

Aus der Medizinischen Klinik für Hämatologie, Onkologie und
Tumorimmunologie
Abteilung für Knochenmarktransplantation
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Graft-Versus-Host-Disease nach NIH-Klassifikation bei
Patienten mit Akuter Lymphatischer Leukämie: Klinische
Präsentation, Prognostische Relevanz und Nachweis eines
Potenten Graft-Versus-Leukämie-Effekts

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Melinh Tanja Le Duc

aus Berlin

Datum der Promotion: 04.09.2015

INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	III
0 ABSTRAKT	V
1 EINLEITUNG	1
1.1 AKUTE LYMPHATISCHE LEUKÄMIE	1
1.1.1 RISIKOSTRATIFIZIERUNG UND THERAPIEABLAUF	1
1.2 DIE HÄMATOPOETISCHE STAMMZELLTRANSPLANTATION	3
1.2.1 SPENDERAUSWAHL UND STAMMZELLQUELLEN	4
1.2.2 KONDITIONIERUNG UND TRANSPLANTATIONSABLAUF	5
1.2.3 POST-TRANSPLANTATIONSVERLAUF UND KOMPLIKATIONEN	5
1.3 GRAFT-VERSUS-HOST-DISEASE	5
1.3.1 DEFINITION UND PATHOPHYSIOLOGIE	5
1.3.2 RISIKOFAKTOREN	7
1.3.3 KLINIK DER GVHD	10
1.3.4 ALTE UND NEUE KLASSIFIKATION.....	11
1.3.5 PROPHYLAXE UND THERAPIE	13
1.4 GRAFT-VERSUS-LEUKÄMIE-EFFEKT	14
1.4.1 GVHD-ASSOZIIERTER GVL-EFFEKT	14
1.4.2 GVHD-UNABHÄNGIGER GVL-EFFEKT.....	15
1.4.3 STELLENWERT VON DONOR-LYMPHOZYTEN-INFUSIONEN.....	16
1.5 FRAGESTELLUNG	16
2 PATIENTEN UND METHODEN	18
2.1 STUDIENDESIGN UND PATIENTENKOLLEKTIV	18
2.2 DATENERFASSUNG	18
2.3 AUSWERTUNG	20
2.3.1 DEFINITION DER GVHD NACH DEN NIH-KRITERIEN	20
2.3.2 DEFINITION KLINISCHER ENDPUNKTE	21
2.4 STATISTISCHE METHODEN	21
2.5 STANDARDPROTOKOLLE AN DER CHARITÉ	23
2.5.1 KONDITIONIERUNGSTHERAPIE	23
2.5.2 STAMMZELLQUELLEN UND -APHERESE	23
2.5.3 TRANSPLANTATIONSPROZEDERE	24
2.5.4 INFEKTIONSPROPHYLAXE	24
2.5.5 GVHD-PROPHYLAXE.....	24
2.5.6 DONOR-LYMPHOZYTEN-GABE	25
2.5.7 GVHD-MANAGEMENT NACH HSZT	25
2.6 RIC-KOHORTE	26
3 ERGEBNISSE	27
3.1 PATIENTEN- UND TRANSPLANTATIONSCHARAKTERISTIKA	27
3.1.1 PATIENTENKOLLEKTIV.....	27
3.1.2 KONDITIONIERUNG	28
3.1.3 SPENDER- UND TRANSPLANTATCHARAKTERISTIKA	28

Inhaltsverzeichnis

3.2 ZELLREGENERATION.....	30
3.3 TRANSPLANTATIONSERGEBNISSE.....	30
3.3.1 GESAMTÜBERLEBEN.....	31
3.3.2 LEUKÄMIEFREIES ÜBERLEBEN.....	32
3.3.3 NICHT-REZIDIV-MORTALITÄT.....	33
3.3.4 REZIDIV.....	33
3.3.5 GESAMTÜBERLEBEN NACH REMISSIONSSTADIEN.....	34
3.4 INZIDENZ UND KLINIK DER GVHD NACH NIH-KRITERIEN.....	35
3.4.1 KLASSISCHE AKUTE GVHD.....	35
3.4.2 SPÄTE AKUTE GVHD.....	36
3.4.3 CHRONISCHE GVHD.....	38
3.5 RISIKOFAKTOREN DER GVHD NACH NIH.....	40
3.6 PROGNOTISCHE RELEVANZ DER GVHD NACH NIH.....	41
3.7 EFFEKTE DER DLI.....	44
3.8 BEURTEILUNG DES GVL-EFFEKTS.....	45
3.9 ZUSÄTZLICHE STUDIENERGEBNISSE.....	46
3.9.1 KOHORTE MIT DOSISREDUZIERTER KONDITIONIERUNG.....	46
3.9.2 KOHORTE MIT PROPHYLAKTISCHER GABE VON ATG.....	47
<u>4 DISKUSSION.....</u>	<u>48</u>
4.1 METHODIK UND PATIENTENKOHORTE.....	49
4.2 TRANSPLANTATIONSERGEBNISSE.....	49
4.3 RISIKOFAKTOREN FÜR DIE GVHD.....	50
4.4 KLINIK UND PROGNOSE DER GVHD NACH NIH-KLASSIFIKATION.....	53
4.4.1 KLINISCHE PRÄSENTATION.....	53
4.4.2 ERGEBNISSE UND GRAFT-VERSUS-LEUKÄMIE-EFFEKT.....	54
4.5 DONOR-LYMPHOZYTEN-INFUSION.....	57
4.6 BEWERTUNG DER WEITEREN STUDIENERGEBNISSE.....	58
4.6.1 DOSISREDUZIERTE KONDITIONIERUNG.....	58
4.6.2 GABE VON ANTI-THYMOZYTEN-GLOBULINEN.....	59
4.7 SCHLUSSFOLGERUNG UND AUSBLICK.....	59
<u>5 LITERATURVERZEICHNIS.....</u>	<u>61</u>
<u>6 APPENDIX.....</u>	<u>74</u>
6.1 SPSS-SYNTAX.....	74
6.2 DEFINITIONEN UND BEGRIFFSERKLÄRUNG.....	74
6.3 DIAGNOSEKRITERIEN DER CHRONISCHEN GVHD NACH NIH-KONSENSUS.....	76
<u>LEBENS LAUF.....</u>	<u>79</u>
<u>EIDESSTÄTTLICHE VERSICHERUNG.....</u>	<u>81</u>
<u>DANKSAGUNG.....</u>	<u>83</u>

Abkürzungsverzeichnis

aGVHD	Akute Graft-versus-Host-Disease
ALL	Akute Lymphatische Leukämie
allo-HSZT	Allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation
APCs	Antigen-presenting cells (engl., antigenpräsentierende Zellen)
ATG	Anti-T-Zell-Globulin, Anti-Thymozyten-Globulin
cGVHD	Chronische Graft-versus-Host-Disease
CI	Confidence intervall (engl., Konfidenzintervall)
CMV	Cytomegalievirus
CR	Complete remission (engl., Vollremission)
CSA	Cyclosporin A
CTL	Cytotoxic T lymphocytes (engl., zytotoxische T-Lymphozyten)
Cy	Cyclophosphamid
DLI	Donor lymphocyte infusion (engl., Spender-Lymphozyten-Infusion)
ECP	Extracorporeal photopheresis (engl., extrakorporale Photopherese)
G-CSF	Granulocyte colony stimulating factor (engl., granulozytenstimulierender Faktor)
GI	Gastrointestinal
GKB	Ganzkörperbestrahlung
GVHD	Graft-versus-Host-Disease
GVL	Graft-versus-Leukemia
HCT-CI	Hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index (engl., Komorbiditätsindex für hämatopoetische Zelltransplantationen)
HLA	Human leucocyte antigen (engl., humanes Leukozytenantigen)
HR	Hazardratio
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
IL	Interleukin

Abkürzungsverzeichnis

KG	Körpergewicht
KM	Knochenmark
KMT	Knochenmarktransplantation
LFS	Leukemia-free survival (engl., leukämiefreies Überleben)
MAC	Myeloablative conditioning (engl., myeloablative Konditionierung)
mHAgs	Minor histocompatibility antigens (engl., Nebenhistokompatibilitätskomplex)
MHC	major histocompatibility complex (engl., Haupthistokompatibilitätskomplex)
MMF	Mycophenolat Mofetil
MRD	Minimal residual disease (engl., minimale Resterkrankung)
NIH	National Institute of Health
NK	Natürliche Killerzellen
NRM	Nicht-Rezidiv-Mortalität
OS	Overall survival (engl., Gesamtüberleben)
PBSZ	Periphere Blutstammzellen
PBSZT	Periphere Blutstammzelltransplantation
Ph+	Philadelphia-Chromosom positiv
Rel. R.	Relatives Risiko
RIC	Reduced-intensity conditioning (engl., dosisreduzierte Konditionierung)
TRM	Transplantation-related mortality (engl., transplantationsassoziierte Mortalität)
TX	Transplantation
UNL	Upper normal level (engl., obere Grenze des Normalwertes)
UW	Unerwünschte Wirkung
WBC	White blood cell count (engl., Leukozytenzellzahl)

0 Abstrakt

Die akute lymphatische Leukämie (ALL) des Erwachsenen ist eine der selteneren hämatologischen Neoplasien, die trotz intensiver Behandlung in vielen Fällen mit einer schlechten Heilungsprognose assoziiert ist. Bei Hoch- und Höchstisikopatienten besteht daher die Indikation für eine allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (allo-HSZT) vom Familien- oder Fremdspender. Das Outcome der allo-HSZT wird hierbei maßgeblich vom Auftreten einer akuten und/oder chronischen Graft-versus-Host-Disease (aGVHD bzw. cGVHD), einer von Spender-T-Zellen vermittelten Immunreaktion, bestimmt. Die Unterscheidung zwischen akuter und chronischer GVHD basiert historisch auf rein zeitlichen Kriterien, je nachdem, ob die ersten Symptome vor oder nach Tag 100 auftreten. Da jedoch im Zusammenhang mit der Einführung dosisreduzierter Konditionierungsprotokolle deutlich geworden ist, dass die aGVHD auch nach Tag 100 bzw. die cGVHD vor Tag 100 auftreten kann, und da beide Ausprägungen der GVHD mit einer unterschiedlichen Prognose und Therapie assoziiert sind, ist im Jahr 2005 durch das National Institute of Health (NIH) eine neue GVHD-Klassifikation vorgestellt worden, die nun auch biologische Merkmale berücksichtigt. Zudem ist mit der Revision die späte aGVHD als dritte Kategorie eingeführt sowie eine Subkategorisierung der cGVHD in klassische und Overlap-Form vorgenommen worden. Mittlerweile sind Studien zur NIH-Klassifikation in primär heterogenen Patientenkollektiven vorgelegt worden, allerdings liegen noch sehr wenig Daten zu spezifischen Indikationen vor, insbesondere nicht hinsichtlich der ALL. Das Ziel der vorliegenden Arbeit besteht zum einen in der Darstellung der klinischen und prognostischen Relevanz der NIH-Kriterien für die Diagnose der ALL und zum anderen, davon ausgehend den Stellenwert des Graft-versus-Leukämie-Effekts (GVL) bei der ALL zu beschreiben. Zusätzlich soll die noch unzureichend belegte Wirksamkeit von Spender-Lymphozyten-Infusionen (donor lymphocyte infusions, DLI) bei der ALL-Therapie eruiert werden.

In diese retrospektive Studie wurden 147 erwachsene ALL-Patienten mit erster allo-HSZT nach myeloablativer Konditionierung (myeloablative conditioning, MAC) im Zeitraum von 1995 bis 2009 eingeschlossen. Die Reklassifizierung der GVHD basierte auf den NIH-Kriterien und standardisierten Erhebungsbögen. Grundlage der statistischen Analyse bildeten Kaplan-Meier-Kurven, Cox-Regressions-Modelle mit

Abstrakt

GVHD als zeitabhängiger Kovariable bzw. die kumulative Inzidenz mit kompetitiver Risikoanalyse.

Das 5-Jahres-Gesamtüberleben (overall survival, OS) der Gesamtkohorte beträgt 43%, die Rezidivrate im ersten Jahr post-HSZT 23%. Haupttodesursache ist das Rezidiv, gefolgt von GVHD. Die kumulative Inzidenz für aGVHD, späte aGVHD und cGVHD ist 63%, 12% bzw. 41%; die klassische cGVHD ist bei 40%, Overlap-Syndrom bei 60% diagnostiziert worden. Die Hauptmanifestationen bei aGVHD betreffen Haut und Leber, bei cGVHD Haut, Mundschleimhaut und Augen. Als signifikante Risikofaktoren bestätigen wir hohes Patientenalter (über 50 Jahre) und die Verwendung von peripheren Blutstammzellen (PBSZ) gegenüber Knochenmark. Die aGVHD Grad III/IV ist mit schlechtem OS aufgrund einer hohen Nicht-Rezidiv-Mortalität (NRM) assoziiert. Die cGVHD beeinflusst das OS positiv bei niedrigerer Rezidivinzidenz. Dies spricht für eine potente GVL-Reaktion. 44 mit DLI behandelte Patienten weisen eine Inzidenz von 60%, 5% und 57% für aGVHD, späte aGVHD und cGVHD auf. Eine cGVHD nach DLI steht ebenfalls im Zusammenhang mit verminderter Rezidivrate und verbessertem OS. Mithilfe der revidierten GVHD-Klassifikation lassen sich prognostisch relevante Subgruppen identifizieren. Es ist zudem der Nachweis eines cGVHD-assoziierten GVL-Effekts nach HSZT bzw. DLI-Gabe mit verbessertem OS gelungen.

Abstrakt

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is a rare disease entity in adults which is associated with a poor cure rate despite intensive treatment regimens. Standard therapy for high-risk patients is allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) with peripheral blood stem cells (PBSC) from related or unrelated donors. Post-HSCT outcome depends on the occurrence of acute and/or chronic Graft-versus-Host Disease (aGVHD or cGVHD), an immune reaction mediated by donor T cells. Historically aGVHD and cGVHD are classified based on the time of manifestation, either before or after day 100. However, studies on reduced-intensity conditioning (RIC) showed that aGVHD or cGVHD can occur later or earlier, respectively, than 100 days. Furthermore, both entities differ in their prognosis and thus in their treatment options. As of the 2005 introduction of the National Institute of Health (NIH) classification biological features of GVHD are included and late acute GVHD (aGVHD) is established as a third category besides classic aGVHD and chronic GVHD (cGVHD). cGVHD is further subdivided into classic and overlap syndrome. Most of the studies up to date use the classification in heterogenous cohorts. Seeing the lack of sufficient data on the NIH classification in specific indications, especially ALL, our objective is to illustrate the clinical presentation and identify the prognostic value for GVHD in ALL patients. Additionally, the role of donor lymphocyte infusions (DLI) to generate a Graft-versus-Leukemia (GVL) effect is evaluated.

147 adult ALL patients with first allogeneic HSCT after myeloablative conditioning (MAC) were included in this retrospective study. Statistical analysis was performed using Kaplan-Meier curves, cox-regression models with GVHD as a time-dependent co-variable and cumulative incidence studies with competing risk analysis.

The cumulative incidence of aGVHD, late aGVHD and cGVHD is 63%, 12% and 41%, respectively. Classic and overlap cGVHD is found in 40% and 60% of patients. In aGVHD major organ involvement includes skin and liver, in cGVHD skin, mouth and eyes. As risk factors advanced recipient age (over 50 years) and the use of peripheral blood stem cells instead of bone marrow are identified. aGVHD Grade III/IV correlates with poor overall survival (OS) due to high non-relapse mortality (NRM). cGVHD in general is associated with reduced relapse resulting in improved OS. 44 patients treated with DLI and in those with subsequent cGVHD lower relapse incidence is observed. Both findings suggest strong evidence of a potent GVL reaction induced by cGVHD post HSCT and DLI.

Abstrakt

The clinical characterization of GVHD in ALL according to the 2005 NIH criteria enables the identification of distinct prognostic subgroups. Both cGVHD following HSCT and DLI application lead to a survival benefit based on a potent GVL effect.

1 Einleitung

1.1 *Akute Lymphatische Leukämie*

Die akute lymphatische Leukämie (ALL) stellt eine stark heterogene Erkrankung dar und gilt mit einer jährlichen Gesamtinzidenz von 2,2 : 100.000 in Europa bzw. einem Anteil von 15% aller Leukämien in der Altersgruppe über 50 Jahre als ein seltenes Malignom [1]. Die Klassifikation der ALL erfolgt nach immunophänotypischen Charakteristika der Blasten in B- und T-Zelllinien-ALL, wobei die Inzidenz der B-Linien-ALL bei 75% liegt. Abhängig vom Differenzierungsgrad werden innerhalb der B-Zelllinie eine B-Vorläufer-ALL mit Pro-B-, Common und Prä-B-ALL, sowie eine reife B-ALL unterschieden; innerhalb der T-Zelllinie findet eine Unterscheidung zwischen früher T-ALL (Prä- und Pro-T-ALL), thymischer und reifer T-ALL statt. Diese Subtypen sind mit bestimmten zytogenetischen und molekulargenetischen Aberrationen mit z.T. ungünstiger Prognose assoziiert, sodass deren Identifikation für die Risikostratifizierung und spätere Therapieentscheidung von großer Bedeutung sind (s. Kap. 1.1.1) [1, 2].

Während auf dem Gebiet der kindlichen ALL Heilungsraten von bis zu 80% erreicht werden, beträgt sie bei Erwachsenen nur 40% [2]. Zurückzuführen ist dies u.a. auf eine höhere Inzidenz prognostisch ungünstiger genetischer Anomalien, insbesondere von Philadelphia-Chromosom positiven (Ph⁺) Fällen, und eine schlechtere Therapieverträglichkeit [3]. Abhängig von der immunophänotypischen und zytogenetischen Konstellation steht einer hohen Vollremissionsrate (complete remission, CR) von 90% eine fast ebenso hohe Rezidivinzidenz gegenüber [4]; das 5-Jahres-Gesamtüberleben beträgt bis zu 50% [5]. Folglich wird die adulte ALL als eine der großen therapeutischen Herausforderungen unter den hämatologischen Neoplasien angesehen.

1.1.1 Risikostratifizierung und Therapieablauf

Unter diesen Gesichtspunkten setzt eine effektive Therapie eine Risikostratifizierung voraus, wonach Patienten als Standardrisiko, Hochrisiko oder Höchstrisiko kategorisiert werden. Als wichtiger Prädiktor für das Auftreten eines Rezidivs hat sich der Nachweis der minimalen Resterkrankung (minimal residual disease, MRD) erwiesen. Als Risiko-Immunophänotyp werden Pro-B-ALL bzw. t(4;11)-Translokations-ALL, Prä-T-ALL sowie

Einleitung

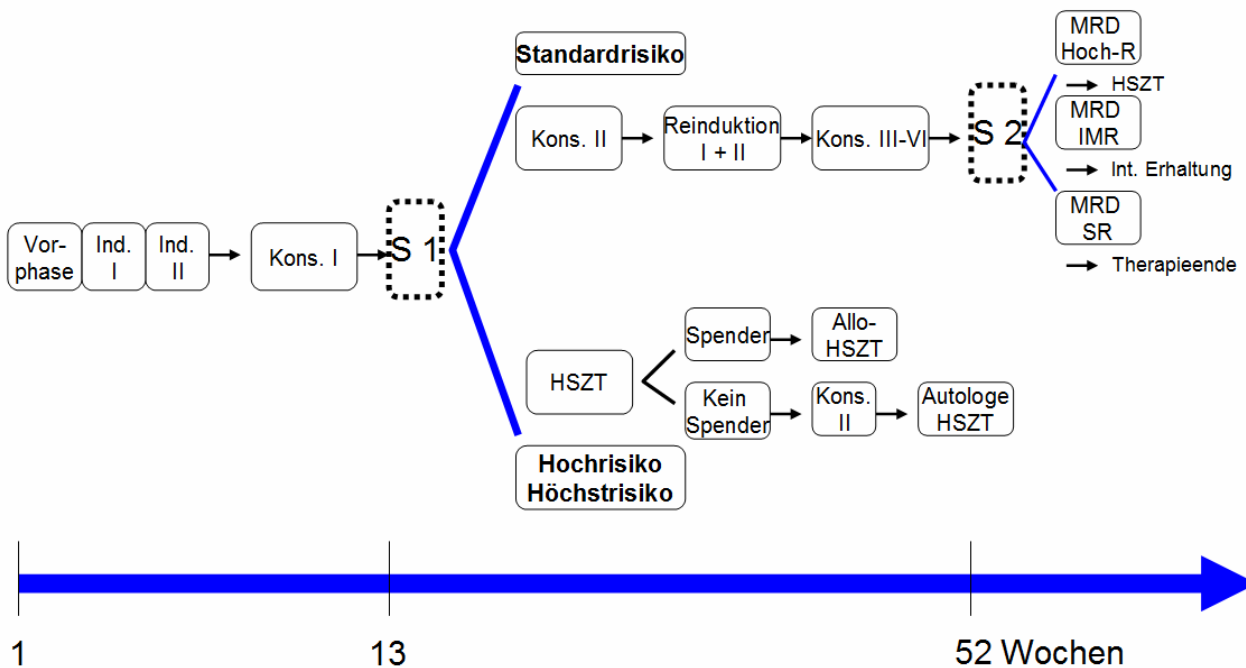
reife T-ALL klassifiziert [5]. Zu den zytogenetischen Erscheinungsformen gehört mit 15 bis 30% aller Diagnosen die Ph+ - ALL, eine der häufigsten genetischen Anomalien. Ältere Patienten mit einer stark erhöhten Leukozytenzellzahl (white cell blood count, WBC) oder Blastenzahl weisen im Vergleich zu jüngeren Patienten vermehrt diese Anomalie auf [6]. Die von der deutschen Studiengruppe GMALL in die aktuell gültige Risikostratifizierung aufgenommenen Kriterien sind in Tabelle 1 zusammengefasst [5].

Tabelle 1: Risikostratifizierung nach dem GMALL-Protokoll

Standardrisiko	Hochrisiko	Höchstrisiko
I. B-Vorläufer-ALL - CR an Tag 26 nach Induktion I <u>und</u> - WBC < 30.000 / μ l bei Diagnose - keine pro-B-ALL, t(4;11)-/MLL1-AF4+ - ALL II. Thymische T-ALL	I. B-Vorläufer-ALL - CR an Tag 46 nach Induktion II <u>oder</u> - WBC > 30.000 / μ l <u>oder</u> - pro-B-ALL, t(4;11)-/MLL1-AF4+ -ALL - keine t(9;22)/BCR-ABL+ -ALL II. Prä-/Reife T-ALL	I. t(9;22)/BCR-ABL+ - ALL

Als aktuelle Basis für das Therapieprozedere aller ALL-Patienten in Deutschland dient das Protokoll der Therapieoptimierungsstudie GMALL von 2003 (ALL GMALL 07/2003) (Abb. 1) [7]. Standardrisikopatienten erhalten nach 52 Wochen Therapiedauer bei positivem MRD-Status eine Erhaltungstherapie bzw. Stammzelltransplantation. Bei Hoch- und Höchststrisikopatienten wird direkt nach der ersten Risikostratifizierung eine Stammzelltransplantation angeschlossen.

Einleitung

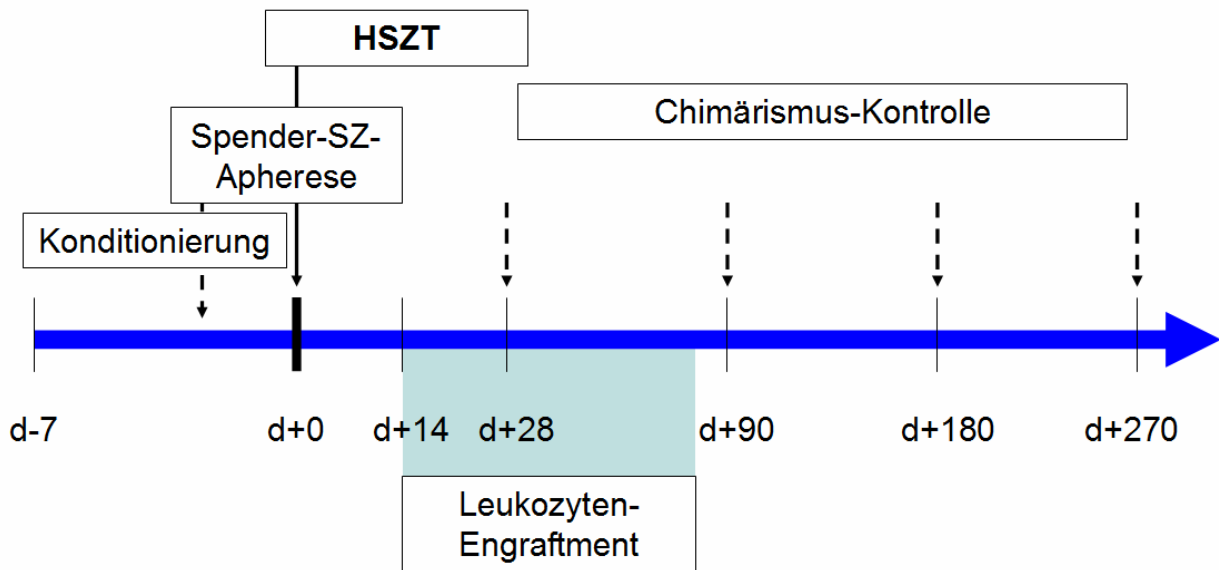


Hoch-R: Hochrisiko; (allo-) HSZT: (allogene) hämatopoetische Stammzelltransplantation; IMR: intermediate risk (mittleres Risiko); Ind.: Induktionsphase; Kons.: Konsolidation; MRD: minimal residual disease, minimale Resterkrankung; S 1 / 2: Risikostratifizierung; SR: Standardrisiko

Abbildung 1: Prozedere nach GMALL-Protokoll (modifiziert nach GMALL [7])

1.2 Die hämatopoetische Stammzelltransplantation

Der hohe Stellenwert der allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation (allo-HSZT) für Hochrisikopatienten im Allgemeinen und Ph+ - Patienten im Speziellen ist von diversen Studien (u.a. LALA-94 Studie, Internationale ALL-Studie MRC UKALLXII/ECOG2993) bestätigt worden [8, 9]. Mittlerweile existieren Belege, die eine deutlich verbesserte Prognose auch für Standardrisiko-Patienten gegenüber der Chemotherapie aufzeigen [10]. Kritiker hingegen argumentieren mit der guten Therapierbarkeit dieser Patienten durch konventionelle Regimes und verweisen auf die hohe transplantationsassoziierte Mortalität (transplantation-related mortality, TRM) [11]. Diese kontrovers geführte Diskussion beweist erneut die Notwendigkeit einheitlich definierter Standard- und Hochrisikogruppen [6, 9, 10]. Das Prinzip einer HSZT wird in Abbildung 2 schemahaft illustriert.



