

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III

Klinikum der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. W. Hiddemann

**DIE UNMANIPULIERTE HLA - HAPLOIDENTISCHE
HÄMATOPOETISCHE STAMMZELLTRANSPLANTATION MIT
POSTTRANSPLANTATIONS - CYCLOPHOSPHAMID:
EINFÜHRUNG EINES SEQUENTIELLEN THERAPIEKONZEPTS BEI
REZIDIVIERTER ODER REFRAKTÄRER HÄMATOLOGISCHER
NEOPLASIE**



Dr. med. Johanna Maria Tischer

DIE UNMANIPULIERTE HLA - HAPLOIDENTISCHE
HÄMATOPOETISCHE STAMMZELLTRANSPLANTATION MIT
POSTTRANSPLANTATIONS - CYCLOPHOSPHAMID:
EINFÜHRUNG EINES SEQUENTIELLEN THERAPIEKONZEPTS BEI
REZIDIVIERTER ODER REFRAKTÄRER HÄMATOLOGISCHER
NEOPLASIE

Habilitationsschrift
zum Erwerb der Lehrbefähigung für Innere Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Dr. med. Johanna Maria Tischer
aus Auerbach i.d. Opf.

2017

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	8
Tabellenverzeichnis	9
1. Einführung	10
1.1 Allgemeines	10
1.2 Allogene Stammzellspender	12
1.3 Die haploidentische Transplantation	13
1.4 Das sequentielle Therapiekonzept in der allogenen Stammzelltransplantation zur Behandlung von Patienten mit Hochrisikoerkrankung	14
2. Zielsetzung	20
3. Die unmanipulierte HLA-haploidentische Stammzelltransplantation mit Einsatz von Posttransplantations – Cyclophosphamid: Ein Überblick	21
4. Virusinfektionen im Kontext der Immunrestitution nach unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY	27
4.1 Hintergrund	27
4.2 Die haploidentischen Transplantationsverfahren und ihre Ergebnisse	30
4.3 Immunrestitution nach haplo-HSZT	34
4.4 Outcome und Überlebensprädiktoren nach haplo-HSZT	36
4.5 Zusammenfassung	37
5. Die sequentielle Therapie als Behandlungskonzept in der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY bei Patienten mit rezidivierender/refraktärer hämatologischer Neoplasie	38
5.1 Hintergrund	38
5.2 Ergebnisse der sequentiellen Therapie in der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY bei aktiver akuter Leukämie und aggressiver Lymphomerkrankung	40
5.3 Toxizität und Infektionen bei der sequentiellen unmanipulierten haplo-HSZT mit	43

PTCY	
5.4	Die transplantationsassoziierte Mortalität 50
5.5	Erkrankungskontrolle / Rezidive 52
5.6	Ergebnisse der Überlebenszeitanalyse der sequentiellen unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY bei Patienten mit fortgeschrittener akuter Leukämie und aggressiver Lymphomerkrankung 55
5.7	Zusammenfassung 61
6.	Die unmanipulierte HLA-haploidentische Stammzelltransplantation mit Einsatz von Posttransplantations – Cyclophosphamid als Zweittransplantationsverfahren bei Patienten mit Rezidiv einer akuten Leukämie nach erster allogener Stammzelltransplantation 62
6.1	Hintergrund 62
6.2	Behandlungsergebnisse der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY als Zweittransplantationsverfahren 63
6.3	Zusammenfassung 68
7	Zusammenfassung 69
8	Literaturverzeichnis 74
	Danksagung 89
	Eidesstattliche Erklärung 90

Abkürzungsverzeichnis

aGvHD	Akute GvHD
AILT	Angioimmunoblastisches T-Zell Lymphom
AL	Akute Leukämie
ALDH	Aldehyddehydrogenase
ALL	Akute lymphatische Leukämie
Allo	Allogen
AML	Akute myeloische Leukämie
ANV	Akutes Nierenversagen
ATG	Anti-Thymozytenglobulin
B-LBL	B-Lymphoblastisches Lymphom
BK-Virus	Humanes Polyomavirus 1
CBT	Cord blood transplantation
CD	Cluster of differentiation
cGvHD	Chronische GvHD
CIBMTR	„Center for International Blood and Marrow Transplantation“
CLL	Chronisch lymphatische Leukämie
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMML	Chronische myelomonozytäre Leukämie
CMV	Zytomeglievirus
CR	Komplette Remission
cTCR/TCD	Kombiniert TCR/TCD
CyA	Ciclosporin A
DFS	Disease-free survival
DLBCL	Diffus großzelliges B-Zell Lymphom
DLI	Donor lymphocyte infusion
DRI	Disease-risk Index
EBMT	„European Bone and Marrow Transplantation“
EBV	Epstein-Barr Virus

EFS	Event-free Survival
FLAMSA	<i>Chemotherapieschema: Fludarabin – Amsacrin – Cytarabin</i>
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierende Faktor
GvHD	Graft-versus-host Erkrankung
GvL	Graft-versus-Leukemia
Gy	Gray
Haplo	Haploidentisch
HL	Hodgkin Lymphom
HLA	Human-Leukocyte-Antigen
HR	Hazard ratio
HSZT	Hämatopoetische Stammzelltransplantation
HSZT1	Erste Hämatopoetische Stammzelltransplantation
HSZT2	Zweite Hämatopoetische Stammzelltransplantation
HvG	Host-versus-Graft
HZ	Hämorrhagische Zystitis
IRM	Infection-related mortality
JC-Virus	Humanes Polyomavirus 2
LFS	Leukämiefreies Überleben
MA	Myeloablativ
MAC	Myeloablative Konditionierung
MCL	Mantelzelllymphom
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MHC	Major histocompatibility complex
MMF	Mycophenolat Mofetil
MOV	Multiorganversagen
MRD	Matched related donor
NHL	Non-Hodgkin Lymphom
NK- Zellen	Natürliche-Killer Zellen
NMA	Nicht myeloablativ
OS	Overall survival
PBSZ	Periphere Blutstammzellen
PFS	Progression-free survival

PNH	Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie
PR	Partielle Remission
PTCY	Posttransplantations – Cyclophosphamid
PTLD	Posttransplantationslymphom
RFS	Relapse-free survival
RI	Rezidiv-Inzidenz
RIC	Reduced intensity conditioning
SD	Stable disease
sDLBCL	Sekundäres Diffus großzelliges B-Zell Lymphom
SIB	Sibling donor
TBI	Total body irradiation / Ganzkörperbestrahlung
TCD	T-Zell depletiert
TCR	T-cell-replete / T- Zellhaltig
TKI	Tyrosinkinaseinhibitor
TRM	Transplantationsassoziierte Mortalität
URD	Unrelated donor
VIRM	Virus-infection-related mortality
VOD	Veno occlusive disease

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1	Darstellung der Vererbung der HLA-Merkmale/Haplotypen in einer Familie	13
Abb. 2	Darstellung der Problematik der bidirektionalen Allo-Reaktivität bei der Überwindung der HLA-Barriere im HLA-haploidentischen Transplantationssetting	14
Abb. 3	Das „FLAMSA-RIC“ Regime in der HLA-gematchten Transplantationssituation	18
Abb. 4	Unmanipulierte HLA-haploidentische Stammzelltransplantation mit Posttransplantations-Cyclophosphamid (<i>Luznik L et al., BBMT 2008</i>)	21
Abb. 5	Rekonstitution der Lymphozyten und ihrer Subpopulationen nach haplo-HSZT in der TCR/PTCY und der cTCR/TCD Gruppe (<i>Tischer J et al., Ann Hematol 2015</i>)	34
Abb. 6	Die sequentielle Therapie mit Clofarabin in der unmanipulierten HLA-haploidentischen Transplantation mit PTZY bei nicht remittierter akuter Leukämie (<i>Tischer J et al., Ann Hematol 2013</i>)	41
Abb. 7	Therapieschema zur sequentiellen Therapie in der unmanipulierten HLA-haploidentischen Transplantation mit PTZY bei aggressiver Lymphomerkkrankung (<i>Zoellner AK, BMT 2015</i>)	42
Abb. 8	Neutrophilen/Thrombozytenengraftment nach sequentieller HLA-haploidentischer Transplantation bei aggressiver Lymphomerkkrankung (<i>Zoellner AK et al., BMT 2015</i>)	43
Abb. 9	Überlebenswahrscheinlichkeit (Overall Survival und Rezidiv-freies Überleben) nach sequentieller haplo-HSZT mit PTZY für Patienten mit nicht remittierter akuter Leukämie (<i>Tischer J et al., Ann Hematol 2013</i>)	59
Abb. 10	Überlebenswahrscheinlichkeit (Overall Survival und Progressions-freies Survival) nach sequentieller haplo-HSZT für Patienten mit nicht komplett remittierter aggressiver Lymphomerkkrankung (<i>Zoellner AK et al., BMT 2015</i>)	60
Abb. 11	Therapieschema zur unmanipulierten haplo-HSZT mit PTZY als Zweittransplantationsverfahren für Patienten mit Rezidiv nach erster allogener Transplantation (<i>Tischer J et al., Ann Hematol 2013</i>)	64
Abb. 12	Immunrekonstitution nach zweiter unmanipulierter haplo-HSZT mit PTZY	66

Tabellenverzeichnis

Tab. 1	Patienten- und Behandlungscharakteristika sowie Behandlungsergebnisse der beiden haplo-HSZT Gruppen (TCR/PTCY versus cTCR/TCD)	29
Tab. 2	Virusinfektionen nach haplo-HSCT im Vergleich der TCR/PTCY Gruppe versus der cTCR/TCD Gruppe (<i>Tischer J et al., Ann Hematol 2015</i>)	32
Tab. 3	Akute und chronische GvHD nach sequentieller haplo-HSZT mit PT CY	45
Tab. 4	Behandlungsassoziierte Toxizität bei sequentieller haplo-HSZT mit PT CY bei Patienten mit akuter nicht-remittierter Leukämie (<i>Tischer et al., 2013</i>)	46
Tab. 5	Behandlungsassoziierte Toxizität bei sequentieller haplo-HSZT mit PT CY bei Patienten mit nicht-remittierter aggressiver Lymphomerkrankung (<i>Zoellner et al., 2015</i>)	48
Tab. 6	Verlauf der Remissionsinduktion nach sequentieller haplo-HSZT mit PT CY bei Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung (<i>Zoellner AK et al., BMT 2015</i>)	54
Tab. 7	Behandlungsassoziierte Toxizität nach einer zweiten unmanipulierten haplo-HSZT mit PT CY (<i>Tischer et. al, 2014</i>)	65

1. Einführung

1.1. Allgemeines

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation (HSZT) stellt für viele Patienten mit maligner hämatologischer Erkrankung und angeborenen Defekten des hämatologischen- und des Immunsystems eine etablierte Behandlungsmethode mit kurativem Potential dar (Copelan, 2006; Storb et al., 1997; Thomas, 2004; E. D. Thomas et al., 1977; E. D. Thomas, Lochte, Lu, & Ferrebee, 1957). Besonders für Patienten mit rezidivierender und/oder refraktärer myeloischer oder lymphatischer Erkrankung, bei denen eine konventionelle Chemotherapie oder eine andersartige neuere, z.B. zielgerichtete Therapie, keine Remission erzielen kann, ist und bleibt die allogene HSZT die effektivste Behandlung mit kurativem Potential (Gokbuget et al., 2012; Schmid et al., 2012; Zittoun et al., 1995). Dies gilt auch für Patienten mit Rezidiv einer akuten Leukämie (AL) nach einer ersten allogenen Stammzelltransplantation (Eapen et al., 2004; Gokbuget et al., 2012; Schmid et al., 2012).

Zum Konzept HSZT gehört die Übertragung von pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen eines gesunden Spenders auf den Empfänger (Patient). Zwischen Spender und Empfänger bestehen naturgemäß genetische Unterschiede; daher wird die Methode als „allogene“ Transplantation bezeichnet. Eine unterschiedlich intensive strahlen- und/oder chemotherapeutische und immunsuppressive Vorbehandlung, die „Konditionierung“, geht voraus. Dabei werden nicht myeloablative (NMA) von myeloablativen (MA) Konditionierungsregimen unterschieden (Bacigalupo et al., 2009; Giralt et al., 1997); alternativ kann eine Konditionierung mit reduzierter Intensität („reduced intensity conditioning“; RIC) erfolgen. Zur Prophylaxe von Transplantatabstoßung und einer Graft-versus-Host Erkrankung (GvHD) ist dabei eine intensive immunsuppressive Behandlung erforderlich, die – im Gegensatz zur Transplantation von anderen Organen - allerdings nicht lebenslang erfolgen muss. Ziel der allogenen HSZT ist die Rekonstitution einer intakten Hämatopoese (Engraftment) sowie die Generierung des neuen Immunsystems, beides abstammend vom gesunden Spender, mit Erreichen eines kompletten Chimärismus und einer Toleranz. So kann durch die Induktion einer Toleranzreaktion im Verlauf nach allogener Transplantation ein Absetzen der Immunsuppression ohne allo-reaktive Komplikationen wie Transplantatabstoßung oder GvHD ermöglicht werden. Mit diesem komplexen Konzept wird eine im Vergleich mit einer konventionellen Behandlung wesentlich intensivere Bekämpfung der Grunderkrankung möglich (E. Thomas et al., 1975; E. D. Thomas et al., 1975). Ein Hauptteil der Kontrolle der malignen Erkrankung,

ggf. ihre Heilung wird durch den über „immunkompetente“ Spenderzellen vermittelten Graft-versus-Leukämie (GvL) Effekt erreicht (Horowitz et al., 1990; H. J. Kolb, 2008; H. J. Kolb et al., 1995; Mathe et al., 1965).

Die Hauptkomplikationen dieses Behandlungsverfahrens folgen aus der bidirektionalen Allo-Reaktivität, die über „immunkompetenten“ Empfänger- und Spenderzellen vermittelt wird, wobei diese mit dem Grad der HLA-Disparität zwischen Spender und Empfänger ansteigt. Die Transplantatabstoßung wird durch Empfänger T-Zellen hervorgerufen, die versuchen das „fremde“ Spenderimmunsystem zu eliminieren (host-versus-graft; HvG Richtung). Die GvHD wird über Spender T-Zellen vermittelt, die das als „fremd“ erkannte Empfängerimmunsystem angreifen (graft-versus-host; GvH) (Ferrara, Levine, Reddy, & Holler, 2009). Die GvHD kann sich akut entzündlich an Haut, Darm oder Leber manifestieren, aber auch die Hämatopoese und das Immunsystem des Patienten betreffen und tritt klassischerweise bzw. typischerweise häufig innerhalb der ersten drei Monate nach allogener HSZT auf. Die Klassifikation der akuten GvHD (aGvHD) erfolgt nach Ausdehnung bzw. dem Schweregrad der Symptome sowie der Anzahl der beteiligten Organe (Glucksberg et al., 1974; Przepiorka et al., 1995). Im weiteren Verlauf kann sich diese „de novo“, „überlappend“ oder mit einem gewissen Abstand zur akuten Erkrankung („quiescent“), aber auch in einem fortschreitenden Verlauf („progressiv“) zu einer chronisch entzündlichen, fibrosierenden Erkrankung mit Beteiligung aller Organsysteme entwickeln. Diese klinischen Erscheinungsformen werden als chronische GvHD (cGvHD) bezeichnet. Die Klassifikation der cGvHD erfolgt inzwischen nach komplexen Kriterien, die „diagnostische“ und „typische Symptome“ beinhalten sowie die einzelnen Organsysteme und das Ausmaß ihrer Funktionseinschränkung einbeziehen (Filipovich et al., 2005). Als Hauptkomplikation der allogenen HSZT trägt die GvHD bei schweren Verlaufsformen signifikant zur transplantationassoziierten Mortalität (TRM) bei (Ferrara et al., 2009; Kuzmina et al., 2012). Weitere Hauptkomplikationen sind Organtoxizitäten infolge einer intensiven myeloablativen Vorbehandlung, aber auch als Folge einer intensiven Immunsuppression bei GvHD. Dazu kommen Infektionen aller Art. Opportunistische Infektionen stehen im Vordergrund, die in ihrer Art und im zeitlichen Verlauf in Abhängigkeit der hämatologischen und immunologischen Rekonstitution auftreten (Einsele et al., 2001; Meyers & Atkinson, 1983), und wiederum in enger Assoziation zur GvHD und ihrer notwendigen intensiven immunsuppressiven Behandlung stehen.

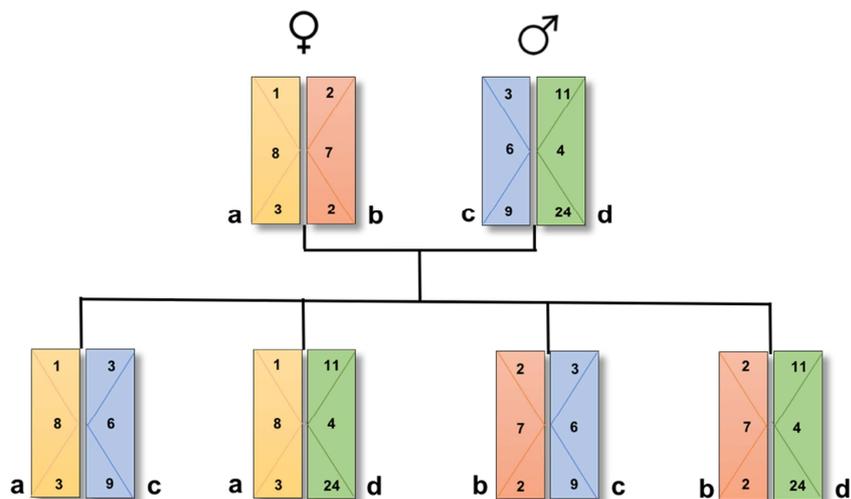
1.2. Allogene Stammzellspender

Voraussetzung der allogenen HSZT ist, dass ein geeigneter HLA-kompatibler Stammzellspender identifiziert werden kann. Die Kompatibilität von Spender und Empfänger wird im Sinne der „Gewebeverträglichkeit“ von der Übereinstimmung der HLA-Merkmale bestimmt (Copelan, 2006). Beim Menschen wird eine spezifische Genregion, die sich auf dem kurzen Arm des Chromosom 6 befindet, als „Humanes Leukozyten Antigen“ (HLA) bezeichnet. Hier befindet sich eine Gruppe von Genen des „Major Histocompatibility Complex“ (MHC), die für die HLA-Oberflächenmoleküle kodieren; diese sind die für die allogene Stammzelltransplantation grundlegend bedeutsamen „Histokompatibilitätsantigene“. Anhand von Funktion und Verteilung im MHC der HLA-Genregion unterscheidet man zwei „klassische“ Gen-Klassen: Die Klasse I-Gene kodieren für die hämatopoetische Stammzelltransplantation relevanten HLA-Merkmale A, B und C. Zu den Klasse II-Genen gehören die HLA-Merkmale DR, DQ und DP. Stimmen Spender und Empfänger in allen HLA-Loci der Klasse I und II überein, spricht man im Familienbereich von einem HLA-identischen Spender („matched related donor“; MRD) bzw. HLA-identischen Geschwisterspender („sibling donor“; SIB) und im Fremdspenderbereich von einem HLA-gematchten Fremdspender („matched unrelated donor“; MUD). Historisch gesehen waren die besten Ergebnisse zu erzielen, wenn die Blutstammzellspende durch einen HLA-identischen Familienspender erfolgte (Szydlo et al., 1997). Inzwischen können gleichwertige Transplantationsergebnisse auch bei Verwendung eines HLA-kompatiblen unverwandten Spenders erreicht werden (Dahlke et al., 2006; Kiehl et al., 2004; Ringden et al., 1993; Saber et al., 2012). Diese Übereinstimmung im HLA-Muster wird allerdings nur bei ca. 30% der Patienten mit einem Geschwisterspender und bei ca. 50% der Patienten kaukasischen Ursprungs mit einem Fremdspender gefunden (Ballen, Koreth, Chen, Dey, & Spitzer, 2012; Ottinger, Grosse-Wilde, Schmitz, & Grosse-Wilde, 1994). Als Alternative für die Patienten ohne obengenannte Spender kommt die Transplantation von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut, die sogenannte „Cord Blood Transplantation“ (CBT), und die Transplantation von einem HLA-haploidentischen Familienspender in Frage. Bei einem haploidentischen Stammzellspender besteht zusätzlich die Möglichkeit der adoptiven Immuntherapie, da dieser in der Regel auch für einen Stammzellboost oder eine Spenderlymphozytengabe (donor lymphocyte infusion; DLI) zur Verfügung steht, während dies bei der CBT nicht umsetzbar ist.

