



Für viele Patienten mit Leukämie, malignen Lymphomen und anderen Erkrankungen der Blutbildung ist die allogene Blutstammzelltransplantation (Allo-BSZT) nach wie vor die einzige Chance auf Heilung. Ein wesentlicher wissenschaftlicher Schwerpunkt der Klinik für Knochenmarktransplantation in Essen ist es, innovative Transplantationskonzepte weiterzuentwickeln und die Verträglichkeit der Allo-BSZT weiter zu verbessern, so dass auch für Risiko-Patienten dieses kurative Therapieverfahren eine Option darstellt. Hier kommt der Weiterentwicklung der adaptiven zellulären Immuntherapie eine entscheidende Rolle zu.

Vom Konzept zur klinischen Anwendung

Zelluläre antileukämische Immuntherapie
bei der allogenen Blutstammzelltransplantation
Von Hellmut D. Ottinger und Dietrich W. Beelen

Transplantierte Zellen/Gewebe/ Organe sollen im Empfänger dauerhaft biologische Funktionen übernehmen

Unter dem Begriff Transplantation versteht man die Übertragung von Zellen, Geweben oder Organen von einem Spender auf einen Empfänger mit dem Ziel, im Empfängerorganismus dauerhaft biologische Funktionen zu übernehmen.

Im Falle der allogenen Blutstammzelltransplantation (Allo-BSZT) handelt es sich im klinischen Sprachgebrauch um die Übertragung

der Ausgangszellen der Blutbildung (Blutstammzellen, vgl. Abb. 1) von einem verwandten oder unverwandten Spender auf einen Empfänger (Patienten). Die übertragenen Zellen sollen im Empfänger dauerhaft die Bildung der roten Blutkörperchen (Erythrozyten), der Blutplättchen (Thrombozyten) und auch der weißen Blutkörperchen (Leukozyten) übernehmen. Der transplantierte Patient übernimmt aber auch das Immunsystem des Spenders, da sich dieses ebenfalls aus den übertragenen Stammzellen ableitet. Dies ist von besonderer Bedeutung, da die vom

Transplantat gebildeten Immunzellen nicht nur die Abwehr von Krankheitserregern übernehmen, sondern prinzipiell auch in der Lage sind, verbliebene bösartige Patientenzellen zu vernichten. Genau in dieser Funktion hatte das Immunsystem des Patienten vor Transplantation versagt.

Die Allo-BSZT hat große klinische und gesundheitspolitische Bedeutung

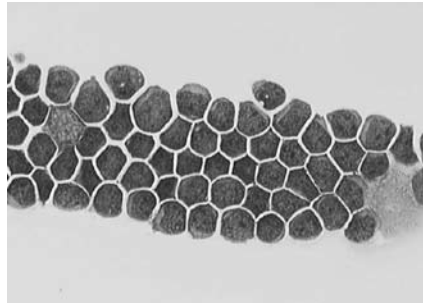
Die Allo-BSZT gewinnt ihre klinische und gesundheitspolitische

Bedeutung insbesondere dadurch, dass sie

- ausschließlich zur Behandlung von lebensbedrohlichen Erkrankungen eingesetzt wird, wie zum Beispiel von bösartigen Erkrankungen der Blutbildung (Leukämien, Lymphome, etc.), Bildungsstörungen von Blutzellen (aplastische Anämien, angeborene schwere kombinierte Immundefekte), und angeborene Stoffwechselerkrankungen (Enzymdefekte),
- für zahlreiche Patienten das Therapieverfahren mit der höchsten Heilungsaussicht darstellt,
- trotz der vergleichsweise geringen Fallzahlen sehr kostenintensiv ist. Allein in Deutschland beliefen sich die stationären Behandlungskosten im Jahre 2004 bei einer Fallzahl von 1.883 auf eine Summe von etwa 250 Millionen Euro.

Essen ist einer der aktivsten Standorte für die Allo-BSZT

Bereits 1974 wurde am Universitätsklinikum Essen die erste Allo-BSZT durchgeführt. Aufgebaut wurde das Programm durch Prof. Ulrich W. Schaefer, damals an der Inneren Klinik und Poliklinik (Tumorforschung). Anfang 1988 wurde der Arbeitsbereich abgetrennt und eine eigenständige Klinik für Knochenmarktransplantation (KMT-Klinik) gegründet. 1993 konnte ein neu erstelltes Bettenhaus bezogen werden. Die Klinik verfügt über 26 Transplantationsbetten für erwachsene Patienten. Vier Betten für Kinder sind der Abteilung für Pädiatrische Hämatologie, Onkologie und Endokrinologie zugeordnet. Die Klinik verfügt über alle Möglichkeiten internistischer Intensivmedizin in keimarmen Patientenzimmern sowie über eine Anlage zur Ganzkörperbestrahlung. In der angeschlossenen Ambulanz erfolgt eine lebenslange Nachsorge der Patienten. Mit den insgesamt zur Verfügung stehenden 30 Betten werden zurzeit an der KMT-Klinik etwa 150 allogene Ersttransplantationen jährlich durch-



(1) Lichtmikroskopische Darstellung von blutbildenden Stammzellen.

geführt. Damit ist Essen europaweit das größte Zentrum für Allo-BSZT.

Die Allo-BSZT ist ein sehr innovativer Bereich der Medizin

Bis Anfang der siebziger Jahre galten die meisten bösartigen und andere lebensbedrohliche Erkrankungen der Blutbildung als unheilbar.

Nach ihrer Erprobung als experimentelle individuelle Heilmaßnahme in den siebziger Jahren setzte sich die Allo-BSZT in den achtziger Jahren zunächst in Form der klassischen Knochenmarktransplantation als Routinemethode zur Behandlung von Leukämien, schweren aplastischen Anämien und anderen lebensbedrohlichen Erkrankungen des blutbildenden Systems durch.

In den folgenden beiden Dekaden stiegen die Fallzahlen für die Allo-BSZT kontinuierlich an (Abb. 2).

Begünstigt wurde die zunehmende Nutzung der Allo-BSZT durch die sich von Jahr zu Jahr verbessernden klinischen Ergebnisse (Abb. 3).

Diese Entwicklung wurde ermöglicht durch zahlreiche Innovationen bei der Durchführung der Allo-BSZT selbst (Tab. 4), die Einführung präziserer, molekulargenetischer Methoden zur Austestung der Haupt-Gewebsverträglichkeitsmerkmale (HLA-Merkmale) von Patient und Spender und zahlreiche Verbesserungen in der Begleittherapie

(zum Beispiel der Einführung neuer Medikamente zur Bekämpfung von Infektionskrankheiten durch Bakterien, Pilze und Viren).

Der nachfolgende Beitrag soll in allgemein verständlicher Form verdeutlichen, worin die oben genannten innovativen Ansätze bestehen und aufzeigen, wie durch deren Kombination neue Transplantationskonzepte entwickelt werden konnten. Als Beispiele angeführt werden:

(1) die so genannten Mini- und Mikrotransplantationen, bei denen nicht mehr der Chemo- und Radiotherapie vor Transplantation (das heißt der Konditionierung) die Hauptrolle bei der Vernichtung der bösartigen Zellen zukommt, sondern dem Spenderimmunsystem, das nach Transplantation auch gegen bösartige Zellen des Patienten aktiv wird und

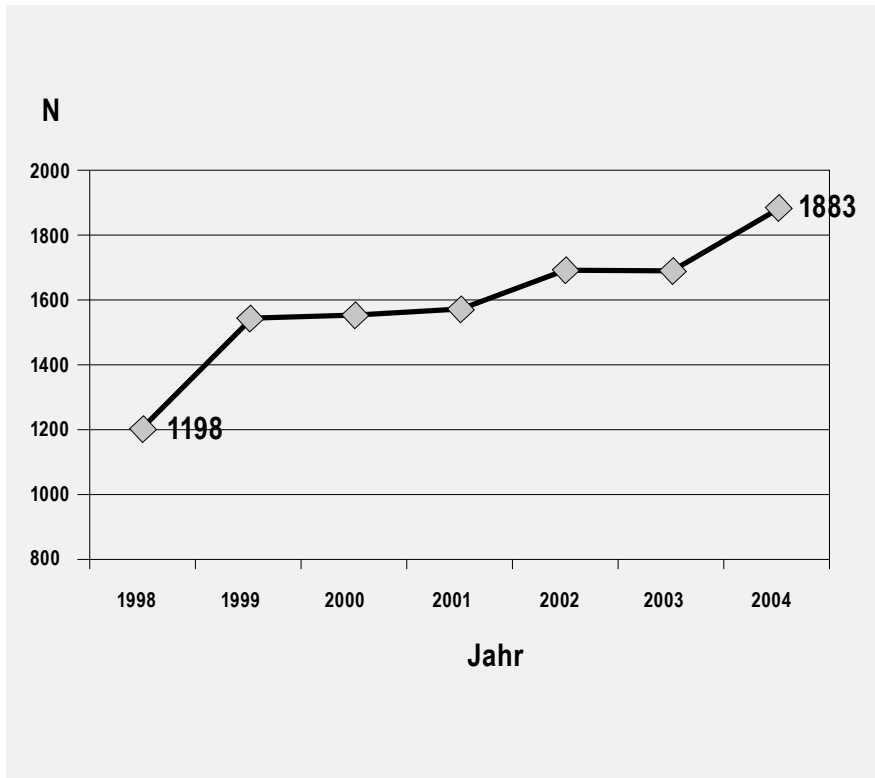
(2) ein Transplantationsansatz mit hochangereicherten Blutstammzellen, bei denen auf die sonst notwendige immunsuppressive Therapie nach Transplantation vollständig verzichtet werden kann.