HSZT: hämatopoetische Stammzelltransplantation; SZ: Stammzellen

Abbildung 2: Prinzip der allogenen Stammzelltransplantation

1.2.1 Spenderauswahl und Stammzellquellen

Die ideale HSZT-Konstellation mit einem HLA-identischen (humanes Leukozytenantigen) Familienspender (s. auch Kap. 1.3.2.2) steht nur ca. 25% der Patienten zur Verfügung [12]. Alternativ kann eine HSZT mit HLA-kompatiblen Fremdspendern angestrebt werden, da Vergleichsstudien zeigen konnten, dass zwischen HLA-kompatiblen Familien- und Fremdspendern keine signifikanten Unterschiede bzgl. leukämiefreies Überleben (leukemia-free survival, LFS) und Outcome festzustellen sind [13]. Für Patienten ohne HLA-kompatiblen Familien- oder Fremdspender kann auch ein haploidentischer Spender herangezogen werden [14; 15].

Die Gewinnung von Knochenmark als klassische Stammzellquelle wird zunehmend durch periphere Blutstammzellen (PBSZ) ersetzt. Hierbei wird nach vorhergehender Stimulation der Zellen mit dem granulocytenstimulierenden Faktor (granulocyte colony stimulating factor, G-CSF) die Apherese durchgeführt [16]. Als weitere Alternative steht Nabelschnurblut zur Verfügung.

1.2.2 Konditionierung und Transplantationsablauf

Der Transplantation geht eine Konditionierungstherapie nach dem myeloablativen Protokoll (myeloablative conditioning, MAC) voraus, basierend auf reiner Chemotherapie oder einer Kombination aus Chemo- und Strahlentherapie. Alternativ besteht die Möglichkeit einer dosisreduzierten Konditionierung (reduced-intensity conditioning, RIC). Die Auswahl des Verfahrens erfolgt nach individuellen Gesichtspunkten, z.B. Gesundheitszustand des Patienten, Komorbiditäten und Alter. Das Ziel ist die Terminierung der Hämatopoese des Empfängers, die Eradikation von Residual-Tumormasse und die Suppression des Immunsystems.

1.2.3 Post-Transplantationsverlauf und Komplikationen

Zu den häufigen Frühkomplikationen der allogenen Stammzelltransplantation zählen die Auswirkungen der direkten Toxizität der Ganzkörperbestrahlung (GKB) und Zytostatika, z.B. Mukositis. Aufgrund der Zytopenie, der zusätzlichen Immunsuppression im Rahmen der Prophylaxe gegen Graft-versus-Host-Disease (GVHD) und der geschädigten Schleimhäute treten gehäuft Infektionen, v.a. pulmonale Pilzinfektionen, auf. Als Spätfolge tragen transplantierte Patienten ein erhöhtes Risiko für Sekundärkarzinome [17].

Nachfolgend soll ausführlicher auf die GVHD als eine der Hauptkomplikationen nach HSZT eingegangen werden.

1.3 Graft-Versus-Host-Disease

Die Graft-versus-Host-Disease und ihre Folgeschäden gelten als die Hauptkomplikation und -todesursache nach allo-HSZT. Ihre klinische Präsentation zeigt in Abhängigkeit des individuellen Risikoprofils, der Spenderwahl, des präparativen Regimes und der gewählten Immunsuppression eine große Variabilität [18]. Nach klinischen Gesichtspunkten erfolgt die Einteilung in eine akute und eine chronische Verlaufsform.

1.3.1 Definition und Pathophysiologie

Die GVHD ist definiert als Abstoßung des Empfängergewebes durch Spender-T-Lymphozyten infolge deren Interaktion mit antigenpräsentierenden Zellen (antigen-presenting cells, APCs) des Empfängers [19].

Billingham postulierte 1966 drei Voraussetzungen für das Auftreten einer GVHD:

- 1) Der Empfänger ist unfähig, Spenderzellen abzustößen;

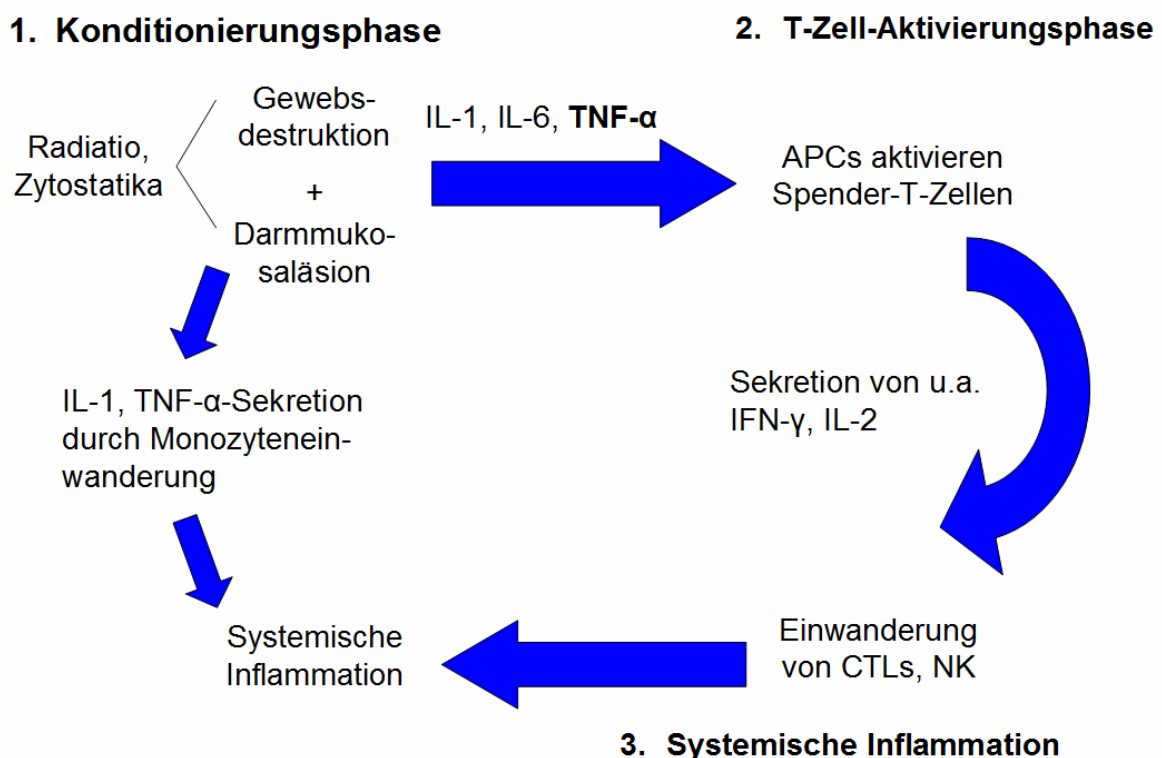
Einleitung

- 2) Das Transplantat muss immunkompetente Zellen besitzen;
- 3) Die Empfängerzellen müssen Antigene besitzen, die von den Spenderzellen als körperfremd erkannt werden [20].

Zusammenfassend handelt es sich bei der GVHD um eine Alloreaktion zwischen zwei genetisch fremden Geweben, die ausschließlich nach einer allogenen Stammzelltransplantation auftritt. Die mithilfe des 3-Phasen-Modells illustrierte Zytokinreaktion (Abb. 3) setzt eine durch das Konditionierungsregime verursachte Gewebsdestruktion voraus; diese führt zu einer Aktivierung von Empfänger-APCs, die in der Folge Spender-T-Zellen aktivieren können mit sukzessiver Zellproliferation und Zytokinsekretion. Von den Zytokinen aktivierte Monozyten und Neutrophile wiederum lösen eine systemische inflammatorische Reaktion aus. Insbesondere durch die Läsion der Darmmukosa kann die immunologische Barrierefunktion nicht mehr aufrecht erhalten werden. Es kommt sukzessiv zur Einwanderung von Bakterien, die durch Monozytenaktivierung und Zytokinsekretion ein inflammatorisches Geschehen begünstigen [21, 22].

Die Frage nach dem pathophysiologischen Zusammenhang zwischen akuter und chronischer GVHD ist noch nicht abschließend beantwortet. Es existieren sowohl Hinweise dafür, dass es sich um Subformen einer Erkrankung handelt, als auch für das Vorliegen zweier Entitäten. Die Gabe von T-Zell-depletierten Transplantaten führte zu einer Reduktion der Inzidenz von sowohl akuter als auch chronischer GVHD [23]. Des Weiteren stellte eine durchgemachte aGVHD ein erhöhtes Risiko für eine cGVHD dar, das stark mit dem Schweregrad der aGVHD korrelierte. Das höchste Risiko trugen demnach Patienten mit vorausgegangener schwerer aGVHD Grad III-IV [24, 25]. Beide Beobachtungen unterstützen die Hypothese, dass akute und chronische GVHD ätiologische Gemeinsamkeiten besitzen, nämlich die Beteiligung alloreaktiver Spender-T-Zellen am Pathomechanismus [25, 26]. Diese würde auch im Einklang mit den nachgewiesenen gemeinsamen Risikofaktoren stehen (s. Kap. 1.3.2). Mit der o. g. Hypothese der gemeinsamen Ätiologie lässt sich jedoch beispielsweise nicht erklären, warum eine effektive Prophylaxe/Therapie der aGVHD nicht zwangsläufig in einer niedrigeren cGVHD-Inzidenz resultiert [27, 26]. Umgekehrt erhöht die Gabe von PBSZ die Inzidenz von cGVHD, zeigt aber kaum Einfluss auf die der aGVHD (Tab. 3) [28, 29]. Auch die Unterschiede bzgl. Manifestationszeitpunkt, der klinischen Präsentation (s. Kap. 1.3.3) sowie die Tatsache, dass die chronische Form auch de novo ohne aGVHD

auftreten kann, bleiben unberücksichtigt. Die Assoziation der cGVHD mit klassischen Autoimmunerkrankungen liegt zwar aufgrund des ähnlichen klinischen Bildes nahe [30]; aufgrund des oben beschriebenen Pathomechanismus muss die cGVHD pathophysiologisch jedoch davon abgegrenzt werden [31]. Vordergründig wird heutzutage eine Mitbeteiligung autoreaktiver T-Zellen an der Genese der chronischen GVHD diskutiert. Dabei wird der Schädigung des Thymus im Rahmen der Konditionierung ein besonderer Stellenwert zugesprochen, infolgedessen die negative Selektion beeinträchtigt ist und es zu einer Ausschwemmung autoreaktiver T-Lymphozyten kommt [32, 28].



CTLs: cytotoxic T lymphocytes (zytotoxische T-Lymphozyten); IL: Interleukin; IFN- γ : Interferon γ ; TNF- α : Tumornekrosefaktor α ; NK: Natürliche Killerzellen

Abbildung 3: Zyklus der GVHD-Reaktion (modifiziert nach Ferrara [33])

1.3.2 Risikofaktoren

Diverse Arbeitsgruppen konnten Konditionierungsregime, Stammzellquelle, MHC-Kompatibilität und Empfängeralter als wichtigste Prädiktoren für das Auftreten einer GVHD identifizieren. Zu den weiteren, z.T. widersprüchlich diskutierten, Faktoren zählen Spenderalter, Geschlechterdisparität, Karnofskyindex (s. Erläuterung Kap. 6.2, S. 74), Bestrahlungsdosis, Splenektomie, Anti-Thymozyten-Globulingabe (ATG) im

Rahmen der Konditionierung, ABO-Kompatibilität, durchgemachte Herpes-Simplex-Virus (HSV)-Infektion und Cytomegalie-Virus (CMV)-Status von Spender/Empfänger [24, 25, 29, 34]. Neben der Rolle des Konditionierungsregimes bei der Genese der GVHD (s. Kap. 1.3.1) wird im Folgenden auf die wichtigsten Faktoren eingegangen.

1.3.2.1 Alter

Sowohl ein fortgeschrittenes Patienten- als auch Spenderalter gelten als Risikofaktoren für das Auftreten einer GVHD, wobei das Patientenalter von zahlreichen unabhängigen Studien durchgehend als eines der Hauptrisikofaktoren bestätigt wurde [13, 35, 36]. Als Ursache wird zum einen der Verlust der negativen Selektion autoreaktiver T-Zellen durch physiologische Thymusinvolution diskutiert. Zum anderen zeigten Tierversuche, dass ein höheres Alter eine stärkere Sensibilisierung von APCs des Empfängers bedingt [37].

1.3.2.2 HLA-Kompatibilität

Die Inzidenz und der Schweregrad einer aGVHD steigen mit zunehmender Histoinkompatibilität an [38, 39, 40]. Bei HLA-Kompatibilität richten sich die T-Zellen des Spenders lediglich gegen sog. minor histocompatibility antigens (Nebenhistokompatibilitätsantigene, mHAGs) des Empfängers [41], sodass es häufig nur zu einer geringen Ausprägung der GVHD kommt (s. Erläuterung Kap. 6.2, S. 75). In diesem Zusammenhang kommt der Spenderauswahl eine große Bedeutung zu: Familienspender weisen einen höheren Grad an Übereinstimmung mit mHAGs des Empfängers auf als Fremdspender, sodass durch diese Konstellation das GVHD-Risiko weiter reduziert werden kann [42, 43]. Für die chronische GVHD konnte die Relevanz von mHAGs zusätzlich daran verdeutlicht werden, dass sich ein homogener Pool von mHAGs in bestimmten Bevölkerungsgruppen (Skandinavier, Japaner) positiv auf die Inzidenz der chronischen GVHD auswirkt [44].

1.3.2.3 Stammzellquelle

PBSZ stellen mittlerweile die primäre Stammzellquelle dar. Der Anteil reifer und folglich immunkompetenter T-Zellen ist jedoch höher als im KM, sodass vorteilhafte Effekte wie eine schnellere Zellregeneration und somit geringere Inzidenz von Infektionen gegen die höhere Inzidenz von GVHD-Reaktionen aufgewogen werden müssen [45, 46]. In der randomisierten Studie von Friedrichs et al. wurde kein Unterschied im Überleben nach

Knochenmarktransplantation (KMT) und PBSZT in einer heterogenen Kohorte mit erstdiagnostizierter AML, ALL, CML oder myelodysplastischem Syndrom gezeigt [29], was auch durch den positiven Graft-versus-Leukämie (GVL)-Effekt, der mit GVHD-Reaktionen einhergeht, erklärt werden kann.

1.3.2.4 CD34+ - Zellzahl

Diskutiert wird auch ein Einfluss der CD34+ - Zellzahl im Transplantat. Während aus Publikationen von u.a. Pulsipher et al. kein Zusammenhang zwischen hoher CD34+ - Zellzahl und GVHD-Risiko hervorgeht [15, 47], existieren auch gegensätzliche Ergebnisse: sowohl eine Assoziation mit höherer aGVHD-Inzidenz als auch erhöhtem cGVHD-Risiko wurden nachgewiesen [48].

1.3.2.5 Geschlechterdisparität

Eine Geschlechterdisparität zwischen Spendern und Empfängern, insbesondere bei männlichen Patienten mit weiblichen Spendern, gilt als Risikofaktor für sowohl akute GVHD als auch chronische GVHD [24, 49]. Die molekularbiologische Grundlage bilden auf dem Y-Chromosom lokalisierte H-Y-Gene. Diese kodieren für bestimmte mHAGs, die auf den Empfängerzellen exprimiert werden. Bei Kontakt eines weiblichen Spenders mit einem männlichen Empfänger werden diese Antigene von weiblichen T-Zellen erkannt, woraufhin eine Immunreaktion durch Bildung von H-Y-Antikörpern ausgelöst wird [50].

Eine Zusammenfassung der häufigen, von unterschiedlichen Arbeitsgruppen identifizierten Risikofaktoren liefert Tabelle 2.

Tabelle 2: Zusammenfassung identifizierter Risikofaktoren für GVHD

Risikofaktor	aGVHD	cGVHD
Hohes Empfängeralter	↑* [35, 36] → [42]	↑ [51, 42]
Hohes Spenderalter	↑ [42]	↑ [42]
HLA-Inkompatibilität	↑ [38, 42]	↑ [42]
Fremdspender	↑ [42, 43]	↑ [42]
PBSZT im Vergleich mit KM	→ [29]	↑ [28, 42], → [51]

Tabelle 2: Fortsetzung

CD34+ - Zellzahl	↑ [48; 52] → [15]	↑ [48; 52] → [15, 47]
Konditionierungsregime		
- MAC + GKB	↑ [42]	↑ [51]
- RIC	↓ [53]	↓ [51]
Geschlechterdisparität		
Frau/Mann	↑ [53]	↑ [42]
Vorausgegangene aGVHD	-	↑ [51]

*↑ erhöhtes Risiko; → kein statistisch relevanter Einfluss; ↓ geringeres Risiko

1.3.3 Klinik der GVHD

1.3.3.1 Klinik der akuten GVHD

Der mediane Manifestationszeitpunkt der akuten GVHD liegt zwischen dem 20. und 40. Tag nach Transplantation. Sie ist gekennzeichnet durch eine selektive Manifestation an bestimmten Organsystemen (Tab. 3) [26].

1.3.3.2 Klinik der chronischen GVHD

Klinisch evident wird die cGVHD im Median nach vier Monaten nach HSZT, sie kann aber auch erst Jahre danach auftreten. Die oben beschriebene selektive Manifestation der aGVHD trifft bei der cGVHD nicht zu; vielmehr gestaltet sich die Erstdiagnose aufgrund des heterogenen Erscheinungsbildes als schwierig. Oftmals fällt die Diagnose im Ausschlussverfahren. Insbesondere in der Anfangsphase der cGVHD bestehen starke Ähnlichkeiten zu anderen Erkrankungen. Charakteristisch für viele Symptome ist die Fibrose, u.a. Lichen-ähnliche Manifestationen, Sklerose, Strikturen, Sicca-Syndrom und Serositis (für vollständige Diagnosekriterien s. Tab. 13, S. 76-78). Am häufigsten werden folgende Organmanifestationen registriert: Haut (75%), Mundschleimhaut (51-63%), Leber (29-51%) und Augen (22-33%). In ca. 50% der Patienten sind bei Diagnosestellung drei oder mehr Organe gleichzeitig betroffen [27, 54].

Einleitung

Tabelle 3: Klassifikation der akuten GVHD (adaptiert nach Przepiorka [55]):

Schweregrad	Haut	Leber	GI-Trakt
0	Kein Exanthem	Bilirubin < 2 mg/dl	Keine Symptome
I	Makulopapulöses Exanthem < 25% der KOF ohne Begleitsymptome	Bilirubin > 2 - < 3 mg/dl	Diarrhoe > 500 – 1000 ml/d; Emesis, Übelkeit
II	Makulopapulöses Exanthem mit Pruritus und/oder anderen Begleitsymptomen > 25 - < 50% der KOF oder lokal beschränkte Desquamation	Bilirubin > 3 - < 6 mg/dl	Diarrhoe > 1000 – 1500 ml/d; Emesis, Übelkeit
III	Generalisierte Erythroderma oder symptomatisches makulöses, papulöses oder vesikuläres Exanthem mit bullöser Komponente oder Desquamation > 50% der KOF	Bilirubin > 6 - < 15 mg/dl	Diarrhoe > 1500 ml/d; Emesis, Übelkeit
IV	Generalisierte exfoliative oder ulzerierende Dermatitis oder bullöses Exanthem	Bilirubin > 15 mg/dl	Schwere abdominelle Krämpfe mit/ohne Ileus

*KOF: Körperoberfläche

1.3.4 Alte und neue Klassifikation

Die 1974 von Glucksberg et al. präsentierte erste Klassifikation der akuten GVHD wurde 1994 von Przepiorka et al. revidiert und ist die bis heute verwendete Version

Einleitung

(Tab. 3) [55, 56]. Für die chronische GVHD postulierte die Seattle-Gruppe unter Shulman 1980 eine Einteilung des Schweregrades der chronischen GVHD in limited disease mit guter und extensive disease mit schlechter Prognose [57].

Die Differenzierung zwischen akuter und chronischer Form basiert traditionell auf willkürlich festgelegten zeitlichen Gesichtspunkten: Demnach wird eine GVHD vor Tag 100 als akut, eine GVHD danach als chronisch eingestuft. Klinisch-morphologische Unterschiede wurden nicht berücksichtigt. In dem Ausmaß, wie sich das therapeutische Konzept der Stammzelltransplantation gewandelt, verbessert und um immunmodulatorische Ansätze erweitert hat, wurden die Limitationen der traditionellen Klassifikationen aufgezeigt. Im Rahmen der zunehmenden Anwendung von dosisreduzierter Konditionierung erwies sich die strikte zeitliche Trennung als unzutreffend, da z.B. die aGVHD unter dem RIC-Regime später auftritt, unter Umständen auch nach Tag 100 [58]. Die Einführung von Spender-Lymphozyten-Infusionen (donor lymphocyte infusions, DLI) hat demonstriert, dass Merkmale von aGVHD und cGVHD auch simultan auftreten können [59].

Das NIH präsentierte 2005 eine Überarbeitung der Klassifikation mit Fokus auf der klinischen Präsentation. Zum einen modifizierte sie die Einteilung der chronischen GVHD, indem sie einen Symptomenkatalog einführte, der der Vielfalt der Symptome Rechnung trägt und die Manifestationen innerhalb eines Organsystems differenziert beurteilt. Dazu gehört auch die Definition diagnostischer (für cGVHD beweisend), typischer (für die Diagnose alleine nicht ausreichend) und für aGVHD und cGVHD gemeinsamer Symptome. Zum anderen wurden die Hauptkategorien akute und chronische GVHD um jeweils zwei Subkategorien (klassische und späte aGVHD bzw. klassische cGVHD und Overlap-Syndrom) erweitert (Tab. 4) [19].

Tabelle 4: NIH-Klassifikation der GVHD (nach Filipovich [19, 60])

Kategorie	Zeitpunkt Symptome	aGVHD- Charakteristika	cGVHD- Charakteristika
I. Akute GVHD			
Klassische aGVHD	< 100 d	+	-
Späte aGVHD	> 100 d	+	-
II. Chronische GVHD			
Klassische cGVHD	Kein Limit	-	+
Overlap-Syndrom	Kein Limit	+	+

1.3.5 Prophylaxe und Therapie

Der heterogenen klinischen Ausprägung der aGVHD und cGVHD, der mangelnden Studienlage, vor allem bzgl. der cGHVD, und fehlender Leitlinien geschuldet, existieren heute diverse Behandlungskonzepte zur Prophylaxe und Therapie.

Die am häufigsten verwendete immunsuppressive Medikation zur Prophylaxe einer GVHD besteht aus einem Calcineurinantagonisten, beispielsweise Cyclosporin A (CSA) oder Tacrolimus, in Kombination mit Methotrexat (MTX) und/oder Glukokortikoiden und/oder Mycofenolat Mofetil (MMF). Diverse Studien präsentierten viel versprechende Ergebnisse bzgl. der Ergänzung dieser Basisprophylaxe um Anti-Thymozyten-Globulin [61, 62]. Ein weiterer Ansatz der Graft-Manipulation beinhaltet die Depletion alloreaktiver T-Zellen aus dem Transplantat mittels magnetischer Beads [63].

Steroide haben sich in Kombination mit CSA oder MMF als Erstlinientherapie für die aGVHD bewährt [64, 65]. Zur Behandlung einer milden cGVHD erfolgt eine lokale Therapie mit topischen Steroiden oder Calcineurinantagonisten, bei einem moderaten bzw. schweren Verlauf oder ab einer Anzahl von drei oder mehr betroffenen Organen wird eine systemische Therapie nach NIH-Konsensus empfohlen, die sich standardmäßig aus Steroiden und CSA zusammensetzt [19, 66]. Im Falle von therapierefraktärer aGVHD finden ATG oder der Interleukin-2 (IL-2)-Antikörper Basiliximab Anwendung [61, 62, 67, 68]. Für die Salvage-Therapie der cGVHD stehen MMF, Rituximab oder Sirolimus zur Verfügung [69, 70, 71]. Der Einsatz der extrakorporalen Photopherese (extracorporeal photopheresis, ECP) hat sich speziell bei der steroidrefraktären klassischen cGVHD bewährt [72]. Eine immunsuppressive

Therapie wird im Median über einen Zeitraum von zwei bis drei Jahren nach Erstdiagnose der cGVHD fortgeführt [66]. Die hohe Nicht-Rezidiv-Mortalität (NRM) wird zum einen auf GVHD-assoziierte Komplikationen, zum anderen aber auch wesentlich auf die prophylaktische Immunsuppression oder den langjährigen Gebrauch hochdosierter Steroide mit entsprechenden Folgeerkrankungen zurückgeführt, um ebendiese zu therapieren [73].

1.4 Graft-Versus-Leukämie-Effekt

Definiert wird der Begriff Graft-versus-Tumor-Effekt als eine gegen Tumorzellen gerichtete Aktivität, die nicht das Resultat einer zytotoxischen Therapie ist [74, 75]. 1956 berichteten Barnes et al. von einem Antitumoreffekt in einem Mausmodell nach Applikation einer hohen Dosis Röntgenstrahlung und sukzessiver Injektion von homologen Knochenmarkzellen [76]. Ab den 1980er Jahren gelang anhand von Daten zu syngenen KM-Transplantationen auch der Nachweis beim Menschen. Die Arbeitsgruppen um Horowitz und Gale beschrieben unabhängig voneinander, dass AML-/CML-Patienten mit HLA-identischem Allospender ohne GVHD ein niedrigeres Rezidivrisiko trugen als Patienten mit syngenen Spender [77, 78, 74]. Horowitz et al. wiesen in der gleichen Studie zusätzlich nach, dass sich das Rezidivrisiko auch mit zunehmendem Grad einer GVHD reduzierte. Die GVHD ihrerseits tritt als Ausdruck einer genetischen Spender-Empfänger-Disparität nur nach allogener HSZT auf. Daraus schlussfolgerte man, dass der beobachtete Effekt auf einer Antitumorreaktion beruht, die sowohl GVHD-vermittelt als auch unabhängig davon auftritt [79]. Obwohl der genaue pathophysiologische Mechanismus noch nicht hinreichend geklärt ist, wird von einer Beteiligung zytotoxischer T-Lymphozyten (cytotoxic T lymphocytes, CTLs), Natürlicher Killerzellen (NK) und Zytokinen wie IL-2 ausgegangen [80, 81, 82].