1.3. Die HLA-haploidentische Stammzelltransplantation

Der große Vorteil der haplo-HSZT ist die nahezu universelle und zeitnahe Verfügbarkeit von Spendern aus der Familie. Diese ist eine Folge der Vererbung der HLA-Merkmale, die innerhalb einer Familie „en bloc“ nach dem Mendelschen Vererbungsmodus weitergegeben werden. So erbt jeder Mensch jeweils einen halben Chromosomensatz (Haplotyp) von der Mutter und einen vom Vater (Abb. 1). Entsprechend sind Eltern mit ihren Kindern immer HLA-haploidentisch und umgekehrt. Bei Geschwistern ist gemäß dem Erbgang die Wahrscheinlichkeit 50%, dass Patient und Spender genau einen HLA-Haplotypen gemeinsam besitzen. Bei Vorhandensein von Geschwistern und/oder Eltern bzw. Kindern ist die Wahrscheinlichkeit der haploidentischen Spenderverfügbarkeit größer als 90%, wobei zumeist noch der „beste“ Stammzellspender innerhalb der Kernfamilie ausgesucht werden kann. Eine zeitaufwändige und ggf. wenig erfolgversprechende Fremdspendersuche kann entfallen. Dies ist insbesondere für Patienten von Vorteil, bei denen bei aggressiver Erkrankung eine dringliche Indikation zur allo-HSZT ohne Zeitverlust besteht.

Abb. 1: Darstellung der Vererbung der HLA-Merkmale/Haplotypen in einer Familie



Das Hauptproblem in der HLA-haploidentischen Transplantation ist bedingt durch die besonders stark ausgeprägte bidirektionale Allo-Reaktivität. HLA-haploidentische Transplantationsversuche in den 80iger und 90iger Jahren mit unmanipulierten, d.h. T-Zellhaltigen Stammzellpräparaten führten aufgrund einer hohen Anzahl von Transplantatabstoßung und GvHD zu unbefriedigenden Behandlungsergebnissen. Die TRM war mit über 50% als erheblich zu bewerten (Anasetti et al., 1990; Beatty et al., 1985; Powles et al., 1983; Sydlo et al., 1997). Nur ca. 10 % dieser Patienten überlebten

längerfristig (Anasetti et al., 1990). Da für die GvHD in erster Linie die allogenen Spender T-Zellen verantwortlich sind, wurde mit verschiedenen Methoden versucht, diese aus dem Transplantat zu eliminieren (Kernan et al., 1986; Korngold & Sprent, 1978). Die Entfernung der T-Zellen aus dem Stammzelltransplantat erwies sich als Meilenstein im Bereich der haplo-HSZT zur Verringerung der GvHD Rate (Reisner, Kapoor, O'Reilly, & Good, 1980), allerdings war diese ex-vivo T-Zelldepletion auch mit einer erhöhten Abstoßungsrate verbunden (Ash et al., 1991), und ein besseres leukämiefreies Überleben (LFS) wurde erneut nicht erreicht (Ash et al., 1991; Jabado et al., 1996; Mehta et al., 2004). Hier wird das „Haplo-Dilemma“ bei der Überwindung der HLA-Barriere deutlich: T-Zellen im Transplantat führen zu hohen Raten von GvHD mit hoher assoziierter Mortalität bei gutem Engraftment während die T-Zelldepletion des Transplantats ohne ausreichende Ablation des Immunsystems des Empfängers zu hohen Abstoßungsraten bei niedrigen GvHD Raten führt (Abb. 2).

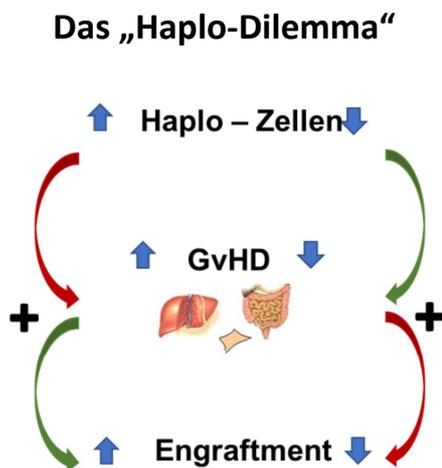


Abb. 2: Das „haplo-Dilemma“
Darstellung der Problematik der bidirektionalen Allo-Reaktivität bei der Überwindung der HLA-Barriere.

In der Folgezeit wurden verschiedene Strategien zur Überwindung der HLA-Barriere entwickelt, insbesondere mit dem Ziel der Verringerung der Abstoßungsrate. Neben intensiven, myeloablativen und stark immunsuppressiven Konditionierungsregimen sowie dem „Mega-dose Konzept“ (Transplantation einer hohen Anzahl von CD34+ Zellen), wurde eine Anzahl von weiteren in-vivo und/oder in- vitro T-Zell Depletionsverfahren (TCD) zur Verringerung von allo-reaktiven T-Zellen im Transplantat und Patienten angewandt und evaluiert (Aversa et al., 1994; Aversa et al., 1998; Aversa et al., 2005; Ciceri et al., 2008; Martelli et al., 2014; Rizzieri et al., 2007). Mittels dieser komplexen haploidentischen Behandlungskonzepte konnten zwar geringere Abstoßungs- und GvHD-Raten erzielt werden, jedoch blieb die verzögerte bzw. beeinträchtigte Rekonstitution des Immunsystems weiter problematisch. Die TRM (36-66 %) blieb weiterhin hoch (Aversa et al., 1998; Aversa et al., 2005; Ciceri et al., 2008; Klingebiel et al., 2010; Lang et al., 2004; Mehta et al., 2004; Rizzieri et al., 2007; Walker

et al., 2004). Ursache dafür war in erster Linie eine erhöhte Infektionsrate. Mehr als 2/3 der Patienten verstarben an opportunistischen, v.a. viralen Infekten (Aversa et al., 1998; Aversa et al., 2005; Ciceri et al., 2008; Rizzieri et al., 2007); gleichzeitig erkrankten viele Patienten aufgrund der bestehenden T-Zelldefizienz an einem EBV-assoziierten Posttransplantationslymphom (PTLD) (Ciceri et al., 2008; Curtis et al., 1999; Rizzieri et al., 2007). Zudem zeigte sich erneut, dass nur eine unbefriedigende Krankheitskontrolle zu erzielen war, besonders bei Patienten mit fortgeschrittener akuter Leukämie (Aversa et al., 1994; Aversa et al., 1998; Aversa et al., 2005; Ciceri et al., 2008; Klingebiel et al., 2010; Lang et al., 2004; Rizzieri et al., 2007). So konnte für diese Patienten wiederum nur ein krankheitsfreies Überleben (DFS) von weniger als 10% nach 2 Jahren erzielt werden (Ciceri et al., 2008; Klingebiel et al., 2010; Lang et al., 2004). Neuere Ansätze in der TCD haplo-HSZT mit *ex-vivo* Manipulation des Transplantats favorisieren inzwischen mehr selektive *in-vitro* Verfahren zur T-Zelldepletion, die auch in Kombination mit einer reduzierten Konditionierung angewandt werden können. Hierzu zählt beispielsweise die CD3+/CD19+ Selektion des Stammzellpräparats, wodurch Zellen wie z.B. NK-Zellen, Monozyten und dendritische Zellen im Transplantat verbleiben, oder - als Weiterentwicklung dieses Ansatzes - die isolierte Selektion von alpha/beta T-Zellen, wobei gamma/delta T-Zellen mit ihrer postulierten antiviralen und antitumoralen Aktivität im Stammzelltransplantat verbleiben (Bertaina et al., 2014; Bethge et al., 2008; Federmann et al., 2012; Godder et al., 2007; Handgretinger, 2012; Lang et al., 2004; Scheper et al., 2013). Gleichzeitig sind verschiedene Verfahren der adoptiven Immuntherapie entwickelt worden, um das Problem der beeinträchtigten Immunrestitution nach *ex-vivo* manipulierter haplo-HSZT zu minimieren ohne dass eine Erhöhung der GvHD Inzidenz induziert wird. So kann z.B. eine *ex-vivo* selektive, manipulierte Spenderlymphozytengabe durchgeführt werden, bei welcher mittels Photodepletion eine isolierte Depletion von allo-reaktiven T-Zellen erreicht wird, während anzunehmenderweise regulatorische T-Zellen ausgespart werden (Bastien et al., 2010; Mielke et al., 2008). Auch ist es inzwischen methodisch möglich, Spenderlymphozyten bereits vor Transfusion mit einem Suizidgen zu versehen. Derart veränderte Zellen können im Falle der GvHD medikamentös gezielt ausgeschaltet werden (Di Stasi et al., 2011). Ein weiterer Ansatz ist die mehrfache Transfusion von CD4+/CD25+ regulatorischen Spender T-Zellen, die nach einer TCD haplo-HSZT zu einer effektiven Reconstitution von regulatorischen T-Zellen bei gleichzeitig geringer GvHD Rate führen können (Di Ianni et al., 2011; Edinger et al., 2003; Martelli et al., 2014; Nguyen et al., 2008). Durch den adoptiven Transfer von virusspezifischen T-Zellen konnte eine Reduktion von besonders nach TCD haplo-HSZT auftretenden schwerwiegenden Viruserkrankungen, wie beispielsweise die einer CMV-, EBV oder Adenoviruserkrankungen erreicht werden (Feucht et al., 2015; Feuchtinger et al., 2010; Leen et al., 2009; Moosmann et al., 2010; Perruccio et al., 2005). Insgesamt konnten bei der TCD haplo-HSZT somit ermutigende Ergebnisse mit Minimierung von Abstoßung und GvHD bei besserer

Immunrekonstitution erzielt werden. Die Kontrolle einer aktiven Erkrankung blieb jedoch auch damit weiter begrenzt. Abschließend darf nicht außer Acht gelassen werden, dass es sich bei allen ex-vivo Manipulationsansätzen des Stammzellpräparats in der haplo-HSZT immer um einen aufwendigen Stammzellherstellungsprozess handelt, der in großem Umfang zeitliche, örtliche und finanzielle Ressourcen bindet; diese Sachlage begrenzt den Einsatz dieser Transplantationsverfahren.

Eine neuere Strategie in der haplo-HSZT verzichtet nun wiederum auf komplexe in-vitro Manipulationsverfahren zur T-Zelldepletion des Stammzelltransplantats und nützt die immunsuppressive, antiproliferative und toleranzinduzierende Eigenschaft von Cyclophosphamid. Nach der Transplantation eines allogenen, unmanipulierten, also nicht T-Zelldepletierten hämatopoetischen Stammzellpräparats wirkt Cyclophosphamid *in-vivo* selektiv depletierend auf proliferierende allo-reaktive T-Zellen (Eto et al., 1990; Luznik & Fuchs, 2010; Luznik et al., 2008; Mayumi & Good, 1989; Mayumi, Himeno, Tokuda, & Nomoto, 1986; Mayumi, Umesue, & Nomoto, 1996; O'Donnell et al., 2002; Ross, Jones, Komanduri, & Levy, 2013). Die Raten für Abstoßung und GvHD waren mit dieser Strategie bei der unmanipulierten haplo-HSZT nach nicht myeloablativer (NMA) Konditionierung vorteilhaft und resultierten in einer niedrigen TRM. Diese lag in der Pilotstudie aus Baltimore nach einem Jahr bei 15% (Luznik et al., 2008). Auch die Immunrekonstitution zeigte sich im Vergleich zu einem TCD haplo-HSZT Verfahren mit CD34+ Selektion des Stammzellpräparats deutlich verbessert (Ciurea et al., 2012). In dieser HLA-haploidentischen Transplantationssituation zeigte sich die Anzahl der „HLA-Mismatche“ weder mit dem Risiko für eine GvHD verknüpft, noch ergab sich ein negativer Einfluß hinsichtlich des ereignisfreien Überlebens (EFS), vielmehr deutete sich ein geringeres Rezidivrisiko bei gleichzeitig verbessertem EFS an (Y. L. Kasamon et al., 2010). Dies kann möglicherweise als Hinweis auf einen verbesserten GvL Effekt vermittelt durch die HLA-Disparität in der haploidentischen Transplantationssituation dienen.

Ein selektiver Effekt von Cyclophosphamid bei der T-Zelldepletion wird postuliert: Ruhende T-Zellen, die nach der Transplantation z.B. eine virusspezifische Immunität oder eine antileukämische Aktivität gewährleisten können, werden von der Depletion ausgespart, während gleichzeitig proliferierende, allo-reaktive T-Zellen depletiert werden (Luznik & Fuchs, 2010; Ross et al., 2013). Eine Schlüsselrolle scheint hierbei der Aldehyddehydrogenase (ALDH) zuzukommen, die als Enzym für die Entgiftung des Aldehyds Cyclophosphamid zuständig ist. Hämatopoetische Stammzellen und regulatorische T-Zellen, die dieses Enzym erhöht intrazytoplasmatisch exprimieren, zeigten sich „resistent“ gegenüber dem zytotoxischen Effekt von Cyclophosphamid; dagegen erfolgt ein selektives „killing“ von naiven T-Zellen (C. G. Kanakry et al., 2013). Somit kann aus dem „ruhenden“ Pool der Zellen eine erfolgreiche und robuste hämatopoetische und immunologische Rekonstitution erfolgen bei gleichzeitig guter Kontrolle der bidirektionalen Allo-Reaktivität.

Trotz vorteilhafter Ergebnisse hinsichtlich Transplantatabstoßung und GvHD konnten durch das unmanipulierte, HLA-haploidentische Transplantationsverfahren mit Posttransplantations-Cyclophosphamid (PTCY) bei rezidivierender/refraktärer maligner hämatologischer Erkrankung bzw. Hochrisikoerkrankung nur unbefriedigende dauerhafte Remissionen erreicht werden. Dabei waren die Ergebnisse bei AL deutlich schlechter als bei Lymphomkrankungen (Burroughs et al., 2008; Castagna, Crocchiolo, et al., 2014; Kanate et al., 2016; Luznik et al., 2008; McCurdy et al., 2015; A. M. Raiola et al., 2014). So lag die Rezidivrate der Patienten mit AL, die in der Pilotstudie aus Baltimore (veröffentlicht 2008) behandelt worden waren, nach einem Jahr bei über 50% (Luznik et al., 2008). Dies spiegelte sich in dieser Studie in einem entsprechend niedrigen EFS wieder, welches nach einem Jahr bei 34% und nach zwei Jahren bei 26% lag (Luznik et al., 2008). Leukämie-Patienten, mit Hoch- und Höchststrisikokonstellation klassifiziert nach „Disease risk index“ (DRI) – hierbei wird insbesondere die Krankheitsentität und der Erkrankungsstatus vor Transplantation zur Risikoklassifizierung herangezogen (Armand et al., 2014) – hatten nach einem Jahr nach NMA Konditionierung zur haplo-HSZT mit PTCY ein inakzeptabel hohes Rezidiv-Risiko von fast 60%. Insgesamt ergab sich somit erneut für diese Gruppe ein geringes DFS von 35% nach 1 Jahr (McCurdy et al., 2015). Angesichts dieser ungünstigen Ergebnisse konnte die Indikation zur unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY bei Patienten mit nicht remittierter maligner hämatologischer Neoplasie als alternative Behandlungsmethode bei Fehlen eines HLA-kompatiblen Familien- oder Fremdspenders nur zurückhaltend gestellt werden.

1.4 Das sequentielle Therapiekonzept in der allogenen Stammzelltransplantation zur Behandlung von Patienten mit Hochrisikoerkrankungen

Durch die Verwendung eines „*sequentiellen Therapiekonzepts*“ konnten in der HLA-gemachten Transplantationsituation bessere Ergebnisse bezüglich Remission und entsprechenden Überlebensparametern bei Hochrisiko AML und MDS, ebenso bei rezidivierender oder refraktärer Erkrankung erreicht werden (Schmid, Schleuning, Ledderose, Tischer, & Kolb, 2005; Schmid et al., 2006). Ein sequentielles Konzept sieht, wie beispielsweise das sog. „FLAMSA-RIC“ Regime (Schmid et al., 2005; Schmid et al., 2006) vor, dass im zeitlich engen Zusammenhang vor einer allogenen Stammzelltransplantation eine intensive Chemotherapie durchgeführt wird; anschließend findet die Konditionierung mit reduzierter Intensität (RIC) statt (*Abb. 3*). Auf diese Weise soll eine Reduktion der Erkrankungslast und im besten Fall eine erneute Remission erzielt werden. Damit kann ein verlängertes Zeitfenster für den nach der Transplantation einsetzenden GvL Effekt gewonnen

werden. Entstanden ist dieses Konzept in der Zeit der zunehmenden Anwendung der Konditionierung mit reduzierter Intensität, die im Vergleich mit der MAC weniger Toxizität nach sich zieht und so auch die Behandlung von älteren und komorbiden Patienten ermöglicht (Arnold et al., 1998; Gratwohl, Baldomero, Passweg, & Urbano-Ispizua, 2002; Ringden et al., 1993; Ringden et al., 2009; Witherspoon et al., 2001). Die RIC hat aber auch den Nachteil der geringeren Krankheitskontrolle (de Lima et al., 2004). Dies gilt insbesondere für fortgeschrittene Krankheitszustände. So zielt dieses Konzept nicht auf die höchstmögliche „Eradikation“ der malignen hämatopoetischen Stammzelle durch eine intensive, also myeloablative Konditionierung ab, vielmehr soll dadurch eine „Balance“ erreicht werden, die Zeit für eine immunologisch vermittelte Erkrankungskontrolle lässt, die ggf. nach Transplantation durch die Gabe von DLIs verstärkt werden kann.

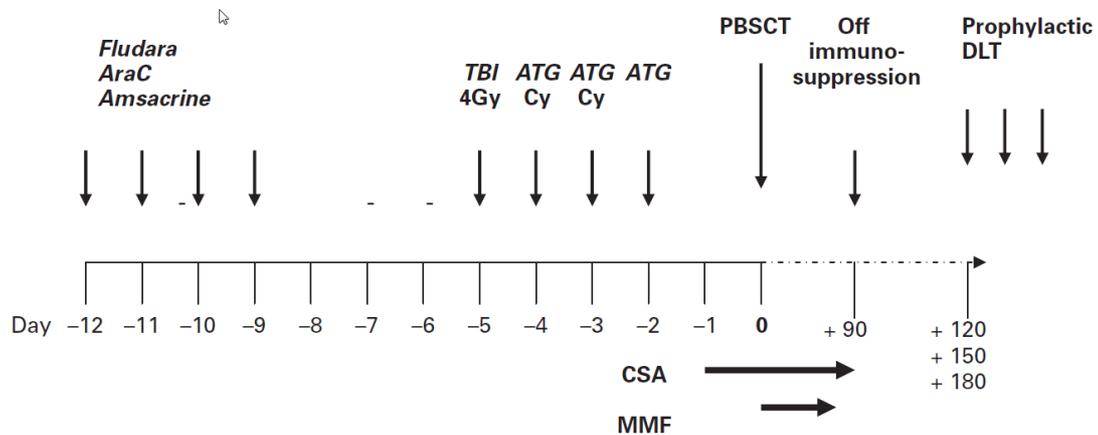


Abb. 3: Das „FLAMSA-RIC“ Regime in der HLA-gematchten Transplantationsituation (aus: Neue Ansätze in der Stammzelltransplantation, Klinische Kooperationsgruppe Hämatopoetische Zelltransplantation, Institut für Immunologie und LMU München, Hans-Jochem Kolb, Christoph Schmid, 2005)

Schmid und Schleuning et al. berichteten 2005 erstmalig über die Behandlungsergebnisse von 75 Patienten (medianes Alter 52 Jahre; Spanne: 19 bis 66 Jahre), die mit einer akuten myeloischen Neoplasie von einem HLA-identischen Geschwisterspender (n=37) oder HLA-kompatiblen Fremdspender (n=38) nach dem „FLAMSA-RIC“ Protokoll (Abb. 3) transplantiert worden waren (Schmid et al., 2005). Bei den meisten dieser Patienten (n=59) bestand bei progressivem oder refraktärem Verlauf eine Hochrisikosituation; 79 % der Patienten wiesen zum Zeitpunkt der Transplantation eine aktive Erkrankung auf. Patienten mit einem Rezidiv nach einer ersten allogenen Transplantation waren allerdings von der Analyse ausgeschlossen. Dieser sequentielle Behandlungsansatz erwies sich in der HLA-gematchten Transplantationssituation bei guter Toleranzinduktion als sicher und ausreichend gut verträglich: Ein Engraftment mit vollständigem Chimärismusbefund war bei allen Patienten, die den Tag + 30 nach Transplantation überlebt hatten,

zu erzielen. Gleichzeitig hatten 88% dieser Patienten zu diesem Zeitpunkt eine komplette Remission (CR) erreicht. Die GvHD Raten waren moderat und grundsätzlich vergleichbar mit denen, die nach MAC zu beobachten sind: 49% der Patienten entwickelten eine akute GvHD des Grades II-IV (24% schwer: Grad III-IV) und 45% zeigten Manifestationen einer chronischen GvHD, die bei 42% dieser Patienten eine extensive Verlaufsform annahm. Ebenfalls moderat war die Toxizität, die diesem Behandlungsregime zuzuschreiben war. Mit 26 Episoden einer behandlungsassoziierten Toxizität des Grades III und IV war diese ebenfalls moderat; fünf Patienten starben an der Toxizität. Insgesamt wurde trotz der zeitlich nahen Verknüpfung einer intensiven Chemotherapie mit einer Konditionierungsbehandlung zur allogenen Transplantation in diesem Hochrisikokollektiv keine exzessiv erhöhte TRM beobachtet: Diese lag an Tag +30 nach HLA-gematchter Transplantation bei 20% und erreichte nach einem Jahr 33%. Parallel zeigte sich eine gute Erkrankungskontrolle: Nur 15 Patienten rezidierten; nach zwei Jahren lag das geschätzte leukämiefreie Überleben (LFS) bei bemerkenswerten 40%. Insgesamt konnte hier auch ohne den Einsatz einer MAC eine sehr gute Erkrankungskontrolle für Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung bei überschaubarer Toxizität und akzeptabler TRM erreicht werden (Schmid et al., 2005). Bestätigt wurden die positiven Ergebnisse dieses sequentiellen Behandlungskonzepts in der HLA-gematchten Ersttransplantationssituation für Patienten mit refraktärer AML im Rahmen einer multizentrischen Nachfolgestudie (Schmid et al., 2006). Erneut zeigte sich eine gute antileukämische Aktivität mit einem 2- und 4-Jahres LFS von 37% und 30% bei einer akzeptablen Verträglichkeit (1-Jahres TRM: 17%). Vor kurzem wurden diese günstigen Ergebnisse des sequentiellen Therapiekonzepts mit Einsatz des „FLAMSA-RIC“ Protokolls in der Behandlung von Patienten mit rezidivierter bzw. refraktärer AML und MDS im Rahmen einer EBMT-Registeranalyse, in der 267 Patienten nach HLA-gematchter HSZT untersucht worden waren, erneut bestätigt (Ringden et al., 2016).