Die Knochenmarktransplantation ist die klassische Form der Allo-BSZT

Um das Verständnis für neue Konzepte der Allo-BSZT zu erleichtern, werden zunächst die Grundzüge der klassischen Form der Allo-BSZT, das heißt der Knochenmarktransplantation (KMT) rekapituliert.

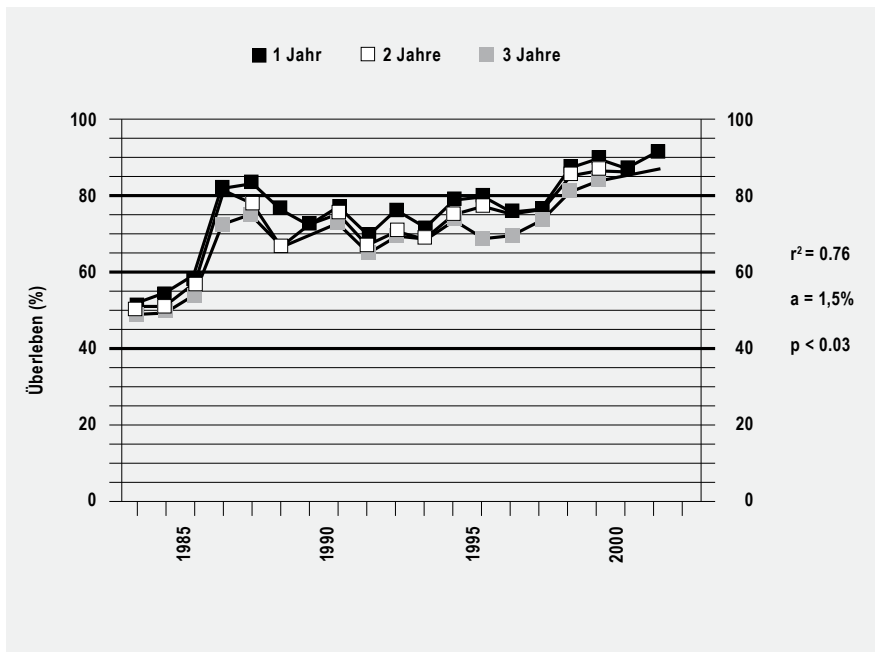
Das Knochenmarktransplantat besteht aus einer Vielzahl von unreifen und reifen Spenderzellen

Das Transplantat für die KMT eines erwachsenen Patienten besteht aus einem bis eineinhalb Litern Knochenmarkblut, das aus den Hohlräumen der Beckenknochen eines gewebeverträglichen Spenders gewonnen wird. Ein Knochenmarktransplantat enthält neben Blutstammzellen auch eine große Zahl von weiteren unreifen und



(2) Entwicklung der absoluten Fallzahlen für die allogene Blutstammzelltransplantation in Deutschland für den Zeitraum von 1998 bis 2004.

Quelle: Ottinger, H.D., Müller, C., Beelen, D.W. et al.: Deutsches Register für Stammzelltransplantation (DRST), Jahresbericht 2004 (www.drst.de)



(3) Allgemeines Überleben (ein, zwei und drei Jahre) nach allogener BSZT bei Patienten, die in Essen wegen chronischer myeloischer Leukämie in 1. chronischer Phase transplantiert wurden. Im dargestellten Zeitraum von 1982 bis 2002 verbessert sich die Überlebenswahrscheinlichkeit von Jahr zu Jahr um eineinhalb Prozent.

auch reifen Blutzellen sowie Knochenmarkserüstzellen (so genannte Stromazellen) und besitzt wegen der großen Zahl von beigemischten roten Blutkörperchen eine tiefrote Farbe.

Zur Gewinnung des Knochenmarkstransplantates ist eine Operation notwendig, für die KMT selbst hingegen nicht

Zur Transplantatgewinnung, die üblicherweise in Vollnarkose stattfindet, wird der Beckenkamm des Spenders beidseits wiederholt mit einer Spezialnadel angebohrt (punktiert) und das Transplantat mit einer Spritze abgesaugt (aspiriert).

Im Gegensatz zur Knochenmarkspende ist die eigentliche KMT kein operativer Eingriff. Vielmehr läuft das Transplantat wie eine Bluttransfusion über einen (zentral)venösen Zugang in den Empfänger ein und die Zellen des Transplantates suchen sich anschließend selbst den Weg in die Knochenhöhlräume des Empfängers, um dort anzuwachsen.

Im Regelfall gelingt eine KMT nur, wenn ihr eine vorbereitende Therapie, die so genannte Konditionierung, vorangeht.

Die klassische Konditionierung von Patienten mit Leukämien und anderen bösartigen Erkrankung besteht aus einer hochdosierten Chemotherapie, die oft mit einer Ganzkörperbestrahlung kombiniert wird. Ziel dieser Therapie ist es:

- (1) die (noch) vorhandenen bösartigen Zellen des Patienten so weit wie möglich abzutöten und gleichzeitig
 - (2) die gesunden Abwehrzellen des Patienten so weit wie möglich zu vernichten, um diese daran zu hindern, das Transplantat abzustößen.
- Da diese Art der Konditionierung so hoch dosiert ist, dass die Blutbildung des Patienten dauerhaft beseitigt wird, wird sie im klinischen Sprachgebrauch als myeloablativ bezeichnet. Wächst bei myeloablativ konditionierten Patienten das Transplantat an, entsteht ein so genannter

innovative Ansätze	erklärende Stichworte
Erschließung neuer Stammzellquellen	Transplantation von peripheren Blutstammzellen
Reduzierung der Konditionierungsintensität	so genannte Mini- und Mikrotransplantationen
Transplantat-Aufbereitung	T-Zellen-Depletion, Transplantation von hochangereicherten CD34+-Blutstammzellen
Adaptive antileukämische Immuntherapie nach Transplantation	Transfusion von Spenderlymphozyten (so genannte DLI-Gabe)

(4) Innovationen bei der Allo-BSZT.

kompletter Chimärismus, das heißt die Blutbildung des Patienten wird vollständig von den transplantierten Spenderzellen übernommen. Festzuhalten ist, dass bei Einsatz der klassischen Konditionierung der Chemo- und Radiotherapie eine Hauptrolle bei der Abtötung der bösartigen Zellen zufällt. Das Verfahren beruht also darauf, dass wegen der nachfolgenden Transplantation von Blutstammzellen des Spenders auf die Erholung der patienteneigenen Blutbildung keine Rücksicht genommen werden muss.

Nach allogener KMT können Immunreaktionen in Wirt-gegen-Transplantat und in Transplantat-gegen-Wirt Richtung ablaufen

Trotz Konditionierung können Immunzellen des Patienten überleben. Reagieren diese Zellen gegen fremde Merkmale auf den transplantierten Zellen, spricht man von einer Wirt-gegen-Transplantat-Reaktion (englisch: host-versus-graft, abgekürzt HvG). Je nach Ausprägung kann die HvG-Reaktion zur Transplantatschwäche oder sogar zur Transplantatabstoßung führen. Nach myeloablativer Konditionierung sind Reaktionen in HvG-Richtung jedoch relativ selten.

Klinisch viel bedeutsamer ist die Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (englisch: Graft-versus-host, abgekürzt GvH). Hier reagieren die im Transplantat enthaltenen Spender-Immunzellen gegen Merkmale auf

gesunden Patientenzellen, aber auch gegen Merkmale auf verbliebenen bösartigen Zellen des Patienten.

Im ersten Fall ist die Immunreaktion in GvH-Richtung unerwünscht, da sie beim Patienten eine unter Umständen lebensbedrohliche Erkrankung auslösen kann, die so genannte Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung (englisch: Graft-versus-Host Disease, abgekürzt GvHD). Die GvHD kommt in einer akuten und einer chronischen Form vor. Die akute GvHD entwickelt sich innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation und führt zu Schädigungen der Haut (Abb. 5), des Darmes und/oder der Leber.

