



*Bei Leukämie ist häufig eine Blutstammzelltransplantation die geeignete Therapie. Am Universitätsklinikum Essen forscht man an der Stärkung des Immunsystems nach dem Kraftakt der Transplantation.*

# Zurück ins Leben

## Wie sich das Immunsystem nach einer Blutstammzelltransplantation erholt

Von Monika Lindemann, Peter A. Horn, Dietrich W. Beelen

Seit etwa 40 Jahren wird die Blutstammzelltransplantation bei Patienten erfolgreich eingesetzt, um vorrangig bösartige Erkrankungen der Blutbildung und des lymphatischen Systems – insbesondere Leukämien – zu heilen<sup>1</sup>. Von Leukämie, häufig auch als „Blutkrebs“ bezeichnet, spricht man dann, wenn weiße Blutkörperchen oder ihre Vorstufen sich unkontrolliert vermehren. Aufgrund der vielfältigen Reifungs- und Teilungsschritte der Blutbildung gibt es entsprechend vielfältige Unterformen der Leukämien. Die weißen Blutkörperchen oder Leukozyten sind entscheidend für die Abwehr und Bekämpfung von Infektionen. Sie unterteilen sich in Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten. Jede dieser Zellarten hat spezielle Aufgaben. Granulozyten sind insbesondere für die rasche Zerstörung und Abwehr von Bakterien und Pilzen zuständig. Monozyten sind spezialisierte Fresszellen, die aus dem Blut in das Gewebe auswandern. Lymphozyten wehren Virusinfektionen ab und bilden Antikörper gegen

Krankheitserreger. Die Blutzellen besitzen entsprechend ihrer Funktion nur eine begrenzte Lebensdauer und müssen deshalb ständig erneuert werden. Dies geschieht im Knochenmark, dem Ort der Blutbildung. Aus blutbildenden Stammzellen werden alle Formen der Blutzellen neu gebildet. Das blutbildende (rote) Knochenmark ist bei Erwachsenen in den Hohlräumen einiger Knochen verteilt (Becken, obere Abschnitte des Oberarm- und Oberschenkelknochens, Wirbelkörper, Schädel, Brustbein) und in ständigem Austausch mit dem Blut. Im Knochenmark werden aus wenigen Vorläufer- oder Stammzellen durch zahlreiche Zellteilungen und Reifungsschritte alle Formen der Blutzellen in großer Zahl neu gebildet. Sobald Stammzellen ausgereift sind, treten sie ins Blut über. Manchmal ist die Knochenmark-Blutsschranke durchlässig und schwemmt Vorstufen der Blutbildung oder sogar Stammzellen ins Blut aus.

Auf jeder Stufe der normalen Blutbildung kann es zur *Entartung*

von Zellen kommen. Gesunde Zellteilung, die zum Wachstum oder zum Ersatz alter oder geschädigter Zellen notwendig ist, verläuft planvoll und gesteuert. Wird die vorgegebene Wachstumsgrenze erreicht, hören gesunde Zellen auf, sich zu teilen. Bei entarteten Zellen ist dies anders. Sie unterliegen nicht mehr der Feinregulation des normalen Wachstums der Blutzellen, sondern vermehren sich unkontrolliert. Die Einteilung der Erkrankungen aufgrund entarteter Blutbildung erfolgt entsprechend der Entwicklungsebene, auf der die Entartung stattfindet. Auch spielt die Geschwindigkeit des Wachstums der entarteten Zellen eine Rolle. Die unkontrollierten Zellteilungen verdrängen die gesunden Zellen der Blutbildung. Anzeichen einer Fehlfunktion des Knochenmarks sind Abwehrschwäche mit nachfolgenden Infektionen, Blutungsneigung sowie Zeichen des Mangels an roten Blutkörperchen (Anämie). Die Leukozytenwerte im Blut können dabei stark erhöht oder auch stark verringert sein.

## Blutstammzelltransplantation

Bei der Blutstammzelltransplantation, einer kurativen Therapieoption bei Leukämien, können die Patienten ihr Transplantat von einem gewebeverträglichen, verwandten oder nicht verwandten Spender erhalten (= allogene Transplantation). Eine gute Gewebeerträglichkeit ist meist eine notwendige Voraussetzung für eine erfolgreiche allogene Blutstammzelltransplantation. Nachdem die Patienten durch die Transplantation auch das Immunsystem des Spenders erhalten haben, besteht das Risiko, dass das Immunsystem des Spenders den Empfänger als fremd erkennt und dadurch schwerwiegende Immunreaktionen gegen Empfängergewebe auslösen kann. Die Fremderkennung läuft hierbei hauptsächlich über die HLA-Moleküle (Humane Leukozyten Antigene). Von diesen Molekülen gibt es sehr viele Varianten, so dass die meisten Menschen sich in ihren HLA-Merkmalen unterscheiden. Um die gegen den Empfänger gerichtete Immunreaktion möglichst gering zu halten, ist das wichtigste Ziel der Spenderauswahl, einen HLA-identischen Spender zu finden. Zunächst werden die HLA-Merkmale des Patienten mit den Merkmalen seiner Geschwister – soweit vorhanden – verglichen. Findet man innerhalb der Geschwister einen geeigneten HLA-identischen Spender (25 % Erfolgschance pro Geschwisteranteil), so wird dieser im Regelfall als Spender herangezogen. Allerdings kann eine Erkrankung des potenziellen Familienspenders eine Kontraindikation für seine Spende sein. Steht kein geeigneter Geschwisterspender zur Verfügung, wird weltweit in Spenderdateien nach (möglichst) HLA-identischen nicht verwandten Spendern gesucht. Zurzeit sind weltweit über 19 Millionen freiwillige Blutstammzellspender in Spenderdateien in Europa, USA, Südamerika, Australien und Asien registriert.