In unserem Zentrum wurde im Jahre 2009 die sequentielle Therapiestrategie neu in das unmanipulierte HLA-haploidentische Stammzelltransplantationskonzept mit PTCY für Hochrisikopatienten integriert.

Im Rahmen dieses Behandlungskonzepts wird in Analogie des „FLAMSA-RIC“ Regimes eine intensive Chemotherapie zur Zytoreduktion (z.B. Clofarabin 30 mg/m² i.v. über 5 Tage) verabreicht. Bereits nach drei Pausentagen wird mit einer intensivierten Konditionierung für die nachfolgende HLA-haploidentischen Stammzelltransplantation begonnen. Ziel der Zytoreduktion ist es auch hier - wie oben angeführt - die „Leukämiebelastung“ zu verringern und im besten Falle eine erneute Remission zu induzieren, um damit mehr Zeit für die im Folgenden beabsichtigte GvL Reaktion zu gewinnen. Ein potentieller Nachteil in der Durchführung dieses sequentiellen Konzeptes in der haplo-HSZT liegt in seiner möglichen Toxizität.

2. Zielsetzung

Die unmanipulierte haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY zur GvHD Prophylaxe gilt als ein sicheres und gut verträgliches Verfahren zur Überwindung der HLA-Barriere in der allogenen Stammzelltransplantation. Aufgrund der nahezu sicheren und meistens kurzfristigen Spenderverfügbarkeit, sowie der im Vergleich zu Depletionsverfahren einfachen Durchführbarkeit, ist sie eine wertvolle alternative Therapieoption für Patienten ohne Aussicht auf einen konventionellen Stammzellspender. Problematisch bleibt allerdings die unbefriedigende Erkrankungskontrolle, die durch dieses Verfahren in der ursprünglich beschriebenen Form erzielt wird. Dies gilt besonders für Hoch- und Höchststrisikoerkrankungen bzw. nicht-remittierte Erkrankungen.

Das Ziel dieser Arbeit ist zu zeigen, dass das ursprünglich beschriebene Verfahren zur *unmanipulierten HLA-haploidentischen hämatopoetischen Stammzelltransplantation* mit Einsatz von PTCY zur GvHD Prophylaxe durch die *Einführung eines sequentiellen Therapiekonzepts* gut verträglich modifiziert werden kann und somit bei akzeptabler Toxizität eine bessere Erkrankungskontrolle bei Patienten mit *rezidivierter oder refraktärer hämatologischer Neoplasie* zu erreichen ist.

Im Folgenden werden die Ergebnisse der unmanipulierten haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY für Patienten mit rezidivierter/refraktärer AL oder aggressiver Lymphomerkrankung unter besonderer Berücksichtigung des sequentiellen Therapiekonzepts dargelegt. Toxizitätsprofil und Komplikationen werden evaluiert. Die Virusinfektionen und ihre Komplikationen nach haplo-HSZT mit PTCY werden im Kontext der Immunrestitution und vergleichend zu anderen haplo-HSZT Transplantationsverfahren besonders berücksichtigt. Die besondere Bedeutung der sequentiellen Therapie in der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY für die Behandlung rezidivierter und refraktärer hämatologischer Neoplasien, auch als Zweittransplantationsverfahren für Patienten mit Rezidiv nach einer ersten HLA-gematchten allogenen Stammzelltransplantation, wird diskutiert. Basierend auf unseren bisherigen Ergebnissen wird ein Therapiekonzept für Patienten mit Hoch- und Höchststrisikoerkrankungen skizziert, die keine Aussicht auf einen konventionellen Stammzellspender haben, oder bei denen aufgrund eines aggressiven Krankheitsverlaufs eine dringliche Transplantationsindikation besteht.

Diesen Ausführungen vorangestellt ist ein ausführlicher Überblick zum Transplantationsverfahren der unmanipulierten haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY.

3. Die unmanipulierte HLA-haploidentische Stammzelltransplantation mit Einsatz von Posttransplantations-Cyclophosphamid: Ein Überblick

In den letzten Jahren fand ein Verfahren zur haplo-HSZT ohne in vitro-Manipulation, d.h ohne in-vitro T-Zelldepletion des Stammzellpräparats, zunehmende Anwendung. Dieses Verfahren zur unmanipulierten haplo-HSCT, das in Baltimore und Seattle, USA, entwickelt wurde, überwindet die HLA-Barriere durch die Immunsuppression mit hochdosiertem Cyclophosphamid, das erst *nach* der Transplantation appliziert wird und die selektive *in-vivo* Depletion von allo-reaktiven T-Zellen bewirkt (siehe *Abb. 4*) (Luznik et al., 2008; O'Donnell et al., 2002).

Seit 2009 wurden bei uns die Patienten ohne einen konventionell verfügbaren HLA-gematchten Stammzellspender mit diesem Verfahren behandelt.

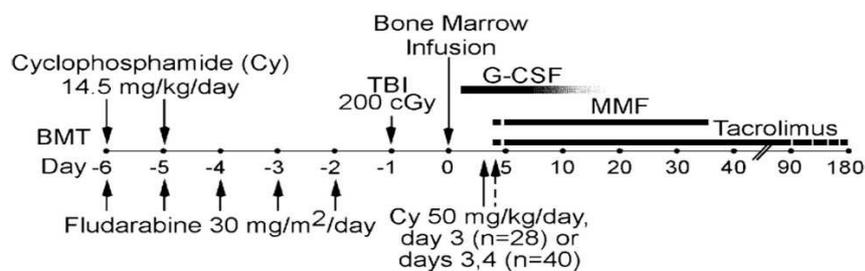


Abb 4: Unmanipulierte HLA-haploidentische Stammzelltransplantation mit Posttransplantations-Cyclophosphamid (Luznik et al., 2008)

Entwicklung:

Bereits in den 60-iger Jahren konnte gezeigt werden, dass das immunsuppressiv wirksame Zytostatikum Cyclophosphamid das Überleben von allogenen Hauttransplantaten bei Ratten verlängern kann, wenn es kurz nach der Transplantation bis Tag +4 verabreicht wird (Berenbaum & Brown, 1963). In Experimenten mit PTCY im Modell der allogenen Hauttransplantation bei der Maus

zeigte sich, dass die vorherige Gabe von sehr hohen Dosen von Spender-Milz-Zellen eine lang anhaltende Toleranz erzeugt (Mayumi et al., 1986). Dieser toleranzinduzierende Effekt von Cyclophosphamid nach der Transplantation wird einerseits über eine peripher und im Thymus stattfindende Depletion von allo-reaktiven Empfänger T-Zellen vermittelt, während gleichzeitig toleranzspezifische Suppressor-T-Zellen des Empfängers generiert werden (Eto et al., 1990; Mayumi et al., 1996). Die Durchführung einer „Konditionierung“ und Addition von Knochenmarkzellen ermöglichte dann die Entstehung eines minimalen hämatopoetischen Chimärismus und eine lebenslange Toleranz (Mayumi & Good, 1989). In diesem Mausmodell der allogenen Blutstammzelltransplantation zeigte sich, dass diese Elimination von Empfänger T-Zellen gleichzeitig einherging mit einer Depletion von an Tag 1 und 2 proliferierenden, allo-reaktiven Spender T-Zellen (Ross et al., 2013). Dagegen wurden in einer lymphopenen Umgebung „ruhende“ Zellen geschont, die beispielsweise antivirale oder antileukämische Aktivität entfalten können (Luznik & Fuchs, 2010; Ross et al., 2013). Eine Toleranzinduktion mit Cyclophosphamid war allerdings nur zu erreichen, wenn es hochdosiert nach der Transplantation gegeben wurde (Nirmul, Severin, & Taub, 1973; Ross et al., 2013); gleichzeitig führte dies auch zu einem Engraftment nach nur niedrigdosierter Ganzkörperbestrahlung („total body irradiation; TBI) mit 2 Gray (Gy) (Luznik, Jalla, Engstrom, Iannone, & Fuchs, 2001).

In diesem Modell der unmanipulierten haplo-HSZT mit hochdosiertem PTCY ist neben der Depletion von allo-reaktiven T-Zellen aber auch die Persistenz regulatorischer T-Zellen erforderlich, um letale Verläufe der GvHD zu verhindern (Ganguly et al., 2014). Eine Schlüsselrolle spielt in diesem Zusammenhang das Enzym Aldehyddehydrogenase (ALDH), das für die Entgiftung des intrazellulären Aldehyds von Cyclophosphamid sorgt. Hämatopoetische Stammzellen und regulatorische T-Zellen, die dieses Enzym intrazytoplasmatisch vermehrt exprimieren, zeigen sich gegenüber dem zytotoxischen Effekt von Cyclophosphamid „resistent“. Dagegen tritt bei naiven T-Zellen ein selektives „killing“ ein (C. G. Kanakry et al., 2013); so kann aus dem „ruhenden“ Pool eine hämatopoetische und immunologische Rekonstitution bei gleichzeitig guter Kontrolle der bidirektionalen Allo-Reaktivität erreicht werden. Die selektive *in-vivo* Depletion von allo-reaktiven T-Zellen bei Schonung der regulären Hämatopoese tritt in dem engen Zeitfenster (bis Tag +3 und +4) nach der Transplantation auf, in dem Cyclophosphamid hoch dosiert gegeben wird. Darin liegt das Grundprinzip der Überwindung der HLA-Barriere in der unmanipulierten HLA-haploidentischen Situation.

Übertragung in die klinische Anwendung und frühe Behandlungsergebnisse:

Die erfolgreiche klinische Anwendung dieses Konzepts der unmanipulierten haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY erfolgte in den ersten Jahren des 21. Jahrhunderts (Luznik et al., 2008; O'Donnell et al.,

2002). Mit diesem haplo-HSZT-Konzept (Abb. 4) wurden in Baltimore und Seattle 68 Patienten mit verschiedenen hämatologischen Erkrankungen mit Hochrisikoprofil (AML n=27; ALL n=4; MDS n=1; CML/CMML n=6; M. Hodgkin n=13; NHL n=10; CLL n=3; Multiples Myelom n=3; PNH N=1) behandelt, wobei ein Teil der Patienten (Seattle: n=28) nur an Tag +3 nach haplo-HSZT hochdosiertes Cyclophosphamid erhielt, während die anderen Patienten (Baltimore: n=40) an Tag +3 und +4 jeweils 50 mg/kg Cyclophosphamid *i.v.* erhielten, bevor an Tag +5 die weitere GvHD Prophylaxe mit Tacrolimus und Mycophelolat Mofetil (MMF) einsetzte (Luznik et al., 2008). Nach NMA Konditionierung kam es bei 9/66 Patienten (13%) zu einer Abstoßung des Transplantats, wobei 8/9 dieser Patienten eine autologe hämatopoetische Restitution zeigten. Die Inzidenz der akuten GvHD (Grad II-IV: 34%), und besonders die der schweren akuten GvHD (Grad III-IV) mit insgesamt nur 6% war vergleichsweise niedrig. Auffallend war zudem, dass bei den Patienten, die Cyclophosphamid an zwei aufeinanderfolgenden Tagen (+3 und +4) nach haplo-HSZT erhalten hatten, die Inzidenz der extensiven chronischen GvHD nur bei 5% lag, während die andere Gruppe der Patienten, die nur an einem Tag (+3) Cyclophosphamid erhalten hatten, eine Inzidenz von 25% aufwies. Infektiöse Komplikationen wie CMV-Reaktivierung (38 %) und invasive Pilzkrankungen (7%) traten selten auf. Die TRM von 15% nach einem Jahr war vergleichsweise niedrig. Die Erkrankungskontrolle war jedoch in dieser Patientengruppe mit Hochrisikoprofil limitiert, obwohl 77% der Patienten auf eine Vortherapie angesprochen hatten und nur 10% (3/31) der Patienten mit akuter Leukämie zum Zeitpunkt der haplo-HSZT eine aktive Erkrankung hatten. Die Rezidivinzidenz (RI) lag nach 1-Jahr bei 51% und nach 2-Jahren bei 58%; daher war ein EFS von nur 34% nach 1-Jahr und von 26% nach 2-Jahren zu beobachten.

Bemerkenswert in dieser ersten Studie (Luznik et al., 2008) war, dass das EFS für Patienten mit lymphatischen Erkrankungen signifikant besser war als das für Patienten mit myeloischer Erkrankung (HR 0.54; $p=0.04$). Dementsprechend wurden sowohl bei Patienten mit Morbus Hodgkin (HL) (Burroughs et al., 2008; A. Raiola et al., 2014), als auch bei Patienten mit Lymphomen der B- und T-Zellreihe (Castagna, Crocchiolo, et al., 2014; Dietrich et al., 2016; J. A. Kanakry, Y. L. Kasamon, C. D. Gocke, et al., 2013; Kanate et al., 2016) mit diesem Konzept der unmanipulierten haplo-HSZT nach NMA Konditionierung mit PTCY gute Behandlungsergebnisse mit niedriger TRM erzielt.

Übereinstimmend wurden in diesen frühen Studien eine niedrige Inzidenz von GvHD, eine akzeptable Rate von Transplantatabstoßungen (teils mit autologer Regeneration), sowie eine moderate Zahl von infektiösen Komplikationen einschließlich der Abwesenheit von PTLDs beobachtet (Ciurea et al., 2012; J. A. Kanakry, Y. L. Kasamon, J. Bolanos-Meade, et al., 2013; Luznik et al., 2008). Früh gab es bereits Hinweise, dass durch den Einsatz von PTCY eine ausreichend gute und rasche Immunrekonstitution, ähnlich der nach einer HLA-identischen Geschwistertransplantation, ermöglicht wird. Daraus folgten, besonders im Vergleich zur haplo-HSZT mit einer *in-vitro*

Manipulation des Transplantats zur T-Zelldepletion (Ciurea et al., 2012), offensichtlich weniger Infektionen und eine niedrigere TRM. Diese niedrige TRM zeigte sich auch im Vergleich zu anderen unmanipulierten haploidentischen Transplantationsansätzen ohne Einsatz von PTCY (Huang et al., 2009). So erscheint die Kontrolle der bidirektionalen Allo-Reaktivität in der haplo-HSZT auf diese Weise optimierbar, ohne dass eine Manipulation des Stammzellpräparats erforderlich ist. Gleichzeitig scheint der Grad der HLA-Disparität keinen negativen Einfluss auf die Behandlungsergebnisse nach unmanipulierter haplo-HSZT mit Verwendung von PTCY zur GvHD Prophylaxe zu haben. In einer Gruppe von 185 Kindern und Erwachsenen mit verschiedenen hämatologischen Erkrankungen war die Anzahl der „HLA-Mismatches“ weder mit dem Risiko einer GvHD verknüpft, noch ergab sich ein negativer Einfluss auf das EFS. Vielmehr deutete sich ein geringeres Rezidivrisiko und ein verbessertes EFS an, möglicherweise infolge eines durch die HLA-Disparität verbesserten GvL-Effekts (Y. L. Kasamon et al., 2010).

Insgesamt bestätigte sich also auch in der klinischen Anwendung, dass durch PTCY eine effektive und selektive in-vivo T-Zelldepletion erreicht wird, während die Hämatopoese geschont wird und „schützende“ regulatorische T-Zellen überleben (C. G. Kanakry et al., 2013; Roberto et al., 2015).

Beide Arten der Transplantatquelle, also Knochenmark und G-CSF-mobilisierte periphere Blutstammzellen (PBSZ), können wohl gleichwertig in der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY eingesetzt werden (Castagna, Crocchiolo, et al., 2014; O'Donnell et al., 2016). Auch eine adoptive Immuntherapie mit unspezifischen, d.h. nicht manipulierten Spenderlymphozyten, war nach dieser haploidentischen Transplantationsform ohne wesentlich erhöhtes Risiko für eine GvH-Reaktion durchführbar (Ghiso et al., 2015; Zeidan et al., 2014).

Erkrankungskontrolle als Hauptproblem:

Das Hauptproblem der Erkrankungskontrolle, das bereits die Pilotstudie aus Baltimore 2008 belastete, (1-Jahres RI: >50%), bestand auch bei den Anwendungen im weiteren Verlauf. Die Prognose, besonders für Patienten mit rezidivierender/refraktärer Erkrankung bzw. Hochrisikoerkrankung war eingeschränkt. So wurde für Patienten mit verschiedenen Hoch- und Höchststrisikoerkrankungen (z.B. aggressives refraktäres NHL, AML und MDS ohne Remission, komplex aberranter Karyotyp bei AML) eine RI von 67% mit entsprechend niedrigem PFS von 22% nach 3 Jahren berichtet (McCurdy et al., 2015). Mit dem Ziel der Verbesserung der Erkrankungskontrolle wurde die Konditionierung zur haplo-HSZT mit PTCY im Sinne der Myeloablation intensiviert (Di Stasi et al., 2014; Raiola et al., 2013; Solomon et al., 2012). Dennoch blieb die Erkrankungskontrolle bei

Patienten, die mit aktiver Erkrankung transplantiert worden waren, limitiert, während erwartungsgemäß eine höhere TRM zu beobachten war.

Vergleich mit anderen Formen der allogenen Stammzelltransplantation:

Vergleichende Studien zeigten eine Gleichwertigkeit der Ergebnisse dieser unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY sowohl mit einer Transplantation von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut (Brunstein et al., 2011; A. M. Raiola et al., 2014; Ruggeri et al., 2015), als auch mit einer HLA-gemachten unverwandten Stammzelltransplantation (Bashey et al., 2013; Burroughs et al., 2008; Di Stasi et al., 2014; Kanate et al., 2016; A. M. Raiola et al., 2014). Nur mit der HLA-identischen Geschwistertransplantation waren bessere Ergebnisse zu erzielen (Bashey et al., 2013; A. M. Raiola et al., 2014).