Aus einer akuten GvHD kann sich eine chronische Form entwickeln, die zu einer Verdickung der Haut infolge einer Bindegewebsvermehrung, Austrocknung der Schleimhäute, Versiegen der Tränenflüssigkeit und Schädigungen anderer Organe führen kann.

Im zweiten Fall hingegen ist die Immunreaktion in GvH-Richtung sehr erwünscht, da das transplantierte Immunsystem des Spenders bösartige Patientenzellen angreift, welche die Konditionierungstherapie überlebt haben, und somit zu einem Krankheitsrückfall führen können. Diese erwünschte Immunreaktion in GvH-Richtung wird allgemein als Transplantat-gegen-Tumor-Effekt und im speziellen als Transplantat-gegen-Leukämie bzw. -Lymphom-Effekt (englisch: Graft-versus-leukemia or lymphoma, abgekürzt

GvL) bezeichnet. Wie mächtig der GvL-Effekt sein kann, demonstriert Abbildung (6).

Eine Zusammenfassung der Immunreaktionen nach allogener KMT und ihrer möglichen klinischen Auswirkungen zeigt Tabelle (7).

Neben der Konditionierung ist die „GvHD-Prophylaxe“ nach Transplantation ein Eckpfeiler für das Gelingen der klassischen KMT

Da Spender und Empfänger nicht genetisch identisch sind, droht nach der klassischen KMT in jedem Fall eine schwere GvHD, sogar bei verwandten Spendern, die bezüglich ihrer HLA-Merkmale mit dem Patienten völlig übereinstimmen. Daher ist nach klassischer KMT ohne Ausnahme eine Therapie erforderlich, die das transplantierte Immunsystem des Spenders funktionell schwächt. Diese vorbeugende Therapie wird „GvHD-Prophylaxe“ genannt und besteht in der längerfristigen Gabe immunsuppressiv wirksamer Medikamente. Die unspezifisch immunsuppressive Wirkung dieser Medikamente schmälert naturgemäß den erwünschten GvL-Effekt und schwächt das sich neu entwickelnde Immunsystem in seinen Fähigkeiten, Infektion durch Bakterien, Pilze und andere Mikroorganismen abzuwehren. Umgekehrt kann die Reduktion oder die Beendigung der GvHD-Prophylaxe zur Behandlung eines Krankheitsrückfalls in vielen Fällen schon ausreichen.

Das periphere Blut wird inzwischen häufiger als das Knochenmark als Stammzellquelle genutzt

Mitte der neunziger Jahre wurde ein neues Transplantationsverfahren für den klinischen Einsatz verfügbar, die so genannte „periphere Blutstammzelltransplantation“ (PBSZT). Der Name rührt daher, dass als Stammzellquelle für die Transplantation nicht mehr das Knochenmark, sondern das periphere Blut dient. Dank der raschen Etablierung der Methode und der großen Patientenzahlen konnten in Essen² klinische Erfahrungen gesammelt werden, die entscheidend mit dazu beitragen, dass die PBSZT weltweit mit steigender Tendenz eingesetzt wird und bezüglich der Fallzahlen der KMT bereits heute deutlich den Rang abgelaufen hat.

Nachfolgend werden kurz das Prinzip und die klinischen Vorteile der PBSZT dargelegt.

Unter normalen Bedingungen kommen Blutstammzellen nur in verschwindend geringen Konzentrationen im Blutkreislauf vor. Verabreicht man jedoch einem Spender über mehrere Tage subkutan ein die Blutbildung stimulierendes Wachstumshormon, das vom Körper auch bei Infektionen zur Anregung der Bildung von weißen Blutkörperchen ausgeschüttet wird, nimmt die Produktion von Blutstammzellen und von weißen Blutkörperchen auch ohne Vorliegen einer Erkrankung im Knochenmark stark zu. Infolge einer Ausschwemmung der neu gebildeten Zellen aus dem Knochenmark in den Blutkreislauf steigt nicht nur die Konzentration der verschiedenen Unterarten der weißen Blutkörperchen (Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten etc.) an, sondern auch die Konzentration der Blutstammzellen. Zur Transplantatgewinnung wird der Spender dann an ein so genanntes Apheresegerät (Zellseparator) angeschlossen, das von Spenderblut durchflossen wird und in dem

Zellen nach ihren physikalischen Eigenschaften aus dem Blutstrom abgetrennt werden können. Für den Anschluss des Aphereseegerätes werden meist die Ellenbeugevenen des linken und rechten Armes benutzt. Das Aphereseprodukt (Transplantat) enthält neben den Blutstammzellen auch zahlreiche Immunzellen (Lymphozyten, Monozyten und andere), da diese dieselben physikalischen Charakteristika wie die Stammzellen besitzen. Obwohl das Volumen eines Aphereseproduktes nur ungefähr 300 mL beträgt, enthält es eine zehnfach höhere Menge an Stammzellen und Lymphozyten als ein Knochenmarkstransplantat.

Die immunologischen Phänomene (Abstoßung, Transplantat-gegen-Wirt-Erkrankung, GvL-Effekt) sind nach KMT und PBSZT gleich. Im Vergleich zur KMT bietet die PBSZT sowohl dem Spender als auch dem Patienten jedoch eine Reihe von Vorteilen:

- Die Spende von peripheren Blutstammzellen (Apherese) kann ambulant erfolgen, da für diesen Eingriff keine Narkose erforderlich ist.

- Bei der Apherese ist der Verlust an roten Blutkörperchen für den Spender minimal. Die nach der Knochenmarkentnahme üblichen und mehrere Wochen anhaltenden Symptome der Blutarmut (Müdigkeit, Konzentrationsstörungen, Abgeschlagenheit, Leistungsminderung) treten daher nach einer Apherese nicht auf.

- Das Transplantat wächst nach PBSZT etwa eine Woche eher an als nach KMT, da im Aphereseprodukt durchschnittlich etwa dreimal mehr Blutstammzellen enthalten sind als in einem Knochenmarkstransplantat. Dies verringert die Anzahl der vom Patienten bis zum Angehen des Transplantates benötigten Transfusionen von roten Blutkörperchen und Blutplättchen.

- Das vom Spender stammende neue Immunsystem ist bezogen auf die Anzahl und die Leistungsfähigkeit der Abwehrzellen nach PBSZT schneller verfügbar als nach KMT. Dies bedeutet einen besseren Schutz vor Infektionskrankheiten und ein vermindertes Rückfallrisiko der Grundkrankheit (verstärkter GvL-Effekt).



(5) Akute kutane GvHD (Transplantat-gegen-Wirt-Erkrankung) Grad IV°, 23 Tage nach allogener BSZT. Die Oberhaut löst sich unter Bildung von großen, sekretgefüllten Blasen von der Lederhaut ab.

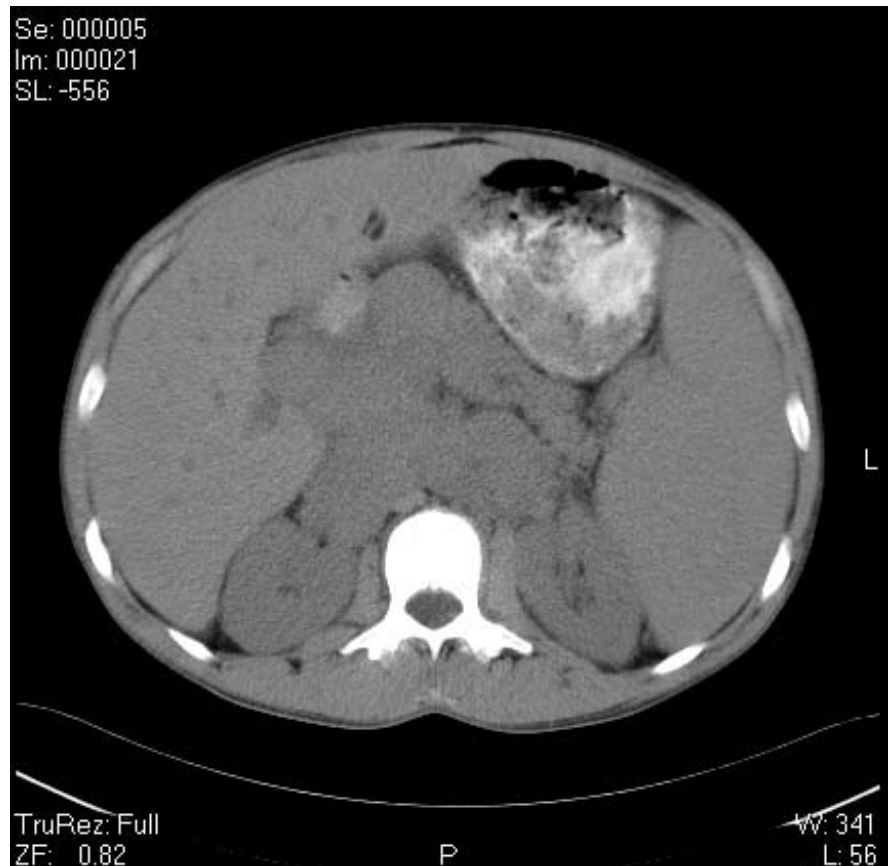
Darüber hinaus sind die Aufarbeitungen von peripheren Blutstammzell-Transplantaten im Labor wegen des deutlich kleineren Volumens einfacher möglich als die von Knochenmarkstransplantaten. Auf diesen Punkt werden wir später im Zusammenhang mit der Hochanreicherung von Stammzellen aus Aphereseprodukten noch zurück kommen.