Neben der allogenen Blutstammzelltransplantation ist bei anderen bösartigen hämatologischen Erkrankungen wie dem multiplen Myelom die autologe Blutstammzelltransplantation eine Therapieoption, bei der nach einer besonders hoch dosierten Chemotherapie zuvor gewonnene eigene (= autologe) Blutstammzellen zur Minderung ihrer knochenmarkschädigenden Wirkung zurückgegeben werden. Das multiple Myelom ist eine Sonderform der B-Zell-Lymphome, von Erkrankungen mit häufig tumorösen Lymphknotenschwellungen. Typischerweise ist das multiple Myelom durch die überschießende Produktion von monoklonalen Antikörpern (so genannte Paraproteinen) oder ihrer Bestandteile (Leichtketten) sowie durch Defekte des knöchernen Skeletts (Osteolysen) charakterisiert. Ausgeprägte Osteolysen können dabei auch zu spontanen Knochenbrüchen führen. Bei der autologen Blutstammzelltransplantation besteht das Transplantat aus körpereigenen Stammzellen der Blutbildung. Es wird vom Patienten gesammelt, dann eingefroren und dem Patienten zu einem späteren Zeitpunkt nach der hoch dosierten Chemotherapie ähnlich wie eine Bluttransfusion zurückgegeben.

Bevor die eigentliche Transplantation durchgeführt werden kann, ist eine Vorbehandlung des Patienten erforderlich. Sie dient dazu, die erkrankten Zellen des blutbildenden oder lymphatischen Systems abzutöten und den Patienten so vorzubereiten, dass sich bei ihm das Spender-Immunsystem dauerhaft etablieren kann. Diese Vorbehandlung (= Konditionierung) besteht aus einer Chemotherapie, auch kombiniert mit einer Ganzkörperbestrahlung. Sowohl bei der allogenen, als auch bei der autologen Blutstammzelltransplantation kommt es infolge der Konditionierung zu einer ausgeprägten Immunsuppression, die die Patienten sehr anfällig für Infektionen macht. Zusätzlich wirkt bei der allogenen Transplantation

gegebenenfalls auch die Ganzkörperbestrahlung immunsuppressiv.

Als Formen der allogenen Blutstammzelltransplantation unterscheidet man die „klassische“ Transplantation von aus dem Knochenmark gewonnenen blutbildenden Stammzellen (= Knochenmarktransplantation) von der Transplantation mit aus peripherem Blut gewonnenen Stammzellen (= Blutstammzelltransplantation). Für die Knochenmarktransplantation eines erwachsenen Patienten wird dem Spender in Vollnarkose mittels spezieller Nadeln etwa 1,5 Liter Knochenmark-Blut-Gemisch aus beiden Beckenkämmen entnommen. Bei der peripheren Blutstammzelltransplantation spritzt der Spender sich mehrfach Knochenmark-stimulierende Wachstumsfaktoren unter die Haut (subkutan, ähnlich wie bei der Insulinspritze). Diese Faktoren führen zu einer vermehrten Freisetzung von Stammzellen aus dem Knochenmark ins Blut. Die Stammzellen aus dem Blut des Spenders werden nachfolgend mit einem Zellseparator gesammelt. Dazu erhält der Spender zwei venöse Zugänge. Über den einen wird das Blut in den Zellseparator geleitet, über den anderen werden die Blutzellen, die der Patient nicht benötigt, zurückgegeben. Die so erhaltenen Blutstammzellpräparate haben im Verhältnis zu Knochenmarkpräparaten durchschnittlich einen höheren Gehalt an Blutstammzellen und reifen, immunkompetenten Lymphozyten.

Für beide oben genannten Formen der Blutstammzelltransplantation werden die Patienten in der Regel eine Woche vor dem geplanten Transplantationstermin stationär aufgenommen. Der erste Behandlungsschritt ist die Anlage eines zentralen Venenkatheters. Sie ermöglicht unter anderem die Gabe von intravenöser Ernährungstherapie, Flüssigkeiten und Medikamenten zur Konditionierung. Die eigentliche Übertragung der Blutstammzellen ist, im Gegensatz zum tatsächlich stattfindenden Prozess im Körper,

sehr unspektakulär. Die Stammzellen werden dem Patienten bei allogener Transplantation in der Regel frisch in einem Blut- oder Stammzellbeutel innerhalb von 30 Minuten bis zwei Stunden über den zentralen Venenkatheter transfundiert. Bei autologer Transplantation wurden die Blutstammzellen zwischenzeitlich kryokonserviert. Die Blutstammzellen suchen sich dann selbstständig im Körper ihren Weg ins Knochenmark, siedeln sich dort an und beginnen zu wachsen. Auch wenn die Blutstammzellen wenige Tage nach Abschluss der Konditionierungstherapie transfundiert werden, brauchen diese ein bis zwei Tage, bis sie ihren Weg ins Knochenmark gefunden haben. Sie müssen dort viele Teilungsschritte durchlaufen, bis sich wieder reife Blutzellen bilden können. Im Mittel dauert es etwa 12 bis 14 Tage, bis aus Stammzellen der Blutbildung reife weiße Blutkörperchen gebildet werden. Bei Knochenmark dauert es oft einige Tage länger. Da die Konditionierung die körpereigenen Stammzellen zerstört hat, fällt die Anzahl der Blutzellen meist im Laufe der Chemotherapie, spätestens aber fünf bis sieben Tage nach der Transplantation bis auf praktisch nicht mehr nachweisbare Werte ab. Die Phase, in der das alte Knochenmark nicht mehr und das neue noch nicht funktioniert, nennt man die aplastische Phase. Vielfältige Isolationsmaßnahmen auf der behandelnden Krankenhausstation (z. B. Schleusen, Luftfilterung, keimfreie Ernährung, Händedesinfektion) und die Gabe prophylaktischer Medikamente gegen Pilze und Darmbakterien sollen die Patienten in dieser Phase umfassend vor Infektionen schützen. Neben dem Fehlen der Leukozyten stellen Schleimhautschädigungen eine zusätzliche Gefahrenquelle dar. Ihr Maximum wird in der Regel am fünften bis zehnten Tag nach der Transplantation erreicht. Sie können eine Eintrittspforte für Infektionen sein. Selten können neben Fieber und Infektionen in der aplastischen Phase auch Organkom-