1.4.1 GVHD-assoziiertes GVL-Effekt

Der stärkste GVL-Effekt wurde bisher im Zusammenhang mit dem Auftreten einer GVHD, insbesondere der chronischen Form, in AML- und CML-Kohorten beschrieben, sodass man eine gemeinsame Signalkaskade von GVL und GVHD postulieren kann [77, 83, 84]. Das Potential beider Reaktionen wird über immunkompetente T-Zellen des Spenders vermittelt, die sich gegen Neben- oder Hauptkompatibilitätsantigene auf Empfänger-APCs richten (s. Kap. 1.3.2.2.). Diese Schlussfolgerung leitete man aus der Tatsache ab, dass die Transplantation von T-Zell-depletierten Stammzellpräparaten

zwar zu einer Reduktion der GVHD, aber auch zu einem Anstieg der Rezidivrate führt [77]. Das relative Rezidivrisiko verhält sich dabei antiproportional zum Schweregrad der GVHD [79]. Zusätzlich wurde bei Patienten, die sowohl eine akute als auch eine chronische GVHD entwickelt haben, eine Verstärkung der antitumoralen Aktivität verzeichnet. Konterkariert wird dieser protektive Effekt der GVL jedoch durch den Anstieg der NRM durch GVHD, sodass das Langzeitüberleben in den meisten Studien im Wesentlichen unverändert bleibt [41, 77]. Die Hypothese, dass ein hoher Grad an HLA-Mismatch den GVL-Effekt über ein erhöhtes GVHD-Risiko potenzieren kann, ist bislang nicht überzeugend erhärtet worden [39, 83, 85, 86].

1.4.2 GVHD-unabhängiger GVL-Effekt

Auf Grundlage der Ergebnisse von Horowitz und Ringden et al. bei allogener Knochenmarktransplantation von Patienten mit mehrheitlich myeloischer Leukämie wurde die Hypothese eines Antitumoreffekts unabhängig vom Auftreten einer GVHD aufgestellt [77, 87]. Vermutet wird die Reaktion von Spender-T-Lymphozyten gegen entweder Leukämie-spezifische Antigene oder mHAGs, die vorrangig auf Leukämiezellen exprimiert werden. Daraus resultiert eine GVL-Aktivität bei gleichzeitig klinisch stummer GVHD [77, 78]. Eine vergleichbare Beobachtung ist bisher nicht für die ALL beschrieben worden.

Postuliert wird auch eine Steigerung des GVL-Effekts im Zusammenhang mit einer hohen Dosis an CD34+ - Zellen [77]. Diese wird wiederum am ehesten durch die Gabe von PBSZ erreicht. Dabei ist dieser Benefit weniger als Surrogat einer hohen T-Zell-Zahl zu verstehen, sondern vielmehr als Ausdruck einer generell schnelleren immunologischen Zellrekonstitution des Empfängers. Dessen Immunsystem ist sukzessive in der Lage, Tumorzellen effizienter abzuwehren [41].

Der hohe therapeutische Stellenwert des antileukämischen Effekts nach allo-HSZT hat zur Etablierung unterschiedlicher Behandlungsansätze geführt, um das kurative Potential zu steigern. Dazu zählen die nichtmyeloablative, dosisreduzierte Konditionierung RIC für ältere, multimorbide Patienten, und die Gabe von Donor-Lymphozyten-Infusionen.

Aus verschiedenen, weiter unten diskutierten Gründen haben sich diese vielversprechenden Behandlungsoptionen für die ALL noch nicht etablieren können.

1.4.3 Stellenwert von Donor-Lymphozyten-Infusionen

Basierend auf dem oben beschriebenen Mechanismus des CTL-gesteuerten GVL-Effekts entwickelte sich die Infusion von unmanipulierten Spender-T-Lymphozyten als adaptive Immuntherapie, von der man sich eine Remissionsinduktion bis hin zur Heilung verspricht. Die dabei induzierte GVHD wird als klinisches Korrelat einer immunologischen Alloreaktivität und als Marker einer GVL-Reaktion gewertet. Der Effekt tritt i.d.R. nach vier bis acht Wochen nach DLI-Gabe auf, in einigen Fällen wurden aber Remissionen auch deutlich später beobachtet [81]. Bislang ist klinischen Studien der Nachweis eines GVL-Effekts durch DLI vor allem bei CML-Patienten gelungen, wohingegen bei akuten Leukämien im Allgemeinen und bei der ALL im Speziellen eine niedrigere Ansprechrate verzeichnet wurde [78, 88, 89]. Hinzu kommt die relativ kurze Dauer der so erzielten Remission bei ALL [81]. Zwei der meistgenannten Gründe hierfür sind die hohe Tumorlast bei ALL und ein aggressiver Krankheitsverlauf, sodass eine effektive GVL-Aktivität verhindert wird bzw. sich erst gar nicht entfalten kann [35, 90]. Die wenigen Langzeitremissionen wurden im Zusammenhang mit einer aggressiven Chemotherapie bzw. Radiatio vor Gabe der DLI beobachtet oder bei Patienten mit T-ALL [81, 89, 90, 91]. Einige Arbeitsgruppen vertreten die Meinung, dass ALL-Blasten eine Resistenz gegenüber dem GVL-Effekt und darauf aufbauenden Immuntherapien wie der DLI besitzen [85, 92, 93]. Überdies wurde darüber spekuliert, dass ALL-Blasten in der Lage sind, durch Mindereexpression von für die adäquate T-Zell-Stimulation essentiellen Zelloberflächenantigenen die Induktion des GVL-Effekts herabzusetzen [85, 92]. Insgesamt hat sich bei der ALL die DLI-Gabe in der frühen Posttransplantationsphase oder in Abhängigkeit vom MRD-Status in der frühestmöglichen Rezidivphase als erfolgversprechender erwiesen [81, 90].

Eine Korrelation zwischen verabreichter DLI-Dosis und GVHD-Risiko konnte nachgewiesen werden, die optimale und klinisch sichere Dosis an Spender-Lymphozyten steht aber weiterhin zur Diskussion [94].

1.5 Fragestellung

Aus den Einschränkungen bisheriger Studien (heterogene Kohorten, kleine Fallzahlen, unzulängliche statistische Methoden) zur Klinik der GVHD bzw. zum GVL-Effekt bei ALL und der daraus folgenden limitierten Aussagekraft der Ergebnisse leitete sich die Motivation für die vorliegende Arbeit ab.

Einleitung

Aufgrund der großen Kohorte soll zum einen eine umfassende Darstellung des klinischen Bildes der GVHD nach neuer NIH-Klassifikation für die ALL vorgelegt und die prognostische Relevanz validiert werden. Die Schwerpunkte liegen diesbezüglich auf der Beschreibung der Häufigkeit der unterschiedlichen GVHD-Subkategorien mit der Illustration der jeweiligen Organbeteiligung und des Schweregrades. Zum anderen sollen mithilfe von Cox-Regressionsmodellen und der GVHD als zeitabhängige Kovariable Risikofaktoren für die Genese einer GVHD identifiziert sowie deren Einfluss auf das Gesamtüberleben, NRM, Rezidivinzidenz und LFS und die damit einhergehende prognostische Relevanz der NIH-Klassifikation untersucht werden. Die so erhobenen Daten sollen den Rückschluss auf eine mögliche GVL-Aktivität in der Kohorte erlauben. Vor dem Hintergrund des therapeutischen Potentials der antitumorösen Reaktion, die sich in der Etablierung adaptiver Behandlungsansätze widerspiegelt, möchte die Arbeit zusätzlich der Frage nach dem GVL-Effekt im Zusammenhang mit der DLI-Gabe bei ALL nachgehen.

2 Patienten und Methoden

2.1 Studiendesign und Patientenkollektiv

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Auswertung aller Patienten mit ALL, die sich vom 29. Mai 1995 bis zum 07. Oktober 2009 zur Durchführung einer Stammzelltransplantation in folgenden Kliniken der Charité-Universitätsmedizin Berlin vorstellten:

- Bis April 2001: Medizinische Klinik für Hämatologie/Onkologie, Campus Mitte
- Ab April 2001: Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie/Onkologie, Abteilung für Stammzelltransplantation, Campus Virchow-Klinikum.

Die komplette Kohorte von 181 Patienten wurde für die endgültige Auswertung eingeschränkt, um eine möglichst hohe Homogenität zu gewährleisten. Patienten mit syngener, autologer bzw. Mehrfach-Transplantation wurden ausgeschlossen (Tab. 5). Insgesamt konnten 147 geeignete Patienten identifiziert werden (Tab. 6, S. 27). In Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki 1996 haben alle Patienten ihr schriftliches Einverständnis zur Datenauswertung gegeben.

Tabelle 5: Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> • 1. allogene Transplantation einer diagnostizierten akuten lymphatischen Leukämie im Zeitraum 1995-2009 • myeloablatives Konditionierungsregime 	<ul style="list-style-type: none"> • Alter <18 Jahre • Autologe/syngene Transplantation • Zweit-/Mehrfach-Transplantation • Transplantatversagen • Abweichendes Konditionierungsregime (RIC) • Unzureichende Datenlage

2.2 Datenerfassung

Zur Datenerhebung wurden alle ambulanten und stationären Krankenakten der Patienten aus den Archiven der Charité angefordert und dann mittels standardisierter Datenabstraktion ausgewertet. Zusätzlich konnte auf eine elektronische Patientendatenbank (Microsoft Access) sowie die Patientenmanagementprogramme SAP for Healthcare (SAP AG, Walldorf), MedVision (MedVision AG, Unna) und Compumed M1 (CompuGroup Medical Arztsysteme Deutschland AG, Koblenz)

zugegriffen werden. Aus diesen Quellen wurden die nachfolgend aufgeführten Daten bezogen: Geburtsdatum, Geschlecht, Datum von Diagnose, Transplantation, Rezidiv bzw. vom letzten Beobachtungszeitpunkt, Krankheitsstatus bei TX, Todesursache, Immunophänotyp, zytogenetische Risikogruppe, Karnofskyindex, HCT-CI-Score (hematopoietic cell transplantation-specific comorbidity index; Komorbiditätsindex zur Identifikation von Patienten mit erhöhtem Mortalitätsrisiko nach HSZT, s. Erläuterung Kap. 6.2, S. 75), Blutgruppe, CMV-Status, spenderbezogene Daten (Alter, Geschlecht, bei Familienspendern Verwandtheitsgrad, HLA- und CMV-Status, Blutgruppe), Konditionierungsregime und Laborbefunde zur Zellregeneration. Sämtliche patientenbezogene Daten sowie Angaben zu Krankheitsverlauf, zeitlichem Auftreten und ggf. Ausprägungsgrad der aGVHD/cGVHD sowie Informationen zum Follow-up, zu Rezidivereignissen und Todesursachen wurden für die weitere Analyse anonymisiert einer Excel-Datenbank hinzugefügt. Konnten Daten trotz sorgfältiger Recherche nicht erhoben werden bzw. waren unvollständig, wurden sie jeweils als *fehlend* erfasst. Die Klassifikation der GVHD nach den NIH-Kriterien und die Erfassung der Schweregrade der GVHD erfolgten mittels standardisierter Erhebungsbögen. Zunächst wurden alle relevanten Parameter, d.h. Symptomkonstellationen, klinische Zeichen, Ergebnisse von klinischen Tests (Lungenfunktionstests, Schirmer-Test) sowie von histologischen bzw. Laboruntersuchungen, erfasst. Anschließend wurden eine Eingruppierung und ein Scoring des maximalen Schweregrades der GVHD anhand der neuen Kriterien des Konsensus des NIH von 2005 vorgenommen (s. Tab. 4, S. 13, und Tab. 13, S. 76-78). Zusätzlich wurde der Zeitpunkt des Auftretens der GVHD registriert. Die spezifisch durchgeführte Therapie der GVHD wurde bei der primären Datenrecherche dokumentiert, jedoch in dieser Arbeit aufgrund unzureichender Daten bzgl. des klinischen Ansprechens nicht in die finale Auswertung miteinbezogen.

Auch wenn die Dokumentationsqualität in den Arztbriefen, Patientenakten und der elektronischen Patientendatenbank als sehr gut zu werten ist, gab es in einigen wenigen Fällen ungenaue Beschreibungen klinischer Befunde, die beispielsweise eine akkurate Neuklassifizierung der GVHD erschwerten. In solchen Fällen wurde unter Heranziehung eines zweiten Begutachters eine Konsensusentscheidung gefällt.

2.3 Auswertung

2.3.1 Definition der GVHD nach den NIH-Kriterien

Ausgehend von den NIH-Kriterien wurde zwischen klassischer aGVHD, später aGVHD, klassischer cGVHD bzw. mit Overlap-Syndrom unterschieden (s. Kap. 1.3.4) [19]. Zusätzlich erfolgte eine Einteilung der cGVHD in die Schweregrade limited, moderate und severe. Die klassische aGVHD wurde bei Auftreten aGVHD-typischer Symptome bei gleichzeitigem Fehlen von GVHD-Symptomen innerhalb von 100 Tagen nach HSZT oder DLI diagnostiziert, die späte aGVHD, wenn die typische Klinik nach 100 Tagen auftrat. Die Diagnose cGVHD basierte auf der klinischen Ausprägung von mindestens einem spezifischen cGVHD-Symptom bzw. der histologischen Befundsicherung einer Manifestation durch Biopsie. Die klassische cGVHD war gekennzeichnet durch die alleinige Ausprägung von cGVHD-typischen Manifestationen, während beim Overlap-Syndrom Symptome der chronischen und der akuten Verlaufsform parallel auftraten. Die progressive Verlaufsform der cGVHD (progressive onset) wurde durch einen direkten Übergang von aGVHD in cGVHD definiert, die verzögerte durch ein symptomfreies Intervall zwischen aGVHD und cGVHD (quiescent onset). Ging der chronischen keine akute GVHD voraus, wurde die cGVHD als de novo klassifiziert.

Die Diagnose von Lebermanifestationen war ohne histologische Befundsicherung möglich, wenn klinisch das Vorliegen einer Cholestase mit erhöhten Werten für Bilirubin und Alkalische Phosphatase bestätigt wurde und Infektionen bzw. lebertoxische Nebenwirkungen von verordneten Medikamenten als Ursache ausgeschlossen werden konnten.

Als Grundlage für das Grading der klassischen bzw. späten aGVHD dienten die Kriterien nach Glucksberg und Shulman [56, 57], für die Zuordnung der cGVHD-Schweregrade wurden die Empfehlungen des NIH-Konsensus herangezogen. Alle im Verlauf der cGVHD betroffenen Organe wurden als Gesamtzahl zusammengefasst und der maximale Schweregrad dokumentiert.

Das klinische Assessment von GVHD-Symptomen wurde im ersten Monat nach HSZT täglich stationär, im Folgemonat wöchentlich ambulant und darüber hinaus nach medizinischer Notwendigkeit von erfahrenen Ärzten durchgeführt. Die Informationen zu Diagnosedatum, Organmanifestationen und Schweregrad nach den konventionellen GVHD-Kriterien wurden in einer elektronischen Datenbank notiert.

2.3.2 Definition klinischer Endpunkte

Der Transplantationstag wurde definitionsgemäß als Tag 0 festgelegt. Das Gesamtüberleben (overall survival, OS) wurde als Intervall zwischen Tag 0 und Todestag bzw. letztem Tag des Follow-up bei Überlebenden definiert. Das leukämiefreie Überleben (LFS) bezeichnete den Zeitraum der kompletten Remission (CR) von Tag 0 bis zum Rezidiv oder Tod/Zensur. Bei Patienten, die im aktiven Rezidiv verstarben, zählte das Rezidiv unabhängig von den konkreten zum Tode führenden Ereignissen als Todesursache. Zur Nicht-Rezidiv-Mortalität (NRM) zählten alle Todesfälle bei Patienten in Remission. Als Todesursache „GVHD“ wurden alle Todesfälle gewertet, die als Therapiefolge nach stattgehabter GVHD auftraten, z.B. Infektion unter immunsuppressiver Therapie. Infektionen wurden als eigenständige Todesursache gewertet, wenn sie sich nicht als Folge eines Rezidivs, einer GVHD oder deren Therapie ereigneten. Patienten ohne Ereignisse wurden am Tag des letzten Follow-up zensiert. In zehn Fällen (6%) erfolgte eine Zensur am Tag der Zweittransplantation bei Rezidiv (n = 9) bzw. Transplantatversagen (n = 1).

Als Zeitpunkt der Vollremission im Rahmen der Zellrestitution (Engraftment) wurde allgemein der erste von drei konsekutiven Tagen definiert, an denen die Leukozytenzahl > 1000 / μ l und/oder die Neutrophilenzahl > 500 / μ l betrug; das Thrombozyten-Engraftment war über eine Thrombozytenzahl von > 20 000 / μ l ohne Transfusionen in den letzten sieben Tagen festgelegt. Eine komplette Remission war definiert als Regeneration der Hämatopoese (Thrombozyten > 100.000 / μ l, Neutrophile > 1000 / μ l, keine transfusionsbedürftige Anämie) bei einem Blastenanteil im Knochenmark \leq 5% ohne Nachweis von Blasten im peripheren Blut und von extramedullären Manifestationen. Ein Rezidiv war definiert als Anteil von > 5% Blasten im Knochenmark, Blasten im peripheren Blut oder Organbefall nach vorheriger kompletter Remission.

2.4 Statistische Methoden

Die Datenerfassung erfolgte mittels Excel 2002 (Microsoft, Redmond, Washington, USA). Die statistische Analyse wurde mit den Programmen SPSS Statistics 19.0 (IBM, Armonk, New York, USA) und NCSS 2007 (NCSS, Kaysville, Utah, USA) durchgeführt. Die Auswertung umfasste deskriptive und analytische Methoden sowie die graphische Darstellung. Für alle verwendeten Testverfahren wurde ein p-Wert < 0,05 als statistisch signifikant definiert.

Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte in Tabellenform oder als Kurvendiagramm. Kategoriale Parameter wurden mit absoluten und prozentualen Fallzahlen wiedergegeben, ordinale Parameter mit Median und Streubereich (Minimum und Maximum). Resultate der Cox-Regressions-Analyse wurden mit Hazardratio (HR)- bzw. p-Werten ausgedrückt, die sich auf den Vergleich zwischen Bezugs- und Einflussgröße beziehen.

In den verwendeten Kurvendiagrammen wurden die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Auswertung sowie kumulative Inzidenzen illustriert. Auf der Ordinatenachse ist die kumulative Inzidenz bzw. das Gesamtüberleben für den Wertebereich von 0 bis 1 in Dezimalzahl aufgetragen, auf der Abszisse der Beobachtungszeitraum in Tagen bzw. Monaten.

Mithilfe der Kaplan-Meier-Methode [95] ließen sich die untersuchten klinischen Endpunkte OS, LFS, Rezidivinzidenz und NRM als Überlebenszeitkurven aufstellen. Für Gruppenvergleiche diente der Log-Rank-Test. Er wurde konkret im Fall der Auswertung des Gesamtüberlebens in Abhängigkeit der Remissionsstadien eingesetzt.

Im Vergleich zur Kaplan-Meier-Methode ermöglicht die Cox-Regressions-Analyse (auch proportionales Hazard-Modell genannt) sowohl univariate als auch multivariate Berechnungen, mit denen Korrelationen zwischen diversen klinischen Risikofaktoren und klinischen Endpunkten bestimmt werden können [96]. Zudem erlaubt dieses Modell die Beachtung zeitabhängiger Kovariablen, in diesem Fall aGVHD und cGVHD. Somit wurde berücksichtigt, dass die Werte für die GVHD-Variable im Zeitverlauf veränderlich waren [97]. Als Modell diente eine SPSS-Syntax für NRM (s. Kap. 6.1, S. 74). Analog dazu wurden die Berechnungen für OS und Rezidivinzidenz durchgeführt. Untersucht wurde der prognostische Einfluss folgender Variablen: Alter, Geschlecht, Karnofskyindex, HCT-CI-Score, Transplantationszeitraum, Remissionsstadium, Immunophänotyp, Spendertyp, -alter, Stammzellquelle und ATG-Gabe. Außerdem wurden Spender-/Empfänger-Eigenschaften wie AB0-, HLA-Kompatibilität, CMV-Status, Geschlechterdifferenz. Die Resultate der Analyse beziehen sich auf die Hazard Ratio mit 95%-Vertrauensintervall (confidence intervall, CI), die zwei Hazardraten zueinander ins Verhältnis setzt.

Patienten ohne Zellrestitution wurden von der Analyse ausgenommen, Patienten mit Zweittransplantationen wurden mit Datum der Zweittransplantation zensiert.

Ein wichtiger Indikator für das Outcome ist die kumulative Inzidenz, definiert als Wahrscheinlichkeit, dass ein bestimmtes Event vor einem bestimmten Zeitpunkt auftritt. Als Verfahren der Wahl für die Ermittlung von NRM, Rezidivinzidenz, GVHD und Engraftment wurde die kumulative Inzidenz mit kompetitiver Risikoanalyse ausgewählt. Das kompetitive Risiko impliziert die Tatsache, dass Patienten einzelne Untersuchungsendpunkte aufgrund einer kompetitiven Komplikation nicht erreichen können, was zu einer verfälschten Aussage bzgl. der Auftretenswahrscheinlichkeit dieses Ereignisses führen würde. Bei der allogenen Stammzelltransplantation könnte ohne eine solche Analyse beispielsweise eine Therapie, die zu vielen frühen infektsbedingten Todesfällen führt, fälschlicherweise als eine Therapie angesehen werden, die das Rezidivrisiko mindert. Im konkreten Fall galt für das Ereignis „Rezidiv“ als kompetitiver Faktor Tod ohne Rezidiv; für „aGVHD“ und „cGVHD“ Tod ohne GVHD; für „NRM“ Rezidiv, und für „Zellengraftment“ Tod vor Tag 28 ohne Engraftment.

2.5 Standardprotokolle an der Charité

Das Patientenmanagement vor und nach allogener Stammzelltransplantation basiert auf den publizierten Richtlinien der GMALL-Therapiestudie von 2009 [7] und auf den spezifischen standard operating procedures (SOPs) der Klinik für Hämatologie, Onkologie und Tumorummunologie am Campus Virchow-Klinikum.

2.5.1 Konditionierungstherapie

Im Allgemeinen beinhaltet die Standardkonditionierung nach myeloablativem Konditionierungsprotokoll eine Ganzkörperbestrahlung mit 6 x 2 Gy und 2 x 60 mg/kg Cyclophosphamid. 1 x 60 mg/kg Etoposid anstelle von Cyclophosphamid wurde bei Patienten mit Familienspendern verabreicht. Im Fall eines HLA nicht-identen Spenders wurde zusätzlich ATG Fresenius gegeben. Die Gabe von Treosulfan war indiziert bei Kontraindikation gegen eine Radiatio.

2.5.2 Stammzellquellen und -apherese

Als Stammzellquellen dienten PBSZ oder Knochenmark. Die HLA-Typisierung erfolgte im DNA-Labor des Instituts für Transfusionsmedizin, Charité CVK, seit 1997 nach der Methode der hochauflösenden Genotypisierung. Die Mobilisierung der PBSZ der Spender erfolgte stets im hämatologischen Ruhestand („steady state“) mittels G-CSF, an Tag 5 nach Gabe wurde die Apherese der Stammzellen durchgeführt. Die

erwünschte Mindestausbeute an PBSZ betrug $4,0 \times 10^6$ /kg des Empfängergewichtes. Für die DLIs wurden zusätzlich aus dem Stammzellapheresat Donorlymphozyten zur prophylaktischen Immuntherapie nach Transplantation gewonnen und mittels Kryokonservierung eingefroren.

2.5.3 Transplantationsprozedere

Das Stammzelltransplantat wurde als Frischmaterial mit sterilem Transfusionsbesteck über einen Hickmankatheter oder einen konventionellen zentralen Venenkatheter appliziert.

2.5.4 Infektionsprophylaxe

Sowohl die Konditionierung als auch die allogene Stammzelltransplantation wurden unter den Bedingungen einer Einzelzimmerisolation mit sterilgefilterter Luftzufuhr und Umkehrisolation durchgeführt. Standardmäßig erfolgte ab Konditionierungsbeginn eine antibakterielle Prophylaxe mit Ciprofloxacin p.o., die bei Erreichen einer stabilen Hämatopoese abgesetzt wurde. Die antimykotische Prophylaxe bestand aus Amphotericin B p.o. Zur Prophylaxe einer Pneumocystis jirovecii-Pneumonie wurde die Inhalation von Pentamidin angeordnet, zusätzlich Cotrimoxazol forte. Im Rahmen der antiviralen Prophylaxe erfolgte die Gabe von Aciclovir i.v. von Tag 0 nach HSZT an bis zum Wiederanstieg der Leukozyten > 1000 / μ l und Abklingen der Mukositis. Vor und nach Stammzelltransplantation wurden den Patienten bei nachgewiesenem Mangel zudem in zweiwöchigem Abstand 10 g Immunglobuline infundiert.

2.5.5 GVHD-Prophylaxe

Die GVHD-Prophylaxe richtete sich nach Konditionierungsregime, Spendertyp, Kontraindikationen sowie individuellen Gesundheitsrisiken der Patienten.

Die Standardprophylaxe umfasste CSA, das abhängig von den o.g. Faktoren alleine ($n = 4$; 3%) oder in Kombination mit MTX ($n = 50$; 34%), Prednisolon ($n = 28$; 19%) oder MMF ($n = 7$; 5%) verabreicht wurde.

Ab Tag -2 bis zum Entlassungstag wurde CSA i.v. ein Mal täglich in spiegeladaptierter Dosis (Zielspiegel 180-220 μ g/l) verabreicht und im Verlauf auf oral umgestellt, frühestens ab Tag 14. Ab Tag 90 (Patienten mit HLA-kompatiblen Spender) bzw. Tag 120 (Patienten mit HLA-inkompatiblen Spender) wurde mit der graduellen Reduktion begonnen, um die CSA-Einnahme bis Tag 180 zu beenden. Die Prophylaxe mit MTX

begann an Tag 1 nach HSZT und wurde an Tag 3, 6 und 11 i.v. ein Mal täglich fortgesetzt. Als Bestandteil der Konditionierung vor HSZT bei nichtverwandten Spendern oder Familienspendern mit Mismatch wurde den Patienten ATG Fresenius von Tag -3 an bis Tag -1 infundiert. Im Ermessen des behandelnden Arztes wurden die o.g. Therapieschemata bei fehlendem Ansprechen auf alternative Immunsuppressiva, z.B. Sirolimus und Azathioprin, umgestellt.