Eine nicht myeloablative Konditionierung ermöglicht auch bei älteren Patienten und Patienten mit schwereren Begleiterkrankungen die Durchführung der Allo-BSZT

Die klassische, myeloablative Konditionierung ist aufgrund der äußerst hohen Medikamenten- und Strahlendosis mit erheblichen Nebenwirkungsrisiken an allen Organsystemen verbunden. Diese Risiken nehmen mit ansteigendem Lebensalter oder bei Vorliegen von Begleiterkrankungen weiter zu (zum Beispiel bei Vorschädigung des Herzens, der Niere und/oder der Leber aufgrund vorangegangener Chemotherapie).

Um auch älteren Patienten oder Patienten mit ansonsten limitierenden Begleiterkrankungen eine Allo-BSZT bei vertretbarem Risiko zu ermöglichen, wurden in den letzten Jahren Konditionierungsprotokolle erprobt, die mit geringeren Chemotherapie- und Strahlendosen auskommen^{3,4}.

Bei Einsatz dieser Protokolle wird in Kauf genommen, dass die eigene Blutbildung des Patienten teilweise erhalten bleibt (so genannte nicht myeloablative Konditionierung). Nach Transplantation entwickelt sich daher nur ein so genannter gemischter Chimarismus, das heißt eine Koexistenz von Spender- und Patientenblutbildung. Wegen der erniedrigten Chemo- und Radiotherapiedosis ist hiermit natürlich auch eine erhöhte Gefahr verbunden, dass die bösartigen Zellen der Patientenblutbildung durch die Konditionierung nur zahlenmäßig reduziert,



(6) Therapierefraktäres follikuläres Lymphom Stadium IV B vor Transplantation und 13 Monate nach Transplantation (CT-Abdomen).

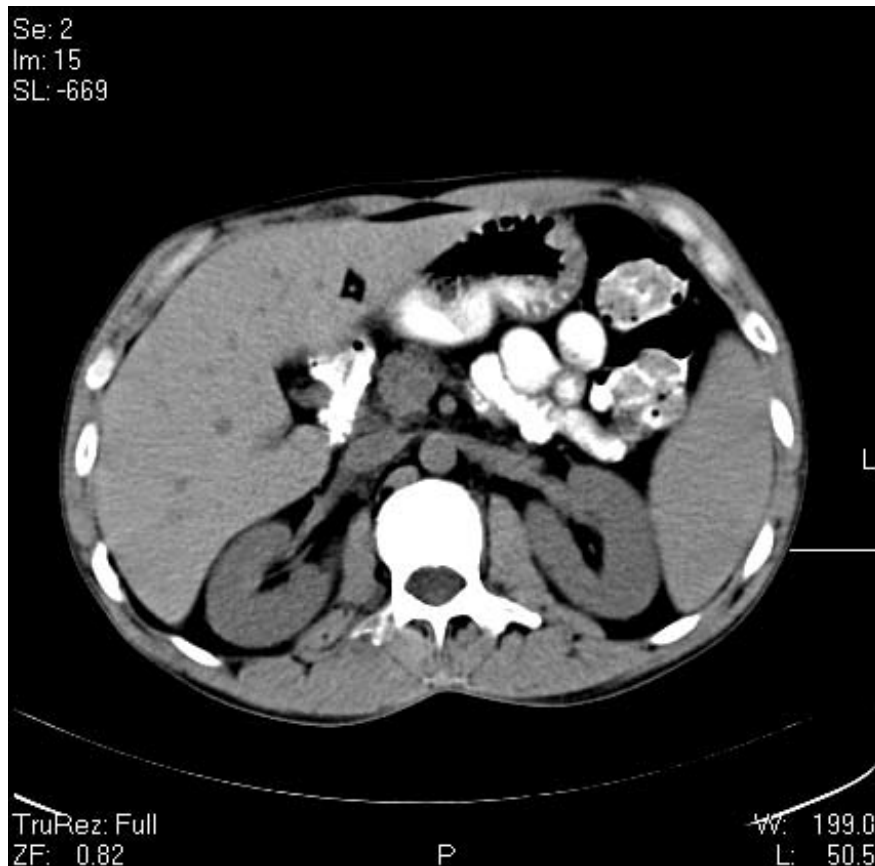
nicht aber beseitigt werden. Dies soll dann nach und nach durch die transplantierten Immunzellen des Spenders bewerkstelligt werden. Das Konzept der reduzierten Konditionierungsintensität verlagert somit die Hauptverantwortung für die Beseitigung maligner Zellen von der Radio-/Chemotherapie auf die immunologischen Reaktionen, das heißt den vorher beschriebenen GvL-Effekt.

Im Vergleich zur klassischen Transplantation sind nach Konditionierung mit reduzierter Intensität

- die akuten Nebenwirkungen deutlich geringer
- das Abstoßungsrisiko erhöht, da die Immunzellen des Patienten aufgrund der reduzierten Chemotherapie- und Strahlendosis weniger effektiv ausgeschaltet werden. Daher wird häufig eine zusätzliche Behandlung mit immunsuppressiven Antikörpern eingesetzt.
- das GvHD-Risiko unverändert.

Daher ist eine Immunsuppression auch nach nicht myeloablativer Konditionierung in vollem Umfang erforderlich.

Der Stellenwert der nicht myeloablativen Konditionierung ist noch nicht abschließend beurteilbar. Erste klinische Studien zeigen aber, dass insbesondere in kontrollierten Krankheitssituationen (zum Beispiel bei akuter myeloischer Leukämie in kompletter Remission) auch bei älteren Patienten gute Ergebnisse erzielt werden können. Fest steht jedoch auch, dass die nicht myeloablative Konditionierung für Patienten mit hochaggressiven, nicht kontrollierten bösartigen Erkrankungen ungeeignet ist. Denn aufgrund der Krankheitsdynamik vermehren sich hier bald nach der reduzierten Konditionierung die bösartigen Zellen wieder so rasant, dass der GvL-Effekt zu spät und damit auch zu schwach wirksam wird.



Nach und nach hat der GvL-Effekt (ohne zusätzliche Therapie) die riesigen Tumormassen im Oberbauch abgeräumt. Auch die Milzvergrößerung ist nicht mehr nachweisbar. Der Patient wurde durch den GvL-Effekt geheilt.

Durch eine Transplantat-Aufarbeitung kann das Risiko einer GvHD vermindert werden

Die Entfernung von T-Zellen aus Knochenmarkstransplantaten kann das GvHD-Risiko senken, verbessert den klinischen Gesamtausgang jedoch nicht.

Ab Anfang der achtziger Jahre wurden Methoden klinisch erprobt (Anti-T-Zell-Antiserum vom Kaninchen, Lectin-Agglutination, Rosettierung mit Schafserythrozyten, monoklonale Antikörper mit Spezifität gegen Oberflächenmoleküle von T-Zellen), reife Spender-T-Zellen aus Knochenmarkstransplantaten vor der Transplantation zu entfernen, um einer GvHD vorzubeugen. Diese so genannte in-vitro T-Zell-Depletion erfüllte zwar ihre Erwartungen, einer GvHD wirksam vorbeugen zu können, verbesserte jedoch den klinischen Gesamterfolg der Kno-

chenmarkstransplantation nicht. Denn die Verringerung der T-Zellen im Transplantat führte zu einer deutlichen Zunahme von Transplantatabstoßungen und Rezidiven der Grundkrankheit. Dies spricht dafür, dass den reifen Spender T-Zellen beim Anwachsen des Transplantates und bei der Vermittlung des GvL-Effektes eine entscheidende Rolle zukommt.