	Zeitpunkt nach Blutstammzelltransplantation		
Infektlokalisation	früh (<1 Monat)	mittel (1-5 Monate)	spät (≥6 Monate)
disseminiert	<b>Bakterien</b> (aerobe gramnegative, grampositive)	<b>Bakterien</b> (Norcadia, Aktinomyces) <b>Pilze</b> (Candida, Aspergillus)	<b>Kapselbildende Bakterien</b> (Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis)
Haut und Schleimhäute	<b>Herpes simplex Virus</b>	<b>Humanes Herpesvirus Typ 6</b>	<b>Varizella Zoster Virus</b>
Lunge	<b>Herpes simplex Virus</b>	<b>Viren</b> (Zytomegalievirus, Humanes Herpesvirus Typ 6) <b>Parasiten</b> (Toxoplasma gondii) <b>Pilze</b> (Pneumocystis)	
Leber	<b>Hepatitis B und C Virus</b>	<b>Hepatitis B und C Virus</b>	<b>Hepatitis B und C Virus</b>
Niere			<b>Viren</b> (BK-Virus = Humanes Polyomavirus 1)
Gehirn			<b>Parasiten</b> (Toxoplasma gondii) <b>Viren</b> (JC-Virus = Humanes Polyomavirus 2)

(1) Typische Infektionen nach Blutstammzelltransplantation.

Quelle: modifiziert und ergänzt nach Dietel, M., Suttrop, N., Zeitz, M. (Hrsg.): Harrisons Innere Medizin, ABW Wissenschaftsverlag, Berlin 2005

pplikationen auftreten wie Leberentzündungen, Blasenentzündungen oder eine Einschränkung der Nierenfunktion.

### Transplantat-gegen-Wirt-Krankheit

Nach Blutstammzelltransplantation werden zur Verhinderung schwerwiegender Immunreaktionen des Spenders gegen den Empfänger (Transplantat-gegen-Wirt Krankheit bzw. Graft-versus-host disease,

GvHD) weiter immunsuppressive Medikamente verabreicht, die als Nebenwirkung die Infektionsabwehr schwächen. Die Gabe dieser immunsuppressiven Medikamente kann bei günstigem Verlauf etwa zwölf Monate nach Transplantation beendet werden kann. Damit ist eine Kehrseite der Heilung einer Leukämie oder einer anderen hämatologischen Erkrankung eine zunächst ausgeprägte und längerfristige Immunsuppression. Die Abbildung (1) fasst typische Infektionen

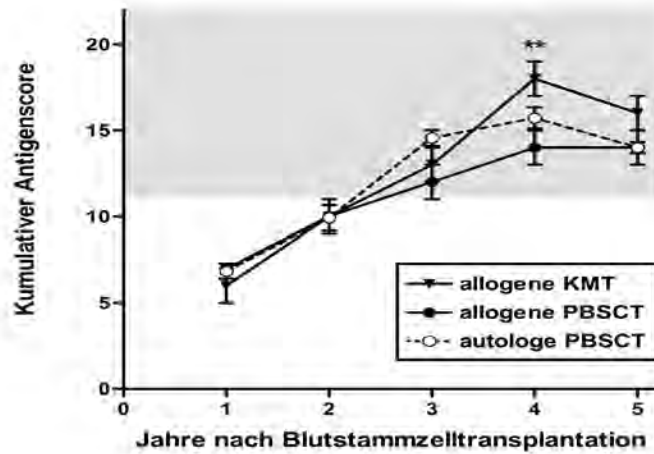
nach Blutstammzelltransplantation zusammen (Abb. 1).

Eine vollständige Wiederherstellung (Rekonstitution) der Immunfunktion – und damit eine intakte Infektabwehr – benötigt nach allogener Blutstammzelltransplantation unter Umständen mehrere Jahre. Unsere vorläufigen Analysen der Lymphozytenfunktion weisen darauf hin, dass es im Mittel etwa zweieinhalb Jahre nach allogener Blutstammzelltransplantation zur vollständigen Rekonstitution einer adäquaten antimikrobiellen Infektabwehr kommt (Abb. 2). Dabei ist die antimikrobielle *in vitro* Immunantwort vier Jahre nach Knochenmarktransplantation signifikant stärker als nach peripherer Blutstammzelltransplantation. Die Form der Blutstammzelltransplantation und die Dauer der medikamentösen Immunsuppression beeinflussen entscheidend, wann ein Patient wieder ein voll funktionsfähiges Immunsystem nach der Transplantation besitzt.