Im Einzelnen traten bei der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY mit NMA Konditionierung gegenüber der CBT insbesondere eine geringere Abstoßungsrate und eine geringere Inzidenz von schwerer akuter (haplo-HSZT Grad III-IV: 0% vs CBT Grad III-IV: 21%) und chronischer GvHD (haplo-HSZT: 13% vs CBT: 25%) auf (Brunstein et al., 2011). Daher ergab sich auch eine niedrige TRM für die haplo-HSZT (haplo-HSZT: 7% vs CBT: 24%). Unterlegen war die Erkrankungskontrolle: 45% der Patienten erlitten nach einer haplo-HSZT ein Rezidiv, 31% der Patienten nach einer CBT (Brunstein et al., 2011). Anzumerken ist, dass hier die Ergebnisse eines Patientenkollektivs mit eher günstigem Risikoprofil analysiert wurden; so befanden sich zum Zeitpunkt der Transplantation ca. 90% der Patienten mit akuter Leukämie in Remission und alle Patienten mit einer Lymphomerkrankung hatten zumindest eine partielle Remission (PR) erreicht (Brunstein et al., 2011). In der 1-Jahresanalyse ergaben sich allerdings keine relevanten Unterschiede in der Überlebenszeit bei diesen beiden Patientenkollektiven: Unmanipulierte haplo-HSZT: OS/PFS nach einem Jahr 62/48% vs CBT: OS/PFS nach einem Jahr 54/46% (Brunstein et al., 2011). Eine weitere retrospektive Analyse aus Genua zeigte, dass die unmanipulierte haplo-HSCT mit Einsatz von PTCY nicht nur als gleichwertig mit einer HLA-identischen Geschwistertransplantation zu betrachten ist, sondern auch zu besseren Behandlungsergebnissen führen kann als die Transplantation von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut (A. M. Raiola et al., 2014). Diese Ergebnisse bekräftigten die Relevanz der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY im Bereich der Transplantation mit alternativen Spendern. Allerdings steht eine prospektive Prüfung der Vergleichbarkeit verschiedener allogener Spender noch aus. Kürzlich wurde eine große retrospektive EBMT Registerstudie publiziert, in der die Behandlungsergebnisse von 1446 Patienten mit akuter Leukämie (AML n=918; ALL n=528) nach einer unmanipulierten haplo-HSZT mit denen nach einer CBT verglichen wurden (Ruggeri et al., 2015). Die Analyse betraf 518 Patienten, die haploidentisch, und 928 Patienten, die mit Blutstammzellen aus

Nabelschnurblut transplantiert worden waren. Mehr als 75% der Patienten wurden in Remission transplantiert, wobei signifikant mehr Patienten in der unmanipulierten haplo-HSZT Gruppe an einer fortgeschrittenen Erkrankung litten. Mehr als 70% dieser Patienten wurden myeloablativ konditioniert. Verschiedene Varianten der unmanipulierten haplo-HSZT, auch solche, die mit einer intensiven Immunsuppression inklusive Anti-Thymozytenglobulin (ATG) vor haplo-HSZT ohne den Einsatz von PTCY durchgeführt wurden, fanden Eingang in diese Analyse; insgesamt wurde bei 163 (31%) der Patienten eine haplo-HSZT mit PTCY durchgeführt. In der Gesamtkohorte konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich TRM, RI und DFS zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Betrachtet man allerdings die Gruppe der unmanipulierten haplo-HSZT, die mit PTCY und somit ohne ATG transplantiert worden waren, isoliert, wird in dieser Gruppe eine signifikant geringere TRM bei höherem DFS, besonders bei Patienten mit ALL, deutlich. Somit deutet sich auch hier, erneut im Vergleich zur CBT, die Sicherheit und gute Verträglichkeit, aber auch möglicherweise eine bessere Erkrankungskontrolle durch den Einsatz der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY an.

Zusammenfassend ist das hier beschriebene unmanipulierte haplo-HSZT Protokoll mit PTCY sicher und verträglich mit geringer Abstoßungsrate, akzeptablen GvHD Raten und niedriger TRM. Es ermöglicht eine ausreichend gute Kontrolle der starken bidirektionalen Allo-Reaktivität und damit eine sichere Überwindung der HLA-Barriere. Der sonst bei einer in-vitro Manipulation des Transplantats erforderliche zeit- und kostenintensive technische und auch anspruchsvolle regulatorische Aufwand ist begrenzt. Obwohl durch die Intensivierung der Konditionierung eine verbesserte Erkrankungskontrolle besonders für Patienten in Remission oder mit Standardrisiko erzielt werden konnte, bleibt bei Patienten mit Höchstisiko- bzw. aktiver Erkrankung die Verhinderung eines Rezidivs weiterhin problematisch.

4. Virusinfektionen im Kontext der Immunrekonstitution nach unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY

4.1. Hintergrund:

Ein Hauptproblem der haplo-HSZT besteht, wie dargelegt, in der starken bidirektionalen Allo-Reaktivität, die in frühen Transplantationsversuchen mit unmanipulierten HLA-haploidentischen Stammzellpräparaten zu hohen Raten von Transplantatabstoßung und GvHD geführt hatte (Anasetti et al., 1990; Beatty et al., 1985; Powles et al., 1983). Zur Überwindung der HLA-Barriere wurden verschiedene Transplantationsverfahren entwickelt, die anfangs eine intensive, später auch eine Konditionierung mit reduzierter Intensität enthielten. Dazu kam der Einsatz von verschiedenen *in-vivo* (z.B. ATG; Alemtuzumab) und *in-vitro* T-Zelldepletionsverfahren (z.B. CD34+ Selektion, CD3+/CD19+ Depletion des Transplantates) (Aversa et al., 1998; Bethge et al., 2008; Handgretinger et al., 2001; Rizzieri et al., 2007). Während die Allo-Reaktivität besser kontrolliert wurde, führte die T-Zelldepletion ungewollt zu einer Reduktion der zellulären Immunität mit deutlich verzögerter bzw. beeinträchtigter Rekonstitution des Immunsystems. Die hohen Raten an Infektionen, aber auch von Rezidiven und Toxizität sind als Folge der ausgeprägten und längerfristigen T- und B-Zelldefizienz anzusehen (Aversa et al., 1998; Ciceri et al., 2008; Handgretinger et al., 2001; H.-J. Kolb et al., 2004; Lacerda et al., 2003; Rizzieri et al., 2007). Mit der *in-vitro* T-Zelldepletion des Transplantats war daher bei der haplo-HSZT trotz Rückgang der Abstoßungs- und GvHD Raten häufig eine hohe TRM (36-66%) zu beobachten (Aversa et al., 1994; Aversa et al., 2005; Ciceri et al., 2008; Klingebiel et al., 2010; Lang et al., 2004; Mehta et al., 2004; Rizzieri et al., 2007; Walker et al., 2004); mehr als 2/3 dieser Patienten starben an opportunistischen, v.a. Virusinfekten (Aversa et al., 1994; Aversa et al., 2005; Ciceri et al., 2008; Rizzieri et al., 2007); zudem wurde eine hohe Rate an EBV-assoziierten Posttransplantationslymphomen (PTLD) mit hoher Mortalität beobachtet (Ciceri et al., 2008; Curtis et al., 1999; Moosmann et al., 2010; Rizzieri et al., 2007). Eine Weiterentwicklung der haplo-HSZT im Hinblick auf eine rasche und robuste Immunrekonstitution mit dem Ziel der Minimierung der infektiösen Komplikationen war demnach die Hauptaufgabe.

Der Einsatz von PTCY brachte hier, bei der Verwendung eines unmanipulierten, d.h. T-Zellhaltigen (T-cell-replete; TCR) Transplantates für die haplo-HSZT Verbesserungsschritte. Wie dargelegt, führt Cyclophosphamid, kurz nach der haplo-HSZT appliziert, zu einer selektiven *in-vivo* Depletion von allo-reaktiven T-Zellen, während ruhende Zellen mit regenerativem, möglicherweise auch antiviralem Potential, wie z.B. Memory T-Zellen geschont werden (Luznik & Fuchs, 2010; Luznik et al., 2008; Ross et al., 2013). Eine Schlüsselrolle spielt dabei das Enzym Aldehyddehydrogenase (ALDH), das den intrazellulär vorhandenen Aldehyd von Cyclophosphamid entgiftet. Hämatopoetische Stammzellen und regulatorische T-Zellen weisen dieses Enzym in erhöhter Konzentration auf und zeigten sich gegenüber dem zytotoxischen Effekt von Cyclophosphamid „resistent“, während bei naiven T-Zellen ein selektives „killing“ erfolgt (C. G. Kanakry et al., 2013) Somit kann aus dem „ruhenden“ Pool der Zellen eine hämatopoetische und immunologische Rekonstitution bei gleichzeitig guter Kontrolle der bidirektionalen Allo-Reaktivität erreicht werden.

Frühzeitig hatten sich Hinweise ergeben, dass bei Einsatz von PTCY nach einer TCR/haplo-HSZT eine zügige Immunrekonstitution eintritt (Ciurea et al., 2012; Luznik et al., 2008). In einer Gruppe von Patienten, die ein unmanipuliertes haploidentisches Transplantat und PTCY zur GvHD Prophylaxe erhalten hatten (n=32) traten weniger bakterielle, virale und signifikant weniger fungale Infektionen auf, als bei Patienten, die mit einem *in-vitro* manipulierten Transplantat (CD34+ Selektion, T-cell-deplete; TCD) und ATG zur *in-vivo* T-Zelldepletion ohne Posttransplantations-Immunsuppression behandelt worden waren (Ciurea et al., 2012). Die Rekonstitution von CD4+ und CD8+ T-Zellen verlief in der TCR-Gruppe rascher. Im Verlauf wurden signifikant höhere mediane T-Zell Werte beobachtet: Nach sechs Monaten wurde in der TCR-Gruppe eine CD4+ T-Zellanzahl von fast 200/ μ l erreicht, während in der TCD Gruppe dieser Wert nur bei ca. 70/ μ l lag (p=0.04). Bei nicht signifikant unterschiedlichen Ergebnissen hinsichtlich von Engraftment und akuter sowie chronischer GvHD hatten die Patienten nach TCR-haplo-HSZT mit PTCY weniger infektiöse Komplikationen und eine verbesserte Immunrekonstitution und daher eine signifikant geringere TRM als Patienten nach TCD haplo-HSZT (TCR/PTCY haplo-HSZT: 16% vs TCD haplo-HSZT: 42%; p=0.02).

Vor diesem Hintergrund analysierten wir retrospektiv das Auftreten von Virusinfektionen und ihrer Komplikationen und die damit assoziierte Morbidität und Mortalität bei Patienten, die an unserem Transplantationszentrum in den Jahren 2006 bis 2011 mittels zweier unterschiedlicher haploidentischer Transplantationsverfahren behandelt worden waren. Die Analyse der Immunrekonstitution erfolgte im Kontext dazu.

Tabelle 1: Patienten- und Behandlungscharakteristika sowie Behandlungsergebnisse der beiden haplo-HSZT Gruppen (TCR/PTCY versus cTCR/TCD)

Charakteristika	Anzahl (%)		p-Wert
	TCR/PTCY	TCR/TCD	
Gesamtzahl Patienten	27 (100)	28 (100)	
Grunderkrankung			
AML	13 (48)	20 (71)	
ALL	4 (15)	3 (11)	
Lymphom-Erkrankung	10 (37)	2 (7)	
Andere (SAA, CML, BC, MPN)	0	1 (4)/1 (4)/1 (4)	
Fortgeschrittene Erkrankung	25 (93)	20 (71)	
HSZT 2/3	13 (48)	0	
Alter in Jahren, Median (Zeitspanne)	43 (23 - 61)	30.5 (18 - 60)	
Geschlecht			
Männlich	14 (52)	22 (79)	
Weiblich	13 (48)	6 (21)	
Konditionierungsintensität			
RIC	19 (70)	20 (71)	
MAC	8 (30)	8 (29)	
GvHD			
Akute GvHD II-IV	8 (30)	8 (29)	
Chronische GvHD	2 (7)	8 (29)	
CMV – Serostatus (Spender / Empfänger)			
Positiv – positiv	7 (26)	11 (39)	
Negativ – negativ	14 (52)	7 (25)	
Positiv - negativ	1 (3)	5 (18)	
Negativ - positiv	5 (19)	5 (18)	
EBV – Serologie positiv (Empfänger)	27 (100)	28 (100)	
Herpesvirusinfektionen	6 (22)	26 (93)	
CMV Reaktivierung	8 (31)	16 (59)	
PTLD	0	7 (25)	
Ergebnisse	%	%	
1-Jahres TRM	22	39	0.27
1-Jahres VIRM	0	29	0.009
1-Jahres OS	59	39	0.28
1-Jahres PFS	55	38	0.47

Abkürzungen: TCR/PTCY, T-cell-replete/Posttransplantations-Cyclophosphamid; cTCR/TCD, kombiniert T-cell-replete/T-cell-deplete; AML, Akute Myeloische Leukämie; ALL, akute lymphatische Leukämie; SAA, schwere aplastische Anämie; CML, chronische myeloische Leukämie; MPN, myeloproliferative Neoplasie; HSZT, hämatopoietische Stammzelltransplantation; RIC, Konditionierung mit reduzierter Intensität; MAC, myeloablative Konditionierung; GvHD, graft-versus host disease; CMV, Zytomegalievirus; EBV, Epstein-Barr Virus, PTL, post-transplantationsLymphom; TRM, therapieassoziierte Mortalität; VIRM, virusinfection-related mortality; OS, Gesamtüberleben; PFS, Progressionsfreies Überleben.

4.2. Die haploidentischen Transplantationsverfahren und ihre Ergebnisse

Das haploidentische cTCR/TCD Verfahren:

cTCR/TCD Gruppe: 28 Patienten; medianes Alter 31 Jahre (*Tabelle 1*). Dieses früher angewandte haploidentische Transplantationsverfahren sah zur Überwindung der HLA-Barriere neben einer im Rahmen der Konditionierung erfolgten *in-vivo* T-Zelldepletion mit Kaninchen-ATG (5x20 mg/kg), die Gabe eines unmanipulierten, nicht G-CSF stimulierten Stammzellpräparats (Knochenmark an Tag 0; TCR) vor, das an Tag +6 nach haplo-HSZT mit einem *in-vitro* T-Zelldepletierten Blutstammzellpräparat kombiniert wurde (CD6+ depletierte, G-CSF-mobilisierte PBSZ; TCD). In diesem haplo-Setting mit zwei kombinierten Stammzellquellen kam die Standardimmunsuppression Ciclosporin A (CyA) und MTX (15 mg/m² Tag +1 und 10 mg/m² Tag +3 und +7) hinzu (H.-J. Kolb et al., 2004).

Das haploidentische TCR/PTCY Verfahren:

TCR/PTCY Gruppe: 27 Patienten, medianes Alter 43 Jahre (*Tabelle 1*). Das zweite haploidentische Transplantationsverfahren setzte, wie bereits beschrieben, zur *in-vivo* Depletion von allo-reaktiven T-Zellen das Alkylans Cyclophosphamid ein. Es wird in hoher Dosierung (50mg/kg; Tag +3 und +4) kurz *nach* der Transplantation eines unmanipulierten, nicht G-CSF stimulierten Knochenmark- bzw. G-CSF stimulierten, unmanipulierten Blutstammzellpräparats gegeben, bevor die Standardimmunsuppression mit Tacrolimus und MMF an Tag +5 einsetzt (Luznik et al., 2008; O'Donnell et al., 2002).

In beiden haplo-HSZT Gruppen (TCR/PTCY und cTCR/TCD) waren die meisten Patienten an einer akuten Leukämie erkrankt, wobei die Patienten der TCR/PTCY Gruppe zum Zeitpunkt der HSZT häufiger eine fortgeschrittene Erkrankung aufwiesen: Bei 13 Patienten der TCR/PTCY Gruppe erfolgte eine zweite oder dritte allogene HSZT bei Rezidiv nach einer bereits erfolgten allogenen Stammzelltransplantation, dagegen hatte kein Patient der cTCR/TCD Gruppe eine erneute allo-HSZT

erhalten hatte (*Tabelle 1*). Insgesamt war somit a priori von einer ungünstigeren Prognose der TCR/PTCY haploidentisch transplantierten Patienten auszugehen.

Charakteristika und Ergebnisse der haplo-HSZT Verfahren

Sowohl in der TCR/PTCY als auch in der cTCR/TCD Gruppe zeigten alle Patienten, die Tag +30 erlebt hatten, ein Engraftment der Neutrophilen; in beiden Gruppen trat keine Abstoßung auf. Die Inzidenz der aGvHD des Grades II-IV war in beiden Gruppen gleich verteilt, während mehr Patienten in cTCR/TCD Gruppe an einer cGvHD litten (*Tabelle 1*). Während mehr Patienten in der cTCR/TCD Gruppe ein Risikokonstellation (Spender und/oder Empfänger seropositiv) für eine CMV Reaktivierung aufwiesen, war die Hochriskokonstellation (Spender negativ/Empfänger positiv) (Ganepola et al., 2007) in beiden Gruppen gleich verteilt.

Methoden

Alle asymptomatischen und symptomatischen Virusinfektionen, die bis zum Tag +180 bzw. ein Jahr nach haplo-HSZT aufgetreten waren, wurden berücksichtigt. Die Immunrekonstitution wurde quantitativ anhand von absoluten Lymphozytenwerten (mediane Anzahl/ μ l) und der entsprechenden, durchflusszytometrisch bestimmten Lymphozytensubpopulationen (CD3+, CD4+, CD8+ T-Zellen, NK Zellen und B-Zellen) an definierten Zeitpunkten nach der Transplantation (Tag +30, +100, +180) verfolgt. Alle Patienten erhielten eine antivirale Standardprophylaxe mit Aciclovir bis ausreichend CD4+ Zellen nachgewiesen und die Immunsuppression abgesetzt werden konnten. Bei regelmäßigem Monitoring der CMV- und EBM-Virusreplikation im peripheren Blut mittels PCR wurde bei Hinweisen auf eine Virusreaktivierung eine präemptive Behandlungsstrategie verfolgt.

Virusinfektionen in der HLA-haploidentischen Transplantation

Insgesamt wurden 139 Episoden einer Virusinfektion beobachtet, wobei 68 symptomatisch und 20 mit einer aktiven Organerkrankung assoziiert waren. Eine Virusinfektion war bei 46/55 (82%) der haploidentisch transplantierten Patienten nachweisbar. Eine ähnliche Inzidenz von Virusinfektionen wurde auch nach einer CBT oder nach einer HLA-mismatch MUD-Transplantation gesehen (Mulanovich et al., 2011; Parody et al., 2006; Ruggeri et al., 2011). In unserem haploidentisch transplantierten Patientenkollektiv traten Virusinfektionen häufiger in der cTCR/TCD-Gruppe (96%) als in der TCR/PTCY-Gruppe (70%) auf. Insbesondere Virusreaktivierungen und symptomatische

Viruserkrankungen waren in der cTCR/TCD Gruppe (51 Episoden) häufiger als in der Gruppe der mit PTCY haplo-transplantierten Patienten (17 Episoden).

Herpesvirusinfektionen nach haploidentischer Transplantation

Wir konnten zeigen, dass weniger Herpesvirusinfektionen nach haplo-HSCT auftraten, wenn PTCY zur GvHD Prophylaxe verabreicht worden war. So waren in der TCR/PTCY Gruppe nur 22% Herpesvirusinfektionen zu beobachten, während - möglicherweise im Zusammenhang mit der Behandlung mit ATG (s.u.) - in der cTCR/TCD Gruppe 93% Herpesvirusinfektionen zu verzeichnen waren (*Tabelle 2*). Für alle anderen, also alle nicht Herpesvirusinfektionen (Adenovirus, JC/BK Virus, RSV, Influenza, Parvo B19 u. a.) war dies nicht zu beobachten.