Die Hochanreicherung von CD34-positiven Stammzellen ist ein neuer Ansatz zur Senkung des GvHD-Risikos

Mit Einführung der peripheren Blutstammzelltransplantation wurde das Konzept der T-Zell-Depletion als Prophylaxe für die GvHD neu belebt. Zum einen zeigten klinische Studien, dass nach PBSZT im Vergleich mit der KMT aufgrund der drei- bis vierfach höheren Zahl an

Stammzellen im Transplantat eine Transplantatabstoßung seltener auftritt. Darüber hinaus erlaubte die Verfügbarkeit von monoklonalen Antikörpern mit Spezifität gegen CD34 (Sialomucin, das an der Oberfläche nicht mehr ganz unreifer Stammzellen exprimiert wird) in Kombination mit der modernen Säulentechnologie, das klassische Vorgehen bei der T-Zell-Depletion sozusagen umzukehren. Man entfernt nicht mehr wie früher T-Zellen aus dem Transplantat, sondern reichert zum Zweck der Transplantation über die Säule Blutstammzellen an, während man das restliche Aphereseprodukt einschließlich der Spender-T-Zellen verwirft. Begünstigt wird dieses Vorgehen durch das geringe Volumen des Aphereseproduktes im Vergleich zum Knochenmarkstransplantat.

Dieses Vorgehen wird Hochanreicherung von CD34-positiven (CD34+) Stammzellen genannt und nachfolgend kurz beschrieben.

Das ursprüngliche, nach G-CSF Vorbehandlung aus dem Spenderblut mittels Apherese gewonnene Transplantat (Abb. 8) besteht aus Blutstammzellen, die CD34 auf ihrer Oberfläche tragen, und anderen Zellen (T-Zellen, B-Zellen, Monozyten, NK-Zellen), die alle kein CD34 auf ihrer Oberfläche haben.

Zur Hochanreicherung der CD34-positiven Stammzellen werden kleinste paramagnetische Teilchen (so genannte Mikrobeads) benutzt, die mit einem monoklonalen Antikörper mit Spezifität gegen CD34 stabil beschichtet sind. Unter dem Begriff paramagnetisch versteht man die spezielle Eigenschaft bestimmter Stoffe (beispielsweise des Metalls Gadolinium), innerhalb eines Magnetfeldes selbst magnetische Eigenschaften anzunehmen, während sie diese außerhalb des Magnetfeldes wieder verlieren.

Die mit Anti-CD34-Antikörpern beschichteten Mikrobeads werden, wie in Abbildung (9)

Immunologischer Vektor	HvG-Richtung (Wirt → Transplantat)	GvH-Richtung (Transplantat → Wirt)
Unerwünschter klinischer Effekt (Komplikation)	Immunologisch bedingtes Transplantatversagen (Abstoßung)	Akute und chronische Transplantat-gegen-Wirt-Erkrankung
Erwünschter Effekt	Keiner	Transplantat-gegen-Tumor (Leukämie, Lymphom)-Effekt

(7) Immunreaktionen nach allogener KMT und ihre möglichen klinischen Auswirkungen.

dargestellt, dem Aphereseprodukt zugesetzt und binden nur an die CD34-positiven Blutstammzellen; alle anderen Zellen des Aphereseproduktes bleiben hingegen unmarkiert.

Der Anreicherungsschritt besteht darin, dass man das mit Anti-CD34 Mikrobeads inkubierte Aphereseprodukt durch eine Säule laufen lässt, die mit Metallpartikeln gefüllt und von einem Elektromagneten umgeben ist, der zunächst eingeschaltet ist (Abb. 10, Schritt 1).

Die CD34-positiven Blutstammzellen werden dann durch die an sie gebundenen Mikrobeads durch magnetische Kräfte an den Metallpartikeln in der Säule festgehalten, während die anderen Zellen, die keine Mikrobeads tragen, durch die Lücken zwischen den Metallpartikeln die Säule durchlaufen und als negative Fraktion in einem Gefäß aufgefangen werden können. Nach Abschalten des Magneten (Abb. 10, Schritt 2) verlieren die Mikrobeads ihre magnetischen Eigenschaften und damit ihre Haftung an die Metallpartikel in der Säule. Daher können jetzt die angereicherten CD34-positiven Zellen mit Spülflüssigkeit problemlos aus der Säule ausgewaschen und als positive Fraktion in einem anderen Gefäß aufgefangen werden.

Dieses Vorgehen führt zu einer sehr effektiven T-Zell-Depletion. Denn die zu transplantierende hochangereicherte CD34+-Stammzellen-Fraktion enthält 10.000 bis 100.000 mal weniger T-Zellen als das unmanipulierte Aphereseprodukt.

Transfusion von Spenderlymphozyten nach Allo-BSZT

Tierexperimente und klinische Studien haben belegt, dass sowohl die GvHD als auch der GvL-Effekt durch bestimmte Spenderlymphozyten (die so genannten T-Zellen) vermittelt werden. Klinische Studien haben gezeigt, dass Patienten, die an GvHD erkranken, ein vermindertes Rückfallrisiko ihrer bösartigen Grunderkrankung (so genanntes Rezidiv-Risiko) haben. Hieraus entwickelt sich allerdings nur ein Überlebensvorteil, wenn die GvHD einen nur geringen bis mittleren Schweregrad hat. Umgekehrt führte die Entfernung von Spender-T-Zellen aus dem Transplantat eindeutig zu einem geringeren GvHD-Risiko, aber zu einem deutlich erhöhten Rezidiv-Risiko.

Bemühungen, bei Patienten mit Hochrisiko-Leukämien bereits früh nach Transplantation reife Spender-T-Zellen, die frisch aus dem Venenblut gewonnen werden, zu infundieren, um die Rezidiv-Gefahr zu senken, schlugen fehl, da die Gabe von Spenderzellen fast ausnahmslos eine schwere, gelegentlich sogar tödliche GvHD auslöste.

Ein Ausweg aus dem Dilemma, den positiven GvL-Effekt von Spender-T-Zellen wegen des immensen GvHD-Risikos nicht nutzen zu können, ergab sich aus der Überlegung, die reifen Spender-T-Zellen erst nach Entwicklung einer gewissen Toleranz, das heißt erst relativ spät nach Transplantation (etwa ab

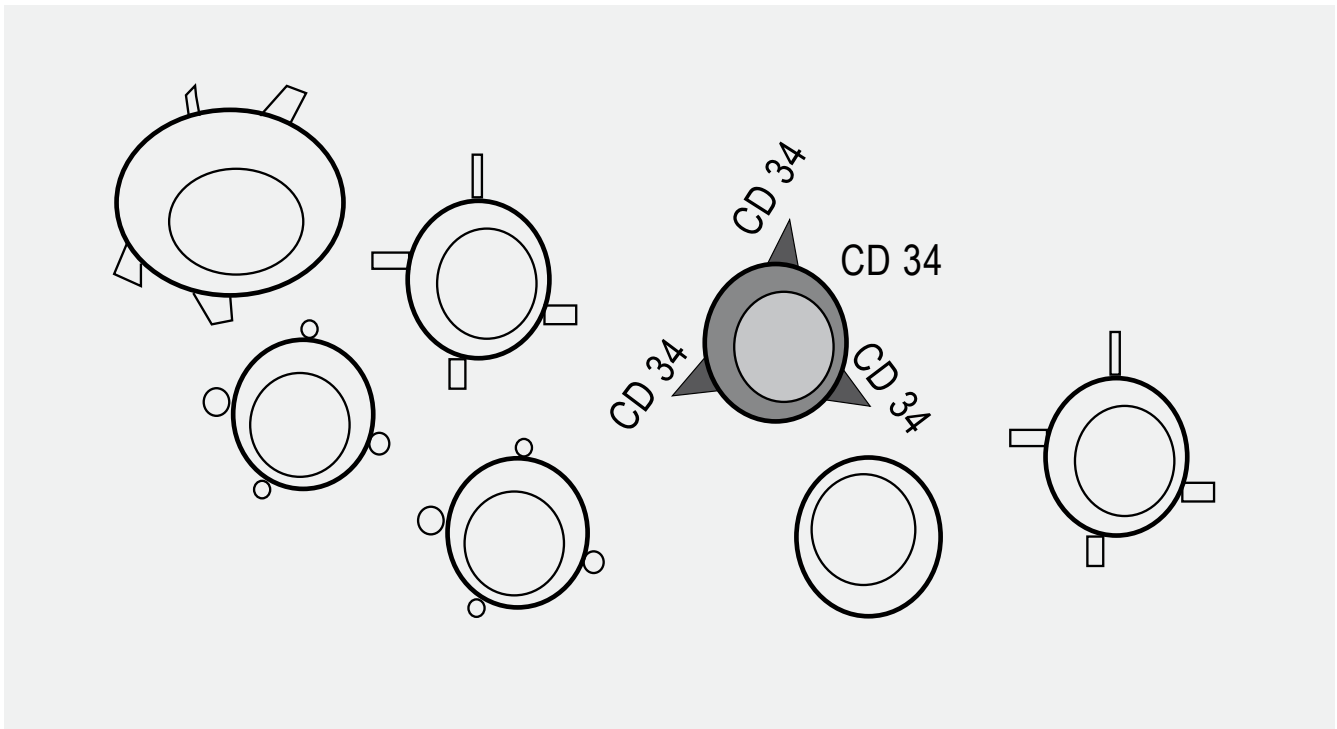
Tag 90) zu verabreichen. Dieser Ansatz wird heute klinisch erfolgreich zur Behandlung eines bereits eingetretenen Rezidivs bei CML und einigen anderen bösartigen Erkrankungen der Blutbildung genutzt und zur Vorbeugung von drohenden, aber noch nicht eingetretenen Rezidiven erprobt. Definitionsgemäß stellt dieser Ansatz ebenso wie die primäre allogene BSZT eine adaptive zelluläre Immuntherapie dar, unter der man allgemein die Verabreichung immunkompetenter Zellen zur Behandlung von bösartigen oder infektiologischen Erkrankungen versteht.