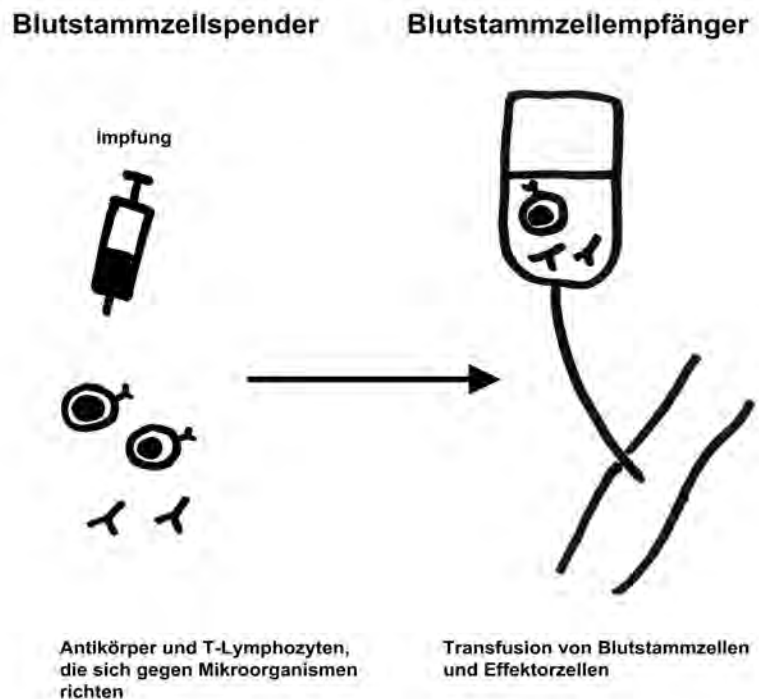
Nach autologer Blutstammzelltransplantation und Hochdosischerchemotherapie, wie sie beim multiplen Myelom eingesetzt werden, ist eine verminderte antimikrobielle *in vitro* Immunantwort für etwas mehr als zwei Jahre zu beobachten<sup>2</sup> (Abb. 2). Die Dauer einer verminderten Infektabwehr ist damit nach allogener versus autologer Blutstammzelltransplantation im Mittel ähnlich.

**Möglichkeiten zur Stärkung des Immunsystems**

Welche Möglichkeiten gibt es, die Erholung des Immunsystems (= *Immunrekonstitution*) beim transplantierten Patienten günstig zu beeinflussen und seine Immunkompetenz zu steigern? Grundsätzlich kann man vor der Transplantation dafür sorgen, dass das Immunsystem des Blutstammzellspenders viele klinisch bedeutsame Mikroorganismen möglichst effektiv erkennt, oder man kann nach der Transplantation versuchen, antiinfektiöse oder auch



(2) Zelluläre *in vitro* Reaktion gegenüber zwölf verschiedenen mikrobiellen Antigenen bei Patienten nach allogener Knochenmarktransplantation (allogene KMT), nach allogener peripherer Blutstammzelltransplantation (allogene PBSCT) und nach autologer peripherer Blutstammzelltransplantation (autologe PBSCT). Der Normbereich (ab einem kumulativen Antigenscore von 11) ist grau unterlegt. Der kumulative Antigenscore ist die Summe der Reaktionen auf die zwölf mikrobiellen Antigene. \*\* $P < 0,01$  für den Vergleich zwischen allogener KMT und PBSCT (Mann-Whitney-Test). Angegeben sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwerts.



(3) Prinzip des Immuntransfers durch Impfung von Blutstammzellspendern. Beim Spender wird durch Impfung eine Immunantwort gegen Mikroorganismen induziert. Dabei werden spezifische Antikörper und T-Lymphozyten gebildet. Diese spezifische Immunität wird mit dem Transplantat in den Empfänger transfundiert.

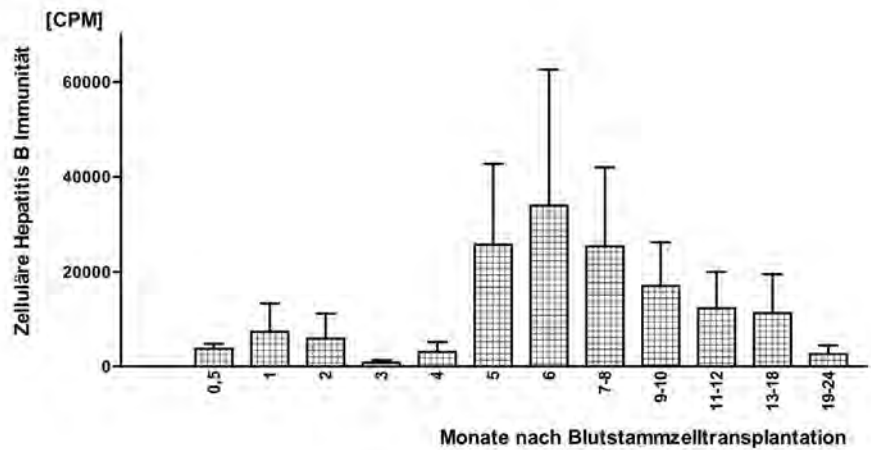
antitumorale Immunantworten im Empfänger zu verstärken.

Eine geeignete Maßnahme, die Immunkompetenz im Spender zu steigern, ist die Impfung (Abb. 3). Am Beispiel der Impfung gegen Hepatitis B, Diphtherie oder Tetanus konnten wir zeigen, dass die Impfantwort mit der allogenen Blutstammzelltransplantation vom Spender auf den Empfänger (Patienten) übertragen werden kann<sup>3</sup>. Da das Spender-Immunsystem im Patienten nach Transplantation die Infektabwehr übernimmt, ist ein möglichst guter Impfschutz vorteilhaft für Spender und Empfänger. Bei unseren Patienten konnte in einigen Fällen die Kenntnis des Immuntransfers durch Transplantation bereits gezielt therapeutisch genutzt werden. Durch Impfung des Spenders vor Transplantation gelang es, bei einem Blutstammzell-Empfänger die Reaktivierung einer akuten Hepatitis B-Infektion zu verhindern und bei einem anderen eine chronische Hepatitis B-Infektion zur Ausheilung zu bringen. Durch eine Impfung kurz vor Transplantation ist es möglich, die Frequenz spezifischer Zellen gezielt zu erhöhen. So konnten wir beobachten, dass bei einem Patienten, der Blutstammzellen von einem Spender mit kürzlich durchgeführter Hepatitis B Impfung erhalten hatte, die *in vitro* Immunantwort gegen Hepatitis B die Antwort gegen zwölf weitere verbreitete Mikroorganismen eindeutig dominierte. Diese Beobachtung zeigt, dass eine spezifische Immunität, die gegen Mikroorganismen oder möglicherweise auch gegen Tumorantigene gerichtet ist, durch eine Spendervakzination kurz vor Transplantation besonders effektiv gesteigert und auf den Empfänger übertragen werden kann. An insgesamt 19 Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie (CML) konnten wir beobachten, dass nach Spenderimpfung gegen Hepatitis B-Virus innerhalb der ersten vier Monate