2.5.6 Donor-Lymphozyten-Gabe

Die Gabe von Spender-Lymphozyten-Infusionen war entweder im Rahmen einer Rezidivprophylaxe, präemptiven Therapie (bei MRD-Nachweis bzw. Zunahme des Empfängerchimärismus) oder aufgrund von morphologischen Rezidivzeichen nach stattgehabter Reinduktionstherapie indiziert. Sie erfolgte in zeitlichem Abstand zur Transplantation nur nach Beendigung der immunsuppressiven Therapie und bei Patienten, die frei von Infekt- und GVHD-Zeichen waren. Patienten nach HSZT mit Familienspendern erhielten in vierwöchigen Intervallen eine Dosisescalation von 1×10^7 , 5×10^7 and 1×10^8 Zellen/kg Körpergewicht (KG). Bei Zustand nach HSZT mit Fremdspendern betrug die Initialdosis 5×10^6 Zellen/kg KG mit sukzessiver Eskalation nach dem o.g. Schema.

2.5.7 GVHD-Management nach HSZT

2.5.7.1 Medikamentöse Therapie

Das GVHD-Management und die Klassifikation richteten sich nach den oben erwähnten Standards.

Die medikamentöse Standardtherapie der aGVHD setzte sich aus CSA mit Zielspiegel im oberen Therapiebereich und den Kortikosteroiden Prednisolon und Methyl-Prednisolon zusammen.

Die milde Verlaufsform der cGVHD wurde nicht oder ausschließlich mit Lokaltherapeutika therapiert, während im Stadium moderate/schwere cGVHD als Standardtherapie CSA und/oder Prednisolon zur Anwendung kamen.

Bei steroidresistenten Verläufen kamen diverse Immunsuppressiva bzw. Therapien zum Einsatz: MMF, Rituximab, Basiliximab, ATG Fresenius, Azathioprin, Cyclophosphamid, PUVA (Psoralen plus UV-A) sowie die ECP.

2.5.7.2 Follow-up

Während der stationären Phase erfolgten tägliche Visiten mit ausführlicher Befunddokumentation in handschriftlicher (bis 2001) bzw. elektronischer Form (ab 2001). Bei unkompliziertem Verlauf nach HSZT erfolgte die Entlassung an Tag 28 nach vorheriger Knochenmarkspunktion. Initial stellten sich die Patienten ein Mal wöchentlich zur ambulanten Nachbeobachtung in unserer KMT-Ambulanz vor. Bei jeder Patientenvorstellung fanden eine ausführliche, problemorientierte Anamnese und körperliche Untersuchung sowie eine Routineblutuntersuchung statt. Die erhobenen Befunde und Laborergebnisse wurden mithilfe eines standardisierten Verlaufsboogens in der Patientenakte dokumentiert. Im Ermessen des behandelnden Arztes und in Abhängigkeit der pathologischen Befunde wurden Wiedervorstellungstermine in größeren Intervallen vereinbart. Die spätere Nachsorge (ab Tag 365) fand in dreimonatigen oder jährlichen Abständen statt, um Langzeiteffekte der Therapie angemessen erfassen zu können.

2.6 RIC-Kohorte

Neben der primären Untersuchung, die sich auf myeloablativ konditionierte Patienten bezog, wurden weitere explorative Analysen in einer mit nichtmyeloablativer Konditionierung behandelten Kohorte durchgeführt. Eine RIC-Konditionierung war bei Patienten über 55 Jahren mit eingeschränkter Organfunktion, residueller oder manifester Infektion, Rezidiven nach allogener myeloablativer Stammzelltransplantation bzw. Ganzkörperbestrahlung indiziert. Das Regime setzte sich aus Fludarabin 6 x 30 mg/m², Busulfan 2 x 4 mg/kg und ATG 4 x 10 mg/kg zusammen, die GVHD-Prophylaxe wurde mit CSA und MMF durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Patienten- und Transplantationscharakteristika

3.1.1 Patientenkollektiv

In die Studie wurden 147 ALL-Patienten mit myeloablativer Konditionierung bei allogener Ersttransplantation im Zeitraum Mai 1995 bis Mai 2009 eingeschlossen (Tab. 6).

Tabelle 6: Patientencharakteristika

Gesamtanzahl Patienten, n	147
Transplantationsjahr, n (%)	
1995-1999	48/147 (33%)
2000-2004	57/147 (39%)
2005-2009	42/147 (29%)*
Follow-up [Monate]	
Median (Streubereich)	19,3 (0,6-184,8)
Geschlecht, n (%)	
Männlich	91/147 (62%)
Weiblich	56/147 (38%)
Alter bei Transplantation [Jahre]	
Median (Streubereich)	31,4 (18,0-55,5)
Karnofskyindex, n (%)	
100	72/147 (49%)
90	61/147 (41%)
< 80	14/147 (10%)
HCT-CI, n (%)	
Niedrig (Score 0)	46/147 (31%)
Mittel (Score 1-2)	66/147 (45%)
Hoch (Score ≥3)	35/147 (24%)

Ergebnisse

Tabelle 6: Fortsetzung

Remissionsstadium bei TX, n (%)	
CR 1	74/147 (50%)
CR 2/3	32/147 (22%)
No CR	41/147 (28%)
Immunophänotyp, n (%)	
B-ALL	108/147 (73%)
T-ALL	39/147 (27%)
Zytogenetische Risikogruppe, n (%)	
Normaler Karyotyp	68/147 (46%)
Ph+	38/147 (26%)
komplex aberrant	15/147 (10%)
Andere Aberrationen [†]	24/147 (16%)
Nicht verfügbar	2/147 (1%)
Zeit bis TX [Monate]	
Median (Streubereich)	6,2 (1,4-315,8)

* Von 100% abweichende Beträge sind rundungsbedingt; [†] Andere Aberrationen: t(4;11), t(11;19)

3.1.2 Konditionierung

Eine myeloablative Konditionierung nach dem Standardregime wurde bei 79 Patienten durchgeführt (54%). Bei 68 Patienten wurde ein abgewandeltes Konditionierungsregime angewandt: GKB in Kombination mit 100 mg/kg Cyclophosphamid und zusätzlich Etoposid 50 mg/kg (n = 28, 19%) bzw. GKB und Etoposid 60 mg/kg (n = 36, 24%). Vier weitere Patienten (3%) wurden jeweils nach folgenden Schemata konditioniert:

- GKB 6 x 2 Gy und Cyclophosphamid 200 mg/kg
- Treosulfan 3 x 12 g/m², Etoposid 30 mg/kg und Cyclophosphamid i.v. 60 mg/kg
- Busulfan 4 mg/kg/d und Cyclophosphamid i.v. 60 mg/kg/d
- Treosulfan 3 x 12 g/m², Etoposid 1 x 30 mg/kg, Cyclophosphamid 2 x 60 mg/kg und ATG Fresenius 3 x 20 mg/kg.

Insgesamt 35 Patienten (24%) erhielten ATG Fresenius als Bestandteil der Konditionierung.

3.1.3 Spender- und Transplantatcharakteristika

Für 129 Patienten stand eine HLA-kompatible Spende zur Verfügung, darunter waren 61 Patienten (41%) mit Familien- und 68 Patienten (46%) mit Fremdspender. Bei 18

Ergebnisse

weiteren Patienten handelte es sich um einen HLA-Mismatch mit verwandten (n = 2, 1%) bzw. nichtverwandten Spendern (n = 16, 11%). Wichtige Charakteristika sind in Tab. 7 zusammengefasst.

Tabelle 7: Transplantationscharakteristika

Spendertyp, n (%)	
HLA-komp. Familienspender	61/147 (41%)
HLA-komp. Fremdspender	68/147 (46%)
HLA-inkompatibel	18/147 (12%)
Spenderalter [Jahre]	
Median (Streubereich)	35 (6-62)
Stammzellquellen, n (%)	
Periphere Blutstammzellen	109/147 (74%)
Knochenmark	38/147 (26%)
CD34+ - Zelldosen [n x 10⁶ Zellen/kg KG]	
Median (Streubereich)	4,5 (0,8-17,1)
Prophylaktische ATG-Gabe, n (%)	
Ja	35/147 (24%)
Nein	112/147 (76%)
Myeloablatives Konditionierungsregime, n (%)	
12 Gy TBI ± Cy ± Etoposid	143/147 (97%)
Busulfan/Cy	2/147 (2%)
Treosulfan/Etoposid/Cy	2/147 (2%)
AB0-Kompatibilität, n (%)	
AB0-kompatibel	72/147 (49%)
Major-Inkompatibilität	28/147 (19%)
Minor-Inkompatibilität	28 /147 (19%)
Bidirektionale Inkompatibilität	18/147 (12%)

Tabelle 7: Fortsetzung

Spender-/Empfängergeschlecht, n (%)	
weiblich/männlich	23/147 (16%)
Andere	124/147 (84%)
CMV-Status (Spender/Empfänger), n (%)	
-/-	48/147 (33%)
+/-	18/147 (12%)
-/+	41/147 (28%)
+/+	39/147 (27%)
DLI-Gabe, n (%)	
Ja	44/147 (30%)
Nein	103/147 (70%)

* Von 100% abweichende Beträge sind rundungsbedingt.

3.2 Zellregeneration

In Abb. 4, S. 31, wird die kumulative Inzidenz der Zellrekonstitution von Leukozyten und Thrombozyten in einem zeitlichen Verlauf von 100 Tagen gezeigt. Aus dem Kurvenverlauf wird ersichtlich, dass das Leukozyten-Engraftment im Median nach 16,5 Tagen (8-37) eintrat. Die Regeneration der Thrombozyten setzte im Median nach 20,5 Tagen ein (3-121). Insgesamt wurde das Leukozyten-Engraftment an 142 Patienten (97%) und das Thrombozyten-Engraftment an 136 Patienten (93%) beobachtet. Bei frühem Tod oder Rezidiv zeigten drei Patienten (2%) kein Leukozyten- und acht (5%) kein Thrombozyten-Engraftment.

3.3 Transplantationsergebnisse

Für das OS, LFS, die NRM, Rezidivhäufigkeit sowie das OS für die jeweiligen Remissionsstadien werden nachfolgend die Eckdaten nach 12, 24 sowie 60 Monaten post transplantationem aufgeführt. Die Graphiken geben den detaillierten zeitlichen Verlauf der Kaplan-Meier-Schätzungen und der kumulativen Inzidenzen über einen Zeitraum von 120 Monaten wieder. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die jeweiligen Kurven für OS/LFS und Rezidiv/NRM zusammen in einer Graphik dargestellt (Abb. 5 bzw. 6).

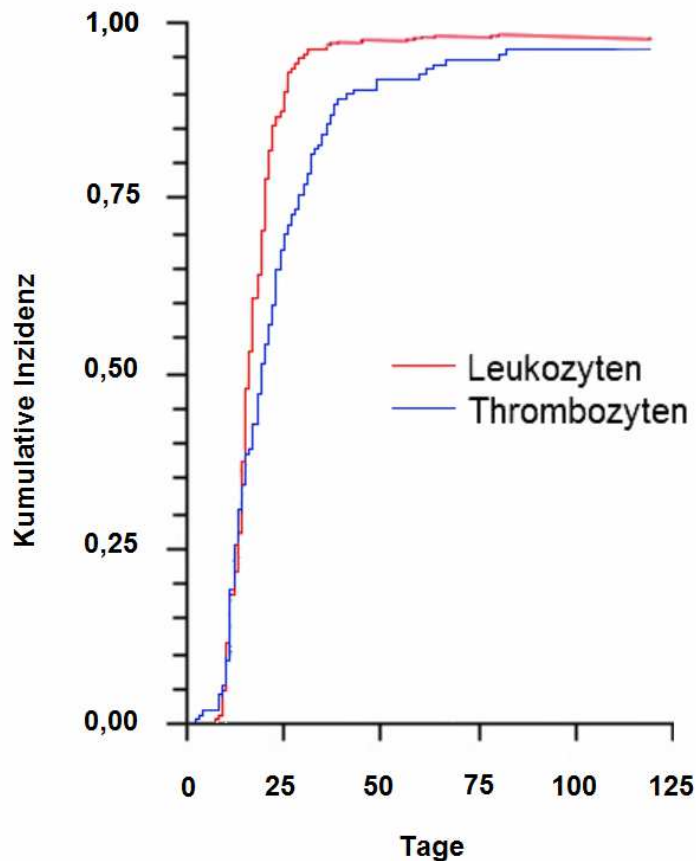


Abbildung 4: Leukozyten- und Thrombozytenrekonstitution

3.3.1 Gesamtüberleben

Das OS für die gesamte Kohorte belief sich nach einem Jahr auf 61% (95%CI: 52-68%) und nach zwei Jahren auf 52% (95%CI: 43-60%) (Abb. 5). Für die 5-Jahres-Überlebensrate lag der Wert bei 43% (95%CI: 35-51%). Die Analyse ergab für die gesamte Kohorte ein medianes Follow-up von 19 Monaten, auf die überlebenden Patienten beschränkt ein medianes Follow-up von drei Jahren. Im Beobachtungszeitraum von 15 Jahren verstarben 59% der Patienten (n = 87). Die statistische Analyse erlaubte die Einteilung der Todesursachen in fünf Kategorien: Tod durch Rezidiv war die häufigste Ursache, gefolgt von GVHD und Infektionen. Andere Erkrankungen machten einen Anteil von unter 10% aus (Tab. 8).

Tabelle 8: Gesamtüberleben und Todesursachen

Gesamtüberleben, n (%)	
Überlebende	60/147 (41%)
Verstorbene	87/147 (59%)
Follow-up Gesamt [Monate]	
Median (Streubereich)	19,3 (0,6-184,8)
Follow-up Überlebende [Monate]	
Median (Streubereich)	72,7 (12,0-184,8)
Todesursache, n (%)	
Rezidiv	47/87 (54%)*
Akute GVHD	14/87 (16%)
Chronische GVHD	10/87 (11%)
Infektionen	12/87 (14%)
Andere ⁺	4/87 (5%)

⁺ Andere Ursachen: respiratorische Insuffizienz (n = 1), akutes Herzversagen (n = 1), intrazerebrale Blutung (n = 1), Lyell-Syndrom (n = 1); * Von 100% abweichende Beträge sind rundungsbedingt.

3.3.2 Leukämiefreies Überleben

Betrachtet man das LFS, so blieb mehr als die Hälfte der Patienten im ersten Jahr nach PBSZT ereignisfrei (56% (95%CI: 48-64%)). Nach zwei Jahren sank die Zahl auf 49% (95%CI: 40-56%), nach drei weiteren Jahren auf 41% (95%CI: 33-50%). Die genaue Entwicklung wird in nachfolgender Abbildung (Abb. 5) widergespiegelt.

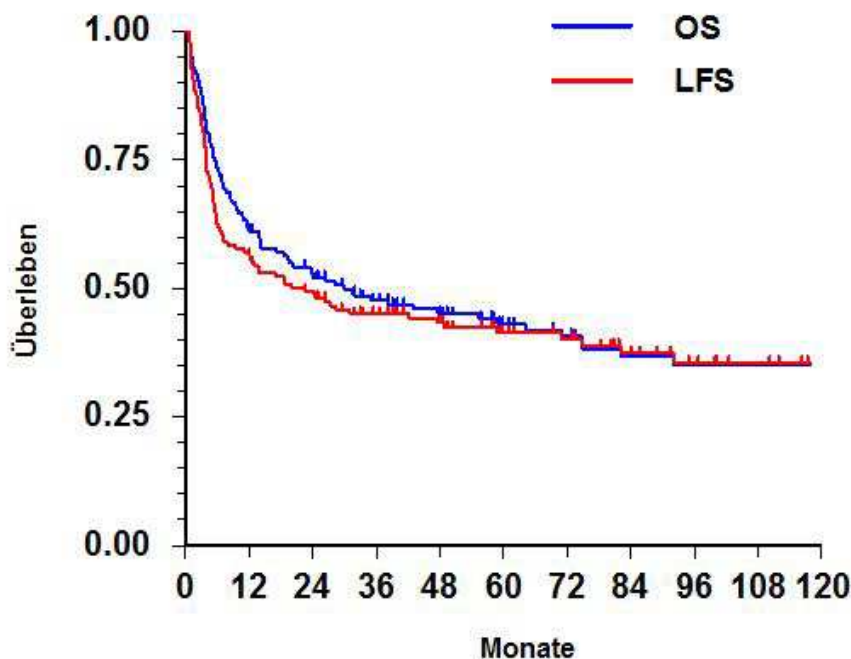


Abbildung 5: Kumulative Inzidenz von Gesamtüberleben und LFS

3.3.3 Nicht-Rezidiv-Mortalität

Die Auswertung ergab für die NRM eine 1-Jahres-Rate von 20% (95%CI: 14-27%). Innerhalb von zwei Jahren nach PBSZT verstarben 22% der Patienten (95%CI: 16-29%), nach insgesamt fünf Jahren stieg die Mortalität auf 26% (95%CI: 20-34%) (Abb. 6).

3.3.4 Rezidiv

Unter dem Gesichtspunkt der Rezidivinzidenz ein Jahr nach PBSZT wurde ein Wert von 23% (95%CI: 17-31%) ermittelt. Wertete man die Ergebnisse im Hinblick auf die 2-Jahres-Rate aus, so stieg der Wert auf 29% an (95%CI: 22-37%). Im Intervall von fünf Jahren nach PBSZT erlitt ein Drittel des Patientenkollektivs ein Rezidiv (33%; 95%CI: 26-41%). In Abb. 6 sind die kumulativen Inzidenzen von NRM und Rezidivinzidenz aufgetragen.

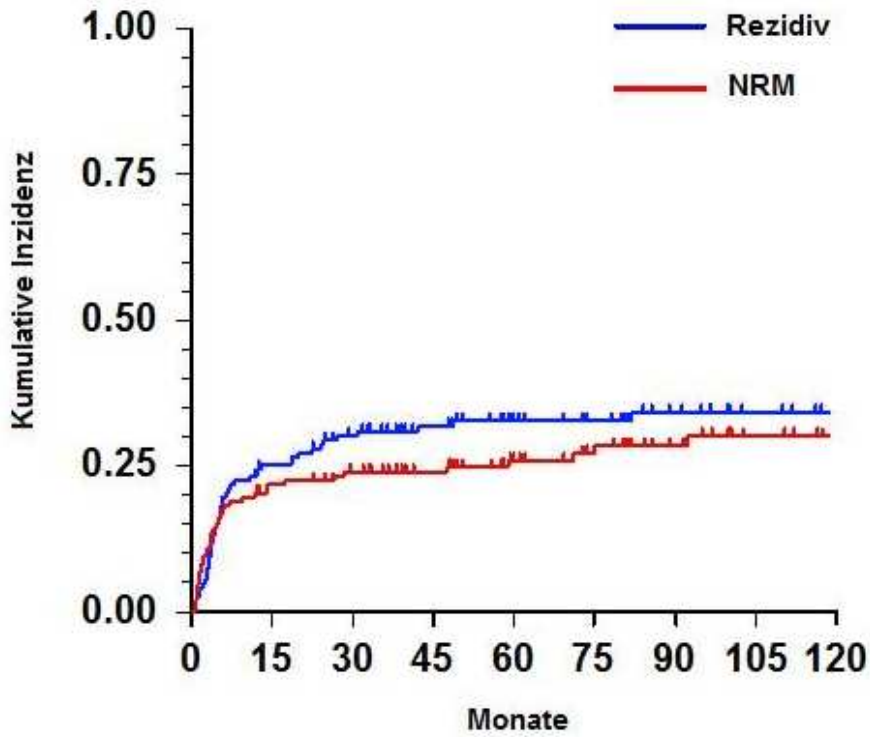


Abbildung 6: Kumulative Inzidenzen von NRM und Rezidivinzidenz

3.3.5 Gesamtüberleben nach Remissionsstadien

Für Patienten in CR 1 ergab die Analyse ein OS nach drei Jahren von ca. 60% gegenüber 35% für Patienten, die nicht in Remission transplantiert wurden. Höhere Remissionsstadien (CR 2 bzw. 3) zeigten ein vergleichbares Gesamtüberleben wie Patienten, die sich nicht in Remission befanden (Abb. 7).

Ergebnisse

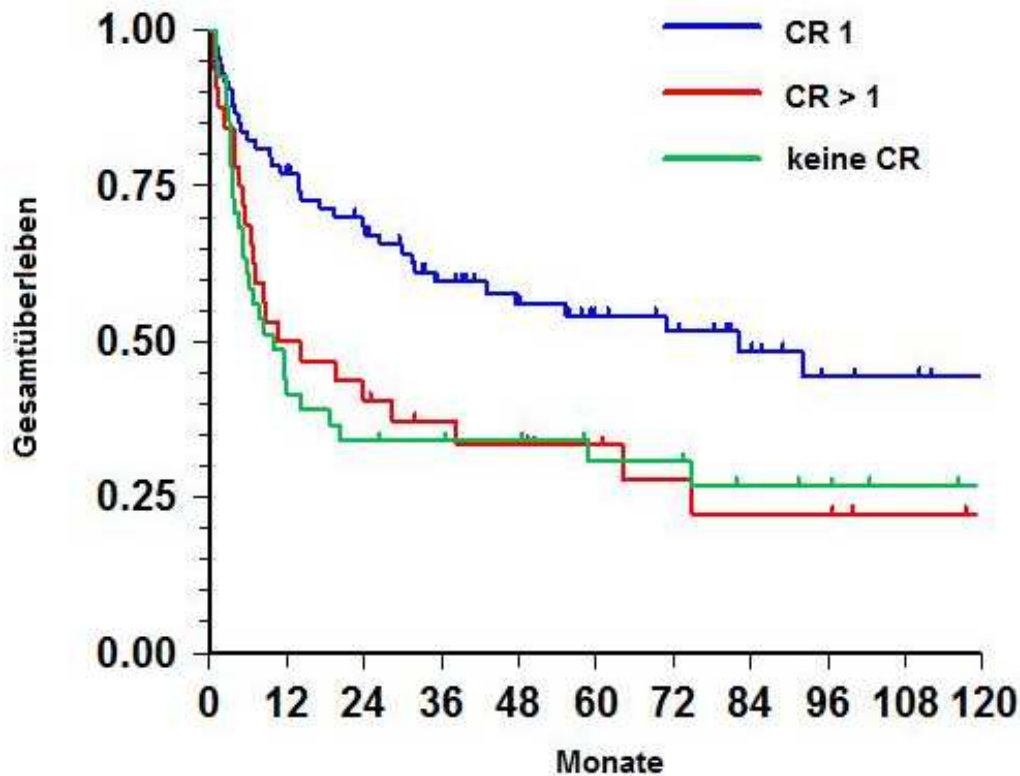


Abbildung 7: Gesamtüberleben nach Remissionsstadien

3.4 Inzidenz und Klinik der GVHD nach NIH-Kriterien

3.4.1 Klassische akute GVHD

Insgesamt entwickelten 102 Patienten (69%) im Verlauf nach PBSZT bzw. DLI eine klassische aGVHD, definiert als klinisch evidente Form innerhalb von 100 Tagen nach PBSZT. Die kumulative Inzidenz für klassische aGVHD Grad I-IV betrug 63% (95%CI: 56-72%). Für die einzelnen Schweregrade ergaben sich folgende Werte: für Grad I/II 39% (95%CI: 32-48%), für Grad III/IV 24% (95%CI: 18-33%) (Abb. 8). Die Haut war in 94% der Fälle betroffen (n = 96), Leber und Gastrointestinaltrakt in 32% bzw. 34% der Fälle (n = 33 bzw. 35) (Tab. 9, S. 37). Die klassische aGVHD trat im Median von 23 Tagen (Streubereich: 5-95) nach HSZT auf.

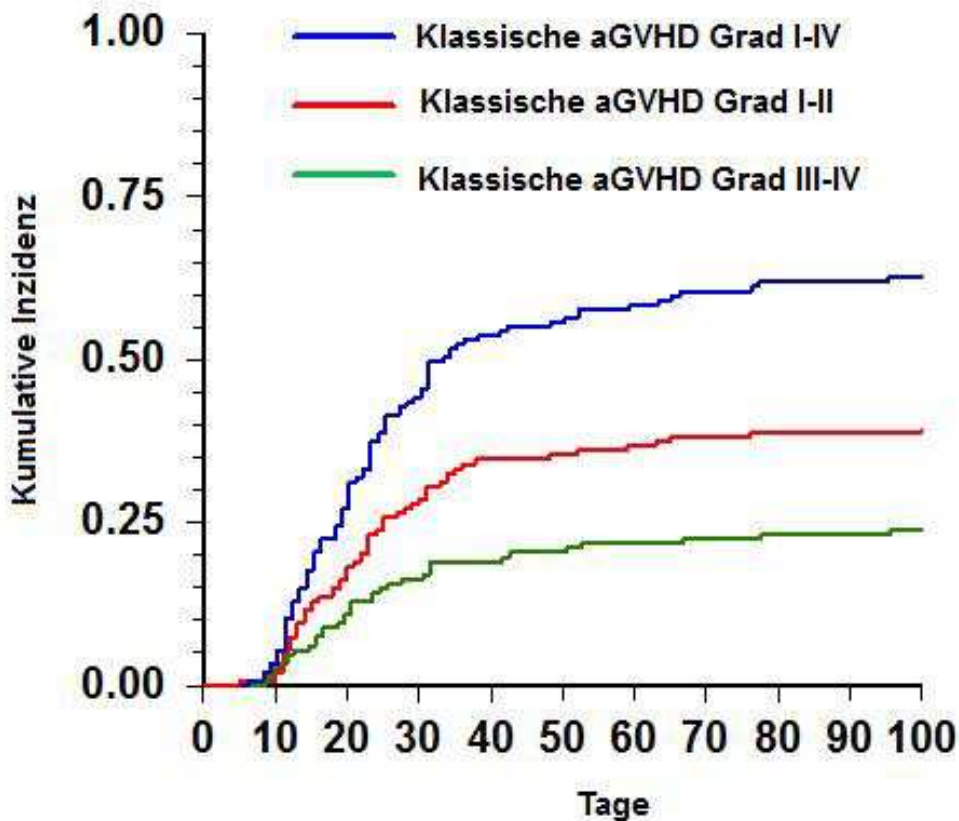


Abbildung 8: Kumulative Inzidenz der klassischen aGVHD nach Schweregrad

3.4.2 Späte akute GVHD

Für die späte aGVHD ließ sich eine kumulative Inzidenz von 12% ($n = 17$) berechnen. Davon wurden 47% ($n = 8$) der Fälle der persistenten Verlaufsform zugerechnet, 35% ($n = 6$) bzw. 18% ($n = 3$) entfielen auf die rekurrente bzw. De-novo-Stadien. Die kumulative Inzidenz betrug 5% (95%CI: 3-8%) für Grad I/II und 6% (95%CI: 3-12%) für Grad III/IV (Abb. 9). Die Inzidenz von Hautmanifestationen war im Vergleich zur klassischen Form niedriger (65% gegenüber 94% bei klassischer aGVHD). Die Leber war hingegen mit 47% etwas häufiger, der GI-Trakt mit 29% etwa gleich häufig betroffen (Tab. 9, S. 37).