	All patients (n=55)	n (%)	
		cTCR/TCD (n=28)	TCR/PTCY (n=28)
Herpesviruses			
HSV	10	8 (29.6)	2 (7.4)
VZV	2	2 (7.1)	0 (0)
CMV	16	12 (42.9)	4 (14.8)
HHV-6	44	23 (82.1)	21 (77.8)
EBV	24	19 (71.4)	15 (18.6)
Other viruses			
RSV	1	1 (3.6)	0 (0)
ADV	9	5 (17.9)	4 (14.8)
Influenzavirus A	3	2 (7.1)	1 (3.7)
Polyomavirus JC/BK	24	11 (39.3)	13 (48.1)
Parvo B19	6	4 (14.3)	2 (7.4)
Rotavirus	0	0 (0)	0 (0)
Norovirus	0	0 (0)	0 (0)
Patients infected with ≥ 1 virus	46	27 (96.4)	19 (70.3)
Patients infected with ≥ 1 herpesvirus	32	26 (92.9)	6 (22.2)

Abkürzungen: HSV, Herpes simplex virus; VZV, Varicella Zoster Virus; CMV, Cytomegalovir; HHV-6, Humanes Herpesvirus 6, EBV, Epstein-Barr Virus; RSV, Respiratory Syncytial Virus; ADV, Adenovirus

Tabelle 2: Virusinfektionen nach haplo-HSCT: TCR/PTCY Gruppe versus cTCR/TCD Gruppe; aus (Tischer et al., 2015)

Zudem konnten wir in einer Analyse der Inzidenz von Adenovirusinfektionen nach allogener Stammzelltransplantation, die wir an unserem Zentrum über einen Zeitraum von 5 Jahren durchgeführt hatten, im Vergleich zu alternativen Transplantationsverfahren feststellen, dass nach einer TCR/PTCY haplo-HSZT weniger Adenovirusinfektionen aufgetreten waren als nach einer CBT oder einer HLA-mismatch MUD Transplantation (Hubmann et al., 2016). Dementsprechend kann angenommen werden, dass bei Verwendung des PTCY in der haplo-HSZT auch das Auftreten bzw. die Reaktivierung von Adenovirusinfektionen limitiert werden können.

Herpesviridae CMV und EBV

Eine CMV Reaktivierung wurde bei 12/27 Patienten (57%) in der cTCR/TCD-Gruppe mit entsprechender Risikokonstellation für die Reaktivierung festgestellt. Demgegenüber entwickelten in der TCR/PTCY-Gruppe nur 4/13 Patienten (31%) mit Risikokonstellation eine CMV Reaktivierung. Eine ähnliche CMV Reaktivierungsrate (38%) war in der in Baltimore und Seattle durchgeführten Pilotstudie zur unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY nach nicht myeloablativer Konditionierung berichtet worden (Luznik L BBMT 2008). Bemerkenswert ist, dass ähnlich niedrige Reaktivierungsraten sonst nur nach einer HLA-gematchten Stammzelltransplantation zu erwarten sind (Chang et al., 2012).

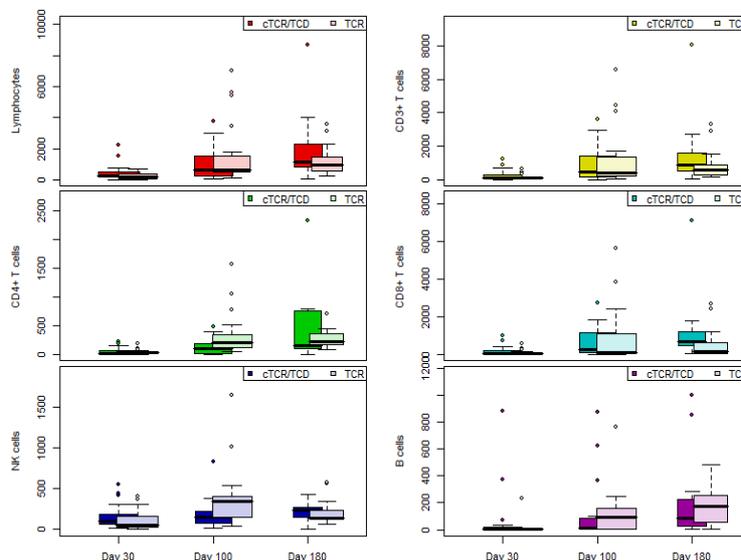
Bei gleicher Verteilung der Patienten bezüglich einer Hochrisikokonstellation für die CMV-Reaktivierung (s.o.) zeigte sich häufiger eine Reaktivierung in der cTCR/TCD- als in der TCR/PTCY-Gruppe (5/5 vs 1/5 Patienten). Diese hohe CMV-Reaktivierungsrate bei Hochrisikokonstellation wird auch gesehen, wenn in der unmanipulierten haploidentischen Transplantation mit Applikation von zwei Stammzellpräparaten (G-CSF stimuliertes Knochenmark und PBSZ) eine intensive Prä- und Posttransplantations-Immunsuppression inklusive ATG zur *in-vivo* T-Zelldepletion eingesetzt wird (Chang et al., 2012; Huang et al., 2009; Lu et al., 2006). Eine ähnlich hohe CMV-Reaktivierungsrate nach haplo-HSZT, auch bei Einsatz von PTCY, wird dann beobachtet, wenn die Posttransplantations-Standardimmunsuppression mit z.B. CyA vor der Gabe von Cyclophosphamid begonnen wird. So berichtete die Transplantationsgruppe aus Genua (Raiola et al., 2013) von einer CMV-Reaktivierungsrate von 50% trotz Einsatz von PTCY; dabei waren 5/6 der Hochrisikopatienten betroffen. Auch in dieser Analyse war die mediane Anzahl der CD4+ Zellen an Tag 100 mit 140/ μ l deutlich niedriger als bei unseren PTCY haplotransplantierten Patienten: 200/ μ l. Zudem führte in unserem Patientkollektiv die präemptive medikamentöse antivirale Behandlung, die im Falle einer CMV Reaktivierung eingeleitet wurde, in der TCR/PTCY-Gruppe häufiger zu einem Behandlungserfolg als in der cTCR/TCD-Gruppe (100% gegenüber 50%).

Sehr auffällig ist, dass *kein* Patient nach der TCR/PTCY haplo-HSZT mit PTZY ein PTLD entwickelte; dagegen erlitt eine hohe Anzahl von Patienten (7/28; 25%) nach cTCR/TCD-haploidentischer Transplantation diese schwerwiegende Komplikation. Fünf der Patienten verstarben. Mit einer adoptiven Immuntherapie mit EBV-spezifischen T-Zellen, die bei fünf dieser Patienten durchgeführt wurde, konnte eine Remission des PTLDs erreicht werden, wenn sie in einem frühen Stadium der Erkrankung einsetzte (Moosmann et al., 2010). Hauptauslöser dieser malignen B-Zellerkrankung nach allogener Transplantation ist eine profunde T-Zelldefizienz; als ursächlich anzunehmen ist also eine verzögerte und unzureichende Immunrekonstitution, wie sie nach einer *in-vivo* T-Zelldepletion mit ATG oder auch bei *ex-vivo* T-Zelldepletion mit Manipulation des Transplantats auftritt. Eine ähnlich hohe PTLD-Rate, wie sie in unserer cTCR/TCD-Gruppe aufgetreten war, ist nur nach einer CBT mit Einsatz von ATG beschrieben (Brunstein et al., 2006). Dagegen traten, wie in verschiedenen Studien gezeigt, bei unmanipulierter haplo-HSZT mit Einsatz von PTZY keine PTLDs auf (J. A. Kanakry, Y. L. Kasamon, J. Bolanos-Meade, et al., 2013; Raiola et al., 2013; Solomon et al., 2012).

4.3. Immunrekonstitution nach haplo-HSZT

Die verbesserte Kontrolle der Herpesvirusinfektionen nach haplo-HSZT war mit einer schnelleren Rekonstitution der CD4+T-Zellen in der TCR/PTCY-Gruppe verbunden. Es zeigte sich, dass an allen nach der Transplantation untersuchten Zeitpunkten die Anzahl der CD4+ T-Zellen in der TCR/PTCY-Gruppe höher war als in der Vergleichsgruppe; dies war besonders am Tag +100 nach Transplantation auffällig. Hier war die Anzahl der CD4+ T-Zellen doppelt so hoch wie in der cTCR/TCD Gruppe (206/ μ l vs 102/ μ l) (Abb 4).

A



B

<i>Median counts/μl</i>	cTCR/TCD	cTCR/TCD	cTCR/TCD	TCR	TCR	TCR
Lymphocytes	280	630	1115	211	650	920
CD3+ T cells	66	424	858	71	375	551
CD4+ T cells	21	102	157	39	206	230
CD8+ T cells	44	272	683	28	110	140
NK cells	100	146	230	53	341	140
B cells	5	14	82	1	97	175
	Day +30	Day +100	Day +180	Day +30	Day +100	Day+180

Abb. 4: Rekonstitution der Lymphozyten und ihrer Subpopulationen (mediane Anzahl/μl) nach haplo-HSZT in der TCR/PTCY- und der cTCR/TCD-Gruppe (Tischer et al., 2015).

Möglicherweise führt das ATG, das bei der Konditionierungsbehandlung zur cTCR/TCD haplo-HSZT in höher Dosis zur Prophylaxe von Abstoßung und GvHD eingesetzt wurde, zu den beobachteten Unterschieden hinsichtlich der T-Zellrekonstitution. ATG bewirkt *in-vivo* eine ausgeprägte T-Zelldepletion mit der Folge einer erheblichen und verlängerten Lymphopenie nach der HSZT (Finke et al., 2009; Ruggeri et al., 2011). Davon betroffen ist insbesondere das Kompartiment der CD4+ T-Zellen; nach der Applikation von ATG sind niedrige Anzahlen von CD4+ T-Zellen sowie eine niedrige CD4+/CD8+ T-Zell -Ratio zu beobachten. Diese Verhältnisse zeigten sich auch bei unserer cTCR/TCD Transplantationsgruppe. Auch bei einem anderen, derzeit populären Ansatz zur unmanipulierten haplo-HSZT, welcher zur Überwindung der HLA-Barriere eine intensive Immunsuppression inklusive ATG verwendet, wird eine bemerkbar verzögerte Rekonstitution des CD4+ T-Zellkompartiments berichtet (Huang et al., 2009). So waren – ähnlich wie in unserer cTCR/TCD Gruppe – nach diesem von der chinesischen Transplantationsgruppe angewandten Verfahren innerhalb der ersten 6 Monate nach haplo-HSZT nur CD4+ T-Zell Werte <200/μl berichtet worden (Huang et al., 2009). Eine ähnlich verzögerte CD4+ T-Zellrekonstitution ist sonst nur bei Einsatz von Verfahren zur *in-vitro* T-Zelldepletion des Stammzelltransplantats, wie z.B. der CD34+ Selektion, zu beobachten (Aversa et al., 2005). Dagegen zeigte sich in der mit PTCT haploidentisch transplantierten Patientengruppe eine deutlich bessere Rekonstitution der CD4+ T-Zellen: Bereits 3 Monate nach haplo-HSZT, und im weiteren Verlauf andauernd, wurde ein Wert von 200/μl CD4+ T-Zellen erreicht. Ähnliche Werte

werden sonst nur nach einer HLA-gematchten Geschwistertransplantation gemessen (Chang et al., 2012).

Die Applikation von hohen Dosen von ATG ist demnach bei haplo-HSZT als kritisch zu bewerten; die Möglichkeit zur Überwindung der HLA-Barriere *ohne* ATG kann der Hauptvorteil der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY sein.

Wie bereits erwähnt, hatten Ciurea et al. nach TCR/PTCY haploidentischer Transplantation bei 32 Patienten ebenfalls eine verbesserte Immunrekonstitution beobachtet (Ciurea et al., 2012); als Vergleichsgruppe dienten 33 Patienten, bei welchen eine haplo-HSZT mit *in-vitro* Manipulation (CD34+ Selektion) des Stammzellpräparats sowie eine *in-vivo* T-Zelldepletion mit ATG durchgeführt worden war. Auch in dieser TCD-Gruppe war im Verlauf nach der Transplantation die Anzahl der CD4+ T-Zellen zu allen Zeitpunkten deutlich niedriger als in der TCR/PTCY Gruppe. Patienten der TCD Gruppe hatten ein 1.5-fach erhöhtes Risiko, eine Virusinfektion zu entwickeln. Die Ergebnisse unserer Analyse bestätigen und präzisieren diese Befunde. Die TCR/PTCY haplo-HSZT ermöglicht eine bessere Kontrolle von Herpesvirusinfektion und die virusassoziierte Mortalität (VIRM) wird signifikant reduziert (*siehe Tabelle 1*).

4.4. Outcome und Überlebensprädiktoren nach haplo-HSZT

Das mediane Follow-up war mit 6.8 Jahren (Spanne: 6.1-7.4) in der cTCR/TCD Gruppe länger als in der TCR/PTCY Gruppe mit 2.8 Jahr (Spanne: 2.4-3.8). Bei Vergleich der beiden haplo-HSZT Gruppen ergaben sich auf den ersten Blick keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Outcome-Parameter des Gesamtüberlebens (OS), des progressions-freien Überlebens (PFS) sowie der TRM (*Tabelle 1*); auch die kumulative Rezidivinzidenz (1-Jahr RI: TCR/PTCY 22% vs cTCR/PTCY 21%; $p=0.56$) war nicht signifikant unterschiedlich. Diese Ergebnisse sollten jedoch im Zusammenhang mit der bereits dargelegten a priori prognostisch ungünstigeren Ausgangssituation der Patienten in der TCR/PTCY Gruppe gesehen werden. Es zeigte sich ein Trend zur verbesserten TRM in der TCR/PTCY Gruppe (1-Jahres TRM 22% vs cTCR/TCD 39%; $p=0.27$); möglicherweise aufgrund der geringen Fallzahlen in beiden Gruppen bestand allerdings kein signifikanter Unterschied. Insgesamt starben 19 Patienten an einer Komplikation nach haplo-HSZT (TCR/PTCY-Gruppe: 7 Patienten; cTCR/PTCY-Gruppe: 12 Patienten). Bemerkenswert ist, dass Infektionen, besonders Virusinfektionen, als Todesursache häufiger in der cTCR/TCD-Gruppe vorkommen (cTCR/TCD: 8/11 Patienten vs TCR/PTCY: 1/6 Patienten). 25% der Patienten in der cTCR/TCD-Gruppe entwickelten ein PTLD, 5 Patienten

starben daran. Die infektiöse Haupttodesursache in der TCR/PTCY Gruppe war die invasive Aspergillose, wobei 4 Patienten an dieser verstarben. Hinsichtlich der infection-related mortality (IRM) bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden haplo-HSZT Gruppen (siehe Tabelle 1) während eine signifikant höhere VIRM in der cTCR/TCD Gruppe zu beobachten war (1-Jahres VIRM 29% vs TCR/PTCY 0%; $p=0.009$; Tabelle 1). Eine Risikofaktoranalyse ergab folgende Prädiktoren, die an Tag 100 nach Transplantation einen positiven Einfluss auf das Gesamtüberleben der haploidentisch transplantierten Patienten hatten: Ein Lymphozytenwert $>300/\mu\text{l}$, ein CD3+ T-Zellwert $>200/\mu\text{l}$, sowie ein CD4+T-Zellwert $>150/\mu\text{l}$. Der Einsatz von Kortikosteroiden in einer Dosierung von mehr als 1 mg/kg war hingegen mit einem signifikant schlechteren Outcome korreliert.

4.5. Zusammenfassung:

Wir konnten durch unsere Analyse die Ergebnisse anderer Transplantationsgruppen hinsichtlich der TCR/PTCY haplo-HSZT nicht nur bestätigen, sondern auch präzisieren. Vorteile der unmanipulierten haplo-HSZT mit Einsatz von PTZY gegenüber einem anderen haploidentischen Transplantationsverfahren, welches auf dem Einsatz von ATG vor der Transplantation und zwei kombinierten Stammzelltransplantaten beruht, sind vor allem eine raschere Rekonstitution der CD4+ T-Zellen und die damit verbundene deutlich geringere Anzahl von Herpesvirusinfektionen.

Die Patienten der TCR/PTCY haplo-HSZT Gruppe zeigten nicht nur weniger CMV Reaktivierungen, sondern sie sprachen auch besser auf eine antivirale Behandlung an. Kein Patient der TCR/PTCY-Gruppe entwickelte die lebensgefährlich Komplikation eines PTLDs. Entsprechend war die VIRM dieser Patienten signifikant besser als die der Patienten der anderen haplo-HSZT Gruppe.

Es ist anzunehmen, dass beim Einsatz von Cyclophosphamid nach einer T-Zellhaltigen haplo-HSZT ein Teil der antiviralen Immunität bewahrt werden kann, sodass die Verbesserung der Kontrolle von latenten Virusinfektionen, wie der Herpesvirusinfektion, daher stammt.

Das Transplantationsverfahren der TCR/PTCY haplo-HSZT leistet so einen Beitrag zur Lösung des Problems der verzögerten Immunrekonstitution und der daraus resultierenden Virusinfektionen. Der Vergleich dieser neueren Strategie mit einem älteren und aufwändigeren haploidentischen Transplantationsverfahren zeigt die Fortschritte, die durch den Einsatz von PTZY in der haploidentischen Transplantation erzielt werden können.

5. Die sequentielle Therapie als Behandlungskonzept in der unmanipulierten HLA-haploidentischen Stammzelltransplantation mit Posttransplantations-Cyclophosphamid bei Patienten mit rezidivierender/refraktärer hämatologischer Neoplasie

5.1. Hintergrund

Die Ergebnisse der unmanipulierten haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY nach NMA Konditionierung waren bei Hochrisikopatienten unbefriedigend: Das 1-Jahres bzw. 2-Jahres EFS in der Pilotstudie aus Baltimore/Seattle betrug 34% bzw. 26% (Luznik et al., 2008). Nach einem Jahr hatten mehr als 50% der Patienten ein Rezidiv entwickelt, obwohl sich mehr als 90% der Patienten zum Zeitpunkt der haploidentischen Transplantation in einer Remission ihrer AL befunden hatten. Auch in nachfolgenden Studien zeigte sich, dass Patienten mit Hoch- oder Höchststrisikoerkrankung nach „Disease Risk Index“ (Armand et al., 2014) nach NMA Konditionierung und unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY ein hohes Rezidivrisiko hatten: Dieses lag nach einem Jahr bei 58%, während das DFS bei 35% nach einem Jahr betrug (McCurdy et al., 2015). Die Indikation zur unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY bei nicht remittierter hämatologischer Neoplasie konnte also als alternative Behandlungsmethode bei Fehlen eines HLA-kompatiblen Familien- oder Fremdspenders nur zurückhaltend gestellt werden.

Wie bereits dargelegt, waren bessere Ergebnisse bezüglich Remission und Rezidivrate bei Patienten mit Hochrisikoerkrankung bzw. rezidivierender oder refraktärer AML in der HLA-identischen oder –kompatiblen Transplantationssituation durch ein „*sequentielles Therapiekonzept*“ erreichbar (Schmid et al., 2005; Schmid et al., 2006). Das sog. „FLAMSA-RIC“ Regime, das an unserem Zentrum entwickelt wurde, wird inzwischen auch an anderen Transplantationszentren zur Behandlung von Hochrisiko-Patient mit AML und MDS eingesetzt (Malard et al., 2016; Ringden et al., 2016; Schmid et al., 2008)

Dieses „sequentielle Therapiekonzept“ wurde im Jahre 2009 an unserem Zentrum in die Behandlung der Patienten mit rezidivierender bzw. refraktärer hämatologischer Erkrankung integriert. Bei diesen Patienten wurde aufgrund der Nichtverfügbarkeit eines konventionellen Stammzellspenders die Alternative einer sequentiellen haplo-HSZT mit PTCY angewandt.

Wie ausführlich dargelegt, hatte sich das unmanipulierte HLA-haploidentische Transplantationsverfahren mit PTCY zur GvHD Prophylaxe und NMA Konditionierung als gut verträglich und sicher erwiesen. Bei akzeptabler Abstoßungs- und geringer GvHD-Rate ergab sich eine bemerkenswert niedrige 1-Jahres TRM von 15% (Luznik et al., 2008). Diesem Verfahren zur haplo-HSZT konnte eine intensive Chemotherapie im Rahmen des „sequentiellen Therapiekonzeptes“ kurz vor Beginn der intensivierten Konditionierungsbehandlung zur Transplantation hinzugefügt werden.

Das Ziel dieser sequentiellen Therapie - intensive Chemotherapie kurz vor dem Beginn der Konditionierung- ist die Leukämielast vor der Stammzellübertragung zu verringern und dadurch mehr Zeit für den nach der Transplantation eintretenden GvL Effekt zu gewinnen.