Neue Therapiekonzepte der allogenen BSZT

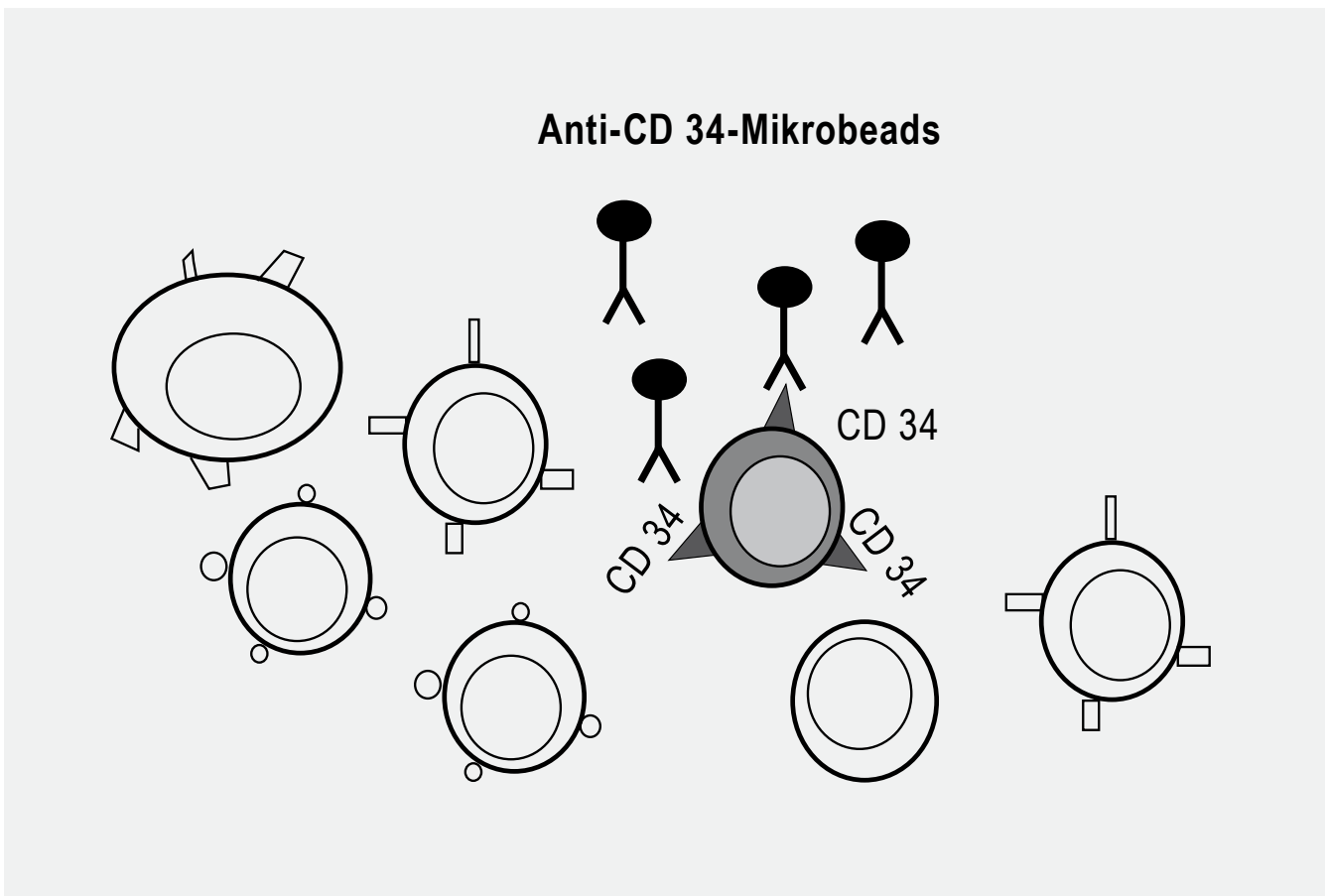
Mini- und Mikro-Transplantationen

Bei der Mini- beziehungsweise Mikro-Transplantation werden periphere Blutstammzellen nach einer Konditionierung mit reduzierter Dosisintensität transplantiert und häufig mit der Gabe von Spenderlymphozyten nach Transplantation kombiniert.

Der Leitgedanke bei der Mini- und Mikro-Transplantation ist es, wie bereits oben dargelegt, die Hauptrolle bei der Beseitigung der bösartigen Zellen dem GvL-Effekt zu überlassen. Um Toxizität einzusparen, nimmt man es, wie bereits dargelegt, in Kauf, dass sich nach Transplantation zunächst nur ein „gemischter Chimärismus“ etabliert, das heißt, dass Reste der



(8) Ursprüngliches Transplantat. Neben Blutstammzellen, die CD34 an ihrer Oberfläche tragen, finden sich im Aphereseprodukt zahlreiche Immunzellen, die kein CD34 tragen, sondern unterschiedlichste andere Marker.



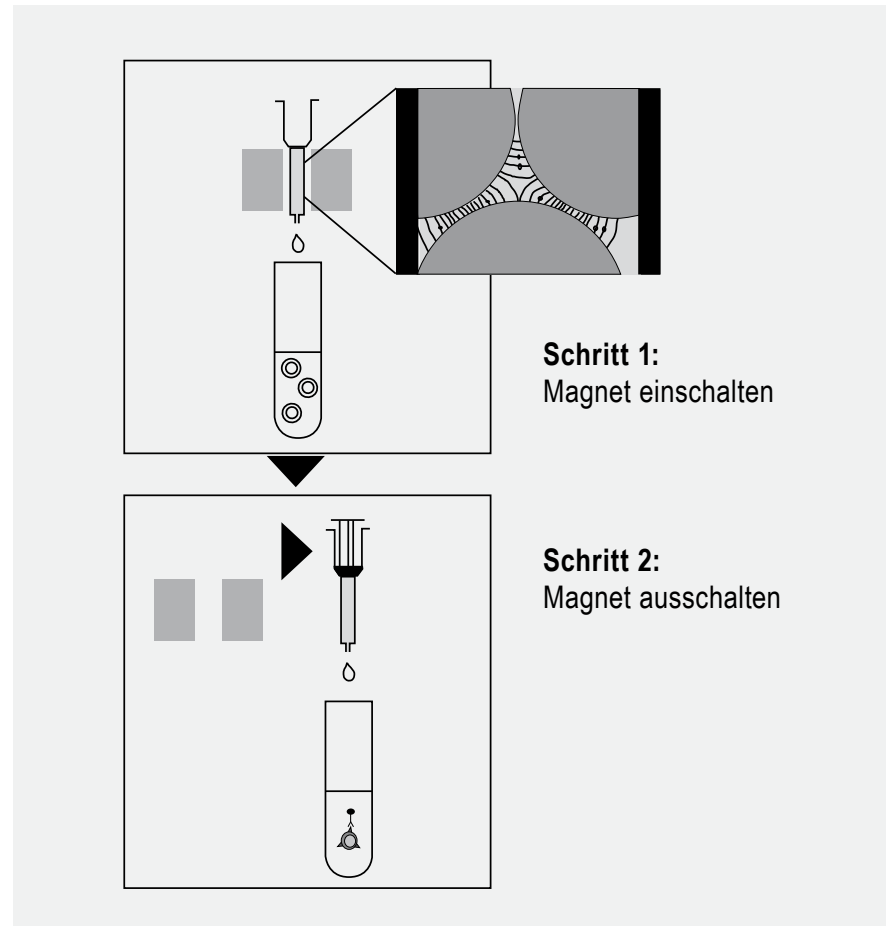
(9) Ursprüngliches Transplantat: Die zugesetzten Anti-CD34-Mikrobeads binden nur an die CD34-positiven Stammzellen.