Ergebnisse

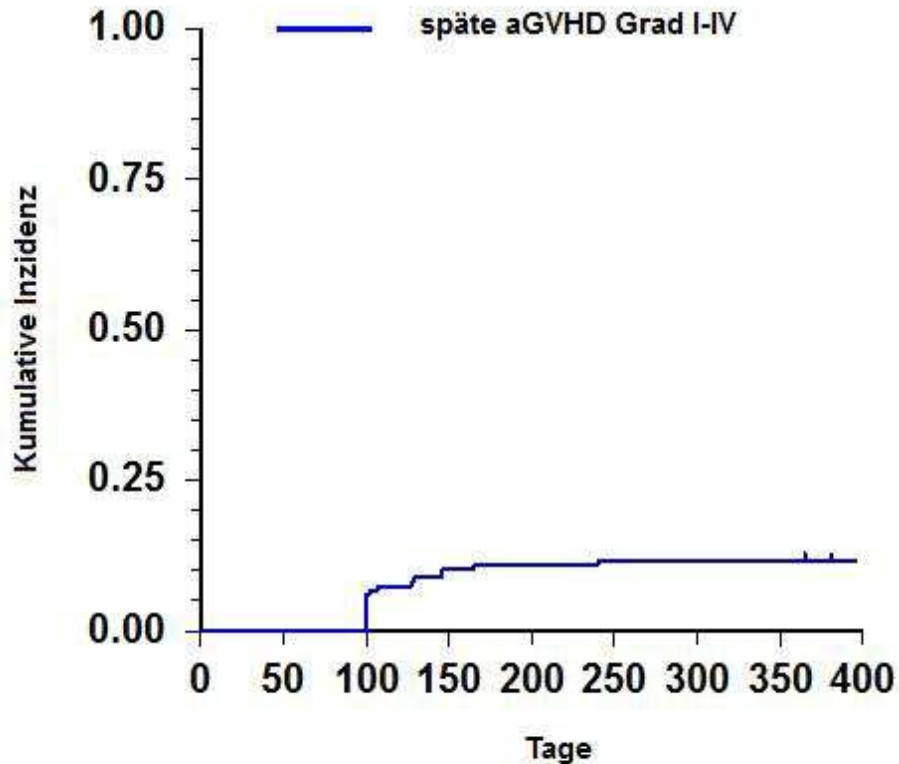


Abbildung 9: Kumulative Inzidenzen der späten aGVHD

Tabelle 9: Klinische Charakteristika der akuten GVHD nach NIH-Kriterien

	Klassische aGVHD	Späte aGVHD
Anzahl Patienten, n (%)	102/147 (69%)	17/147 (12%)
Betroffene Organe, n (%)		
Haut	96/102 (94%)*	11/17 (65%)
Leber	33/102 (32%)	8/17 (47%)
Darm	35/102 (34%)	5/17 (29%)
Schweregrad, n (%)		
I und II	60/102 (59%)	8/17 (47%)
III und IV	42/102 (41%)	9/17 (53%)
Verlaufsform, n (%)		
De novo		3/17 (18%)
Persistent		8/17 (47%)
Rekurrent		6/17 (35%)

* Von 100% abweichende Beträge sind rundungs- bzw. durch Mehrfachnennungen bedingt.

3.4.3 Chronische GVHD

Von den 147 Patienten entwickelten 77 (52%) eine chronische GVHD, d.h. eine durch das Vorliegen bestimmten NIH-definierten diagnostischen und typischen Symptomen charakterisierte GVHD (s. Tab. 13, S. 76-78). Davon manifestierte sich bei 40% eine klassische, bei 60% eine Overlap-cGVHD. Im Median wurde die cGVHD an Tag 115 nach Transplantation klinisch evident (Streubereich: 24-464). Unabhängig vom Schweregrad betrug die kumulative 3-Jahres-Inzidenz 41% (95%CI: 34-50%). In Abb. 10 ist die Inzidenz für alle Grade gegenüber den Inzidenzen der einzelnen Verlaufsformen aufgetragen. Fast 50% der Kohorte erkrankte dabei an der schweren Form. Die Klinik wurde durch Haut-, Mundschleimhaut-, Augen- und Lebermanifestationen dominiert (70%, 91%, 61% bzw. 48%) (s. Tab. 10, S. 40). Mehr als zwei Drittel der Patienten entwickelten Manifestationen an drei oder mehr Organsystemen; maximal waren sieben verschiedene Systeme gleichzeitig betroffen. Am häufigsten wurde die De-novo-Form (n = 29, 38%) diagnostiziert, gefolgt von der verzögerten cGVHD (n = 28, 36%) und der progressiven cGVHD (n = 20, 26%). Nach alter Klassifikation wurde bei 54% der Patienten (n = 80) eine cGVHD diagnostiziert, darunter 34% (n = 27) limited und 66% (n = 53) extensive disease.

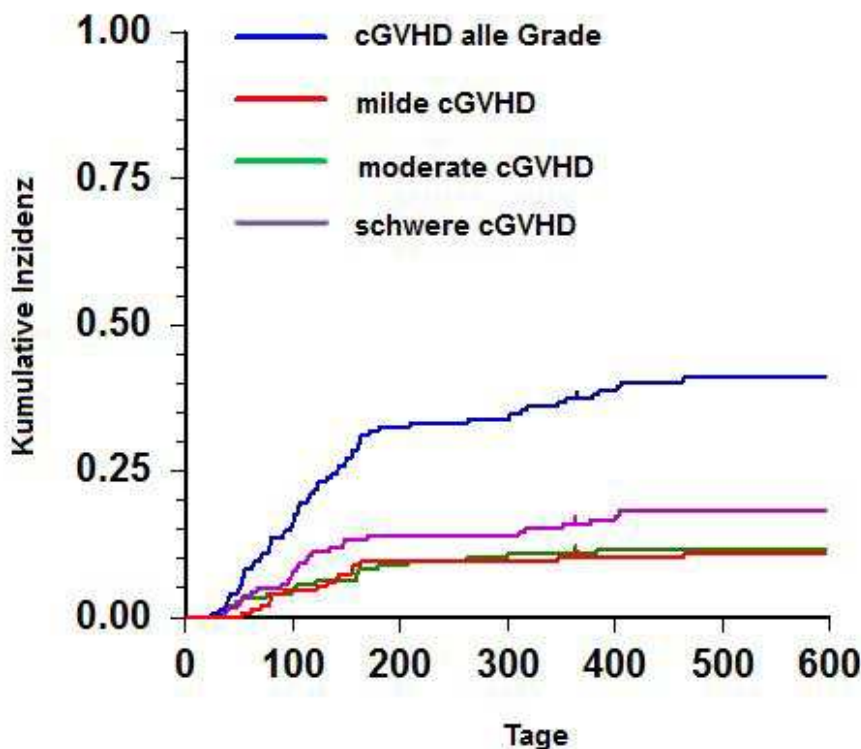


Abbildung 10: Kumulative Inzidenz der cGVHD nach Schweregrad

4.4.3.1 Klassische chronische GVHD

Die Ausprägung der klassischen cGVHD (40% der Fälle) nahm in 52% der Fälle einen milden Verlauf (n = 16) an. Mehr als die Hälfte waren Neumanifestationen ohne vorangegangene aGVHD. Betroffen waren auch hier hauptsächlich Mundschleimhaut (84%), Augen (55%) sowie Haut (45%). Hepatische und gastrointestinale Symptome waren hingegen selten betroffen (jeweils 3%). Bei 61% der Patienten waren maximal zwei Organe gleichzeitig betroffen (Tab. 10, S. 40).

4.4.3.2 Overlap-Syndrom

Der Großteil der Studienpopulation entwickelte gleichzeitig Symptome von akuter und chronischer GVHD, d.h. ein Overlap-Syndrom (60% der Fälle). Diese Subklassifikation wies einen hohen Anteil an schweren Krankheitsgraden auf (n = 30, 65%). Dieser spiegelte sich auch in der Gesamtzahl der Organmanifestationen wider: Bei mehr als zwei Drittel der Untersuchten waren im gesamten Krankheitsverlauf mehr als drei Organe betroffen. Nahezu alle Patienten litten unter Beschwerden des oropharyngealen Systems (96%), darüber hinaus an Manifestationen von Haut, Leber und Auge (87%, 78%, 65%) (Tab. 10). Der besseren Vergleichbarkeit halber wurden die Kurvenverläufe von klassischer und Overlap-cGVHD in einer Graphik zusammengeführt (Abb. 11).

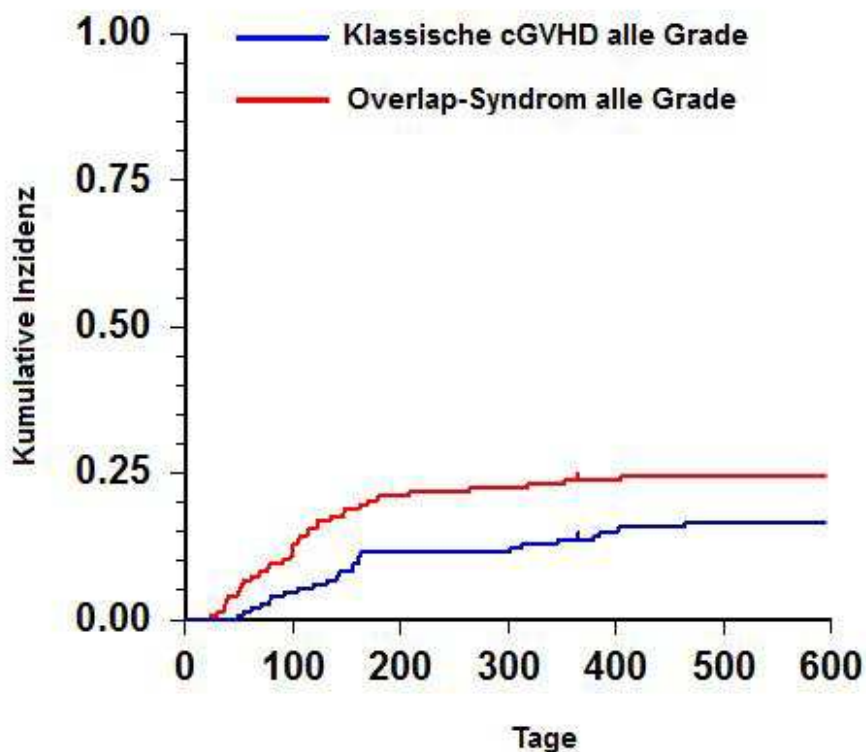


Abbildung 11: Kumulative Inzidenz von klassischer und Overlap-cGVHD

Ergebnisse

Tabelle 10: Klinische Charakteristika der chronischen GVHD nach NIH-Kriterien

	Chronische GVHD	Klassische cGVHD	Overlap-Syndrom
Anzahl Patienten, n (%)	77/147 (52%)	31/77 (40%)	46/77 (60%)
Betroffene Organe, n (%)			
Haut	54/77 (70%)	14/31 (45%)	40/46 (87%)
MSH *	70/77 (91%)	26/31 (84%)	44/46 (96%)
Augen	47/77 (61%)	17/31 (55%)	30/46 (65%)
Darm	15/77 (19%)	1/31 (3%)	14/46 (30%)
Leber	37/77 (48%)	1/31 (3%)	36/46 (78%)
Lunge	8/77 (10%)	3/31 (10%)	5/46 (11%)
Gelenke	21/77 (27%)	8/31 (26%)	13/46 (28%)
Genitaltrakt	2/77 (3%)	1/31 (3%)	1/46 (2%)
Andere	5/77 (6%)	2/31 (6%)	3/46 (7%)
Schweregrad, n (%)			
Mild	19/77 (25%)	16/31 (52%)	3/46 (7%)
Moderat	22/77 (29%)	9/31 (29%)	13/46 (28%)
Schwer	36/77 (47%)	6/31 (19%)	30/46 (65%)
Verlaufsform, n (%)			
De novo	29/77 (38%)	17/31 (55%)	3/46 (7%)
Progressiv	20/77 (26%)	3/31 (10%)	13/46 (28%)
Verzögert	28/77 (36%)	11/31 (35%)	30/46 (65%)
Anzahl betroffener Organe, n (%)			
1	7/77 (9%)	6/31 (19%)	1/46 (2%)
2	17/77 (22%)	13/31 (42%)	4/46 (9%)
3	17/77 (22%)	8/31 (26%)	9/46 (20%)
> 3	36/77 (47%)	4/31 (13%)	32/46 (70%)

*MSH: Mundschleimhaut; Von 100% abweichende Beträge sind rundungs- bzw. durch Mehrfachnennungen bedingt.

3.5 Risikofaktoren der GVHD nach NIH

Folgende Einflussfaktoren auf die Entwicklung einer aGVHD konnten mithilfe der multivariaten Cox-Regressions-Methode identifiziert bzw. bestätigt werden:

- Alter bei PBSZT > 50 Jahre (HR 2,049 (95%CI: 1,17-3,57), p = 0,011))

Ergebnisse

- PBSZ als Stammzellquelle (HR 1,61 (95%CI: 1,00-2,58), p = 0,05))
- Konditionierung ohne ATG (HR 2,079 (95%CI: 1,23-2,51), p = 0,006)

Nicht als relevante Einflussfaktoren anzusehen waren in unserer Studie Transplantationsjahr, Karnofskyindex, HCT-CI-Score, Immunophänotyp, Spenderart bzw. –alter, AB0-Kompatibilität, CMV-Status sowie Geschlechterdifferenz zwischen Spender/Empfänger. Ferner zeigte sich die Ausprägung der aGVHD geschlechtsunabhängig.

Die Cox-Analyse für die späte aGVHD ergab keine signifikanten Faktoren, die im Zusammenhang mit einer möglichen Krankheitsentwicklung stehen könnten, allerdings bei kleiner Fallzahl.

Zu den identifizierten Risikofaktoren für die cGVHD zählten, vergleichbar mit den Ergebnissen für die aGVHD, ein Empfängeralter > 50 Jahre (HR 1,80 (95%CI: 1,016-3,19), p = 0,044)) sowie PBSZ als Stammzellquellen (HR 2,65 (95%CI: 1,42-4,95), p = 0,002)). Patienten mit einem HCT-CI-Score höher als zwei (HR 4,63 (95%CI: 1,60-13,38)) waren häufig für einen schweren cGVHD-Krankheitsverlauf prädisponiert. Die Hypothese, dass eine vorangegangene aGVHD das Risiko für eine cGVHD signifikant erhöht, konnte mittels Cox-Analyse mit aGVHD als zeitabhängige Kovariable nicht verifiziert werden.

3.6 Prognostische Relevanz der GVHD nach NIH

Vor dem Hintergrund der prognostischen Relevanz wurde eine multivariate Cox-Regressions-Analyse durchgeführt mit aGVHD und cGVHD als zeitabhängigen Kovariablen. Die aus Tab. 11, S. 43, zu entnehmenden ausführlichen Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen: Der Schweregrad I/II einer klassischen aGVHD war mit einer reduzierten Rezidivinzidenz assoziiert, zeigte jedoch keinen Einfluss auf das OS, wohingegen sich Grad III/IV deutlich negativ auf das Gesamtüberleben auswirkte (HR 2,42 (95%CI: 1,43-4,09), p = 0,001), einhergehend mit einer erhöhten NRM (HR 4,38 (95%CI: 1,98-9,67), p < 0,001).

Hinsichtlich der prognostischen Relevanz der späten aGVHD lässt sich aussagen, dass ein schwerer Verlauf sich wie bei der klassischen aGVHD ungünstig auf die NRM auswirkte (HR 3,32 (95%CI: 1,12-9,88), p = 0,031). Obwohl kein statistisch signifikanter Einfluss auf das OS nachgewiesen werden konnte, ließ sich eine Tendenz zu schlechterem OS registrieren, v.a. bei Grad III/IV.

Ergebnisse

Die Auswirkungen der cGVHD auf das OS sind unabhängig vom Schweregrad als günstig anzusehen. Für das OS bei der milden, moderaten und schweren Form ergaben sich Hazardraten zwischen HR 0,18 und HR 0,35. Des Weiteren wurde ein Rückgang der rezidivassozierten Mortalität verzeichnet, der im Zusammenhang mit den verbesserten Überlebensraten stand. Ein Einfluss auf die NRM konnte hingegen nicht beobachtet werden. Zwischen den Onset-Subtypen persistent, verzögert und de novo war kein signifikanter Unterschied bzgl. der prognostischen Relevanz feststellbar, entsprechendes galt auch für die Kategorien klassische versus Overlap-cGVHD. Aufgrund der sehr geringen Fallzahlen war es nicht möglich, die einzelnen Schweregrade von klassischer und Overlap-cGVHD in die Analyse zu integrieren und deren prognostische Wirkung zu beurteilen.

Ergebnisse

Tabelle 11: GVHD und prognostischer Einfluss auf OS, Rezidivinzidenz und NRM

	OS		Rezidivinzidenz		NRM	
	HR	P	HR	P	HR	P
Klassische aGVHD						
Keine	1		1		1	
Grad I/II	0,69 (0,39-1,22)	0,20	0,44 (0,21-0,89)	0,024	0,79 (0,31-2,03)	0,62
Grad III/IV	2,42 (1,43-4,09)	0,001	1,084 (0,50-2,37)	0,84	4,38 (1,98-9,67)	< 0,001
Späte aGVHD						
Keine	1		1		1	
Grad I/II	0,53 (0,16-1,72)	0,29	0,20 (0,026-1,57)	0,13	1,32 (0,30-5,77)	0,71
Grad III/IV	1,24 (0,51-2,99)	0,64	0,76 (0,17-3,31)	0,71	3,32 (1,12-9,88)	0,031
cGVHD; gesamt						
Keine	1		1		1	
Mild	0,35 (0,15-0,83)	0,017	0,26 (0,07-0,93)	0,038	0,74 (0,22-2,49)	0,63
Moderat	0,18 (0,066-0,47)	< 0,001	0,23 (0,071-0,75)	0,015	0,14 (0,017-1,095)	0,061
Schwer	0,26 (0,13-0,51)	< 0,001	0,12 (0,042-0,36)	< 0,001	0,54 (0,20-1,47)	0,228
cGVHD						
Klassisch	1		1		1	
Overlap	1,054 (0,48-2,31)	0,90	1,00 (0,33-3,052)	0,99	0,73 (0,24-2,27)	0,59
cGVHD; DLI-Patienten						
Keine	1		1		1	
Mild	0,36 (0,11-1,16)	0,088	0,76 (0,18-3,25)	0,71	0,39 (0,041-3,70)	0,41
Moderat	0,11 (0,014-0,88)	0,037	0,25 (0,029-2,11)	0,20	0,00 (0,00-)	0,99
Schwer	0,18 (0,05-0,67)	0,011	0,13 (0,015-1,08)	0,059	0,21 (0,021-2,06)	0,18

3.7 Effekte der DLI

Aus dem Patientenkollektiv wurden insgesamt 30% (n = 44) der Patienten mit DLI therapiert, entweder im Rahmen einer Rezivprophylaxe (n = 33, 75%) oder aufgrund von morphologischen Rezidivzeichen nach stattgehabter Reinduktionstherapie (n = 11, 25%). Während der Gabe stellten sich generell keine schwerwiegenden Vorkommnisse bzw. relevanten akuten Unverträglichkeitssymptome ein. Die Therapie wurde über den Applikationstag hinaus gut toleriert. Aus der Kohorte verstarben 52% (n = 23). Die Verteilung der Todesursachen war wie folgt: Leukämie 70% (n = 16), aGVHD 13% (n = 3), cGVHD 9% (n = 2), Infektionen und andere jeweils 4% (n = 1).

60% (95%CI: 46-76%) der DLI-Patienten entwickelten eine aGVHD, wobei die kumulative Inzidenz für Grad I/II bei 32% (95%CI: 21-49%), für Grad III/IV bei 27% (95%CI: 17-44%) lag; für die späte aGVHD betrug sie 5% (95%CI: 1-18%). Die Inzidenzen entsprachen im Allgemeinen den errechneten Inzidenzraten nach PBSZT. Die Analyse bzgl. der cGVHD nach DLI ergab eine höhere Inzidenz als nach PBSZT: 57% (95%CI: 44-76%) kumulative Inzidenz für die Gesamt-cGVHD mit 21% (95%CI: 11-36%) für die milde, 14% (95%CI: 7-29%) für die moderate und 23% (95%CI: 13-39%) für die schwere Form. Im Median trat die aGVHD nach 20 Tagen (Streubereich: 3-76) nach DLI-Gabe auf. Die cGVHD wurde im Median nach 86 Tagen (Streubereich: 14-294) beobachtet, folglich 29 Tage früher als nach PBSZT. Bezogen auf die einzelnen Organsysteme entsprachen sich die Resultate zwischen DLI- und nicht-DLI-Gabe weitestgehend. Lungenmanifestationen wurden in der DLI-Kohorte allerdings nicht evident (Tab. 12).

Die Gabe von DLI im Rahmen eines prophylaktischen Settings resultierte in einer 5-Jahres-Überlebensrate von 57% (95%CI: 39-74%). Dem gegenüber stand eine 5-Jahres-Überlebensrate von nur 10% (95%CI: 2-29%) bei Rezidivpatienten.

Ergebnisse

Tabelle 12: Vergleich Charakteristika Nicht-DLI- und DLI-Kohorte

	Keine DLI	DLI	P
Anzahl Patienten, n (%)	103/147 (70%)	44/147 (30%)	
Klassische aGVHD	76/103 (74%)	26/44 (59%)	
Betroffene Organe, n (%)			
Haut	73/76 (96%)	23/26 (88%) ⁺	n.s.*
Leber	25/76 (33%)	8/26 (31%)	n.s.
Darm	27/76 (36%)	8/26 (31%)	n.s.
Späte aGVHD	15/103 (15%)	2/44 (5%)	
Betroffene Organe, n (%)			
Haut	9/15 (60%)	2/2 (100%)	n.s.
Leber	9/15 (60%)	0/2 (0%)	n.s.
Darm	6/15 (40%)	0/2 (0%)	n.s.
cGVHD	52/103 (50%)	25/44 (57%)	
Betroffene Organe, n (%)			
Haut	35/52 (67%)	19/25 (76%)	n.s.
Mund	46/52 (88%)	24/25 (96%)	n.s.
Leber	26/52 (50%)	11/25 (44%)	n.s.
Augen	34/52 (65%)	13/25 (52%)	n.s.
Darm	9/52 (17%)	6/25 (24%)	n.s.
Lunge	8/52 (15%)	0/25 (0%)	0.048
Gelenke/Faszien	14/52 (27%)	7/25 (28%)	n.s.
Andere	4/52 (6%)	3/25 (8%)	n.s.

* n.s.: nicht signifikant; ⁺ von 100% abweichende Beträge sind durch Mehrfachnennungen oder Rundungsbedingt

3.8 Beurteilung des GVL-Effekts

Die Evaluation eines potentiellen Graft-versus-Leukemia-Effektes im Zusammenhang mit dem Auftreten einer cGVHD nach DLI gelang mithilfe der Cox-Regressions-Analyse mit cGVHD als zeitabhängige Kovariable. In dieser Analyse zeigte sich, dass sich sowohl das OS (HR 0.21 (95%CI: 0,054-0,81), p = 0,023) als auch die Rezidivinzidenz (HR 0,26 (95%CI: 0,043-0,91), p = 0,048) durch die Induktion einer cGVHD nach DLI verbesserten, wohingegen die NRM konstant blieb.

3.9 Zusätzliche Studienergebnisse

3.9.1 Kohorte mit dosisreduzierter Konditionierung

Insgesamt erhielten 18 Patienten (11%) eine nichtmyeloablative, dosisreduzierte Therapie (reduced-intensity conditioning, RIC) mit Fludarabin 6 x 30 mg/m², Busulfan 2 x 4 mg/kg und ATG 4 x 10 mg/kg. Aufgrund zu geringer Fallzahlen wurden Patienten mit RIC nicht in die endgültige Auswertung einbezogen, sondern werden an dieser Stelle als Übersichtsauswertung vorgestellt. Die Auswahl der Patienten für RIC oder MAC erfolgte individuell anhand von Patientenalter, Krankheitsstadium, klinischer Vorgeschichte, bestehenden Infektionen und Komorbiditäten. Die Indikation zugunsten von RIC wurde insbesondere bei älteren, multimorbiden Patienten gestellt, was sich in unserer Kohorte im medianen Alter von 47,4 Jahren (versus 31,4 Jahre bei MAC-Patienten) und einem Anteil von 44% mit hohem HCT-CI-Score (versus 24%) ausdrückte. Hinsichtlich Krankheitsstatus, Immunphänotyp und Todesursache entsprachen sich die Ergebnisse beider Kohorten weitestgehend. Es verstarben jedoch mehr Menschen an chronischer GVHD als an aGVHD (18% versus 9% im Vergleich zu 11% versus 16 in der MAC-Kohorte). Der Anteil der RIC-Patienten, die am Rezidiv starben, lag ebenfalls etwas höher (64% gegenüber 54%).