Für diese Zytoreduktion ist die Wahl der effektivsten Substanz von Bedeutung. Clofarabin ist ein Purinanalogon der zweiten Generation mit akzeptablem Sicherheitsprofil, dessen antileukämische Aktivität bei myeloischen und lymphatischen Blasten nachgewiesen wurde (Breccia et al., 2010; Jeha et al., 2006; Karp et al., 2007; Long-Boyle et al., 2011; Scappini et al., 2012). Clofarabin-basierte Therapien waren nicht nur bei Patienten mit akuter myeloischer und lymphatischer Leukämie (Kantarjian et al., 2003), sondern auch bei Lymphomerkrankungen wirksam, und dies auch bei Versagen einer vorausgegangenen Rituximab-haltigen Therapie (Abramson et al., 2013; Nabhan et al., 2011). Wirksamkeit bei guter Verträglichkeit wurde auch bei älteren Patienten und Patienten mit rezidivierter akuter Leukämie gezeigt (Faderl et al., 2006; Grigoleit et al., 2009; Jeha et al., 2006). Zudem hat Clofarabin ein gewisses immunsuppressives Potential (Robak, 2006), sodass es für den Einsatz bei der HLA-haploidentischen Transplantation mit ihrer starken bidirektionalen Allo-Reaktivität besonders geeignet erscheint. Der sichere und effektive Einsatz von Clofarabin war bei der HLA-identischen Geschwistertransplantation und der HLA-kompatiblen Fremdspendertransplantation mehrfach gezeigt worden (Andersson et al., 2011; Buchholz et al., 2012; Chevallier et al., 2012; Farag et al., 2011; Kebriaei et al., 2012; Locke et al., 2010; Magenau et al., 2011; Middeke et al., 2016). Dazu kommt, dass die meisten erwachsenen Patienten mit rezidivierter akuter Leukämie und aggressiver Lymphomerkrankung dieses Chemotherapeutikum aufgrund des bestehenden Zulassungsstatus zuvor noch nicht erhalten hatten.

5.2. Ergebnisse der sequentiellen Therapie in der unmanipulierten HLA-haploidentischen Transplantation mit PTCY bei Patienten mit aktiver akuter Leukämie und aggressiver Lymphomerkrankung

Akute Leukämie: Patienten- und Behandlungscharakteristika

18 Patienten (medianes Alter: 39 Jahre; Spanne 20-69 Jahre; männlich: n=9) mit akuter Leukämie (AML n=15; ALL n=3) wurden im Rahmen des sequentiellen Therapiekonzepts unmanipuliert HLA-haploidentisch mit Einsatz von PTCY transplantiert. Alle Patienten litten zum Zeitpunkt der haplo-HSZT an einer aktiven Erkrankung. Zudem waren alle Patienten ausgeprägt vorbehandelt. Entsprechend sind diese Patienten als Höchststrisikokollektiv zu betrachten: 44% erhielten mindestens zwei chemotherapeutische Vortherapien ohne eine Remission zu erreichen, 6% hatten sich bereits einer autologen Stammzelltransplantation unterzogen; bei 61% wurde dieses Verfahren als Zweittransplantationsverfahren bei Rezidiv nach einer ersten allogenen Transplantation angewandt. Demnach hatten alle Patienten eine ungünstige Prognose mit dem hohen Risiko eines erneuten Rezidivs sowie tödlicher transplantationsassoziierten Komplikationen zu erwarten (Barrett et al., 1991; Gokbuget et al., 2012; Henslee-Downey et al., 1997; Schmid et al., 2012). Alle Patienten erhielten Clofarabin ($5 \times 30 \text{ mg/m}^2$ über 5 Tage) zur Zytoreduktion, bevor nach drei Tagen Therapiepause die Konditionierung begonnen wurde. Als „Back-bone“ der GvHD Prophylaxe wurde PTCY (50 mg/kg an Tag+3 und Tag+4) eingesetzt, gefolgt von einer Standardimmunsuppression ab Tag +5 mit Tacrolimus (Zielspiegel 8-12 $\mu\text{g/l}$) und MMF (4 x 500 mg), analog dem ursprünglichen „Baltimore“ Protokoll. Die Intensität der Konditionierungsbehandlung wurde im Vergleich zu diesem ursprünglichen Protokoll, welches 2 Gy TBI in der Konditionierung vorsah, erhöht. So wurde eine erkrankungs- bzw. patientenspezifische Modifikation der Konditionierungsintensität bei >90% der Patienten durchgeführt: Eine dosisintensivierte Konditionierung mit 4-12 Gy TBI wurde bei 5 Patienten durchgeführt, 10 Patienten erhielten statt TBI eine Konditionierung mit Melphalan (110 mg/m^2) und bei zwei der ALL- Patienten mit Rezidiv nach einer ersten allogenen HSZT erfolgte die Konditionierung mit Treosulfan ($10-12 \text{ g/m}^2$) +/- Etoposid (40mg/kg). Als Stammzellquelle diente zumeist nicht stimuliertes Knochenmark (14/18 Patienten; 78%); alle Patienten erhielten G-CSF ab Tag +5 bis zum Engraftment der Neutrophilen. Das Therapieschema zur sequentiellen Therapie in der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY bei akuter Leukämie zeigt *Abb. 6*.

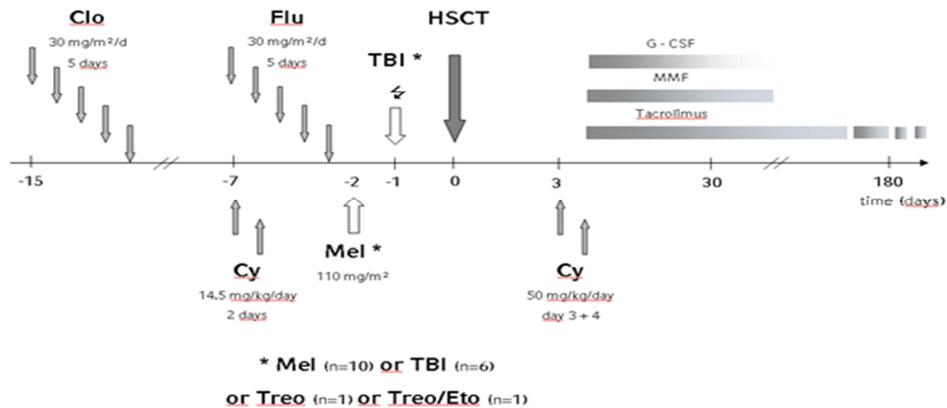


Abb. 6: Die sequentielle Therapie mit Clofarabin in der unmanipulierten HLA-haploidentischen Transplantation mit PTZY bei nicht remittierter akuter Leukämie (Tischer et al., 2013)

Aggressive Lymphomkrankung: Patienten- und Behandlungscharakteristika

Ebenso wurden 16 Patienten (medianes Alter 53 Jahre; Spanne 23-68; männlich n=11) mit aggressiver, nicht remittierter Lymphomkrankung (Mantelzelllymphom (MCL) n=7; Angioimmunoblastisches Lymphom (AILT) n=2; DLBCL n=1; sDLBCL n=5; B-lymphoblastisches Lymphom (B-LBL) n=1) im Rahmen des sequentiellen Therapiekonzepts unmanipuliert HLA-haploidentisch mit Einsatz von PTZY zur GvHD Prophylaxe transplantiert. Eine Chemotherapie-refraktäre Erkrankung lag bei 11 Patienten vor (69%), 4 Patienten hatten eine (PR) erreicht, ein Patient zeigte eine stabile Erkrankung (SD). Im Median hatten diese Patienten bereits 5 Zyklen (Spanne 1-8) einer Immunchemotherapie inklusive Rituximab erhalten. Bei 50% (8/16) dieser Patienten war zuvor eine autologe Stammzelltransplantation durchgeführt worden. Demnach handelte es sich auch hier um ein Höchststrisikokollektiv. Auch diese Patienten hatten eine ungünstige Prognose mit hohem Komplikations- und Rezidivrisiko nach einer allo-HSZT zu erwarten (Sirvent et al., 2010; van Kampen et al., 2011).

In der Vorbereitung zur HLA-haploidentischen Transplantation erhielten auch diese Patienten im Rahmen des sequentiellen Therapiekonzepts eine zytoreduktive Vorbehandlung mit Clofarabin, die - nach kurzer Pause – mit einer reduzierten Konditionierungsbehandlung mit Melphalan ($110\text{mg}/\text{m}^2$) zur unmanipulierten haplo-HSZT (Knochenmark als Stammzellquelle n=14; PBSZ als Stammzellquelle n=2) kombiniert wurde. Alle Patienten erhielten hochdosiertes Cyclophosphamid mit $50\text{ mg}/\text{kg KG}$ an Tag +3 und +4 nach der Transplantation, gefolgt von einer Immunsuppression mit Tacrolimus (Zielspiegel $8\text{-}12\ \mu\text{g}/\text{l}$) und MMF ($4 \times 500\text{ mg}/\text{d}$) ab Tag + 5 und G-CSF bis zum Engraftment der Neutrophilen. Abb. 7 zeigt das Therapieschema der sequentiellen Therapie mit Clofarabin in

Vorbereitung zur unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY bei Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung.

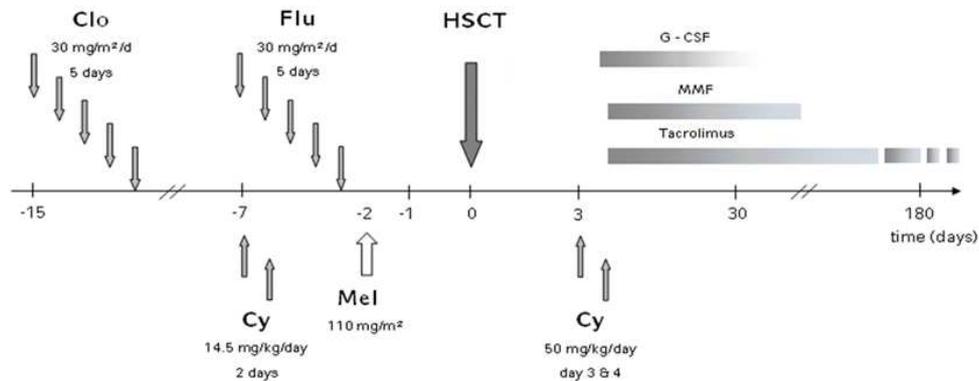


Abb. 7: Therapieschema zur sequentiellen Therapie in der unmanipulierten HLA-haploidentischen Transplantation mit PTCY bei aggressiver Lymphomerkrankung (Zoellner et al., 2015)

Transplantatabstoßung, Engraftment und Chimärismus in der sequentiellen unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY

Das von uns angewandte Therapieschema der sequentiellen unmanipulierten HLA-haploidentischen Transplantation mit PTCY als GvHD-Prophylaxe (Eto et al., 1990; Luznik & Fuchs, 2010; Luznik et al., 2008; O'Donnell et al., 2002; Ross et al., 2013) zeigte ein ausreichend immunsuppressives Potential: Während in der Patientenkohorte mit akuter Leukämie eine Transplantatabstoßung bei einem Patienten nach NMA Konditionierung zu beobachten war (Tischer et al., 2013), trat bei den Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung bei intensiverter Konditionierung keine primäre Transplantatabstoßung mehr auf (Zoellner et al., 2015). Damit lagen die Abstoßungsraten niedriger als die, welche für das ursprüngliche „Baltimore“ Protokoll nach NMA Konditionierung beschrieben worden waren (13% Transplantatabstoßung) (Luznik et al., 2008). Zudem konnten wir zeigen, dass die Abstoßungsrate ähnlich der war, welche bei Einsatz einer sequentiellen Therapie in der HLA-gematchten Transplantationssituation nach Anwendung des „FLAMSA-RIC“ Protokolls beobachtet worden war (Schmid et al., 2005; Schmid et al., 2006).

Während in der unmanipulierten HLA-haploidentischen Transplantation durch PTCY proliferierende, allo-reaktive T-Zellen depletiert werden, werden ruhende Zellen von dieser zytotoxischen Substanz, die zu einem DNA-Schaden der Zelle führt, offensichtlich geschont (Luznik & Fuchs, 2010; Luznik et al., 2008; Ross et al., 2013). Aus diesem „ruhenden“ Zellpool wird eine stabile Rekonstitution der Hämatopoese ermöglicht (Luznik & Fuchs, 2010). So beobachteten bereits Luznik und Kollegen in der

Pilotstudie aus Baltimore und Seattle im Jahr 2008 bei mehr als 80% der Patienten ein stabiles Engraftment, wobei eine Rekonstitution der Neutrophilen bzw. Thrombozyten im Median nach 15 bzw. 24 Tagen stattfand (Luznik et al., 2008). Entsprechend wurde in ähnlicher Weise ein Engraftment der Neutrophilen, definiert als Neutrophile $>500/\mu\text{l}$ an drei aufeinanderfolgenden Tagen bei 83% (15/18) unserer Patienten mit akuter Leukämie im Median nach 18 Tagen (Spanne 15-20), und bei 100% der Patienten mit Lymphomerkrankung im Median nach 19 Tagen (Spanne 14-36) erreicht, wobei 3 Patienten mit akuter Leukämie in der Aplasie vor Tag +30 an Infektionen verstorben waren. Ein Engraftment der Thrombozyten, definiert als Thrombozyten $>20 \text{ G/l}$ an fünf aufeinanderfolgenden Tagen ohne Transfusion, konnte in beiden Kohorten bei nur geringfügig weniger Patienten erreicht werden: 72% (13/18) der Patienten mit akuter Leukämie und 88% (14/16) der Patienten mit Lymphomerkrankung zeigten dieses. Der zeitliche Verlauf des Neutrophilen- und Thrombozytenengraftments nach sequentieller HLA-haploidentischer HSZT ist exemplarisch für die Gruppe der Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung in Abb. 8 dargestellt.

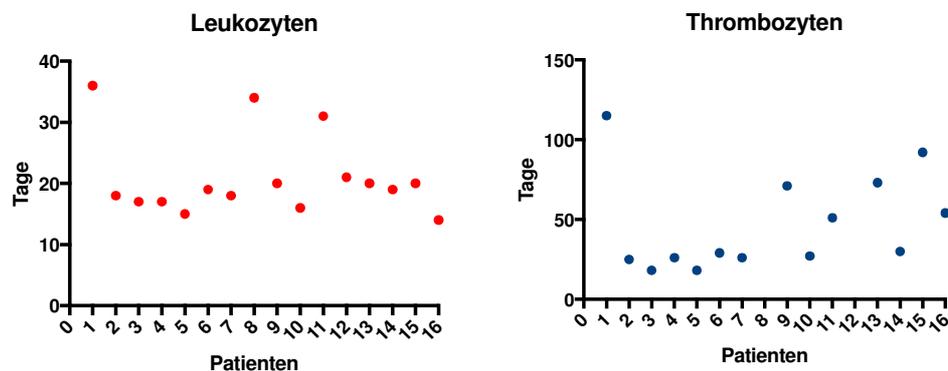


Abb. 8: Neutrophilen-/Thrombozytenengraftment nach sequentieller HLA-haploidentischer Transplantation mit PTCY bei aggressiver Lymphomerkrankung.

Ähnliche Ergebnisse bezüglich des Engraftments wurden bei sequentieller HLA-kompatibler HSZT mit Einsatz von Clofarabin für Patienten mit rezidivierender und refraktärer AML und MDS in der HLA-gematchten Transplantationssituation berichtet: 24/27 dieser Patienten erreichten ein stabiles Engraftment, während auch hier 3 Patienten in der Aplasie verstorben waren (Buchholz s Euro J haemtol 2012). Nur durch Einsatz eines myeloablativen Regimes, das zeitgleich in der Konditionierung Clofarabin enthielt, konnte nach HLA-gemachter HSZT bei mehr als 90% der

Patienten ein Engraftment erzielt werden (Farag et al., 2011; Kebriaei et al., 2012; Magenau et al., 2011).

Ein vollständiger Chimärismus im Knochenmark und peripheren Blut (CD3+ Zellen) war bei allen Patienten nachweisbar, die Tag +100 nach sequentieller haplo-HSZT mit PTCY erlebt hatten und kein Rezidiv aufwiesen. Ein Verlust des kompletten Chimärismus (< 90% Spenderzellen) war bei allen unserer Patienten mit der Entwicklung eines Rezidivs assoziiert.

GvHD in der sequentiellen unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY

Bereits im Rahmen der Pilotstudie aus Baltimore konnte für Patienten mit verschiedenen hämatologischen Erkrankungen gezeigt werden, dass hochdosiertes Cyclophosphamid, das an Tag +3 und +4 nach der Transplantation eines unmanipulierten, also T-Zellhaltigen haploidentischen Stammzellpräparates, gegeben wird, eine effektive GvHD Prophylaxe ermöglicht: Nur 34% der Patienten entwickelten eine akute GvHD Grad I-IV (CI nach 200 Tagen), wobei nur 6% von diesen eine schwere GvHD des Grads III-IV zeigten, und die Inzidenz der extensiven chronischen GvHD bei nur 5% lag (Luznik et al., 2008). Durch eine derartige Anwendung von Cyclophosphamid, kann eine sehr effektive *in-vivo* Depletion von proliferierenden, allo-reaktiven T-Zellen erreicht werden (Luznik & Fuchs, 2010; Luznik et al., 2001). Wie bereits ausgeführt, scheint hierbei dem Enzym ALDH eine Schlüsselrolle zuzukommen: Zellen, welche - wie die pluripotente hämatopoetische Stammzelle oder regulatorische T-Zellen - intrazytoplasmatisch ALDH in höherem Maße exprimieren, zeigen sich resistent gegen den zytotoxischen Effekt von Cyclophosphamid, während andere Zellen, wie z.B. naive T-Zellen, „gekillt“ werden (C. G. Kanakry et al., 2013). So kann nicht nur eine rasche Rekonstitution der Hämatopoese erfolgen, sondern es wird gleichzeitig eine Toleranz induziert, die wohl im Wesentlichen dazu beiträgt, dass mittels PTCY in der unmanipulierten haplo-HSZT die Entwicklung einer akuten und chronischen GvHD, und besonders die einer schweren Verlaufsform verhindert.

Entsprechend konnten auch wir sowohl bei Patienten mit akuter Leukämie, als auch bei Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung sehr niedrige GvHD Raten nach der sequentiellen unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY feststellen. Nur 2/18 (11%) der Patienten mit akuter Leukämie, und nur ein Patient mit Lymphomerkrankung entwickelten eine schwere aGvHD Grad III-IV, während in beiden Patientengruppen keine schwere cGvHD auftrat; sehr häufig zeigte sich eine milde Verlaufsform der cGvHD. Die Raten von akuter und chronischer GvHD verteilt nach der jeweiligen Grunderkrankung sind in *Tabelle 3* dargelegt.

GvHD	Anzahl (%)	
	Akute Leukämie	Aggressives Lymphom
Gesamtzahl Patienten	18 (100)	16 (100)
Akute GvHD	9 (50)	10 (62.5)
Grad I	5 (28)	4 (25)
Grad II	2 (11)	5 (31)
Grad III	1 (5.5)	1 (6)
Grad IV	1 (5.5)	0
Chronische GvHD	5 (27.5)	4 (25)
Mild	4 (22)	4 (25)
Moderat	1 (5.5)	0
Schwer	0	0

Tabelle 3. Akute und chronische GvHD nach sequentieller haplo-HSZT mit PTCY

Insgesamt zeigten sich somit geringere GvHD-Raten als in der HLA-gematchten Transplantationssituation bei Einsatz von Clofarabin synchron verbunden mit einer myeloablativen Konditionierung (30% aGvHD Grad III-IV; 31% moderate und schwere cGVHD) (Magenau et al., 2011). Auch nach einer sequentiellen Therapie, verbunden mit einer RIC nach dem sog. „FLAMSA-RIC“ Protokoll waren die GvHD-Raten höher (24% aGvHD Grad III-IV; 21% extensive cGVHD) (Schmid et al., 2006). Besonders bemerkenswert ist auch, dass die GvHD Raten unserer Patienten mit aggressiver Lymphomerkkrankung merkbar niedriger waren, als die, welche für die HLA-gematchte Transplantation mit NMA Konditionierung berichtet worden waren (Khoury & Champlin, 2012; Khouri et al., 1998). Es zeichnete sich also ab, dass die sequentielle Behandlungsstrategie in der unmanipulierten haplo-HSZT - post oder propter – mit PTCY zur GvHD Prophylaxe zu geringen GvHD Raten führt.

5.3 Toxizität und Infektionen bei der sequentiellen unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY

Wir konnten zeigen, dass die sequentielle Therapie mit Einsatz einer intensiven zytoreduktiven Chemotherapie (hier Clofarabin) in der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY nicht mit vermehrter

Toxizität verbunden ist. Angesichts der Tatsache, dass alle Patienten ausgeprägt vorbehandelt waren, keine Remission der Grunderkrankung aufwiesen, und auch Patienten mit Rezidiv nach einer ersten allogenen Transplantation einschließlich einer vorab angewandten myeloablativen TBI in unsere Analyse eingeschlossen worden waren, ist die beobachtete Toxizität nach sequentieller haplo-HSZT mit PTCY als überraschend niedrig zu bewerten.