die übertragene zelluläre Immunität noch relativ gering war und dann ab Monat 5 – ohne Impfung beim Empfänger – deutlich anstieg (Abb. 4). Diese Empfänger hatten eine allogene Blutstammzelltransplantation (Knochenmark oder periphere Blutstammzellen) ohne Entfernung von T-Lymphozyten (= T-Zelldepletion) erhalten. Die Impfung ermöglicht demnach für ein bestimmtes virales Ziel-Antigen, dass bereits relativ früh nach einer Transplantation wieder eine gute spezifische zelluläre Immunität im Empfänger erreichbar ist.

Beim Empfänger selbst ist eben-

Ein weiterer therapeutischer Ansatz ist die Induktion einer antitumoralen Immunantwort beim Patienten nach Transplantation. Beim multiplen Myelom zum Beispiel wird beschrieben, dass eine Vakzination mit tumorspezifischen dendritischen Zellen (gerichtet gegen den so genannten Idiotyp) in Monat 2 und 3 nach autologer Blutstammzelltransplantation und Hochdosischemotherapie begonnen wurde<sup>4,5</sup>. Üblicherweise werden bei diesem Verfahren Monozyten durch Zugabe von Zytokinen (Botenstoffen) und Wachstumsfaktoren zu dendritischen Zellen



(4) Nachweis der zellulären Immunität gegen Hepatitis B Virus, die von 19 geimpften Spendern auf nicht-geimpfte Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie übertragen wurde. Es zeigt sich, dass die übertragene Immunität ab Monat 5 nach Transplantation – ohne Impfung des Empfängers – deutlich stärker wird. Die Zellteilungsrate als Maß für die zelluläre Hepatitis B-Reaktion wurde durch den Einbau einer radioaktiven Substanz bestimmt; die Einheit beträgt Zerfälle pro Minute [Counts per minute (CPM)]. Angegeben sind Mittelwert und Standardabweichung des Mittelwerts.

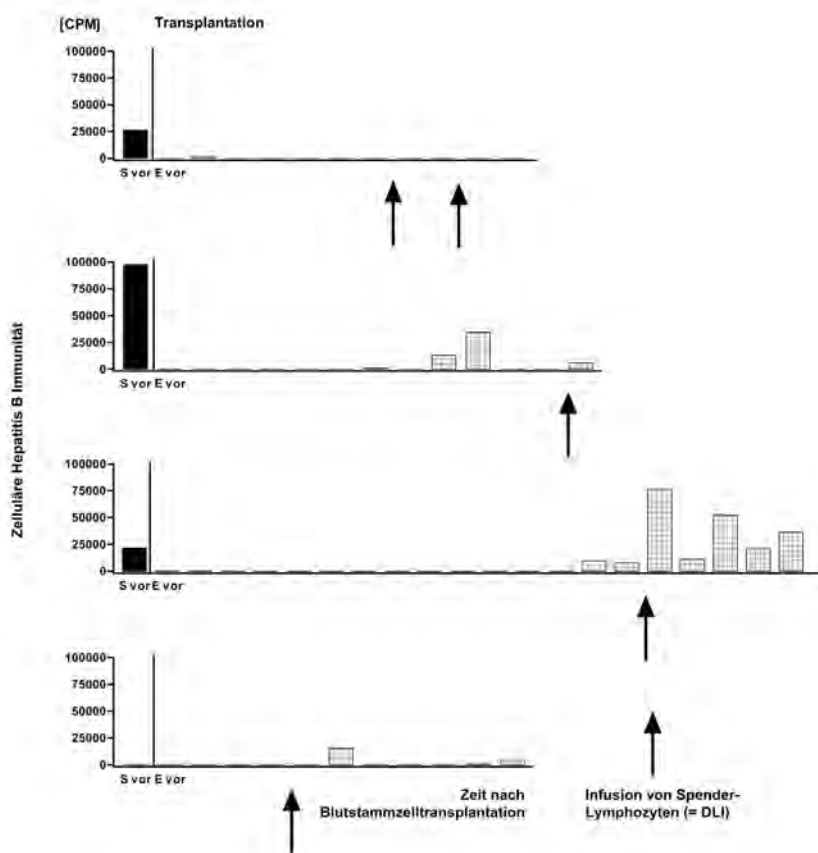
falls eine Verstärkung der Immunantwort möglich. Allerdings muss dies nach Transplantation erfolgen, weil durch Chemotherapie/Ganzkörperbestrahlung immunkompetente Zellen zerstört werden. Bei der Suche nach dem geeigneten Zeitpunkt ist zu beachten, dass die Infektanfälligkeit unmittelbar nach Transplantation am stärksten ist. Allerdings ist dann auch die Immunkompetenz am geringsten, so dass manche Immuntherapien nicht wirken können.

umdifferenziert und danach mit bestimmten Protein-Antigenen beladen. Anschließend werden die dendritischen Zellen dem Patienten wie eine Impfung injiziert. Ziel dieser Tumorkvakzination mit dendritischen Zellen war es, frühzeitig ein Wiederauftreten der Grunderkrankung zu verhindern. Nach unseren eigenen Ergebnissen<sup>2</sup> ist allerdings so früh nach Transplantation kaum von einer effektiven Vakzination mit dendritischen Zellen auszugehen, da T-Zellantworten

noch sehr schwach sind und die applizierten dendritischen Zellen nur dann wirken können, wenn sie funktionstüchtige spezifische T-Lymphozyten aktivieren können.