Vergleich man die GVHD-Inzidenzen von MAC- und RIC-Kohorte, so waren sie in letzterer niedriger: aGVHD und cGVHD traten mit jeweils 39% (n = 7) auf gegenüber 69% für aGVHD bzw. 52% für cGVHD bei MAC. Die späte aGVHD wurde nur bei 6% (n = 1) beobachtet. Die aGVHD trat im Median nach 28 Tagen auf und somit etwas später als bei MAC, die cGVHD hingegen mit 66 Tagen im Median knapp 40 Tage früher. Der Großteil der Betroffenen entwickelte einen schweren GVHD-Verlauf: 59% aGVHD Grad III/IV, bei der cGVHD wurde in 57% der Fälle die schwere Form diagnostiziert. Bestätigt werden konnte auch die obige Beobachtung, dass die klassische cGVHD mit milden und das Overlap-Syndrom eher mit schweren Verläufen assoziiert waren. Im Hinblick auf die Organmanifestationen konnten wir folgenden Unterschied feststellen: Während bei MAC die Haut in 94% der aGVHD- bzw. 70% der cGVHD-Fälle betroffen war, betrug der Anteil der RIC-Patienten mit Hautsymptomatik 57% (n = 4) bei aGVHD und 43% (n = 3) bei cGVHD. Stattdessen war der Anteil an Leber- und Darmmanifestationen bei aGVHD in der RIC-Gruppe höher (jeweils 43% versus 32% bzw. 34% bei MAC).

3.9.2 Kohorte mit prophylaktischer Gabe von ATG

Der prophylaktische Einsatz von ATG erfolgte an 35 MAC-Patienten (24%) und wirkte sich protektiv auf die Inzidenz der aGVHD aus (51% versus 69% ohne ATG), nicht jedoch auf die Inzidenz der cGVHD (49% versus 52% ohne ATG). Jedoch wurde bei der cGVHD der klinische Verlauf durch die ATG-Gabe positiv beeinflusst: In der ATG-Kohorte entwickelten 47% eine milde und 29% eine schwere Verlaufsform im Vergleich zu 25% bzw. 49% ohne ATG-Gabe. Insgesamt verstarben in dieser Kohorte 49% (n = 17). Die häufigsten Todesursachen waren auch hier Leukämie (29%, n = 5), GVHD (36%, n = 6, davon zwei aGVHD und vier cGVHD) und Infektionen (24%, n = 4).

4 Diskussion

Die NIH-Kriterien zur Definition der GVHD lösten eine Klassifikation ab, die noch auf Erkenntnissen aus den 1980er Jahren fundierte und angesichts der raschen Fortschritte im Verständnis der pathophysiologischen Grundlagen der GVHD und ihrer Klinik nicht mehr dem Forschungsstand entsprach. Vor diesem Hintergrund bestand das Hauptanliegen des NIH-Konsensus darin, eine standardisierte Grundlage für die klinische Praxis zu schaffen und die Diagnosekriterien für die GVHD an die neuen Erkenntnisse anzupassen. Ausschlaggebend sollten nunmehr biologische Merkmale sein, nicht der zeitliche Aspekt. Obwohl die Einführung der neuen NIH-Klassifikation von den großen Transplantationszentren sehr begrüßt wurde, sind bisher nur wenige Studien zu deren Effektivität und zum prognostischen Wert der Kriterien publiziert worden. Diese Arbeiten beschränkten sich zudem zumeist auf einzelne Verlaufsformen der GVHD und sie untersuchten sehr heterogene Kohorten [51, 59, 98, 99, 100, 101]. Vor dem Hintergrund der variablen Ausprägung der GVHD [73, 102] und des damit verknüpften GVL-Effekts [81, 103] ist eine separate Betrachtung der einzelnen Leukämieformen notwendig [104], zumal die ALL aufgrund ihrer niedrigen Inzidenz in den o. g. Studien oft unterrepräsentiert war. Gerade bei dieser Leukämieform ist auch wegen der weiterhin unklaren Effektivität des GVL-Effekts [93] und der in vielen Studien schlechten Ansprechrate auf DLI [90] eine Untersuchung der prognostischen Relevanz der GVHD und möglicher assoziierter GVL-Effekte erforderlich. Die neue GVHD-Klassifikation erlaubt eine differenzierte Beurteilung des Schweregrades, womit eine bessere Abgrenzung von positiven Antitumoreffekten bestimmter GVHD-Verlaufsformen gegenüber detrimentellen Wirkungen der GVHD selbst gelingen könnte.

Ausgehend von den Einschränkungen älterer Arbeiten (heterogene Kohorten, inaktuelle GVHD-Diagnosekriterien, inadäquate Statistik), die keine eindeutige Beschreibung der Relevanz des GVL-Effektes für ALL-Patienten ermöglichten, präsentiert die aktuelle Arbeit ein umfassendes Abbild der klinischen Präsentation der nach den neuen Kriterien reevaluierten GVHD in einer homogenen ALL-Kohorte. Zusätzlich erhofften wir uns, mit der Wahl von geeigneteren statistischen Methoden zu einer differenzierteren Beurteilung der prognostischen Relevanz der NIH-Klassifikation sowie des GVL-Effekts bei ALL-Patienten zu gelangen.

4.1 Methodik und Patientenkohorte

Schwerpunkt dieser Arbeit ist die retrospektive Aufarbeitung und Reevaluation der GVHD-Diagnose nach der neuen NIH-Klassifikation der GVHD. Das Patientenkollektiv wurde dabei in einem unizentrischen Setting rekrutiert, um das Biaspotential hinsichtlich Diagnosekriterien und Therapieregimes zu minimieren. Regelmäßige unabhängige Überprüfungen des Datensatzes durch wissenschaftliche Mitarbeiter der Klinik und Konsensentscheidungen bei unterschiedlichen Beurteilungen sollten das Potential für Unstimmigkeiten weiter vermindern. Im Vergleich zu früheren Arbeiten mit ähnlicher Fragestellung stand uns ein ausreichend großes Patientenkollektiv zur Verfügung, sodass statistisch aussagekräftige Ergebnisse gewährleistet waren [98, 100]. Des Weiteren stützt sich unsere statistische Auswertung auf für die Analyse der GVHD adäquatere Methoden wie die Cox-Regressions-Analyse mit zeitabhängiger Kovariable [105], was in älteren Arbeiten oftmals nicht berücksichtigt wurde [106, 107].

Der retrospektiven Studienkonzipierung geschuldet sind potentielle Missklassifizierungen der GVHD aufgrund von Fehlinterpretationen der Symptome. Eine weitere mögliche Einflussquelle auf die Ergebnisse unserer Studie bietet der lange Rekrutierungszeitraum von 14 Jahren, da sich in dieser Zeit präparative Konditionierungsschemata und Supportivtherapieoptionen geändert haben mit entsprechend positiver Auswirkung auf das Transplantations-Outcome.

Zusätzliche Einschränkungen der Vergleichbarkeit der Studien untereinander ergeben sich aus der mangelnden Standardisierung von Definitionen, beispielsweise von klinischen Endpunkten. In unserer Studie haben wir uns auf die Empfehlungen der European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) zur Definition klinischer Endpunkte gestützt [97].

4.2 Transplantationsergebnisse

Die Studienergebnisse lassen den Rückschluss zu, dass sich eine Transplantation in erster kompletter Remission (CR 1) positiv auf das Gesamtüberleben auswirkt. Für die Gesamtkohorte betrug das 5-Jahres-Gesamtüberleben 43% (95%CI: 35-51%), das 5-Jahres-LFS 41% (95%CI: 33-50%); hinsichtlich der 5-Jahres kumulativen Inzidenz für Rezidiv und NRM ergab die Analyse 33% (95%CI: 26-41%) bzw. 26% (95%CI: 20-34%).

Die transfundierte CD34+ - Zahl entsprach im Median der von Zaucha und Kollegen empfohlenen Dosis [52]. Die frühe Rekonstitution von Leukozyten und Thrombozyten stand im Einklang mit bisher publizierten Daten [106, 108]. Zusammengenommen konnte der positive Effekt von PBSZ auf die Zellrekonstitution via CD34+ - Zellen bestätigt werden [41].

In Übereinstimmung mit älteren und aktuelleren Studienresultaten stellt die rekurrente Leukämie nach wie vor die Haupttodesursache dar, gefolgt von GVHD oder infektiösen Komplikationen [46, 51, 106, 108].

4.3 Risikofaktoren für die GVHD

Mithilfe der univariaten Cox-Regressions-Analyse ließen sich hohes Patientenalter und periphere Stammzellquelle als signifikante Risikofaktoren für sowohl die akute als auch für die chronische GVHD nachweisen [43]. Somit konnten wir die Relevanz beider Faktoren auch für die GVHD-Genese nach der NIH-Klassifikation aufzeigen, die zuvor v.a. in Studien nach der alten Klassifikation dargelegt wurde [29, 35, 36, 45, 109]. Flowers et al. konnten den Einfluss des Empfängeralters hingegen nur für die cGVHD bestätigen [42]. In einer großangelegten Studie über die aGVHD fiel das Alter ebenfalls nicht als signifikanter Einflussfaktor auf [53]. Da ein Zusammenhang zwischen hohem Alter und einer zunehmenden immunologischen Sensibilisierung von APCs des Empfängers vermutet wird [43], könnte diese Diskrepanz u.a. mit einer effektiveren GVHD-Prophylaxe erklärt werden, zumal die Patienten in beiden Kohorten im Median auch 10 Jahre älter waren als in unserer Gruppe und folglich ein höheres Risiko für eine GVHD tragen müssten. Auch wurden mehrheitlich MAC-Patienten eingeschlossen, was ebenfalls per se mit einem höheren GVHD-Risiko assoziiert ist. So stellten Jagasia et al. in einer Teilkohorte, die statt des Standardregimes aus CSA/MTX eine Kombination mit Tacrolimus erhielt, ein besseres OS fest. Sie vermuteten dahinter die Induktion einer stärkeren GVHD-Toleranz unter Tacrolimus als unter CSA und somit ein insgesamt verbessertes Outcome. Allerdings wurde dieser Vorteil nur bei Patienten mit HLA-identischem Geschwisterspender evident. Da die Gabe von Tacrolimus nicht zur Standardprophylaxe unseres Zentrums gehört, könnte dies als ein möglicher Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse angesehen werden. Im Gegensatz dazu bestehen zwischen unseren Prophylaxe-Regimes und denen in der oben zitierten Arbeit von Flowers et al. keine wesentlichen Unterschiede: Die prophylaktische Infusion von ATG in einer kleinen Kohorte lieferte in beiden Studien ähnliche Ergebnisse (s. unten). Da

Diskussion

nicht weiter spezifiziert wurde, welche Calcineurininhibitoren bei Flowers et al. zum Einsatz kamen, ist ein weiterer Vergleich diesbezüglich nicht möglich. Als Erklärung kann auch ein höherer Anteil an HLA-Matching zwischen Spender und Empfänger mittels hochauflösender Genotypisierung herangezogen werden. Das mag auch in der oben beschriebenen Teilkohorte von Jagasia et al. eine Rolle gespielt haben.

In den beiden oben genannten Studien fiel ebenfalls die Geschlechterdisparität (weiblicher Spender/männlicher Empfänger) als signifikanter Risikofaktor für die akute Jagasia et al., Flowers et al.) und chronische GVHD (Flowers et al.) auf, die wir im Rahmen dieser Arbeit nicht nachweisen konnten. Diese Diskrepanz ist möglicherweise durch unterschiedliche Einflussfaktoren, z.B. Grunderkrankung, Konditionierungsregime oder Immunsuppression, zu erklären.

Die enge Verbindung zwischen der Gabe von PBSZ und GVHD-Risiko, die wir für akute und chronische Form nachweisen konnten, ist auf die hohe Konzentration transfundierter immunkompetenter T-Lymphozyten zurückzuführen [43]. Auch hierfür existieren kontroverse Befunde: Jagasia et al. wiesen für die aGVHD auch ein erhöhtes Risiko unter PBSZ mit MAC und GKB nach. In Kombination von PBSZ mit RIC allerdings resultierte eine Senkung des Risikos [53]. In der oben zitierten Arbeit von Flowers war PBSZ nur signifikant für das cGVHD-Risiko, nicht für das der aGVHD [42]. Dem gegenüber stellen kann man die Studie von Kuzmina et al. mit einem hohen Anteil an RIC-Patienten. Aus dieser Publikation gingen u.a. hervor, dass die Art der Stammzellquelle kein Risiko für eine cGVHD darstellte und dass RIC mit einem niedrigeren cGVHD-Risiko vergesellschaftet war [51]. Daraus lässt sich möglicherweise folgender Schluss ziehen: Der positive Effekt von RIC hat sich in der statistischen Analyse auf die Gesamtkohorte ausgewirkt und somit fiel PBSZ nicht mehr als Risiko auf. In der Publikation selbst wurde keine Erklärung hierfür gegeben. Die Untersuchung unserer RIC-Kohorte erlaubte vergleichbare Aussagen zum aGVHD-Risiko, mangels Patienten lieferte die multivariate Statistik jedoch keine aussagekräftigen Resultate (s. unten).

Als weitere Erklärungsgrundlagen für die aufgeführten Unterschiede können neben einer effizienteren GVHD-Prophylaxe auch die Spenderauswahl herangezogen werden. Bei Kuzmina et al. handelte es sich weiterhin um eine prospektive Studie, während die anderen inklusive dieser Studie retrospektiv konzipiert sind. Womöglich ist das Vorliegen unterschiedlicher Risikofaktoren für aGVHD bzw. cGVHD aber auch als Korrelat für unterschiedliche Pathomechanismen zu interpretieren und infolgedessen

als weiterer Beweis für zwei verschiedene Entitäten zu werten, wie z.B. Lee et al. argumentieren [110]. Im Umkehrschluss würden unsere Ergebnisse eher für eine gemeinsame Ätiologie sprechen, was durchaus den in Kap. 1.3.1 vorgestellten Hypothesen entspricht [25, 26]. Dies bedeutet an sich auch keinen völligen Widerspruch zu Lees et al. Argument, da eine gemeinsame Ätiologie die Existenz zweier separater Krankheitsformen nicht ausschließt. Zu unseren Befunden gehörte überdies auch, dass eine durchgemachte aGVHD kein statistisch signifikanter Risikofaktor für eine cGVHD darstellte entgegen anderer Darstellungen (s. unten) [51]. Anders ausgedrückt, das Auftreten einer cGVHD war unabhängig von dem einer aGVHD und als eigenständige Krankheitsform zu betrachten.

Die widersprüchlichen Ergebnisse sind also zum einen dem unterschiedlichen Studiendesign geschuldet und müssen durch weitere (prospektive) Publikationen validiert werden. Zum anderen ist die Variabilität der Befunde weniger auf nur einen Faktor zurückzuführen; vielmehr kann man vermuten, dass entsprechend dem heutigen Verständnis der GVHD als multifaktorielles Geschehen die unterschiedliche Konstellation diverser Komponenten und Therapien die Genese beeinflusst. Die Studienergebnisse von Kuzmina bzw. Jagasia et al. machten diesen Zusammenhang anhand von RIC-Kohorten deutlich.

Zu den weiteren Ergebnissen gehörte, dass ein Zusammenhang zwischen einem HCT-CI-Score größer zwei und einem schweren cGVHD-Krankheitsverlauf hergestellt werden konnte. Daraus lässt sich die Notwendigkeit einer effektiveren cGVHD-Prophylaxe bei älteren und komorbiden Patienten ableiten. Weitere vielfach bestätigte Hauptrisikofaktoren für die akute und/oder chronische GVHD wie HLA-Mismatch [42] bzw. vorangegangene aGVHD [51] stellten sich in dieser Analyse als nicht signifikant heraus, möglicherweise aufgrund der Konditionierung mit ATG bei Patienten mit HLA-Mismatch und der effizienteren Behandlung der akuten GVHD, teilweise auch mit ATG. Die Annahme, dass sich der Spendertyp (HLA-identischer Fremdspender versus HLA-identischer Familienspende) ungünstig auf die GVHD-Inzidenz auswirkt, konnten wir ebenfalls nicht bestätigen [42, 110]. Wie schon in anderen Arbeiten vermutet, könnte dies am verbesserten HLA-Matching im Rahmen der hochauflösenden Genotypisierung des HLA-Musters liegen [13, 42].

Die mediane applizierte Dosis CD34+ - Zellen von $4,5 \times 10^6/\text{kg}$ war insofern als sicher einzustufen, als keine erhöhte GVHD-Inzidenz zu verzeichnen war. Vielmehr zeigte sich darunter eine frühere Zellrekonstitution, die im Zusammenhang mit dem beobachteten

GVL-Effekt weiter unten diskutiert wird. Insgesamt lagen unsere Ergebnisse diesbezüglich auf einer Linie mit den Empfehlungen Zauchas et al. [52]. Hinsichtlich der Abweichungen von Studienergebnissen nach alter Klassifikation [24, 111] wäre zu diskutieren, ob diese nicht durch den Anteil an Missklassifikationen (chronische GVHD vor Tag 100 als akute GVHD bzw. späte aGVHD als cGVHD) bedingt ist, was u.a. auch von Lee et al. als Argumentationslinie vorgeschlagen wurde. Vor diesem Hintergrund müsste die Gültigkeit der nach alter Klassifikation erhobenen Daten hinterfragt und durch zusätzliche neue Befunde validiert werden.

Generell lassen sich die oben diskutierten Unterschiede der Studienergebnisse zwischen den verschiedenen Studien auch durch die heterogenen Studienkohorten und das Multi-Center-Setting mit uneinheitlichen Diagnose- und Therapiekriterien in den anderen Arbeiten erklären. Diese Inhomogenität verdeutlicht einmal mehr die Notwendigkeit, einheitliche Therapieschemata zu etablieren und auszuweiten.

4.4 Klinik und Prognose der GVHD nach NIH-Klassifikation

4.4.1 Klinische Präsentation

Unter Berücksichtigung diverser Faktoren, die sich auf das klinische Bild auswirken können, u.a. Altersdurchschnitt der Kohorte, Prophylaxe- und Konditionierungsschema und Anteil an Familien- bzw. Fremd Spendern, decken sich unsere Befunde zu Inzidenzraten, Latenzzeit, Verteilung der Organmanifestationen und Schweregrad von akuter und chronischer GVHD weitestgehend mit denen vorliegender Studien nach alter Klassifikation [86, 106, 108].

Bei der späten aGVHD handelte es sich in unserer Studie, im Einklang mit vorangegangenen Veröffentlichungen, ebenfalls um eine seltene Entität [101, 104, 110, 112]. Wir konnten auch eine geringere Hautbeteiligung in dieser Kohorte feststellen, dafür aber eine höhere Inzidenz an Lebermanifestationen im Vergleich zur klassischen aGVHD [110, 112]. Die abweichende klinische Manifestation der beiden aGVHD-Subformen kann als Indiz für die praktische Relevanz der NIH-Kriterien aufgefasst werden. Folglich lässt sich die späte aGVHD auch als wichtige eigenständige Entität neben der klassischen akuten auf der einen Seite als auch von der chronischen GVHD auf der anderen Seite etablieren. Kleinere Abweichungen sind den heterogenen Patientenpopulationen und Behandlungsregimes geschuldet [33, 51]. Eine entsprechende Korrelation zwischen Organmanifestation und Schweregrad des

klinischen Verlaufes ließ sich in der cGVHD-Kohorte feststellen: Die Overlap-cGVHD verzeichnete bei einem deutlich höheren Anteil an Lebermanifestationen auch eine höhere Inzidenz schwerwiegender Verläufe. Konträr zu den Beobachtungen der Gruppe um Pidala hat sich in dieser Kohorte die höhere Inzidenz schwerer Verläufe bei der Overlap-cGVHD jedoch nicht negativ auf das Gesamtüberleben ausgewirkt [113].

4.4.2 Ergebnisse und Graft-versus-Leukämie-Effekt

Auf Grundlage der Cox-Regressionsanalyse mit der GVHD als zeitabhängige Kovariable [105] verzeichneten wir eine Reduktion der Rezidivrate bei milder aGVHD Grad I/II sowie bei cGVHD jeden Stadiums. Bisherige Veröffentlichungen hatten bereits eine mit der cGVHD-assoziierte GVL-Reaktion bei ALL postuliert [39, 89], ein statistisch korrekter Beleg mit Betrachtung des Auftretens einer GVHD als zeitabhängiges Ereignis wurde aber bisher nicht erbracht. Einschränkend sprachen die genannten Studien nur von einem fraglichen Zusammenhang einer GVL-Reaktion mit der aGVHD, was erneut durch verringerte Sensitivität der Analyse durch für diese Fragestellung nicht geeignete Kaplan-Meier-Statistik erklärt werden kann. Auch gestaltete sich in den genannten Studien die Unterscheidung zwischen GVL durch aGVHD oder cGVHD als schwierig, da deren Klassifikation noch auf der konventionellen, zeitabhängigen Definition beruhte [41]. Unsere anhand der neuen NIH-Klassifikation für GVHD erhobenen Befunde sprechen nun eindeutig für einen aGVHD-vermittelten Antitumoreffekt. Demzufolge kann bereits in der Frühphase nach Transplantation eine antitumoröse Aktivität unabhängig von einer späteren cGVHD evident werden. Vor dem Hintergrund der relativ hohen NRM schlug sich dieser Vorteil jedoch nicht im Gesamtüberleben nach aGVHD nieder [114, 115]. In diesem Zusammenhang müssen zusätzlich zu den Folgeschäden der schweren aGVHD Schäden des toxischen myeloablativen Konditionierungsregimes und der immunsuppressiven Medikation berücksichtigt werden. Aus der Summierung dieser Komplikationen resultiert eine hohe transplantationsbedingte Mortalität, die eventuelle positive Effekte der GVL überlagert. Im Gegensatz dazu war infolge der chronischen GVHD eine signifikante Verbesserung des OS zu beobachten. Dieser Effekt trat dabei unabhängig vom Schweregrad der cGVHD auf, was in Vorgängerstudien nicht der Fall war [116]. Diese Tatsache kann als Beweis einer potenten GVL-Reaktion im Rahmen der cGVHD gewertet werden, insbesondere nach myeloablativer Konditionierung [39, 115]. Insgesamt war die chronische GVHD durch eine allgemein niedrigere Letalität charakterisiert als die akute

Diskussion

GVHD, sodass diese Tatsache die positive Prognose mitbedingt haben könnte. An dieser Stelle erscheint auch der Einfluss des Krankheitsstatus der Patienten bei Transplantation plausibel: mehrheitlich wurden in dieser Studie Patienten bei kompletter Remission transplantiert. Ringden et al. berichteten hierunter eine Potenzierung des antitumorösen Effekts [41]. Des Weiteren kann das durch CD34+ - Zellen vermittelte schnellere Engraftments in der Kohorte eine Rolle gespielt haben. Die frühere Rekonstitution des Immunsystems, so wird spekuliert, fördert die körpereigene Abwehr gegen die Leukämiezellen [41]. Die Möglichkeit, dass beide Faktoren synergistisch zu einer Effektsteigerung durch Kombination von Allo- und Autoreaktivität gegen Tumorzellen führen könnten, müsste durch weitere Studien genauer eruiert werden.

Zusammenfassend betrachtet decken sich die o. g. Ergebnisse größtenteils mit denen älterer Studien unter Verwendung der alten GVHD-Klassifikation [106], hingegen nur teilweise mit denen aktuellerer, NIH-adaptierter Publikationen [109, 117]. So konnten Vigorito und Kollegen keinen nennenswerten Einfluss der cGVHD im Sinne einer antitumorösen Reaktion auf OS, NRM oder Rezidivinzidenz nachweisen. Als mögliche Ursache für diese Diskrepanz käme zum einen die gemischte Kohorte in Frage, zum anderen stellt die Reklassifizierung der gesamten Kohorte, die nach den alten Seattle-Kriterien klassifiziert wurde, eine Biasquelle dar. Im Bezug auf die neu eingeführten Kategorien klassische cGVHD und Overlap-Syndrom konnten wir keine prognostische Relevanz feststellen; der Großteil der bisherigen Studien in gemischten Kohorten kam zu dem gleichen Ergebnis [51, 59, 98, 112].

Aufgrund der kleinen Kohortengröße von 17 Patienten (12%) war die statistische Auswertung für die späte aGVHD limitiert, es zeigte sich aber analog zu den Befunden bei klassischer aGVHD ein Zusammenhang zwischen Schweregrad und der erhöhten NRM. Ein eindeutiger Hinweis auf einen durch späte aGVHD ausgelösten GVL-Effekt ergab sich nicht. Über die Ursache, warum eine cGVHD eine GVL auszulösen vermag, eine späte aGVHD hingegen nicht, lässt sich lediglich spekulieren. Der Mangel einer GVL-Reaktion bei später aGVHD wurde durch Ergebnisse suggeriert, die für jegliche Subformen der aGVHD nach Tag 100 eine schlechtere Prognose nachwiesen [101, 112, 117]. Womöglich besteht hier ein Zusammenhang zum Muster der Organmanifestationen: Wie oben beschrieben, war in vielen Studien ein (schwerer) Leberbefall bei später aGVHD häufiger als bei der klassischen aGVHD. Dieser war eventuell ursächlich für einen höheren Anteil an letalen Funktionseinschränkungen. Die Patienten waren folglich entweder zu früh verstorben, als dass ein potentieller GVL-

Diskussion

Effekt hätte wirksam werden können, oder dieser wurde durch den schweren Verlauf unterdrückt. Arora et al. ließen letzteres in ihrer Diskussion anklingen: Die Verteilung des Organbefalls könnte als Korrelat einer starken GVHD-Aktivität bei später, persistierender oder rezidivierender aGVHD gewertet werden [112]. Aufgrund der geringen statistischen Power unserer Kohorte war es nicht möglich, diese Hypothesen zu prüfen. Möglicherweise spielte auch der enge zeitliche Zusammenhang zwischen Beginn der GVHD-Prophylaxe und der tatsächlichen Manifestation der Akut-GVHD mit eine Rolle [118]: Mit einer durchschnittlichen Latenz von knapp einem Monat nach HSZT scheint die aGVHD-Ausprägung nicht stark genug, um einen nennenswerten Antitumoreffekt nach sich zu ziehen. Studien, in denen hingegen ein GVL-Effekt im Zusammenhang mit der akuten GVHD nachgewiesen wurde, machten keine Angaben zum Manifestationszeitpunkt der GVHD, sodass eine Überprüfung dieser Hypothese und ein Vergleich mit den Ergebnissen dieser Arbeit nicht möglich ist [119, 120].

Die Hypothese eines GVHD-unabhängigen Effekts, wie u.a. von Horowitz et al. in Vergleichsstudien von syngen versus allogenen transplantierten Patienten beschrieben [77], konnte im Rahmen dieser Arbeit aus methodischen Gründen nicht überprüft werden.