In der Patientenkohorte mit akuter Leukämie entwickelten 45% der Patienten (8/18 Patienten) im Zeitraum von Start der sequentiellen Therapie bis Tag +30 nach unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY eine schwerwiegende, therapieassoziierte Toxizität (Grad III und IV nach CTCAEv3.0 des National Cancer Instituts), wobei vier dieser Patienten mehr als zwei Toxizitäten mit Grad III-IV aufwiesen. Am häufigsten war eine transiente Erhöhung der Transaminasen (44%), welche im engen zeitlichen Zusammenhang mit der Clofarabinapplikation stand, eine Mukositis (39%), sowie in jeweils 17% eine Hautveränderung inklusive eines Hand-Fuß-Syndroms, sowie eine Erhöhung des Kreatinins und Übelkeit/Erbrechen zu beobachten.

Eine Aufstellung der behandlungsassoziierten Toxizität, die für jeden einzelnen Patienten mit akuter Leukämie gesondert analysiert wurde, ist Tabelle 4 zu entnehmen.

Toxicities	N = 18			
	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV
<i>GI tract</i>				
Mucositis	6	5	5	2
Nausea & vomiting	2	8	3	-
Diarrhea		2		
<i>Cardiovascular system</i>				
Hypertension	3	2	-	-
Arrhythmia	2	1	-	-
<i>Lung</i>				
Dyspnoea	-	1	-	-
<i>Urinary tract</i>				
Creatinine elevation	6	-	2	1
Hemorrhagic cystitis	-	1	1	-

Toxicities	N = 18			
	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV
<i>Liver</i>				
Hyperbilirubinemia	2	9	1	-
Elevation of transaminases	2	10	8	-
<i>CNS</i>				
Headache	2	1	1	-
Confusion	2	-	-	-
Paraesthesia	2	-	-	-
<i>Constitutional symptoms</i>				
Fever	-	6	-	-
Musculoskeletal Pain		2		
<i>Skin</i>				
Hand-foot syndrome	1	4	3	-
Rash	7	3	-	-

Tabelle 4: Behandlungsassoziierte Toxizität bei sequentieller haplo-HSZT mit PTCY bei Patienten mit akuter nicht-remittierter Leukämie (Tischer et al., 2013)

Ähnliche Ergebnisse fanden sich in der Patientenkohorte mit aggressiver Lymphomkrankung: Ca. die Hälfte der Patienten (9/16; 56%) entwickelte eine schwere Toxizität des Grades III-IV, wobei auch hier am häufigsten eine transiente Erhöhung der Transaminasen (38%) zu beobachten war, während bei reduzierter Konditionierung mit Melphalan weniger häufig eine schwere Mukositis (19%), Übelkeit und Erbrechen (19%) auftraten.

In Tabelle 5 sind die transplantationsassoziiert aufgetretenen Toxizitäten bei Patienten mit aggressiver Lymphomkrankung aufgeführt.

Toxicities	N = 16			
	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV
<i>GI tract</i>				
Mucositis	9	4	2	1
Nausea & vomiting	3	7	3	-
Diarrhea	1	4	-	-

Toxicities	N = 16			
	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV
<i>Cardiovascular system</i>				
Hypertension	1	-	-	-
Sinus tachycardia	3	1	-	-
<i>Lung</i>				
Dyspnoea	-	1	-	-
Pleural effusion	-	2	-	-
<i>Urinary tract</i>				
Creatinine elevation	4	3	1	
Hemorrhagic cystitis	-	1	-	1
<i>Liver</i>				
Hyperbilirubinemia	-	6	-	-
Elevation of transaminases	-	4	5	1
Ascites	1	-	-	-
Veno occlusive disease	-	-	-	-
<i>CNS</i>				
Headache	1	1	-	-
Dizziness	1	1	-	-
Somnolence	-	1	-	-
<i>Constitutional symptoms</i>				
Fever	-	2	-	-
Musculoskeletal Pain	-	1	-	-
<i>Skin</i>				
Hand-foot syndrome	1	1	1	-
Rash	4	4	-	-

Tabelle 5: Behandlungsassoziierte Toxizität bei sequentieller haplo-HSZT mit PTCY bei Patienten mit nicht-remittierter aggressiver Lymphomerkkrankung (Zoellner et al., 2015).

Akutes Nierenversagen (ANV) ist eine mögliche schwerwiegende Komplikation, die im Zusammenhang mit der Applikation von Clofarabin, besonders bei weiteren Risikofaktoren beschrieben ist (Kintzel, Visser, & Campbell, 2011; Locke et al., 2010). Während nach sequentieller

haplo-HSZT mit Einsatz von Clofarabin drei Patienten mit akuter Leukämie ein ANV mit Dialysepflichtigkeit entwickelten, kam es bei Patienten mit einer Lymphomerkkrankung nicht dazu. Zwei unserer Patienten mit ANV zeigten ein septisches Krankheitsbild mit Multiorganversagen (MOF). Sie wurden intensivmedizinisch inklusive mechanischer Beatmung und kontinuierlicher Hämofiltration behandelt. Einer der drei Patienten entwickelte ein ANV in engem zeitlichen Zusammenhang mit der Applikation von Clofarabin und musste intermittierend mit einer Hämodialyse versorgt werden; eine terminale Niereninsuffizienz wurde nicht beobachtet.

In keiner unserer Patientenkohorten trat eine „veno occlusive disease“ (VOD) auf. Diese gilt als schwerwiegende, lebensgefährliche Komplikation nach allo-HSZT, die zum Leberversagen führen kann. Als gefährdet gelten ausgeprägt vorbehandelte Patienten mit myeloproliferativer Erkrankung (MPN) und Patienten, die eine myeloablative (MAC) Konditionierungsbehandlung mit Busulfan oder TBI erhalten haben, sowie Patienten mit Transaminasenerhöhung als Hinweis auf eine vorbestehende Leberschädigung (Carreras et al., 1998).

Eine schwerwiegende hämorrhagische Zystitis (HZ; Grad III-IV) war bei jeweils einem Patienten mit AML und einem Patienten mit aggressivem Lymphom zu beobachten; beide Patienten hatten eine medikamentöse Konditionierung mit reduzierter Intensität erhalten. Bei beiden Patienten waren allerdings mehrere Millionen Kopien von Polyomaviren (BK- und JC) im Urin nachweisbar, sodass die Genese dieser HZ als nicht ausschließlich toxisch angenommen werden kann.

Bei Patienten mit verschiedenen myeloischen und lymphatischen Erkrankungen wurde vergleichsweise häufig eine schwerwiegende Lebertoxizität (Bilirubinerhöhung) nach Clofarabin (Dosierung 20-40 mg/m²) in der HLA-gematchten Transplantationssituation nach MAC (Magenau et al., 2011) beobachtet. Dies erklärt sich möglicherweise durch die gleichzeitige Anwendung von Clofarabin und Busulfan in dieser Konditionierungsbehandlung. Eine solche gleichzeitige Applikation toxischer Substanzen ist in unserem Behandlungskonzept nicht enthalten. Durch die isolierte, also demnach „schonende“ Gabe von Clofarabin zur Zytoreduktion mit 3 Tagen Pause vor dem Beginn der Konditionierung wird möglicherweise ausreichend Zeit für das Abklingen der durch die intensive Zytoreduktion verursachten akuten Toxizität gewonnen. Es ist anzumerken, dass bezüglich der TRM tendenziell schlechtere Ergebnisse berichtet werden, wenn Clofarabin synchron und nicht sequentiell im Rahmen einer myeloablativen, aber auch nicht myeloablativen Konditionierung zur HLA-gematchten HSZT eingesetzt wird (19-31%) (Farag et al., 2011; Magenau et al., 2011).

Wie bereits erläutert, führt PTCY nach unmanipulierter haplo-HSZT zur selektiven Depletion von allo-reaktiven T-Zellen, während ruhende Zellen, wie z.B. memory T-Zellen, die ein antivirales Potential besitzen können, geschont werden (Luznik & Fuchs, 2010). Eine rasche und wirksame Immunrekonstitution kann so aus dem „ruhenden“ Pool der Zellen erfolgen. Die

Immunrekonstitution kann so verlaufen, wie sie nach einer HLA-gematchten Stammzelltransplantation zu erwarten ist (Chang et al., 2012) und quantitativ besser und schneller als diejenige, die nach einer haplo-HSZT mit Einsatz von *in-vivo* und *in-vitro* T-Zelldepletion beobachtet wird (Ciurea et al., 2012; Tischer et al., 2015). Auch in der Pilotstudie (Baltimore/Seattle) von 2008 war nur eine geringe Anzahl von infektiöse Komplikationen wie CMV-Reaktivierung (38%), eine invasive Pilzerkrankung (7%) und kein PTLD berichtet worden (Luznik et al., 2008).

Wir konnten zeigen, dass auch bei Einsatz eines „sequentiellen Therapiekonzepts“ nach haplo-HSZT mit PTCY nur wenig virale Komplikationen zu erwarten sind. Eine CMV-Reaktivierung trat nur bei 19% der Patienten mit aggressiver Lymphomkrankung bei entsprechender Risikokonstellation auf; keiner dieser Patienten entwickelte eine manifeste CMV Erkrankung, ebenso wurde kein EBV-assoziiertes PTLD beobachtet. Dieses ist eine schwerwiegende Komplikation nach allogener Stammzelltransplantation, die mit hoher Mortalität einhergeht und besonders bei persistierender T-Zelldefizienz beobachtet wird (Heslop & Rooney, 1997).

Ebenso war die Anzahl der invasiven Pilzerkrankungen gering. Bei prophylaktischer antimykotischer Behandlung waren 2 Fungämien (1 Patient mit Lymphomkrankung: *C. Parapsilosis* und 1 Patient mit AML: *Fusarium*) zu beobachten. Eine wahrscheinliche invasive Pilzerkrankung wurde bei 2 Patienten mit Lymphomkrankung beobachtet.

5.4. Die transplantationsassoziierte Mortalität

Frühe Versuche mit unmanipulierter HLA-haploidentischer Transplantation hatten bei hohen Abstoßungs- und GvHD-Raten zu einer inakzeptabel hohen TRM geführt, die in den einzelnen Studien mehr als 50% betrug (Anasetti et al., 1990; Beatty et al., 1985; Powles et al., 1983). So war diese haploidentische Transplantationsform keine gute, alternative Möglichkeit in der Situation des fehlenden HLA-kompatiblen Stammzellspenders. Demgegenüber hatte sich bereits in der Pilotstudie aus Baltimore (2008) angedeutet, dass durch Einsatz von PTCY in der unmanipulierten haplo-HSZT bei niedrigen GvHD- und Infektionsraten (siehe oben) eine bemerkenswert niedrige TRM (1-Jahres TRM: 15%) erreicht werden konnte (Luznik et al., 2008). In dieser ersten Studie wurden 68 Patienten mit verschiedenen hämatologischen Hochrisikoerkrankungen (v.a. remittierter Erkrankung), untersucht, wobei bei der durchgehend angewandten NMA Konditionierung von einem geringeren Toxizitätspotential auszugehen war. Zudem überlebten alle Patienten, bei denen es zu einer

primären Transplantatabstoßung nach NMA Konditionierung kam (13%), eine autologe Rekonstitution der Hämatopoese war möglich (Luznik et al., 2008).

Die „sequentielle Therapie“ ging auch in der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY, wohl aufgrund der guten Kontrolle der bidirektionalen Allo-Reaktivität, mit einer moderaten Toxizität und einer geringen Anzahl von schwerwiegenden Infektionen in unserer Patientenkohorte mit einer akzeptabler TRM einher. So ist die TRM vergleichbar mit derer, die nach sequentieller Therapie für die HLA-gematchte Transplantationsituation gefunden wurde (Schmid et al., 2005; Schmid et al., 2006). In unserer haplo-HSZT Patientenkohorte lag die 1-Jahres TRM für Patienten mit akuter Leukämie bei 23%; für Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung konnten wir eine 1-Jahres TRM von 19% berichten.

Eine ähnliche TRM wurde nach unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY und einer myeloablativen Konditionierung für Patienten mit aktiver Erkrankung berichtet: Die TRM lag hier bei 26% nach 18 Monaten (Raiola et al., 2013). Von einer französischen Transplantationsgruppe wurde für Patienten mit fortgeschrittener AML und MDS mit Hochrisikosituation in Remission eine 1-Jahres TRM von 20% berichtet. Patienten mit aktiver Erkrankung wiesen eine höhere TRM von 34% auf (Devillier et al., 2016). Dagegen wiesen alle Patienten unserer Kohorte mit akuter Leukämie, aber auch die mit aggressiver Lymphomerkrankung zum Zeitpunkt der Transplantation eine aktive Erkrankung auf. Demnach stellt sich dieses Ergebnis anderer Transplantationsgruppen im Vergleich zu unserem nach sequentieller haplo-HSZT mit PTCY als merkbar ungünstiger dar.

Das sequentielle Therapiekonzept in der HLA-gematchten Transplantationssituation (FLAMSA-RIC) hatte bei Patienten mit Hochrisiko AML und MDS ähnliche Ergebnisse bezüglich der TRM: Diese lagen nach einem Jahr bei 17% (Schmid et al., 2005) bzw. 33% (Schmid et al., 2006). Auch in diesen Studien wiesen mehr als 80% der Patienten eine aktive Erkrankung zum Zeitpunkt der Transplantation auf, allerdings waren keine Patienten mit Rezidiv nach einer ersten allogenen Stammzelltransplantation, die a priori ein höheres Risiko für transplantationsassoziierte Komplikationen zu erwarten haben, eingeschlossen (Bosi et al., 2001; Christopheit et al., 2013; Eapen et al., 2004; Platzbecker et al., 2008; Shaw et al., 2008; Vrhovac et al., 2016).

Da bisher ein sequentielles Transplantationskonzept für Patienten mit Lymphomerkrankungen nicht beschrieben wurde, können dazu keine vergleichenden Überlegungen angestellt werden. Die in unserer Patientenkohorte beobachtete TRM (19% nach einem Jahr) liegt im unteren Bereich der Spanne (11-41%), die in der Behandlung von Lymphomerkrankungen sowohl für die unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY, als auch für die HLA-gematchte HSZT mit RIC beschrieben wird (Castagna, Bramanti, et al., 2014; Castagna et al., 2016; Dietrich et al., 2016; Doocey et al., 2005; Kanate et al., 2016; Luznik et al., 2008; Rigacci et al., 2012; Sirvent et al., 2010; Wirk et al., 2014). Im Jahr 2014

wurden die Ergebnisse von 49 Patienten mit fortgeschrittener Lymphomerkrankung nach unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY berichtet (Castagna, Bramanti, et al., 2014). Ein Drittel der Patienten in dieser Studie war an einem aggressiven NHL erkrankt; nur 8% dieser Patienten hatte vor Transplantation keine Remission erreicht (Castagna, Bramanti, et al., 2014). Die TRM lag für diese Gesamtkohorte nach einem Jahr bei bemerkenswert niedrigen 16%, wobei auch hier in den meisten Fällen eine NMA Konditionierung analog zum ursprünglichen „Baltimore“ Protokoll angewandt worden war. Ebenso niedrig war die 1-Jahres TRM (11%) nach NMA haplo-HSZT mit PTCY bei erwachsenen Patienten mit einer Lymphomerkrankung inklusive der HL, wobei auch hier in erster Linie Patienten mit Chemotherapie-sensitiver Erkrankung (93%) und niedrigem DRI (nur 8% „High-Risk“) behandelt worden waren. In einer EBMT Registeranalyse wurden 59 Patienten mit NHL untersucht, bei denen eine unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY zumeist in Remission durchgeführt worden war: Die 2-Jahres TRM lag hier bei 25% (Dietrich et al., 2016).

Die Einführung der sequentiellen haplo-HSZT in die unmanipulierte haplo-HSZT hat demnach auch bei Patienten mit aggressiver, nicht remittierter Lymphomerkrankung nicht zu einer relevanten Erhöhung der TRM geführt.

5.5 Erkrankungskontrolle / Rezidive

Wie bereits dargelegt, war bereits aus der initialen Pilotstudie aus dem Jahr 2008 ersichtlich, dass die Erkrankungskontrolle durch eine unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY nach NMA Konditionierung limitiert ist. So hatten Patienten (n=68), die hauptsächlich an einer akuten Leukämie, einem NHL oder einem HL erkrankt waren und überwiegend eine Remission zum Zeitpunkt der Transplantation erreicht hatten (>80%), nach einem Jahr eine Rezidivinzidenz (RI) von über 50% (1-Jahres RI: 51%; 2-Jahres RI: 58%) (Luznik et al., 2008). Auch bei folgenden Untersuchungen zeigte sich, dass Patienten mit hohem DRI nach einer unmanipulierten haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY nach nicht myeloablativer Konditionierung eine RI von über 50% hatten (DRI Hoch- und Höchstisiko: 1-Jahres RI 58%; 3-Jahres RI 68%) (McCurdy et al., 2015). Zudem hatte sich in zwei parallel durchgeführten multizentrischen Studien, welche die Ergebnisse einer CBT mit denen einer unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY verglichen, gezeigt, dass die unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY eine höhere 1-Jahres RI von 46% gegenüber der CBT mit einer 1-Jahres RI von 31% hatte (Brunstein et al., 2011). Wir haben das Konzept der „sequentiellen Therapie“ in die unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY

integriert, um die Erkrankungskontrolle bei unseren Patienten mit Höchststrisikoerkrankung zu verbessern.

Akute Leukämie

Bei 14/18 (78%) Patienten mit akuter Leukämie konnte an Tag +30 nach sequentieller haplo-HSZT mit PTCY eine Remission der Grunderkrankung erzielt werden. Ein Rezidiv trat bei 8/18 (44%) der Patienten in dieser Kohorte im Median nach 6 Monaten (Spanne: 1-15) auf. Erneut ist darauf hinzuweisen, dass es sich hierbei um die Patienten mit dem höchsten Risikopotential handelte: Alle hatten zum Zeitpunkt der sequentiellen haplo-HSZT eine aktive Erkrankung, wobei ca. 50% ein Rezidiv nach einer ersten allogenen Transplantation aufwiesen. Nach sequentieller Therapie in der HLA-gematchten Transplantationssituation („FLAMSA-RIC“ Protokoll) war bei 88-91% der Patienten mit rezidivierender/refraktärer AML und MDS eine Remission an Tag + 30 induziert worden. In dieser Studie hatten geringfügig weniger Patienten ein Rezidiv nach einem Jahr (1-Jahres RI: 37%) entwickelt (Schmid et al., 2005; Schmid et al., 2006). Anzumerken ist, dass keine Patienten mit Rezidiv nach einer ersten allogenen Stammzelltransplantation und keine ALL-Patienten in diese Studie eingeschlossen worden waren (Schmid et al., 2006). In gleicher Weise konnte in der HLA-gematchten Transplantationssituation nach einer nicht sequentiellen Clofarabin-haltigen myeloablativen Konditionierung bei 80% der Patienten mit fortgeschrittener myeloischer und lymphatischer Erkrankung an Tag +30 nach Transplantation eine erneute Remission induziert werden, wobei in dieser Studie eine RI von 42% nach 2 Jahren beobachtet worden war (Magenau et al., 2011).

Unsere Ergebnisse geben einen ersten Hinweis, dass die sequentielle Therapie in der HLA-haploidentischen Transplantationssituation mit PTCY hinsichtlich der Remissionsinduktion ähnlich wirksam sein kann wie die in einer HLA-gematchten Transplantationssituation.

Aggressive Lymphomkrankung, GvL-Effekt:

Nach sequentieller haplo-HSZT mit PTCY konnte bei 94% unserer Patienten mit nicht komplett remittierter aggressiver Lymphomkrankung und zugleich bei 91% der Chemotherapie-refraktären Patienten an Tag +30 nach Transplantation eine erneute Remission (CR n=4; PR n=11) induziert werden. Dabei hatten auch 88% der Patienten mit Rezidiv nach einer autologen Transplantation eine erneute Remission erreicht. Insgesamt rezidierten nur 36% der chemorefraktären Patienten unserer Patientenkohorte. Somit ist diese sequentielle haploidentische Therapiestrategie bemerkenswert effektiv bei der Induktion einer erneuten Remission.

Insbesondere konnte nach der sequentiellen haplo-HSZT bei sechs der Patienten mit aggressiver Lymphomerkkrankung innerhalb der ersten 3 Monate eine progressive Verbesserung des Remissionstatus erzielt werden (*siehe Tabelle 6*). So hatten fünf Chemotherapie-refraktäre Patienten mit PR an Tag +30 ohne weitere Therapie an Tag 100 eine CR erreicht. Zudem konnten wir beobachten, dass zwei weitere Patienten im weiteren Verlauf nach Absetzen der immunsuppressiven Behandlung an Tag +360 nach der Transplantation eine CR erreichten.