Patientenblutbildung neben der neuen, transplantierten Spenderblutbildung erhalten bleiben. Übrig gebliebene bösartige Zellen der Patientenblutbildung sollen dann nach und nach von den transplantierten Immunzellen des Spenders (GvL-Effekt) beseitigt werden. Sofern dies nicht spontan geschieht, wird meist ab Tag 90 nach Transplantation mit der wiederholten Gabe von reifen Spenderlymphozyten (DLI) in ansteigender Dosierung nachgearbeitet. Wegen des im Vergleich zur klassischen Transplantation unverändert fortbestehenden GvHD-Risikos ist auch bei Mini- und Mikrotransplantationen eine GvHD-Prophylaxe, das heißt eine längerfristige Immunsuppression erforderlich.

Transplantation von hochangereicherten CD34+ Stammzellen

Bei diesem Konzept⁵ werden die drei innovativen Ansätze der peripheren BSZT, Transplantat-Manipulation und Gabe von Spenderlymphozyten nach Transplantation kombiniert. Die Konditionierung ist myeloablativ, das heißt nicht dosisreduziert.

Die Hochanreicherung von Stammzellen aus dem ursprünglichen Aphereseprodukt führt zu einem Transplantat mit sehr hoher Stammzellkonzentration, das nur noch sehr geringe Mengen an T-Zellen und anderen Immunzellen enthält. Aus dieser Transplantatqualität ergeben sich zwei Vorteile: (1) Die Armut des Transplantates an T-Zellen stellt bereits eine effektive GvHD-Prophylaxe dar. Auf eine medikamentöse GvHD-Prophylaxe nach Transplantation kann daher vollständig verzichtet werden. (2) Die hohe Dosis der transplantierten Stammzellen vermindert die Gefahr der Transplantatabstoßung im Vergleich zur Transplantation von T-Zell-depletierten Aphereseprodukten.



(10) Hochanreicherung von CD34-positiven Stammzellen. Bei eingeschaltetem Magnet werden die CD34-positiven Stammzellen in der Säule zurückgehalten, Zellen, die keine Mikroperlen gebunden haben, passieren die Säule hingegen und werden in einem Gefäß gesammelt. Nach Abschalten des Magnets (Schritt 2) kann man die CD34-positiven Stammzellen problemlos aus der Säule auswaschen.

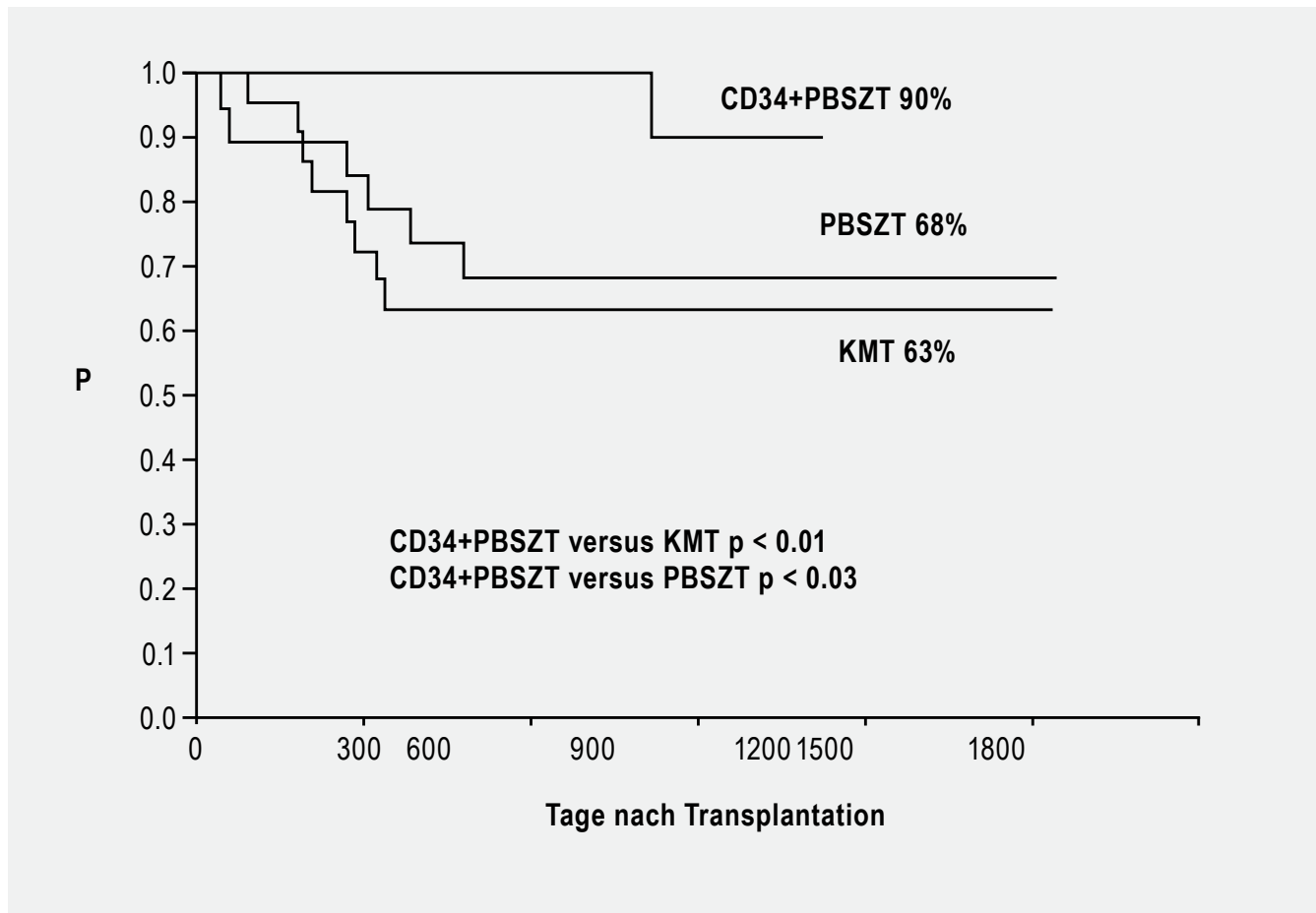
Mini- und Mikrotransplantationsansätze werden bereits häufig eingesetzt

Im Jahre 2004 waren 511 der 1513 in Deutschland durchgeführten allogenen BSZT Mini- oder Mikrotransplantationen.

Wie bereits angesprochen, sind die Mini- und Mikroansätze jedoch nur für Patienten geeignet, bei denen die Grundkrankheit durch eine vorhergehende Chemo- und/oder Radiotherapie in Remission (das heißt zumindest vorübergehend eingedämmt) ist oder einen relativ indolenten Charakter hat, das heißt zu einem nur langsamen Fortschreiten neigt. Denn nur unter diesen Voraussetzungen kann man auf den starken

Anti-Leukämie-Effekt einer myeloablativen Konditionierung verzichten und die Hauptverantwortung für die Beseitigung bösartiger Zellen dem erst allmählich sich entwickelnden GvL-Effekt übertragen. Dieser Effekt kann, wenn erforderlich, durch die Gabe von Spenderlymphozyten nach Transplantation verstärkt werden. Dies wird in der Praxis entweder zur Behandlung von einem bereits eingetretenen oder drohenden Krankheitsrückfall genutzt.

Eine abschließende Beurteilung des Stellenwertes der Mini- und Mikro-BSZT ist wegen der zu kurzen Nachverfolgungszeit von nur wenigen Jahren nicht möglich. Es kann aber festgestellt werden, dass die bisherigen Erfolgsquoten



(11) Allgemeines Überleben (p, nach Kaplan-Meier) für Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie in 1. chronischer Phase nach Allo-BSZT, die mit hochangereicherten peripheren Blutstammzellen (CD34+PBSZT), nicht aufgearbeiteten peripheren Blutstammzellen (PBSZT) und konventionellem Knochenmark (KMT) von einem HLA-identen Geschwisterspender transplantiert wurden.

Quelle: Elmaagacli, A.H., Peceny, R., Steckel, N. et al.: Outcome of transplantation of highly purified peripheral blood CD34+ cells with T-cell add-back compared with unmanipulated bone marrow or peripheral blood stem cells from HLA-identical sibling donors in patients with first chronic phase chronic myeloid leukaemia, in *Blood* 101/2002, 446-453

der Mini- und Mikrotransplantationen bei geeigneten Erkrankungen äußerst vielversprechend sind.

Erfahrungen mit der Transplantation von hochangereicherten CD34-positiven Stammzellen

Insgesamt wurden 60 Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie in erster chronischer Phase mit hochangereicherten CD34-positiven (CD34+) Stammzellen von einem HLA-identischen Geschwisterspender transplantiert und die klinischen Ergebnisse mit denen nach klassischer Knochenmark (KMT)- und peripherer Blutstammzelltransplantation (PBSZT) verglichen.