Eine Infusion von Spenderlymphozyten (Donor Lymphocyte Infusion, DLI) kann frühzeitig nach Transplantation erfolgen, um etwa eine antivirale Immunantwort (zum Beispiel gegen Herpesviren oder Hepatitis B-Virus) oder eine antitumorale Immunantwort (zur Verhinderung eines Krankheitsrückfalls) zu verstärken. Damit lässt sich eine Reaktivierung oder Infektion zum Beispiel mit Zytomegalievirus, Herpes simplex Virus und Epstein-Barr Virus therapieren oder eine antileukämische Immunantwort induzieren. Wir haben beispielhaft

vier CML-Patienten, die mit hochangereicherten Stammzellen transplantiert wurden, engmaschig nachuntersucht. Zur Verhinderung einer Transplantat-gegen-Wirt Krankheit wurden aus ihren Transplantaten die T-Lymphozyten entfernt (depletiert). Die vier zugehörigen Blutstammzellspender wurden vor der Transplantation gegen Hepatitis B geimpft. Interessanterweise verhinderte die T-Zelldepletion zunächst den Transfer von zellulärer Immunität, die gegen Hepatitis B gerichtet ist (Abb. 5). Bei drei der vier CML-Patienten konnte aber durch DLI-Gabe nach Transplantation die Immunität gegen Hepatitis B verstärkt werden. Es findet also durch die DLI ebenfalls ein Immuntransfer statt.



(5) Verstärkung der zellulären Immunität gegen Hepatitis B Virus (HBV) nach Infusion von Spenderlymphozyten (DLI). Es sind Verläufe von vier Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie dargestellt. Die Empfänger hatten vor Transplantation keinen Kontakt zu HBV, erhielten aber DLI von HBV-geimpften Spendern. Durch die Gabe von DLI war in drei von vier Fällen ein Immuntransfer möglich. CPM = Counts per minute (s. Legende zu Abb. 4), E = Empfänger, S = Spender.

Unselektierte Spenderlymphozyten haben allerdings den Nachteil, dass sie neben Lymphozyten mit der gewünschten Spezifität auch solche enthalten, die für den Patienten gefährlich sein können. So werden neben Lymphozyten, die eine antivirale oder antitumorale Immunantwort vermitteln auch solche übertragen, die als Nebenwirkung eine Transplantat-gegen-Wirt Krankheit auslösen können. Zur Erhöhung der Spezifität ist es möglich, gezielt T-Lymphozyten zu expandieren und selektionieren<sup>6</sup>. Diese spezifischen T-Lymphozyten können für die klinische Anwendung zum Beispiel mit Proteinen oder Peptidmischen, die unter den Bedingungen der Guten Herstellungspraxis (GMP) hergestellt und abgefüllt wurden, expandiert werden. Entscheidend bei einem solchen Therapieansatz sind Zahl und Funktion der spezifischen T-Lymphozyten. Während die Frequenzen von T-Lymphozyten, die sich gegen Herpesviren richten, im Regelfall relativ hoch sind, kann für die Gabe antitumoraler T-Lymphozyten ihre meist sehr niedrige Frequenz limitierend sein. Bei der akuten myeloischen Leukämie (AML) konnte als Zielstruktur für eine Immuntherapie Wilms' Tumor 1 (WT1) charakterisiert werden<sup>7,8,9</sup>. Unsere ersten Ergebnisse zeigen, dass die Frequenz spezifischer T-Lymphozyten, die gegen das WT1 Tumorantigen gerichtet sind, im Bereich von 0,001 bis 0,01 Prozent (1:100.000 bis 1:10.000) liegt. Diese Frequenzbestimmung erfolgte mittels ELISpot, einem Verfahren, mit dem die Zytokinproduktion auf Einzelzellniveau gemessen werden kann (Abb. 6). Das ELISpot-Verfahren ist etwa 200-fach sensitiver als der ELISA. Die Zahl spezifischer T-Lymphozyten, die benötigt wird, um bei transplantierten AML-Patienten einen Krankheitsrückfall möglicherweise zu verhindern oder einen bereits aufgetretenen Krankheitsrückfall zu therapieren, ist bislang unbekannt, so dass die Gabe ansteigender Zelldosen geplant ist.

## Günstiger Zeitpunkt

Wann wäre der günstigste Termin für eine Immuntherapie beim Blutstammzellempfänger? Die Gabe von DLI oder von spezifischen T-Lymphozyten des Spenders ist im Prinzip unmittelbar nach Transplantation möglich. Sie ist dann indiziert, wenn eine Infektion oder ein Rückfall festgestellt wurde. In beiden Fällen ist es notwendig, dass der Spender eine entsprechende Immunität besitzt. Unsere Daten zur spezifischen Immunrestitution von Hepatitis B-Immunität (Abb. 4) weisen darauf hin, dass etwa ein halbes Jahr nach Transplantation spezifische T-Zellantworten im Empfänger wieder so stark sind,