Die bisher singuläre Beobachtung, dass Cyclosporin A den GVL-Effekt hemmt [121], konnten wir in unserer Kohorte angesichts des evidenten GVL-Effekts für die chronische GVHD nicht bestätigen. Im Bezug auf die schwache Reaktion bei der akuten GVHD stellt sich jedoch die Frage, ob CSA mit eine Rolle gespielt haben könnte.

Andere Autoren stellten eine Korrelation zwischen MRD-Level und der Empfänglichkeit für den GVL-Effekt her: Demnach sprechen Patienten in Remission mit hohem Anteil an MRD weniger auf die GVL-Aktivität an [122]. Aufgrund mangelnder Daten verzichteten wir auf eine separate MRD-Analyse, daher ist keine Aussage möglich, inwiefern das Outcome von einem hohen MRD-Anteil beeinflusst wurde.

Die erörterten Resultate können als weiterer Indikator dafür interpretiert werden, dass die aGVHD und ihre Subformen nicht nur im Bezug auf die cGVHD, sondern auch untereinander als eigene Entitäten mit unterschiedlichem GVL-Verhalten sowie abweichenden Prognosen betrachtet werden müssen. Diese neue Sichtweise auf die GVHD wurde erst durch die Einführung der NIH-Klassifikation ermöglicht und spricht folglich stark für deren klinische Relevanz.

4.5 Donor-Lymphozyten-Infusion

Angesichts des offensichtlich potenten GVL-Effekts in unserer Gesamtkohorte stellten wir die Hypothese auf, dass die Gabe von DLI als zusätzlicher Trigger fungiert. Um die positiven Befunde im Bezug auf den GVL-Effekt differenzierter betrachten zu können, wurde die relativ kleine Kohorte von 44 Patienten mit DLI-Gabe einer separaten multivariaten Cox-Regressionsanalyse unterzogen. Tatsächlich ließen sich eine höhere Überlebensrate und eine niedrigere Rezidivinzidenz im Zusammenhang mit einer chronischen GVHD nachweisen, was den Beobachtungen nach Transplantation entspricht und in dieser Arbeit als klares Indiz für eine nachhaltige antitumoröse Aktivität der DLI gewertet wurde. Dieses Resultat liegt im Widerspruch zu dem nüchternen Fazit bisheriger Studien zur Effektivität von DLI bei akuten Leukämien, geschuldet der schwach ausgeprägten GVL-Reaktion [106, 123]. Auch aktuellere Publikationen konnten keinen nachhaltigen antitumorösen Effekt nachweisen [88, 124, 125]. Neben den durchweg kleineren ALL-Kohorten (max. 85 Patienten) mochte der Fokus auf Patienten im fortgeschrittenen Krankheitsstadium mit ohnehin schlechter Gesamtprognose die Ergebnisse negativ beeinflusst haben. Als wesentlich wäre hier jedoch die Verwendung der alten Klassifikation [124] bzw. die Wahl der statistischen Methoden, z.B. Kaplan-Meier-Kurven [88, 125], anzusehen. Die Eindeutigkeit der von uns erhobenen Daten spricht dafür, dass erst die Kombination aus neuer biologisch-definierter NIH-Klassifikation und adäquater statistischer Verfahren wie der Cox-Regressionsanalyse mit GVHD als zeitabhängige Kovariable in der Lage war, signifikante Unterschiede zu detektieren.

Zu den Voraussetzungen für die DLI-Gabe gehört u.a. das frühzeitige Absetzen jeglicher immunsuppressiver Medikation. Dies könnte als Erklärung für das frühere Auftreten der cGVHD unter DLI dienen. Die Mortalitätsrate sowie die Verteilung der Todesursachen gegenüber der Gesamtkohorte blieben jedoch weitestgehend konstant. Die Inzidenz an akuter und chronischer GVHD entsprach der der Gesamtkohorte (60% aGVHD bzw. 57% cGVHD bzw. 69% bzw. 52%) und auch die anderer Studien [88]. Bei der Beurteilung der Effektivität der DLI muss zwischen präemptivem und therapeutischem Ansatz unterschieden werden: Einer 5-Jahres-Überlebensrate von 57% für das präemptive/prophylaktische Setting steht eine Rate von lediglich 10% für das therapeutische Setting gegenüber. Daraus lässt sich ableiten, dass bei fortgeschrittener Erkrankung bzw. nach stattgehabtem Rezidiv der positive Effekt der

DLI signifikant reduziert wird [124]. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Yegin und Kollegen bei der Betrachtung von 23 Patienten mit akuter Leukämie (davon acht mit ALL) [88]. Es wäre zu diskutieren, ob die zu hohe Tumorlast oder die schnelle Krankheitsprogression oder beide Prozesse einer nachhaltigen GVL-Aktivität entgegenwirken. Sicher ist, dass jedes stattgehabte Rezidiv den Krankheitsverlauf beschleunigt [92]. Basierend auf diesen Resultaten erscheint es effektiver, DLIs bei ALL prophylaktisch zu verabreichen, um den oben erwähnten limitierenden Faktoren zuvorzukommen [109, 125]. Zusätzlich spielt der zeitliche Zusammenhang zwischen Transplantation und DLI-Gabe eine nicht zu unterschätzende Rolle mit einer Tendenz zu möglichst früher Applikation, um einem (molekularen) Rezidiv im Sinne eines hohen MRD-Levels vorzubeugen [81, 90]. Mangels verfügbarer MRD-Daten war eine Untersuchung dieses Zusammenhangs im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich.

4.6 Bewertung der weiteren Studienergebnisse

4.6.1 Dosisreduzierte Konditionierung

Angesichts der niedrigen Patientenzahl sind die Ergebnisse nur eingeschränkt aussagekräftig und erlauben keine statistisch validierten Aussagen. Die GVHD-Inzidenz fiel im Vergleich zur MAC-Kohorte deutlich niedriger aus, insbesondere die der aGVHD. Zum einen übt die RIC alleine einen protektiven Effekt gegen die aGVHD aus, worüber Jagasia et al. eine Studie vorlegten [53, 109]. Zum anderen erhielt die gesamte RIC-Kohorte prophylaktisch ATG-Infusionen, die bewiesenermaßen mit einem verminderten GVHD-Risiko im Zusammenhang stehen [29, 36, 61, 62]. Zu der höheren Letalität der cGVHD trotz niedriger Inzidenz mag der höhere Anteil an schweren Verläufen beigetragen haben, der wiederum mit der Risikokonstellation des Patientenkollektivs aus fortgeschrittenem Alter, multimorbider Krankenvorgeschichte und aggressivem bzw. therapieresistentem Krankheitsverlauf im Zusammenhang stehen könnte.

Die Frage, ob die Anwendung von nichtmyeloablativen Konditionierungsschemata eine stärkere GVL-Reaktion induzieren kann, können wir im Rahmen dieser Arbeit wegen der unzureichenden Datenlage nicht beantworten. Hier sei auf die Studie von Massenkeil und Kollegen hingewiesen, die mit RIC in Kombination mit früher DLI-Gabe Vollremissionen erzielen konnten. Zentrale Voraussetzung dafür ist das Vorliegen eines kompletten Spenderchimerismus [109].

4.6.2 Gabe von Anti-Thymozyten-Globulinen

Bis heute existieren nur wenige Studien, die sich mit der Effektivität von ATG zur GVHD-Prophylaxe bei ALL-Patienten beschäftigt haben [62, 67, 126]. Die Auswertung unserer kleinen Kohorte kann die von der bisherigen Studienlage beschriebene Reduktion der GVHD-Inzidenz im Allgemeinen bestätigen. Allerdings erwies sich der Effekt auf die aGVHD-Inzidenz als stärker als auf die der cGVHD, was im Kontrast zu einerseits unseren Beobachtungen in der RIC-Kohorte (s. Kap. 3.9.2) und andererseits zu denen anderer Veröffentlichungen steht [42, 61, 62]. Da es sich bei Flowers et al. ebenfalls um reine MAC-Populationen handelte, können deren Daten als Resultat eines besseren Spendermatchings gedeutet werden. Basierend auf unserem Vergleich zwischen MAC- und RIC-Kohorte war anscheinend ATG zur aGVHD-Prophylaxe im Rahmen der myeloablativen Konditionierung effizienter als zur cGVHD-Prophylaxe. Dieses unterschiedliche Ansprechen der cGVHD auf ATG war in unserer Studie am ehestem dem Konditionierungsregime zuzuschreiben mit insgesamt verbesserter Wirksamkeit von ATG unter dosisreduzierter Konditionierung. Gestützt wird diese Schlussfolgerung durch Daten einer prospektiven Studie [51]. Möglicherweise wurde das RIC-Setting, das durch den Verzicht auf aggressive Methoden wie GKB nicht das Ausmaß an Gewebsschäden hervorrufen konnte - nach dem Ferrara-Modell Voraussetzung zur Genese einer akuten GVHD -, durch ATG optimal ergänzt [s. Kap. 1.3.1]. Ausgehend von dem mangelnden Effekt bei cGVHD kann dieses Ergebnis als weiterer Beleg dafür gelten, dass akute und chronische GVHD als separate Entitäten mit unterschiedlichen Bedingungen und Voraussetzungen auftreten.

4.7 Schlussfolgerung und Ausblick

Dank des genaueren Verständnisses pathophysiologischer Prozesse konnten bei der Therapie der ALL im Erwachsenenalter und ihrer Komplikationen beachtliche Fortschritte erzielt werden. Mit der zunehmenden Applikation von peripheren Stammzellen anstelle von Knochenmark wurde besonderes Augenmerk auf die prognosebestimmende Graft-versus-Host-Reaktion nach Transplantation und den Graft-versus-Leukämie-Effekt gelegt. In diesem Zusammenhang war die Entwicklung einer adäquateren, biologisch-definierten Klassifikation der GVHD notwendig.

Aus der Arbeit lassen sich mittels stringenter statistischer Methoden (GVHD als zeitabhängige Kovariable) folgende Kernaussagen ableiten:

Diskussion

1. Die NIH-Klassifikation hat sich in der klinischen Anwendbarkeit zur Diagnosestellung anhand eines standardisierten Kriterienkatalogs für Patienten nach allo-HSZT bei ALL als effizient erwiesen.
2. Die revidierte und neu eingeführte Unterteilung der GVHD ermöglicht die Identifizierung von prognostisch relevanten Subkategorien.
3. Mithilfe dieser Subgruppen wiederum ließ sich ein manifester GVL-Effekt bei ALL-Patienten aufzeigen, v.a. im Zusammenhang mit der chronischen GVHD.
4. Dieses antitumoröse Potential kann auch noch im Stadium eines frühen Rezidivs durch die Applikation von Donor-Lymphozyten-Infusionen erreicht werden.

Die aktuelle Herausforderung stellt die Frage dar, wie viel GVHD notwendig ist, um mithilfe der induzierten GVL-Reaktion das Rezidivrisiko zu vermindern, ohne jedoch die NRM relevant zu erhöhen. Diese schmale Gratwanderung erfordert eine sorgfältige und auf Standards gegründete Patientenselektion sowie eine optimale Steuerung der Immunsuppression zur GVHD-Prophylaxe. Unangefochten ist daher die Notwendigkeit von klaren Definitionen und einheitlichen Kriterien. Aufbauend auf den hier präsentierten Erkenntnissen kann für zukünftige Studien eine solide und einheitliche Arbeitsgrundlage geschaffen und ein Beitrag zur weiteren Therapieoptimierung geleistet werden.

5 Literaturverzeichnis

- 1 Bassan, R., Gatta, G., Tondini, C. and Willemze, R. Adult acute lymphoblastic leukaemia. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2004; 50(3): 223-261.
- 2 Faderl, S., Jeha, S. and Kantarjian, H.M. The biology and therapy of adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*, 2003; 98(7): 1337-1354.
- 3 Pui, C.H. and Evans, W.E. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*, 1998; 339(9): 605-615.
- 4 Goldstone, A.H. and Rowe, J.M. Transplantation in adult ALL. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2009; 593-601.
- 5 Gokbuget, N. and Hoelzer, D. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol*, 2009; 46(1): 64-75.
- 6 Faderl, S., O'Brien, S., Pui, C.H., et al. Adult acute lymphoblastic leukemia: concepts and strategies. *Cancer*, 2010; 116(5): 1165-1176.
- 7 Hoelzer, D. and Goekbuget, N. Multizentrische Therapieoptimierungsstudie der akuten lymphatischen Leukämie bei Erwachsenen und Adoleszenten ab 18 Jahren. *GMALL 7/2003. Therapieprotokoll Stand: Amendment 5 vom 20. August 2009*. 2009; 177.
- 8 Hunault, M., Harousseau, J.L., Delain, M., et al. Better outcome of adult acute lymphoblastic leukemia after early genoidentical allogeneic bone marrow transplantation (BMT) than after late high-dose therapy and autologous BMT: a GOELAMS trial. *Blood*, 2004; 104(10): 3028-3037.
- 9 Sebban, C., Lepage, E., Vernant, J.P., et al. Allogeneic bone marrow transplantation in adult acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: a comparative study. *French Group of Therapy of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. J Clin Oncol*, 1994; 12(12): 2580-2587.
- 10 Goldstone, A.H., Richards, S.M., Lazarus, H.M., et al. In adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia, the greatest benefit is achieved from a matched sibling allogeneic transplantation in first complete remission, and an autologous transplantation is less effective than conventional consolidation/maintenance

Literaturverzeichnis

- chemotherapy in all patients: final results of the International ALL Trial (MRC UKALL XII/ECOG E2993). *Blood*, 2008; 111(4): 1827-1833.
- 11 Weisdorf, D., Bishop, M., Dharan, B., et al. Autologous versus allogeneic unrelated donor transplantation for acute lymphoblastic leukemia: comparative toxicity and outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2002; 8(4): 213-220.
 - 12 Aversa, F., Terenzi, A., Tabilio, A., et al. Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol*, 2005; 23(15): 3447-3454.
 - 13 Kiehl, M.G., Kraut, L., Schwerdtfeger, R., et al. Outcome of allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation in adult patients with acute lymphoblastic leukemia: no difference in related compared with unrelated transplant in first complete remission. *J Clin Oncol*, 2004; 22(14): 2816-2825.
 - 14 Aversa, F. Haploidentical haematopoietic stem cell transplantation for acute leukaemia in adults: experience in Europe and the United States. *Bone Marrow Transplant*, 2008; 41(5): 473-481.
 - 15 Pulsipher, M.A., Chitphakdithai, P., Logan, B.R., et al. Donor, recipient, and transplant characteristics as risk factors after unrelated donor PBSC transplantation: beneficial effects of higher CD34+ cell dose. *Blood*, 2009; 114(13): 2606-2616.
 - 16 Mavroudis, D.A., Read, E.J., Molldrem, J., et al. T cell-depleted granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) modified allogeneic bone marrow transplantation for hematological malignancy improves graft CD34+ cell content but is associated with delayed pancytopenia. *Bone Marrow Transplant*, 1998; 21(5): 431-440.
 - 17 Copelan, E.A. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med*, 2006; 354(17): 1813-1826.
 - 18 Pasquini, M.C. Impact of graft-versus-host disease on survival. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2008; 21(2): 193-204.
 - 19 Filipovich, A.H., Weisdorf, D., Pavletic, S., et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005; 11(12): 945-956.

Literaturverzeichnis

- 20 Billingham, R.E. (1966). The biology of graft-versus-host reactions. Harvey Lect. **62**: 21-78.
- 21 Ferrara, J.L. and Reddy, P. Pathophysiology of graft-versus-host disease. *Semin Hematol*, 2006; 43(1): 3-10.
- 22 Couriel, D.R., Saliba, R.M., Giralt, S., et al. Acute and chronic graft-versus-host disease after ablative and nonmyeloablative conditioning for allogeneic hematopoietic transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2004; 10(3): 178-185.
- 23 Pasquini, M.C., Devine, S., Mendizabal, A., et al. Comparative outcomes of donor graft CD34+ selection and immune suppressive therapy as graft-versus-host disease prophylaxis for patients with acute myeloid leukemia in complete remission undergoing HLA-matched sibling allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol*, 2012; 30(26): 3194-3201.
- 24 Carlens, S., Ringden, O., Remberger, M., et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: a retrospective single centre analysis. *Bone Marrow Transplant*, 1998; 22(8): 755-761.
- 25 Atkinson, K., Horowitz, M.M., Gale, R.P., et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood*, 1990; 75(12): 2459-2464.
- 26 Toubai, T., Sun, Y. and Reddy, P. GVHD pathophysiology: is acute different from chronic? *Best Pract Res Clin Haematol*, 2008; 21(2): 101-117.
- 27 Tyndall, A. and Dazzi, F. Chronic GVHD as an autoimmune disease. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2008; 21(2): 281-289.
- 28 Lee, S.J. New approaches for preventing and treating chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 2005; 105(11): 4200-4206.
- 29 Friedrichs, B., Tichelli, A., Bacigalupo, A., et al. Long-term outcome and late effects in patients transplanted with mobilised blood or bone marrow: a randomised trial. *Lancet Oncol*, 2010; 11(4): 331-338.
- 30 Tivol, E., Komorowski, R. and Drobyski, W.R. Emergent autoimmunity in graft-versus-host disease. *Blood*, 2005; 105(12): 4885-4891.

Literaturverzeichnis

- 31 Daikeler, T. and Tyndall, A. Autoimmunity following haematopoietic stem-cell transplantation. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2007; 20(2): 349-360.
- 32 Hollander, G.A., Widmer, B. and Burakoff, S.J. Loss of normal thymic repertoire selection and persistence of autoreactive T cells in graft vs host disease. *J Immunol*, 1994; 152(4): 1609-1617.
- 33 Ferrara, J.L., Levine, J.E., Reddy, P. and Holler, E. Graft-versus-host disease. *Lancet*, 2009; 373(9674): 1550-1561.
- 34 Bostrom, L., Ringden, O., Jacobsen, N., Zwaan, F. and Nilsson, B. A European multicenter study of chronic graft-versus-host disease. The role of cytomegalovirus serology in recipients and donors--acute graft-versus-host disease, and splenectomy. *Transplantation*, 1990; 49(6): 1100-1105.
- 35 Lee, S., Cho, B.S., Kim, S.Y., et al. Allogeneic stem cell transplantation in first complete remission enhances graft-versus-leukemia effect in adults with acute lymphoblastic leukemia: antileukemic activity of chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007; 13(9): 1083-1094.
- 36 Hahn, T., McCarthy, P.L., Jr., Zhang, M.J., et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplants for adults with leukemia. *J Clin Oncol*, 2008; 26(35): 5728-5734.
- 37 Ordemann, R., Hutchinson, R., Friedman, J., et al. Enhanced allostimulatory activity of host antigen-presenting cells in old mice intensifies acute graft-versus-host disease. *J Clin Invest*, 2002; 109(9): 1249-1256.
- 38 Woolfrey, A., Klein, J.P., Haagenson, M., et al. HLA-C antigen mismatch is associated with worse outcome in unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011; 17(6): 885-892.
- 39 Weisdorf, D.J. How closely related is graft-vs-leukemia to donor/recipient disparity? *Best Pract Res Clin Haematol*, 2010; 23(4): 525-528.
- 40 Petersdorf, E.W., Longton, G.M., Anasetti, C., et al. The significance of HLA-DRB1 matching on clinical outcome after HLA-A, B, DR identical unrelated donor marrow transplantation. *Blood*, 1995; 86(4): 1606-1613.
- 41 Ringden, O., Karlsson, H., Olsson, R., Omazic, B. and Uhlin, M. The allogeneic graft-versus-cancer effect. *Br J Haematol*, 2009; 147(5): 614-633.

Literaturverzeichnis

- 42 Flowers, M.E., Inamoto, Y., Carpenter, P.A., et al. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood*, 2011; 117(11): 3214-3219.
- 43 Harris, A.C., Ferrara, J.L. and Levine, J.E. Advances in predicting acute GVHD. *Br J Haematol*, 2013; 160(3): 288-302.
- 44 Remberger, M., Aschan, J., Lonnqvist, B., et al. An ethnic role for chronic, but not acute, graft-versus-host disease after HLA-identical sibling stem cell transplantation. *Eur J Haematol*, 2001; 66(1): 50-56.
- 45 Eapen, M., Logan, B.R., Confer, D.L., et al. Peripheral blood grafts from unrelated donors are associated with increased acute and chronic graft-versus-host disease without improved survival. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007; 13(12): 1461-1468.
- 46 Schmitz, N., Eapen, M., Horowitz, M.M., et al. Long-term outcome of patients given transplants of mobilized blood or bone marrow: A report from the International Bone Marrow Transplant Registry and the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood*, 2006; 108(13): 4288-4290.
- 47 Pavletic, S.Z., Smith, L.M., Bishop, M.R., et al. Prognostic factors of chronic graft-versus-host disease after allogeneic blood stem-cell transplantation. *Am J Hematol*, 2005; 78(4): 265-274.
- 48 Przepiorka, D., Smith, T.L., Folloder, J., et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation. *Blood*, 1999; 94(4): 1465-1470.
- 49 Gale, R.P., Bortin, M.M., van Bekkum, D.W., et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol*, 1987; 67(4): 397-406.
- 50 Miklos, D.B., Kim, H.T., Miller, K.H., et al. Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission. *Blood*, 2005; 105(7): 2973-2978.
- 51 Kuzmina, Z., Eder, S., Bohm, A., et al. Significantly worse survival of patients with NIH-defined chronic graft-versus-host disease and thrombocytopenia or progressive onset type: results of a prospective study. *Leukemia*, 2012; 26(4): 746-756.

Literaturverzeichnis

- 52 Zaucha, J.M. CD34 cell dose in granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood mononuclear cell grafts affects engraftment kinetics and development of extensive chronic graft-versus-host disease after human leukocyte antigen-identical sibling transplantation. *Blood*, 2001; 98(12): 3221-3227.
- 53 Jagasia, M., Arora, M., Flowers, M.E., et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood*, 2012; 119(1): 296-307.
- 54 Lee, S.J., Vogelsang, G. and Flowers, M.E. Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2003; 9(4): 215-233.
- 55 Przepiorka, D., Weisdorf, D., Martin, P., et al. 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant*, 1995; 15(6): 825-828.
- 56 Glucksberg, H., Storb, R., Fefer, A., et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*, 1974; 18(4): 295-304.
- 57 Shulman, H.M., Sullivan, K.M., Weiden, P.L., et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med*, 1980; 69(2): 204-217.
- 58 Mielcarek, M., Martin, P.J., Leisenring, W., et al. Graft-versus-host disease after nonmyeloablative versus conventional hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 2003; 102(2): 756-762.
- 59 Cho, B.S., Min, C.K., Eom, K.S., et al. Feasibility of NIH consensus criteria for chronic graft-versus-host disease. *Leukemia*, 2009; 23(1): 78-84.
- 60 Filipovich, A.H. Diagnosis and manifestations of chronic graft-versus-host disease. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2008; 21(2): 251-257.
- 61 Finke, J., Bethge, W.A., Schmoor, C., et al. Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomised, open-label, multicentre phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2009; 10(9): 855-864.
- 62 Pidala, J., Tomblyn, M., Nishihori, T., et al. ATG prevents severe acute graft-versus-host disease in mismatched unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011; 17(8): 1237-1244.

Literaturverzeichnis

- 63 Teschner, D., Distler, E., Wehler, D., et al. Depletion of naive T cells using clinical grade magnetic CD45RA beads: a new approach for GVHD prophylaxis. *Bone Marrow Transplant*, 2014; 49(1): 138-144.
- 64 Alousi, A.M., Weisdorf, D.J., Logan, B.R., et al. Etanercept, mycophenolate, denileukin, or pentostatin plus corticosteroids for acute graft-versus-host disease: a randomized phase 2 trial from the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network. *Blood*, 2009; 114(3): 511-517.
- 65 Martin, P.J., Schoch, G., Fisher, L., et al. A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment. *Blood*, 1990; 76(8): 1464-1472.
- 66 Lee, S.J. and Flowers, M.E. Recognizing and managing chronic graft-versus-host disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2008; 134-141.
- 67 Bacigalupo, A., Lamparelli, T., Bruzzi, P., et al. Antithymocyte globulin for graft-versus-host disease prophylaxis in transplants from unrelated donors: 2 randomized studies from Gruppo Italiano Trapianti Midollo Osseo (GITMO). *Blood*, 2001; 98(10): 2942-2947.
- 68 Massenkeil, G., Rackwitz, S., Genvresse, I., Rosen, O., Dorken, B. and Arnold, R. Basiliximab is well tolerated and effective in the treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2002; 30(12): 899-903.
- 69 Baudard, M., Vincent, A., Moreau, P., Kergueris, M.F., Harousseau, J.L. and Milpied, N. Mycophenolate mofetil for the treatment of acute and chronic GVHD is effective and well tolerated but induces a high risk of infectious complications: a series of 21 BM or PBSC transplant patients. *Bone Marrow Transplant*, 2002; 30(5): 287-295.
- 70 Kim, S.J., Lee, J.W., Jung, C.W., et al. Weekly rituximab followed by monthly rituximab treatment for steroid-refractory chronic graft-versus-host disease: results from a prospective, multicenter, phase II study. *Haematologica*, 2010; 95(11): 1935-1942.
- 71 Arora, M. Therapy of chronic graft-versus-host disease. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2008; 21(2): 271-279.
- 72 Jagasia, M.H., Savani, B.N., Stricklin, G., et al. Classic and overlap chronic graft-versus-host disease (cGVHD) is associated with superior outcome after

Literaturverzeichnis

- extracorporeal photopheresis (ECP). *Biol Blood Marrow Transplant*, 2009; 15(10): 1288-1295.
- 73 Socie, G., Ritz, J. and Martin, P.J. Current challenges in chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010; 16(1 Suppl): S146-151.
- 74 Weiden, P.L., Sullivan, K.M., Flournoy, N., Storb, R. and Thomas, E.D. Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med*, 1981; 304(25): 1529-1533.
- 75 Passweg, J.R., Tiberghien, P., Cahn, J.Y., et al. Graft-versus-leukemia effects in T lineage and B lineage acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant*, 1998; 21(2): 153-158.
- 76 Barnes, D.W., Corp, M.J., Loutit, J.F. and Neal, F.E. Treatment of murine leukaemia with X rays and homologous bone marrow; preliminary communication. *Br Med J*, 1956; 2(4993): 626-627.
- 77 Horowitz, M.M., Gale, R.P., Sondel, P.M., et al. Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood*, 1990; 75(3): 555-562.
- 78 Kolb, H.J., Schattenberg, A., Goldman, J.M., et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood*, 1995; 86(5): 2041-2050.
- 79 Rowe, J.M. Graft-versus-disease effect following allogeneic transplantation for acute leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2008; 21(3): 485-502.
- 80 Rezvani, A.R. and Storb, R.F. Separation of graft-vs.-tumor effects from graft-vs.-host disease in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Autoimmun*, 2008; 30(3): 172-179.
- 81 Kolb, H.J. Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood*, 2008; 112(12): 4371-4383.
- 82 Ruggeri, L., Capanni, M., Urbani, E., et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science*, 2002; 295(5562): 2097-2100.

