *Blood* 1996;88:3314-22.
78. Saini M, Bellinzona M, Weichhold W, Samii M. A new xenograft model of primary central nervous system lymphoma. *J Neurooncol* 1999;43:153-60.

79. Touitou V, Daussy C, Bodaghi B, Camelo S, de Kozak Y, Lehoang P, Naud MC, Varin A, Thillaye-Goldenberg B, Merle-Béral H, Fridman WH, Sautès-Fridman C, Fisson S. Impaired th1/tc1 cytokine production of tumor-infiltrating lymphocytes in a model of primary intraocular B-cell lymphoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:3223-9.
80. Cha S, Johnson G, Wadghiri YZ, Jin O, Babb J, Zagzag D, Turnbull DH. Dynamic, contrast-enhanced perfusion MRI in mouse gliomas: correlation with histopathology. *Magn Reson Med* 2003;49:848-55.
81. Fisher MJ, Khademian ZP, Simon EM, Zimmerman RA, Bilaniuk LT. Diffusion-weighted MR imaging of early methotrexate-related neurotoxicity in children. *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26:1686-9.
82. Jahnke K, Bechrakis NE, Coupland SE, Schmittel A, Foerster MH, Fischer L, Thiel E, Korfel A. Treatment of primary intraocular lymphoma with oral trofosfamide: report of 2 cases and review of the literature. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;42:771-6.

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. Eckhard Thiel, der die Rahmenbedingungen für diese Arbeiten großzügig geschaffen, mich in die wissenschaftliche Arbeit eingeführt und meine Projekte stets motivierend unterstützt hat. Frau PD Dr. Agnieszka Korfel danke ich außerordentlich für die jahrelange vorbildliche Unterstützung meiner Projekte, ihre Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten und unzählige fruchtbare Diskussionen, in denen ich von ihrer besonderen Expertise für die Durchführung klinischer Studien profitiert habe. Besonders danke ich auch Edward A. Neuwelt, MD, Leslie L. Muldoon, MD und Nancy D. Doolittle, PhD, die mich in die faszinierenden Fragestellungen der Blut-Hirn-Schrankenforschung eingeführt und mein Verständnis für die Physiologie und Pathophysiologie der Blut-Hirn-Schranke entscheidend geprägt haben. Bei Herrn Dr. Lars Fischer bedanke ich mich für die wertvolle und stets kollegiale Zusammenarbeit bei der Durchführung zahlreicher Projekte.

Herrn Prof. Dr. Michael Foerster, Herrn Prof. Dr. Nikolaos Bechrakis, Herrn Dr. Gregor Willerding, Herrn Prof. Dr. Harald Stein, Herrn PD Dr. Michael Hummel, Herrn Prof. Dr. Christoph Loddenkemper, Frau PD Dr. Sarah Coupland und Herrn Hans-Henning Müller danke ich sehr für die einzigartige Kooperationsbereitschaft, ohne die viele meiner Arbeiten zum intraokulären Lymphom und zu den pathogenetischen Aspekten des PCNSL nicht möglich gewesen wären.

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

Frau Vanessa Brendel danke ich sehr für ihre Geduld und große Einsatzbereitschaft bei der Durchführung vieler klinischer Studien.

Nicht zuletzt gilt mein besonderer Dank meinen Eltern Hans-Otto Jahnke und Monika Jahnke, die meine Arbeiten stets motivierend begleitet haben.

## Erklärung

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

Hiermit erkläre ich, dass

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

.....  
Datum

.....  
Dr. med. Kristoph Jahnke