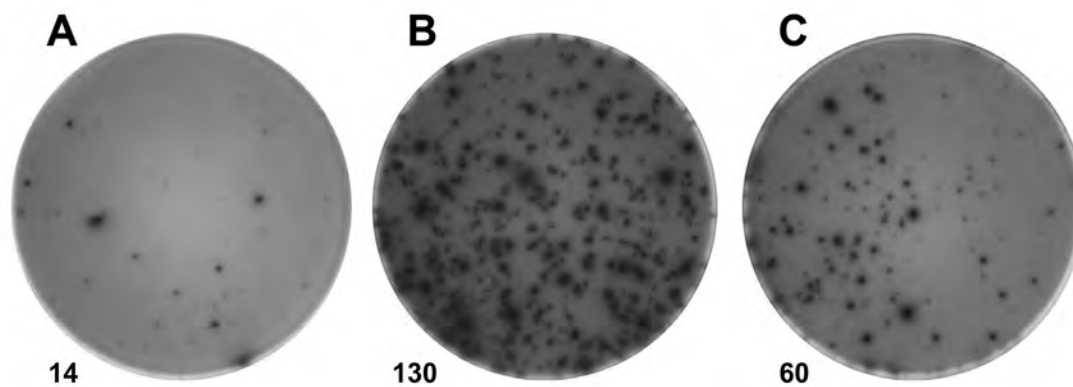
die von der Immunkompetenz der Empfänger T-Lymphozyten abhängen, ist nach unseren Daten der Monat 6 nach Transplantation ein günstiger Zeitpunkt.

---

### Summary

Conditioning prior to and medication immunosuppression following hematopoietic stem cell transplantation creates a transient immunodeficiency in patients. Reconstitution of antimicrobial cellular in vitro immunity requires approximately 2½ years according to our data. Immune modulation of either the donor or recipient

T lymphocytes from the recipient for therapeutic success. Immunity is usually very weak in the recipient immediately after transplantation. Dendritic cell vaccination requires functional T lymphocytes from the recipient. Application of expanded specific T lymphocytes from the recipient is also dependent on the functionality of his immune system. Both are likely to be ineffective within the first half year after transplantation since the function and number of specific T lymphocytes is severely reduced during this period. Initiating therapies that rely on functional T lymphocytes from the recipients at month 6 following transplantation allows a partial recovery of cellular immunity and increases the chance of therapeutic success.



(6) Bestimmung der Frequenz von T-Lymphozyten, die gegen das Tumorantigen Wilms' Tumor 1 (WT1) gerichtet sind. A) Negativkontrolle (ohne Stimulation), B) Positivkontrolle (Stimulation mit Kontrollpeptiden), C) Stimulation mit WT1-Peptiden. Es wurden 200.000 Leukozyten pro Kultur eingesetzt und die Bildung von Interferon- $\gamma$  als Punkte (Spots) detektiert.

dass sowohl eine Vakzination mit tumorspezifischen dendritischen Zellen, als auch die Gewinnung von spezifischen T-Lymphozyten des Empfängers möglich sein sollte. Da ein Krankheitsrückfall überwiegend innerhalb des ersten Jahres nach einer Transplantation auftreten kann, könnte es beim Abwarten einer vollständigen Immunrestitution im Empfänger (ca. 2½ Jahre nach Transplantation) für eine vorbeugende Behandlung bereits zu spät sein. Bei Immuntherapien,

can reduce immunodeficiency in stem cell recipients. Vaccination of the donor can sharpen immune responses, for instance, to selectively enhance immunity against a given virus or tumor antigen. Situations in the recipient, such as reactivation of herpes viruses or relapse, can be treated with donor lymphocyte infusions (DLI) applied at the time of the respective event. In contrast, it is crucial to define the best time point for vaccination with dendritic cells or application of expanded specific

---

### Anmerkungen/Literatur

- 1) Schaefer, U. W., Beelen, D. W.: Bone Marrow Transplantation. Karger Verlag, Basel 1996, 1-3
- 2) Lindemann, M., Schuett, P., Moritz, T., Ottinger, H. D., Opalka, B., et al.: Cellular in vitro immune function in multiple myeloma patients after high-dose chemotherapy and autologous peripheral stem cell transplantation, in *Leukemia* 19/2005, 490-492
- 3) Lindemann, M., Barsegian, V., Runde, V., Fiedler, M., Heermann, K. H., et al.: Transfer of humoral and cellular hepatitis B immunity by allogeneic hematopoietic cell transplanta-



- tion, in Transplantation 75/2003, 833–838
- 4) Reichardt, V. L., Okada, C. Y., Liso, A., Benike, C. J., Stockerl-Goldstein, K. E., et al.: Idiotype vaccination using dendritic cells after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma - a feasibility study, in Blood 93/1999, 2411–2419
- 5) Titzer, S., Christensen, O., Manzke, O., Tesch, H., Wolf, J., et al.: Vaccination of multiple myeloma patients with idiotype-pulsed dendritic cells: immunological and clinical aspects, in British Journal of Haematology 108/2000, 805–816
- 6) Einsele, H., Roosnek, E., Rufer, N., Sinzger, C., Riegler, S., et al.: Infusion of cytomegalovirus (CMV)-specific T cells for the treatment of CMV infection not responding to antiviral chemotherapy, in Blood 99/2002, 3916–3922
- 7) Inoue, K., Sugiyama, H., Ogawa, H., Nakagawa, M., Yamagami, T., et al.: WT1 as a new prognostic factor and a new marker for the detection of minimal residual disease in acute leukemia, in Blood 84/1994, 3071–3079
- 8) Brieger, J., Weidmann, E., Fenchel, K., Mitrou, P. S., Hoelzer, D., Bergmann, L.: The expression of the Wilms' tumor gene in acute myelocytic leukemias as a possible marker for leukemic blast cells, in Leukemia 8/1994, 2138–2143
- 9) Menssen, H. D., Renkl, H. J., Rodeck, U., Maurer, J., Notter, M., et al.: Presence of Wilms' tumor gene (wt1) transcripts and the WT1 nuclear protein in the majority of human acute leukemias, in Leukemia 9/1995, 1060–1067
- 10) Kasper, D. L., Braunwald, E., Fauci, A. S., Hauser, S. L., Longo, D. L., Jameson, J. L.: Infektionen bei Transplantatempfängern, in Dietel, M., Suttrop, N., Zeitz, M. (Hrsg.): Harrison's Innere Medizin, ABW Wissenschaftsverlag, Berlin 2005, 841–848