Literaturverzeichnis

- 83 Ringden, O., Pavletic, S.Z., Anasetti, C., et al. The graft-versus-leukemia effect using matched unrelated donors is not superior to HLA-identical siblings for hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 2009; 113(13): 3110-3118.
- 84 Roddie, C. and Peggs, K.S. Donor lymphocyte infusion following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Expert Opin Biol Ther*, 2011; 11(4): 473-487.
- 85 Nijmeijer, B.A., van Schie, M.L., Verzaal, P., Willemze, R. and Falkenburg, J.H. Responses to donor lymphocyte infusion for acute lymphoblastic leukemia may be determined by both qualitative and quantitative limitations of antileukemic T-cell responses as observed in an animal model for human leukemia. *Exp Hematol*, 2005; 33(10): 1172-1181.
- 86 Cornelissen, J.J., Carston, M., Kollman, C., et al. Unrelated marrow transplantation for adult patients with poor-risk acute lymphoblastic leukemia: strong graft-versus-leukemia effect and risk factors determining outcome. *Blood*, 2001; 97(6): 1572-1577.
- 87 Ringden, O., Labopin, M., Gorin, N.C., et al. Is there a graft-versus-leukaemia effect in the absence of graft-versus-host disease in patients undergoing bone marrow transplantation for acute leukaemia? *Br J Haematol*, 2000; 111(4): 1130-1137.
- 88 Yegin, Z.A., Ozkurt, Z.N., Aki, S.Z. and Sucak, G.T. Donor lymphocyte infusion for leukemia relapse after hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Apher Sci*, 2010; 42(3): 239-245.
- 89 Inamoto, Y., Fefer, A., Sandmaier, B.M., et al. A phase I/II study of chemotherapy followed by donor lymphocyte infusion plus interleukin-2 for relapsed acute leukemia after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011; 17(9): 1308-1315.
- 90 Collins, R.H., Jr., Goldstein, S., Giralt, S., et al. Donor leukocyte infusions in acute lymphocytic leukemia. *Bone Marrow Transplant*, 2000; 26(5): 511-516.
- 91 Collins, R.H., Jr., Shpilberg, O., Drobyski, W.R., et al. Donor leukocyte infusions in 140 patients with relapsed malignancy after allogeneic bone marrow transplantation. *J Clin Oncol*, 1997; 15(2): 433-444.

Literaturverzeichnis

- 92 Blair, A., Goulden, N.J., Libri, N.A., Oakhill, A. and Pamphilon, D.H. Immunotherapeutic strategies in acute lymphoblastic leukaemia relapsing after stem cell transplantation. *Blood Rev*, 2005; 19(6): 289-300.
- 93 Choi, S.J., Lee, J.H., Lee, J.H., et al. Treatment of relapsed acute lymphoblastic leukemia after allogeneic bone marrow transplantation with chemotherapy followed by G-CSF-primed donor leukocyte infusion: a prospective study. *Bone Marrow Transplant*, 2005; 36(2): 163-169.
- 94 Liga, M., Triantafyllou, E., Tiniakou, M., et al. High alloreactivity of low-dose prophylactic donor lymphocyte infusion in patients with acute leukemia undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation with an alemtuzumab-containing conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013; 19(1): 75-81.
- 95 Kaplan, E.L. and Meier, P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J. Amer. Statist. Assn.*, 1958; 53:457-481.
- 96 Cox, D.R. Regression Models and Life-Tables. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, 1972; 34(2): 187-220.
- 97 Labopin, M. and Iacobelli, S. "Statistical Guidelines for EBMT." Retrieved 23.5.2011, from http://portal.ebmt.org/sites/clint2/clint/Documents/StatGuidelines_oct2003.pdf.
- 98 Vigorito, A.C., Campregher, P.V., Storer, B.E., et al. Evaluation of NIH consensus criteria for classification of late acute and chronic GVHD. *Blood*, 2009; 114(3): 702-708.
- 99 Cho, B.S., Lee, S.E., Song, H.H., et al. Graft-versus-tumor effect according to type of graft-versus-host disease defined by National Institutes of Health consensus criteria and associated outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2012; 18(7): 1136-1143.
- 100 Kim, D.Y., Lee, J.H., Kim, S.H., et al. Reevaluation of the National Institutes of Health criteria for classification and scoring of chronic GVHD. *Bone Marrow Transplant*, 2010; 45(7): 1174-1180.
- 101 Thepot, S., Zhou, J., Perrot, A., et al. The graft-versus-leukemia effect is mainly restricted to NIH-defined chronic graft-versus-host disease after reduced intensity conditioning before allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*, 2010; 24(11): 1852-1858.

Literaturverzeichnis

- 102 Pavletic, S.Z., Lee, S.J., Socie, G. and Vogelsang, G. Chronic graft-versus-host disease: implications of the National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials. *Bone Marrow Transplant*, 2006; 38(10): 645-651.
- 103 Loren, A.W. and Porter, D.L. Donor leukocyte infusions for the treatment of relapsed acute leukemia after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2008; 41(5): 483-493.
- 104 Terwey, T.H., Vega-Ruiz, A., Hemmati, P.G., et al. NIH-defined graft-versus-host disease after reduced intensity or myeloablative conditioning in patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 2012; 26(3): 536-542.
- 105 Klein, J.P., Rizzo, J.D., Zhang, M.J. and Keiding, N. Statistical methods for the analysis and presentation of the results of bone marrow transplants. Part 2: Regression modeling. *Bone Marrow Transplant*, 2001; 28(11): 1001-1011.
- 106 Zikos, P., Van Lint, M.T., Lamparelli, T., et al. Allogeneic hemopoietic stem cell transplantation for patients with high risk acute lymphoblastic leukemia: favorable impact of chronic graft-versus-host disease on survival and relapse. *Haematologica*, 1998; 83(10): 896-903.
- 107 Fielding, A.K., Rowe, J.M., Richards, S.M., et al. Prospective outcome data on 267 unselected adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia confirms superiority of allogeneic transplantation over chemotherapy in the pre-imatinib era: results from the International ALL Trial MRC UKALLXII/ECOG2993. *Blood*, 2009; 113(19): 4489-4496.
- 108 Dahlke, J., Kroger, N., Zabelina, T., et al. Comparable results in patients with acute lymphoblastic leukemia after related and unrelated stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2006; 37(2): 155-163.
- 109 Massenkeil, G., Nagy, M., Lawang, M., et al. Reduced intensity conditioning and prophylactic DLI can cure patients with high-risk acute leukaemias if complete donor chimerism can be achieved. *Bone Marrow Transplant*, 2003; 31(5): 339-345.
- 110 Lee, S.E., Cho, B.S., Kim, J.H., et al. Risk and prognostic factors for acute GVHD based on NIH consensus criteria. *Bone Marrow Transplant*, 2013; 48(4): 587-592.

Literaturverzeichnis

- 111 Weisdorf, D., Haake, R., Blazar, B., et al. Treatment of moderate/severe acute graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation: an analysis of clinical risk features and outcome. *Blood*, 1990; 75(4): 1024-1030.
- 112 Arora, M., Nagaraj, S., Witte, J., et al. New classification of chronic GVHD: added clarity from the consensus diagnoses. *Bone Marrow Transplant*, 2009; 43(2): 149-153.
- 113 Pidala, J., Kim, J., Anasetti, C., et al. The global severity of chronic graft-versus-host disease, determined by National Institutes of Health consensus criteria, is associated with overall survival and non-relapse mortality. *Haematologica*, 2011; 96(11): 1678-1684.
- 114 Doney, K., Gooley, T.A., Deeg, H.J., Flowers, M.E., Storb, R. and Appelbaum, F.R. Allogeneic hematopoietic cell transplantation with full-intensity conditioning for adult acute lymphoblastic leukemia: results from a single center, 1998-2006. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2011; 17(8): 1187-1195.
- 115 Remberger, M., Mattsson, J., Hentschke, P., et al. The graft-versus-leukaemia effect in haematopoietic stem cell transplantation using unrelated donors. *Bone Marrow Transplant*, 2002; 30(11): 761-768.
- 116 Gratwohl, A., Brand, R., Apperley, J., et al. Graft-versus-host disease and outcome in HLA-identical sibling transplantations for chronic myeloid leukemia. *Blood*, 2002; 100(12): 3877-3886.
- 117 Jagasia, M., Giglia, J., Chinratanalab, W., et al. Incidence and outcome of chronic graft-versus-host disease using National Institutes of Health consensus criteria. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007; 13(10): 1207-1215.
- 118 Barrett, A.J. Mechanisms of the graft-versus-leukemia reaction. *Stem Cells*, 1997; 15(4): 248-258.
- 119 Medd, P.G., Peniket, A.J., Littlewood, T.J., et al. Evidence for a GVL effect following reduced-intensity allo-SCT in ALL: a British Society of Blood and Marrow Transplantation study. *Bone Marrow Transplant*, 2013; 48(7): 982-987.
- 120 Marks, D.I., Wang, T., Perez, W.S., et al. The outcome of full-intensity and reduced-intensity conditioning matched sibling or unrelated donor transplantation in adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first and second complete remission. *Blood*, 2010; 116(3): 366-374.

Literaturverzeichnis

- 121 Wang, H., Grzywacz, B., Sukovich, D., et al. The unexpected effect of cyclosporin A on CD56+CD16- and CD56+CD16+ natural killer cell subpopulations. *Blood*, 2007; 110(5): 1530-1539.
- 122 Uzunel, M., Mattsson, J., Jaksch, M., Remberger, M. and Ringden, O. The significance of graft-versus-host disease and pretransplantation minimal residual disease status to outcome after allogeneic stem cell transplantation in patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 2001; 98(6): 1982-1984.
- 123 Porter, D.L., Collins, R.H., Jr., Hardy, C., et al. Treatment of relapsed leukemia after unrelated donor marrow transplantation with unrelated donor leukocyte infusions. *Blood*, 2000; 95(4): 1214-1221.
- 124 Mielcarek, M., Storer, B.E., Flowers, M.E., Storb, R., Sandmaier, B.M. and Martin, P.J. Outcomes among patients with recurrent high-risk hematologic malignancies after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2007; 13(10): 1160-1168.
- 125 Lutz, C., Massenkeil, G., Nagy, M., et al. A pilot study of prophylactic donor lymphocyte infusions to prevent relapse in adult acute lymphoblastic leukemias after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2008; 41(9): 805-812.
- 126 Zander, A.R., Kroger, N., Schleuning, M., et al. ATG as part of the conditioning regimen reduces transplant-related mortality (TRM) and improves overall survival after unrelated stem cell transplantation in patients with chronic myelogenous leukemia (CML). *Bone Marrow Transplant*, 2003; 32(4): 355-361.

6 Appendix

6.1 SPSS-Syntax

```

1 Temporary.
2 SELECT IF (Inclusion_Criteria_Satisfied =1).
3 TIME PROGRAM.
4 COMPUTE T_COV_AGVHD_1 = (Grading_aGVHD_II = 1)*(T_>Time_From_HCT_or_DLI_To_aGVHD).
5 COMPUTE T_COV_AGVHD_2 = (Grading_aGVHD_II = 2)*(T_>Time_From_HCT_or_DLI_To_aGVHD).
6 COMPUTE T_COV_lateAGVHD_1 = (Grading_Late_aGVHD_II = 1)*(T_>Time_From_HCT_Or_DLI_To_late_aGVHD).
7 COMPUTE T_COV_lateAGVHD_2 = (Grading_Late_aGVHD_II = 2)*(T_>Time_From_HCT_Or_DLI_To_late_aGVHD).
8 COMPUTE T_COV_cGVHD_1 = (Grading_cGVHD = 1)*(T_>Time_from_HCT_or_DLI_to_cGVHD).
9 COMPUTE T_COV_cGVHD_2 = (Grading_cGVHD = 2)*(T_>Time_from_HCT_or_DLI_to_cGVHD).
10 COMPUTE T_COV_cGVHD_3 = (Grading_cGVHD = 3)*(T_>Time_from_HCT_or_DLI_to_cGVHD).
11 COXREG Followup_LFS_Days
12 /STATUS=Event_NRM(1)
13 /CONTRAST(Sex)=INDICATOR(1)
14 /CONTRAST(Transplant_Period)=INDICATOR(1)
15 /CONTRAST(Age_Group)=INDICATOR(1)
16 /CONTRAST(Disease_Status_At_HCTI)=INDICATOR(1)
17 /CONTRAST(Disease_Status_At_HCTII)=INDICATOR(1)
18 /CONTRAST(HCTCI_Cat)=INDICATOR(1)
19 /CONTRAST(Lineage_II)=INDICATOR(1)
20 /CONTRAST(KarnofskyIndex_Cat)=INDICATOR(1)
21 /CONTRAST(Stem_Cell_Source)=INDICATOR(1)
22 /CONTRAST(Donor_Age_Group)=INDICATOR(1)
23 /CONTRAST(Donor_Type_II)=INDICATOR(1)
24 /CONTRAST(Donor_Host_Sex_Compatibility)=INDICATOR(1)
25 /CONTRAST(CMV_Status_Short)=INDICATOR(1)
26 /CONTRAST(ABO_Comatibility)=INDICATOR(1)
27 /CONTRAST(DLI)=INDICATOR(1)
28 /METHOD= ENTER Sex Transplant_Period Age_Group Disease_Status_At_HCTII Disease_Status_At_HCTI Lineage_I Lineage_II
29 HCTCI_Cat KarnofskyIndex_Cat Stem_Cell_Source Donor_Type_II Donor_Age_Group Donor_Host_Sex_Compatibility DLI ABO_Comatibility
30 CMV_Status_Short T_COV_cGVHD_1 T_COV_cGVHD_2 T_COV_cGVHD_3
31 /PRINT=Summary CI(95)
32 /CRITERIA=PIN(.05) POUT(.10) ITERATE(20).

```

Abbildung 12: Zeitabhängige Kovariable am Beispiel NRM

6.2 Definitionen und Begriffserklärung

Karnofskyindex

Die Karnofsky Performance Status Scale (Karnofsky-Skala oder -index) dient der objektiven Evaluation von Einschränkungen im Bereich der körperlichen Aktivität und Selbstversorgung von Patienten mit malignen Tumorerkrankungen. Auf der Grundlage einer Skala von 100% (normale, uneingeschränkte Aktivität) bis 10% (völlige Pflegebedürftigkeit) bzw. 0% (Tod) kann eine näherungsweise standardisierte Erfassung der Lebensqualität von Tumorpatienten erfolgen.

Komorbiditätsindex HCT-CI

Der Komorbiditätsindex (Hematopoietic Cell Transplantation Comorbidity Index, HCT-CI) erlaubt die Identifikation von Patienten mit erhöhtem Mortalitätsrisiko nach HSZT anhand der Anzahl und Schwere der individuellen Krankheitsbilder und deren Einteilung in Niedrig-, Mittel- und Hoch-Risikogruppen. Demnach besitzt der HCT-CI auch prognostischen Wert für das Outcome bei Transplantationen. Es werden 31 Komorbiditäten mit einem Score von 0 bis max. 29 erfasst.

HLA-Kompatibilität

Der HLA-Komplex (human leucocyte antigens) wird von allen kernhaltigen Zellen exprimiert und ist ein Genprodukt des Haupthistokompatibilitätskomplexes (major histocompatibility complex, MHC). Er dient als Bestandteil des adaptiven Immunsystems zur Unterscheidung zwischen körperfremden und –eigenen Antigenen. Stimmen einzelne Genabschnitte von Empfänger- bzw. Spender-HLA nicht überein, spricht man von einem HLA-Mismatch oder –Inkompatibilität.

6.3 Diagnosekriterien der chronischen GVHD nach NIH-Konsensus

Tabelle 13: Diagnosekriterien der cGVHD (modifiziert nach Filipovich [19])

Organ	Diagnostische Symptome	Typische Symptome	Gemeinsame Symptome	Score 0	Score 1	Score 2	Score 3
Haut	<ul style="list-style-type: none"> • Poikiloderma • Lichen planus-Symptome • Skleroderma-Symptome • Morphea-Symptome • Lichen sclerosus-Symptome 	<ul style="list-style-type: none"> • Depigmentation 	<ul style="list-style-type: none"> • Erythem • Makulopapulöses Exanthem • Pruritus 	Keine Symptome	< 18% KOF mit Symptomen Keine Sklerose	19-50% KOF ODER Oberflächliche Sklerose (noch Faltenbildung möglich)	> 50% KOF ODER Tiefe Sklerose (keine Faltenbildung mehr möglich) ODER eingeschränkte Mobilität
Nägel		<ul style="list-style-type: none"> • Dystrophie • Longitudinale Riefen, Einreißen, Übereinanderschichten der Nägel • Onycholysis • Pterygium unguis • Nagelverlust 					
Kopfhaar, Körperbehaarung		<ul style="list-style-type: none"> • Vernarbende/nicht-vernarbende Alopezie 					
Mundschleimhaut	<ul style="list-style-type: none"> • Lichenoide Symptome • Hyperkeratotische Plaques • Einschränkung der Mundöffnung durch Sklerose 	<ul style="list-style-type: none"> • Xerostomie • Mukozelen • Mukosale Atrophie • Pseudomembrane • Ulzerationen 	<ul style="list-style-type: none"> • Gingivitis • Mukositis • Erythem • Schmerzen 	Keine Symptome	Milde Symptome Keine Einschränkung der oralen Nahrungszufuhr	Moderate Symptome mit teilweiser Einschränkung der oralen Nahrungszufuhr	Schwere Symptome mit deutlicher Einschränkung der oralen Nahrungszufuhr (evtl. mit Magensonde)

Appendix

Tabelle 13: Fortsetzung

Augen		<ul style="list-style-type: none"> • Neues Trockenheitsgefühl, „Sand in den Augen“ • Augenschmerzen • symmetrische Konjunktivitis • Keratokonjunktivitis sicca • Konfluierende Areale einer punktförmigen Keratopathie 		Keine Symptome	Milde Augentrockenheit ohne Beeinträchtigung der allgemeinen Lebensqualität, < 3x/Tag Augentropfen, asymptomatische Keratokonjunktivitis sicca	Moderate Augentrockenheit mit > 3x/Tag Augentropfen ohne Beeinträchtigung des Sehvermögens	Schwere Augentrockenheit (spezielle Brillengläser notwendig) ODER schwere Einschränkung des Sehvermögens durch Keratokonjunktivitis sicca
Genitalien	<ul style="list-style-type: none"> • Lichen planus-Symptome • Vaginale Vernarbung oder Stenosen 	<ul style="list-style-type: none"> • Erosionen • Fissuren • Ulzeationen 		Keine Symptome	Symptome mit milden typischen Veränderungen, aber ohne Effekt auf Koitus und minimale Beschwerden bei gyn.° Untersuchung	Symptome mit typischen Veränderungen und Schmerzen bei Koitus oder gyn. Untersuchung	Symptome mit schweren typischen Veränderungen (Strikturen, Verwachsungen der Labien, schwere Ulzerationen)
GI-Trakt	<ul style="list-style-type: none"> • Ösophageales Netz • Strikturen oder Stenose oberes/mittleres 1/3 des Ösophagus 		<ul style="list-style-type: none"> • Anorexie • Übelkeit • Erbrechen • Diarrhö • Gewichtsverlust 	Keine Symptome	Kein signifikanter Gewichtsverlust < 5% mit Schluckbeschwerden, Anorexie, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall, abdominellen Schmerzen	Symptome mit Gewichtsverlust 5-15%	Symptome mit Gewichtsverlust > 15% mit parenteraler Zusatzernährung oder ösophagialer Dilatation
Leber			<ul style="list-style-type: none"> • Gesamt-Bilirubin, AP > 2x UNL • ALAT/ASAT > 2x UNL 	normal LFT	Bilirubin, ALAT, ASAT oder AP < 2x ULN	Bilirubin > 3mg/dl oder ASAT, ALAT, AP 2-4x ULN	Bilirubin > 5,5mg/dl oder ASAT, ALAT, AP > 5x UNL

Appendix

Tabelle 13: Fortsetzung

Lunge	<ul style="list-style-type: none"> • Bronchiolitis Obliterans (durch Lungenbiopsie gesichert) 	<ul style="list-style-type: none"> • Bronchiolitis Obliterans (mittels LuFu* und high-resolution CT diagnostiziert) 	<ul style="list-style-type: none"> • BOOP 	Keine Symptome FEV1 [^] < 80% oder LFS = 2	Milde Symptome (z.B. Luftnot beim Treppensteigen) FEV1 60-79% oder LFS = 3-5	Moderate Symptome (z.B. Luftnot bei Gehen auf ebener Fläche) FEV1 40-59% oder LFS = 6-9	Ruhedyspnoe (O2-Bedarf) FEV1 < 39% oder LFS = 10-12
Muskeln, Faszien, Gelenke	<ul style="list-style-type: none"> • Fasziiitis • Gelenksversteifungen/Kontraktionen durch Sklerose 	<ul style="list-style-type: none"> • Myositis/Polymyositis 		Keine Symptome	Leichte Steifheit der Arme und Beine, leichte Bewegungseinschränkung ohne Beeinträchtigung der Aktivitäten des täglichen Lebens (ATL)	Steifheit Arme und Beine oder Gelenkkontraktionen, moderate Beeinträchtigung der Beweglichkeit, (milde Beeinträchtigung der ATL)	Schwere Gelenkkontraktionen mit Beeinträchtigung der ATL
Hämatopoese, Immunstatus	Sind als cGVHD-Symptome anzusehen, wenn Diagnose bereits gesichert. Selten:			Thrombozytopenie > 100 000 / μ l	Thrombozytopenie < 100 000 / μ l	Thrombozytopenie 10 000-50 000 / μ l	Thrombozytopenie < 10 000 / μ l
Andere	Sind als cGVHD-Symptome anzusehen, wenn Diagnose bereits gesichert. Selten:			Einordnung erfolgt nach Ausmaß der funktionellen Beeinträchtigung			
	<ul style="list-style-type: none"> • Perikard- / Pleuraerguss • Aszites • Periphere Neuropathie • Nephrotisches Syndrom • Myasthenia gravis • Kardiomyopathie 						

* LuFu: Lungenfunktionstestung; [^]LFS (Lungenfunktions-Score) = FEV1/Vcmax in % + KCO (korrigierte CO) in % mit > 80% = 1; 70-79% = 2; 60-69% = 3; 50-59% = 4; 40-49% = 5; < 40% = 6.; ° gyn.: gynäkologisch; + AIHA: Autoimmun-hämolytische Anämie, ITP: Idiopathische thrombozytopenische Purpura).

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Tanja Le Duc, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Graft-Versus-Host-Disease nach NIH-Klassifikation bei Patienten mit Akuter Lymphatischer Leukämie: Klinische Präsentation, Prognostische Relevanz und Nachweis eines Potenten Graft-Versus-Leukemia-Effekts selbstständig und ohne nicht offen gelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuerin, angegeben sind.

Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Berlin, den 04.09.2015

Unterschrift

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Ich, Tanja Le Duc, hatte Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1:

T.H. Terwey, T.M. Le Duc, P.G. Hemmati, P. le Coutre, M. Nagy, P. Martus, B. Dörken, R. Arnold, NIH-Defined Graft-Versus-Host Disease and Evidence for a Potent Graft-Versus-Leukemia Effect in Patients with Acute Lymphoblastic Leukaemia, *Annals of Oncology*, 24(5), 1363-70, 2013.

Beitrag im Einzelnen: Datenakquise, statistische Datenanalyse und Manuskriptrevision

Publikation 2:

T.H. Terwey, T.M. Le Duc, P.G. Hemmati, L.G. Vuong, P. Martus, P. le Coutre, B. Dörken, R. Arnold, NIH-Defined Chronic Graft-Versus-Host Disease and Graft-Versus-Leukemia Effects in Patients Receiving Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Acute Lymphoblastic Leukemia, *European Society for Blood and Marrow Transplantation Annual Meeting Abstract*, 2012.

Beitrag im Einzelnen: Datenakquise, statistische Datenanalyse und Manuskriptrevision

Publikation 3:

T.H. Terwey, T.M. Le Duc, P.G. Hemmati, L.G. Vuong, P. Martus, P. le Coutre, B. Dörken, R. Arnold, NIH-defined Graft-Versus-Host Disease in Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia: Natural History, Prognostic Impact and Effect of Donor Lymphocyte Infusions, *American Society of Hematology Annual Meeting Abstract*, 2011.

Beitrag im Einzelnen: Datenakquise, statistische Datenanalyse und Manuskriptrevision

Berlin, den 04.09.2015

Unterschrift

Danksagung

Mein großer Dank gebührt Frau **Prof. Dr. Renate Arnold**, Stellvertretende Direktorin der Klinik für Innere Medizin mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und Tumorummunologie und Leiterin der Knochenmarktransplantation, für die Anvertraung des Dissertationsthemas und die kritische Korrektur des Manuskripts.

Meinem Betreuer, Herrn **Dr. Theis Terwey**, gilt ein besonderer Dank dafür, dass er mich mit Expertise und Vertrauen all die Jahre kontinuierlich unterstützt und, insbesondere in schwierigen Zeiten, die notwendigen Impulse gegeben hat.

Ein herzliches Dankeschön geht jeweils an: Frau **Sabine Diehl** für die freundliche Zusammenarbeit bei der Datenakquise und das Management der Patientendatenbank; **Frau Schmidt** und **Frau Müller** vom Zentralarchiv am Campus Virchow-Klinikum für ihre geduldige Kooperation bei der Recherche.

Meinen Freunden danke ich für ihre Unterstützung und Motivation.

Ein herzliches Dankeschön an **Prof. Dr. Ado Grässmann** für seine weisen und aufmunternden Worte.

Mein unendlicher Dank gilt **meinen Eltern und meiner Schwester** für den Halt, den sie mir geben, den liebevollen Zuspruch und die Geduld.