Die Abbildung 11 zeigt Daten für das allgemeine Überleben der drei Studiengruppen:

Mehrere Faktoren sind für die günstigen Ergebnisse ursächlich: (1) Bereits vor Transplantation werden die bösartigen Zellen weitestgehend beseitigt, da wie beim klassischen Vorgehen eine myeloablative Konditionierung durchgeführt wird.

(2) Die myeloablative Konditionierung wird jedoch vom Patienten besser als bei der klassischen Allo-BSZT vertragen, da die toxischen Therapienebenwirkungen zeitlich nicht mehr, wie nachfolgend dargestellt, mit dem Auftreten einer akuten GvHD überlappen können.

(3) Auf Grund des Fehlens nen-

nenswerter Mengen von T-Zellen im Transplantat werden dem Patienten weitestgehend die Risiken der akuten GvHD erspart.

(4) Da auf die sonst erforderliche immunsuppressive Therapie nach Transplantation zur GvHD-Prophylaxe vollständig verzichtet werden kann, sinkt die Gefahr lebensbedrohlicher Infektionen und vermindert sich das Krankheitsrückfallrisiko.

(5) Die Gabe von Spenderlymphozyten nach Transplantation, sei es prophylaktisch oder nach dokumentiertem beginnendem Rezidiv, entfaltet nach Transplantation mit hochangereicherten Stammzellen eine gute antileukämische Wirkung, während durch nicht näher erforschte Toleranzphänomene die durch eine



Hellmut D. Ottinger. Foto: Timo Bobert

Lymphozytengabe ausgelöste akute GvHD meist einen milden Verlauf nimmt.

In jüngster Zeit ergeben sich darüber hinaus Hinweise, dass neben den T-Zellen auch die so genannten NK-Zellen (natürliche Killerzellen, die bei Normalpersonen bis zu 15 Prozent der Lymphozyten ausmachen, aber weder zu den T-Zellen noch zu den B-Zellen gehören) zur antileukämischen Wirkung nach Allo-BSZT beitragen können, wenn sich Patient und Spender in Gewebeverträglichkeitsmerkmalen unterscheiden, die von NK-Zellen als Zielantigen erkannt werden⁷.

Ausblick

Die allogene Blutstammzelltransplantation ist seit Beginn der siebziger Jahre ein innovatives Feld der Humanmedizin. Für viele Patienten mit Leukämie, malignen Lymphomen und anderen Erkrankungen der Blutbildung stellt dieses Therapieverfahren nach wie vor die einzige Chance auf Heilung dar, mit einer Jahr für Jahr steigenden Erfolgsquote.

Die Klinik für Knochenmarktransplantation beabsichtigt als größtes Zentrum für allogene BSZT in Europa auch in den kommenden Jahren ihren Beitrag zu leisten, die Heilungschancen der Patienten zu verbessern.

Ein wesentlicher wissenschaftlicher Schwerpunkt der Klinik für Knochenmarktransplantation am Universitätsklinikum in Essen ist es, innovative Transplantationskonzepte weiterzuentwickeln, die die Verträglichkeit der Allo-BSZT weiter verbessern, so dass auch Patienten diesem kurativen Therapieverfahren zugeführt werden können, die bisher auf Grund eines inakzeptabel hohen Risikos ausgeschlossen werden mussten. Hierfür kommt der Weiterentwicklung der adaptiven zellulären Immuntherapie eine entscheidende Rolle zu.

Summary

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is now an established treatment modality with a high curative potential for many malignant diseases and other life-threatening disorders of the hematopoietic system.

The classical concept of HSCT has undergone dramatical changes within the last couple of years. Landmarks are the increasing use of peripheral blood instead of bone marrow as stem cell source, the recognition of the role of the donor immune system to eradicate malignant cells, the development of better tolerable preparative regimens, major advances in supportive care, and improved donor selection due to more sophisticated methods for histocompatibility testing. Further, the rapidly increasing number of unrelated donors now allows the application of HSCT in the majority of the affected patients. The recognition, that the donor immune system largely contributes to the curative effect of HSCT, has opened the gate to implement adoptive immunotherapeutic strategies as part of the procedure.

It can be expected that these advances will translate into better tolerable and more effective transplant protocols and improve transplant outcome. In addition even patients who had to be formerly excluded from this treatment option – like elderly patients or those with concomitant diseases – have now become candidates for HSCT.

Anmerkungen/Literatur

- 1) Ottinger, H.D., Müller, C., Beelen, D.W. et al.: Deutsches Register für Stammzelltransplantation (DRST), Jahresbericht 2004 (www.drst.de).
- 2) Ottinger, H.D., Beelen, D.W., Scheulen, B. et al.: Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow, in *Blood* 88/1996, 2775-9.
- 3) Slavin, S., Nagler, A., Nappastek, E. et al.: Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventi-

onal bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases, in *Blood* 91/1998, 756-763.

4) McSweeney, P.A., Niederwieser, D., Shizuru, J.A. et al.: Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects, in *Blood* 97/2001, 3390-3400.

5) Beelen, D.W., Peceny, R., Elmaagacli, A. et al.: Transplantation of highly purified HLA-identical sibling donor peripheral blood CD34+ cells without prophylactic immunosuppression in adult patients with first chronic phase chronic myeloid leukemia: results of a phase II study, in *Bone Marrow Transplantation* 26/2000, 823-829.

6) Elmaagacli, A.H., Peceny, R., Steckel, N. et al.: Outcome of transplantation of highly purified peripheral blood CD34+ cells with T-cell add-back compared with unmanipulated bone marrow or peripheral blood stem cells from HLA-identical sibling donors in patients with first chronic phase chronic myeloid leukaemia, in *Blood* 101/2002, 446-453.

7) Beelen, D.W., Ottinger, H., Ferencik, S. et al.: Genotypic inhibitory killer immunoglobulin-like receptor ligand incompatibility enhances the long-term antileukemic effect of unmodified allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with myeloid leukemias, in *Blood* 105/2005, 2594-2600.

Die Autoren

Hellmut D. Ottinger studierte Humanmedizin in Bonn und London. 1982 erhielt er seine Approbation als Arzt, ein Jahr später promovierte er in Bonn. Ottingers klinische Ausbildung als Arzt für Innere Medizin erfolgte von 1982 bis 1986 am Bundeswehrzentral Krankenhaus Koblenz und von 1986 bis 1990 am Universitätsklinikum in Essen in der Medizinischen Klinik sowie in der Inneren Klinik (Tumorforschung). Seiner Anerkennung als Facharzt folgte eine Tätigkeit am Institut für Immunologie des Universitätsklinikums in Essen bis 1997. Seit 1997 ist Ottinger Klinischer Koordinator der Klinik und Poliklinik für Knochenmarktransplantation am Universitätsklinikum in Essen. Ottingers Forschungsschwerpunkt ist die immungenetische Spenderauswahl für die allogene Blutstammzell-Transplantation. Seit 1998 baut er das Deutsche Register für Stammzell-Transplantationen (DRST) im Auftrag der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation (DAG-KBT) e.V. auf. Habilitiert ist er seit 2004 für das Fach Immunologie.

Dietrich W. Beelen studierte Medizin an der Julius-Maximilians Universität Würzburg von 1974 bis 1980. Er ist Professor für Innere Medizin an der Medizinischen Fakultät der Universität Duisburg-Essen und Direktor der Klinik für Knochenmarktransplantation des Universitätsklinikums in Essen. Beelens Forschungsschwerpunkte sind die allogene

und autologe Stammzelltransplantation, immunologische zelltherapeutische Verfahren, die molekulare Analyse von individual- und krankheits-spezifischen genetischen Merkmalen und die Entwicklung von neuen Hochdosis-therapie-Verfahren.

Vom Konzept zur klinischen Anwendung

Ottinger, Hellmut; Beelen, Dietrich

In: UNIKATE: Berichte aus Forschung und Lehre / Heft 27 (2006)

Dieser Text wird über DuEPublico, dem Dokumenten- und Publikationsserver der Universität Duisburg-Essen, zur Verfügung gestellt.

Die hier veröffentlichte Version der E-Publikation kann von einer eventuell ebenfalls veröffentlichten Verlagsversion abweichen.

URN: [urn:nbn:de:hbz:464-20190314-144316-8](https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:hbz:464-20190314-144316-8)

Link: <https://duepublico.uni-duisburg-essen.de:443/servlets/DocumentServlet?id=48363>

Rechtliche Vermerke:

Sofern nicht im Inhalt ausdrücklich anders gekennzeichnet, liegen alle Nutzungsrechte bei den Urhebern bzw. Herausgebern. Nutzung - ausgenommen anwendbare Schrankenregelungen des Urheberrechts - nur mit deren Genehmigung.

Quelle: Druckausg. erschienen bei ESSENER UNIKATE 27, 2006, ISBN 3934359272