### *Die Autorin und die Autoren*

Monika Lindemann, 1967 in Aachen geboren, studierte von 1987 bis 1994 Humanmedizin an der Universität-Gesamthochschule Essen. Zunächst arbeitete sie von 1994 bis 1995 als Ärztin im Praktikum in der Klinik für Endokrinologie und Nephrologie am Universitätsklinikum Essen. 1996 promovierte sie im Institut für Immunologie bei Prof. Grosse-Wilde. Im Rahmen ihrer Facharztzubereitung rotierte sie ins hiesige Institut für Virologie und für Medizinische Mikrobiologie sowie ins Zentrum für Labormedizin und Mikrobiologie am Elisabeth-Krankenhaus in Essen. Im Mai 2001 erwarb sie die Bezeichnung Fachärztin für Laboratoriumsmedizin und im April 2004 erhielt sie eine eigene Weiterbildungsbefugnis für das Gebiet Laboratoriumsmedizin. Sie ist Fachimmunogenetikerin (Deutsche Gesellschaft für Immunogenetik, DGI) und Fachimmunologin (Deutsche Gesellschaft für Immunologie, DGfI) und besitzt für beides auch eine Weiterbildungsbefugnis. Sie publizierte zahlreiche Fachartikel über die zelluläre Immunität bei Immunsupprimierten und reichte im September 2005

ihre Habilitation für das Fach Immunologie mit dem Thema „Charakterisierung von Einflussfaktoren der antimikrobiellen zellulären in-vitro Immunantwort bei gesunden und immundefizienten Probanden“ ein. Sie setzte ihre Forschung in diesem Bereich fort und wurde im Januar 2012 zur außerplanmäßigen Professorin ernannt. Sie ist Mitglied der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantation, der DGI, der DGfI und der European Federation for Immunogenetics. In der DGI ist sie seit 2006 Vorsitzende der Fortbildungskommission und seit 2009 Vorstandsmitglied.

Peter Horn, Jahrgang 1972, studierte Medizin an der Ruhr-Universität Bochum und schloss seine Promotion 1999 ab. Seine klinische Ausbildung begann er an der Medizinischen Klinik der Universität Köln als Arzt im Praktikum, wo er anschließend bis Ende 2000 als Assistenzarzt tätig war. Im Anschluss an einen mehrmonatigen Einsatz im Rahmen eines humanitären Hilfsprojektes für „Ärzte für die Dritte Welt“ in Dhaka, Bangladesch, forschte Horn gut zwei Jahre lang als Stipendiat der Deutschen Krebshilfe am Fred Hutchinson Cancer Research Center in Seattle (USA). Zurück in Deutschland arbeitete er zunächst als Wissenschaftlicher Assistent am Institut für Transplantationsdiagnostik und Zelltherapeutika der Universität Düsseldorf. Danach arbeitete Horn zunächst als Assistenzarzt, später als Oberarzt am Institut für Transfusionsmedizin der Medizinischen Hochschule Hannover, wo er die Qualifikation als Facharzt für Transfusionsmedizin abschloss und sich 2006 habilitierte. Zum Wintersemester 2008 nahm er den Ruf auf die Professur für Transfusionsmedizin an und leitet seitdem das Institut für Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Essen. Zu den Forschungsschwerpunkten seines Instituts zählen verschiedene Aspekte der Transplantationsimmunologie und der Immunogenetik. Er möchte hier besonders die Auswahl der Spender in der Stammzelltransplantation optimieren. Parallel dazu befasst er sich mit der Differenzierung von embryonalen sowie reprogrammierten, so genannten induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS) in blutbildenden Stammzellen und der Entwicklungsbiologie somatischer adulter Stammzellen, mit dem Ziel, langfristig neue zelluläre Therapeutika entwickeln zu können. Seine Lehrschwerpunkte umfassen neben der Herstellung und Anwendung von Blutprodukten auch die Bereiche Immunhämatologie und Immunogenetik.

Dietrich W. Beelen studierte von 1974 bis 1980 Humanmedizin an der Julius-Maximilians Universität in Würzburg, an der er auch seine Promotion abschloss. Er absolvierte die Weiterbildung zum Facharzt für Innere Medizin mit dem Schwerpunkt Hämatologie und Onkologie am Westdeutschen Tumorzentrum des Universitätsklinikums Essen und erlangte 1997 die Habilitation und venia legendi für das Fach Innere Medizin durch die Medizinische Fakultät der Universität Essen. 2004 wurde er zum Professor für Innere Medizin ernannt. Seit 2006 ist er Direktor

der Klinik für Knochenmarktransplantation des Westdeutschen Tumorzentrums. Dietrich Beelen klinischer Forschungsschwerpunkt ist die Entwicklung innovativer Techniken und Verfahren der allogenen Stammzelltransplantation sowie damit verbundener Ansätze der zellulären Immuntherapie. Beelen ist Vorsitzender des Deutschen Registers für Stammzelltransplantationen, in dem sämtliche in Deutschland durchgeführten Transplantationen blutbildender Stammzellen fortlaufend dokumentiert und ausgewertet werden. Er ist ferner stellvertretender Vorsitzender der Deutschen Arbeitsgemeinschaft für Knochenmark- und Blutstammzelltransplantationen.

# DuEPublico

Duisburg-Essen Publications online



*Offen im Denken*



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.

**DOI:** 10.17185/duepublico/70437

**URN:** urn:nbn:de:hbz:464-20190819-121520-1

Erschienen in: UNIKATE 42 (2012), S. 60-68

Alle Rechte vorbehalten.