Response						
Patient	Diagnosis	ASCT	prior to Clofarabine	Day 30	Day 100	Day 360
1	AILT	yes	refractory	CR	CR	CR
2	AILT	no	refractory	CR	PD	CR
3	MCL	yes	SD	PR	PR	PR
4	MCL	yes	refractory	PR	PR	CR
5	MCL	yes	refractory	PR	CR	CR
6	MCL	no	refractory	PR	NR	NR
7	MCL	yes	refractory	PR	CR	CR
8	MCL	no	PR	PR	CR	NR
9	MCL	no	refractory	PR	CR	NR
10	sDLBCL	yes	refractory	PR	CR	PD
11	DLBCL	yes	refractory	PR	PR	PD
12	sDLBCL	yes	refractory	PD	NR	NR
13	sDLBCL	no	PR	CR	PD	NR
14	sDLBCL	no	PR	PR	PR	CR
15	sDLBCL	no	PR	CR	CR	CR
16	B-LBL	no	refractory	PR	CR	CR

Tabelle 6: Verlauf der Remissionsinduktion nach sequentieller haplo-HSZT mit PTCY bei Patienten mit aggressiver Lymphomerkkrankung Zoellner AK et. al, BMT 2015.

Bei zwei von drei der nach sequentieller haplo-HSZT rezidierten Patienten wurde eine adoptive Immuntherapie mit DLI durchgeführt: Beide Patienten zeigten ein Ansprechen (1 x PR; 1 x CR) ohne dass eine schwere GvHD induziert wurde. Eine ähnliche Remissioninduktion nach DLI wurde für redizivierte Patienten in der HLA-gematchten Transplantationssituation berichtet, wobei allerdings alle dieser Patienten bereits vor Transplantation eine chemosensitive Erkrankung hatten

(Wondergem et al., 2014). Ein GvL Effekt scheint in der Behandlung von Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung in der HLA-gematchten Transplantationssituation evident zu sein (Bishop et al., 2008; Gopal et al., 2011; van Kampen et al., 2011; Wondergem et al., 2014). Der Eintritt dieses Effektes kann häufig eine längere Zeit in Anspruch nehmen (Baron et al., 2005). So zeigen Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung, die primär Chemotherapie-refraktär sind bzw. im Rezidiv keine erneute Remission erzielen können, oft eine Progression ihrer Grunderkrankung, bevor die allogene HSZT realisiert und der postulierte GvL Effekt einsetzen kann (Rezvani et al., 2008) Insgesamt weisen unsere Ergebnisse darauf hin, dass auch bei Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung mit der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY ein substanzieller GvL Effekt induziert werden kann, wobei – analog zur Behandlung der AML in der HLA-gematchten Transplantationssituation - durch den Einsatz der sequentiellen Therapiestrategie mehr Zeit für die Entwicklung dieses Effekts erwirkt wurde.

5.6. Ergebnisse der Überlebenszeitanalysen der sequentiellen unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY bei Patienten mit fortgeschrittener akuter Leukämie und aggressiver Lymphomerkrankung

Hintergrund

Aufgrund einer exzessiv hohen TRM (>50%) war für Patienten, die im Rahmen von frühen Ansätzen der unmanipulierten haplo-HSZT behandelt worden waren, längerfristig nur ein niedriges Gesamtüberleben (10%) beobachtet worden (Anasetti et al., 1990; Beatty et al., 1985; Powles et al., 1983). Der Einsatz von PTCY zur GvHD Prophylaxe hatte in der unmanipulierten haplo-HSZT einen deutlichen Fortschritt gebracht: Bei geringer Abstoßungs- und GvHD-Rate war die TRM in der Pilotstudie von 2008 aus Baltimore und Seattle mit 15% bemerkenswert niedrig (Luznik et al., 2008). Wegen der unzureichenden Erkrankungskontrolle, ersichtlich an der hohen Rezidivinzidenz von >50%, schlug sich dieses ungünstige TRM-Ergebnis in dieser ersten Studie nicht in einem Überlebensvorteil nieder. So betrug das OS in dieser Kohorte der unmanipuliert haploidentisch transplantierten Patienten zwar nach einem Jahr bzw. zwei Jahren noch 46% bzw. 36%, aber das EFS nur 34% bzw. 26% (Luznik et al., 2008). Angesichts dessen, dass in dieser ersten klinischen Studie zur unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY zwar Patienten mit hohem Risikoprofil, aber in erster Linie nur solche in Remission eingeschlossen worden waren, sind diese Ergebnisse als unbefriedigend zu bewerten. So wiesen zum Zeitpunkt der Transplantation nur 10% der Patienten mit akuter Leukämie

eine aktive Erkrankung auf; ebenso hatten die meisten Lymphompatienten eine Remission erreicht (Luznik et al., 2008). Auch in den Folgestudien zeigte sich, dass insbesondere Patienten mit einer Hoch- bzw. Höchststrisikoerkrankung nach DRI nach NMA unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY trotz guter Verträglichkeit (1-Jahres TRM: 5%) bei hoher Rezidivrate (1-Jahres RI: 58%) ein niedriges PFS zu erwarten hatten. So lag das 1-Jahres PFS von 60 Patienten mit Hoch- und Höchststrisikoerkrankung bei 37% während das 1-Jahres OS immerhin 55% betrug (McCurdy et al., 2015).

In dieser ersten Pilotstudie aus Baltimore (Luznik et al., 2008) fiel auf, dass das EFS für Patienten mit lymphatischer Erkrankung signifikant besser war als für Patienten mit myeloischer Erkrankung (HR 0.54; $p=0.04$). Mit dieser ersten Beobachtung übereinstimmend konnten mit dem haploidentischen Transplantationsansatz gute Behandlungsergebnisse mit niedriger TRM sowohl bei Patienten mit HL (Burroughs et al., 2008; Castagna et al., 2017; A. Raiola et al., 2014; A. M. Raiola et al., 2014), als auch bei Patienten mit fortgeschrittenen Lymphomen der B- und T-Zellreihe erreicht werden (Castagna, Bramanti, et al., 2014; Dietrich et al., 2016; J. A. Kanakry, Y. L. Kasamon, C. D. Gocke, et al., 2013). So wurde bei Patienten mit HL, die in ca. 2/3 der Fälle an einer rezidierten oder refraktären Erkrankung litten, ein gutes PFS von 51% nach 2 Jahren (Burroughs et al., 2008) oder von 63% nach 3 Jahren beobachtet (A. Raiola et al., 2014). Die Inzidenz der akuten GvHD (Grad II-IV: 11-24%) war gering und es kam zu keiner Transplantatabstoßung (Burroughs et al., 2008). Ebenso wurden kaum infektiösen Komplikationen beobachtet (CMV Reaktivierung: 42%; kein PTLD; invasive Pilzkrankungen: 8%), und es ergab sich folglich bei den Hodgkin Lymphomen eine bemerkenswert niedrige TRM (4%) (A. Raiola et al., 2014). Ähnliches war bei 49 Patienten mit aggressiver bzw. indolenter fortgeschrittener Lymphomerkkrankung (HL 55%) zu beobachten, die in über der Hälfte der Fälle eine erneute Remission (55% CR, 37% PR) vor haplo-HSZT erreicht hatten (Castagna, Bramanti, et al., 2014). Eine niedrige Komplikationsrate (aGvHD II-IV: 26%; cGvHD: 5%; <10% Transplantatabstoßung, CMV Reaktivierung: 29%, kein PTLD; invasive Pilzkrankung. 12%) resultierte auch in dieser retrospektiven Analyse in einer niedrigen TRM (16%), wobei sich eine gute Erkrankungskontrolle ergab: Das 2-Jahres PFS lag bei 55%. Für Patienten mit aggressivem NHL und MCL, die überwiegend keine Remission erreicht hatten, war mit diesem haploidentischen Transplantationsansatz allerdings nur noch ein PFS von 35% nach 2 Jahren bzw. 23% nach 3 Jahren zu erzielen (Y. L. Kasamon, Bolaños-Meade, J., Gladstone, D, 2013).

Zur Verbesserung der Erkrankungskontrolle wurde von den Transplantationsgruppen aus Genua (Italien) und Atlanta (USA) das ursprüngliche aus Baltimore/Seattle (USA) stammende Transplantationsverfahren zur haplo-HSZT modifiziert. Die Intensität der Konditionierungsbehandlung wurde verstärkt: So erfolgte entweder eine chemotherapeutisch/medikamentös-basierte (z.B. Busulfan oder TBI-basierte) myeloablative Konditionierung (Raiola et al., 2013; Solomon et al., 2012). Gleichzeitig wählte die „Atlanta Gruppe“

eine andere Art der Transplantatquelle; unmanipulierte, G-CSF mobilisierte PBSZ wurden als Transplantat mit höherem T-Zellgehalt anstelle von Knochenmark, wie im ursprünglichen „Baltimore Protokoll“ vorgesehen, gegeben. Damit wurde eine Verstärkung des GvL Effektes beabsichtigt (Solomon et al., 2012). Die Gruppe aus Genua hingegen wählte Knochenmark als Transplantatquelle und eine Variation im zeitlichen Ablauf der GvHD Prophylaxe; die Immunsuppression mit CyA und MMF wurde vor der Applikation des PTCY begonnen (Raiola et al., 2013). Dies schien keinen Einfluss auf die Induktion einer Toleranzreaktion zu haben. Ähnliche Abstoßungs- und GvHD Raten wie im ursprünglichen „Baltimore Protokoll“ mit Tacrolimus und MMF an Tag +5 nach der Applikation von Cyclophosphamid wurden gesehen (Luznik et al., 2008). Insgesamt ergab sich trotz der myeloablativen Konditionierung auf den ersten Blick erstaunlicherweise keine deutlich erhöhte TRM (4-18%), wobei erwartungsgemäß die Abstoßungsraten mit ca. 1% deutlich geringer waren als anfänglich nach nicht myeloablativer Konditionierung (Luznik et al., 2008). Für Patienten, die mit rezidivierender hämatologischer Erkrankung nach dem „Genua Protokoll“ transplantiert worden waren, ergab sich allerdings nach myeloablativer Konditionierung eine höhere TRM. Diese lag nach 6 Monaten geschätzt bei 26%. Auch die Inzidenz der akuten (Grad II-IV) bzw. chronischen GvHD von 12-46 % bzw. 10-56 % war erhöht, sowohl nach dem „Genua-“ also auch nach dem „Atlanta-Protokoll“ (Raiola et al., 2013; Solomon et al., 2012, 2015). Dies war besonders bei Patienten, die mit Hochrisikoerkrankung unter Verwendung von TBI und peripheren Blutstammzellen nach dem „Atlanta Protokoll“ transplantiert worden waren, zu beobachten (Solomon et al., 2015).

Die Erkrankungskontrolle war für 50 Patienten mit verschiedenen hämatologischen Erkrankungen inklusive Lymphomerkkrankungen, die nach „Genua Protokoll“ transplantiert worden waren, vergleichsweise befriedigend (Raiola et al., 2013). Ein Rezidiv trat bei 26% aller Patienten auf. Das erkrankungsfreie Überleben lag nach 18 Monaten bei 51%. Die 27 Patienten allerdings, die mit rezidivierender bzw. aktiver Erkrankung transplantiert worden waren, hatten erwartungsgemäß eine schlechtere Prognose. Nur 37% dieser Patienten überlebten erkrankungsfrei nach 18 Monaten.

Auch für die nach dem „Atlanta Protokoll“ transplantierten Patienten wird eine günstigere Prognose bei verbesserter Erkrankungskontrolle berichtet (Solomon et al., 2012, 2015). So wurde ein EFS von 50% nach einem Jahr bei Einsatz von Busulfan (n=20) (Solomon et al., 2012) bzw. von 73% nach 2 Jahren bei Einsatz von TBI in der Konditionierung berichtet (n=30). Dabei betrug die Rezidivinzidenz 24% in der TBI Gruppe (Solomon et al., 2015) und 40% in der Busulfan Gruppe (Solomon et al., 2012) betrug. Anzumerken ist, dass Patienten sowohl mit myeloischer als auch mit lymphatischer Erkrankungen in die Analyse gingen, und ca. 3/4 der Patienten sich zum Zeitpunkt der intensivierten unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY in Remission befanden. Betrachtet man die Subgruppe der Patienten mit Hochrisikoerkrankungen, ergibt sich nur noch ein erkrankungsfreies Überleben von 39%, wobei die Rezidivrate in der TBI Gruppe ebenfalls bei 50% liegt (Solomon et al.,

2015). Nähere Angaben bezüglich der Behandlungsergebnisse für Patienten, die mit aktiver Erkrankung haploidentisch transplantiert worden sind, sind nicht genau eruierbar; es wird lediglich die sehr schlechte Prognose erwähnt, die diese Patienten bei Verwendung des „Atlanta Protokolls“ zu erwarten haben (Solomon et al., 2012, 2015).

Die MD Anderson-Transplantationsgruppe aus Houston/USA wiederum teilte die Ergebnisse der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY nach myeloablativer Konditionierung isoliert für Patienten mit AML und MDS mit (Di Stasi et al., 2014). Für Patienten mit aktiver Erkrankung war das Ergebnis unbefriedigend: Das 1-Jahres EFS war mit 10% als sehr ungünstig zu bewerten.

Die Ergebnisse einer in 2015 veröffentlichten Registeranalyse des Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR) zur unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY (n=88) im Vergleich zur HLA-gematchten Fremdspendertransplantation (n=737) bei AML (67% in Remission) zeigen, dass durch eine myeloablativ Konditionierung in dieser haploidentischen Transplantationssituation gegenüber einer Konditionierung mit reduzierter Intensität zwar keine signifikanten Unterschiede bezüglich der TRM (1-Jahr MAC: 12%; 1-Jahr RIC: 6%) auftreten, dass aber auch die RI (1-Jahr MAC: 41%; 1-Jahr RIC: 43%) und das OS (1-Jahr MAC: 65%; 1-Jahr RIC: 64 %) nicht merkbar unterschiedlich ausfällt (Ciurea et al., 2015). Es zeigte sich bei gleich guter Verträglichkeit kein Überlebensvorteil für Patienten, die nach einer MAC unmanipuliert haploidentisch mit PTCY transplantiert worden waren. Interessanterweise wurde in dieser Studie nach einer unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY trotz myeloablativer Konditionierung eine geringere GvHD Inzidenz beobachtet als nach einer MUD Transplantation.

Insgesamt konnte durch Intensivierung der Konditionierungsbehandlung in der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY für Patienten mit einer Hochrisikoerkrankung ein im Vergleich zur Pilotstudie aus dem Jahr 2008 verbessertes Ergebnis erzielt werden. Für Hochrisikopatienten, die mit aktiver Erkrankung behandelt worden waren, blieb die Krankheitskontrolle und somit die Prognose jedoch weiterhin begrenzt.

Zur Reduktion der Krankheitslast und Verstärkung der Krankheitskontrolle führten wir das Konzept der „sequentiellen Therapie“ in die unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY ein. Eine intensive zytoreduktive Chemotherapie mit Clofarabin wurde verabreicht, bevor nach kurzer Pause eine Konditionierungsbehandlung zumeist in reduzierter Intensität als Vorbereitung zur unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY begonnen wurde. Alle mit diesem Konzept behandelten Patienten befanden sich in einem fortgeschrittenen Stadium mit aktiver bzw. nicht komplett remittierter Erkrankung. Dabei waren auch Patienten mit Rezidiv nach einer ersten allogenen Transplantation.

Vor diesem Hintergrund sind die Ergebnisse der sequentiellen haplo-HSZT mit PTCY als vielversprechend anzusehen. Mit einem medianen Follow-up von 19 Monaten (Spanne: 15-39) zeigten die Patienten mit nicht remittierter akuter Leukämie ein 1-Jahres OS von 56% (95% CI: 31-74), das RFS lag bei 39% (95% CI: 18-60). Die Überlebenskurven hierfür sind in *Abb.9* dargestellt.

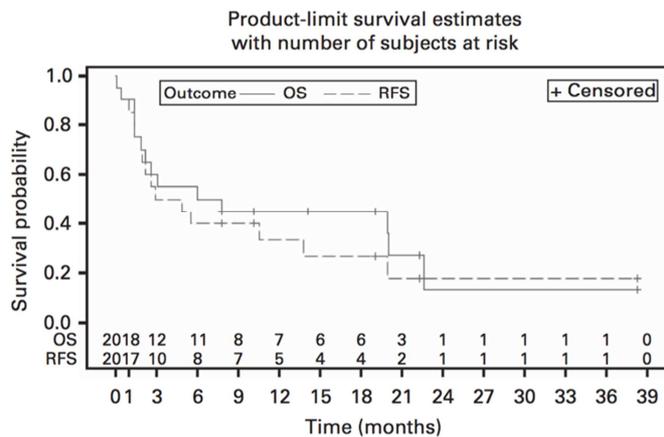


Abb.9: Überlebenswahrscheinlichkeit (Overall Survival und Rezidiv-freies Überleben) nach sequentieller haplo-HSZT mit PTCY für Patienten mit nicht remittierter akuter Leukämie aus Tischer et al., 2013

Clofarabin-haltige Regime zur HLA-kompatiblen HSZT erbringen vergleichsweise ähnliche Ergebnisse: Nach MAC mit Busulfan war für Patienten mit nicht remittierter AML ein 1-Jahres OS von 48% berichtet worden, während das korrespondierende EFS bei 41% lag (Magenau et al., 2011). Insgesamt wird eine Spanne von 38-61% bezüglich des 1-Jahres OS berichtet (Andersson et al., 2011; Farag et al., 2011; Locke et al., 2010). Allen diesen Untersuchungen ist jedoch gemeinsam, dass so gut wie kein Patient mit Rezidiv nach einer ersten allogenen HSZT untersucht wurde; entsprechend ist das Risikoprofil dieser Behandlungsgruppen als vergleichsweise geringer einzuordnen, eine a priori günstigere Prognose dieser Patienten kann angenommen werden. Die Vergleichbarkeit bleibt somit eingeschränkt.

Im Rahmen des sogenannten „FLAMSA-RIC“ Protokolls, das dem sequentiellen Therapiekonzept in der HLA-gematchten Transplantationssituation entspricht, wurden ebenfalls keine Patienten mit Rezidiv nach einer ersten allogenen Transplantation untersucht (Schmid et al., 2005; Schmid et al., 2006). Mit den gleichen genannten Einschränkungen, zeigten sich auch hier keine wesentlich unterschiedlichen Ergebnisse: Bei 103 Patienten mit refraktärer AML (99 mit aktiver Erkrankung) betrug das 1-Jahres OS 54%, das entsprechende LFS lag vergleichsweise höher bei 50% (Schmid et al., 2006). Zudem wurde bei 75 Patienten mit Hochrisiko-AML, die überwiegend Chemotherapie-refraktär waren, nach sequentieller Therapie ein 2-Jahres OS von 42% und ein 2-Jahres LFS von 40% berichtet (Schmid et al., 2005).

Für Patienten mit nicht komplett remittierter aggressiver Lymphomerkrankung waren die Ergebnisse nach sequentieller haplo-HSZT bemerkenswert. Mit einem medianen Follow-up von 21 Monaten (Spanne: 12-41) lag das 2-Jahres OS bei 69% (95%: CI 41-86), während das PFS bei 50% lag (95% CI: 25-71) lag (Abb.10).

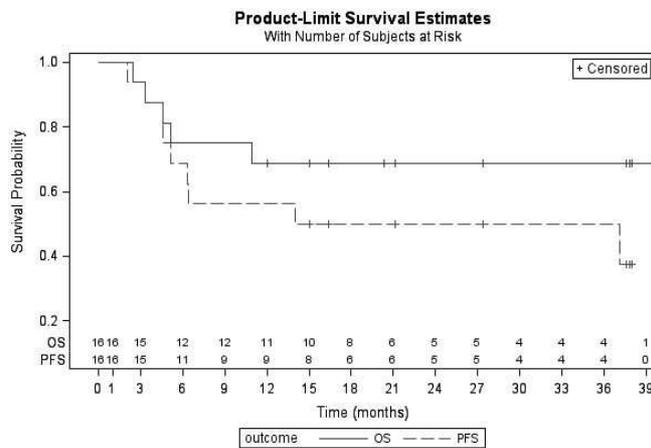


Abb.10: Überlebenswahrscheinlichkeit (Overall Survival und Progressions-freies Survival) nach sequentieller haplo-HSZT bei Patienten mit nicht komplett remittierter aggressiver Lymphomerkrankung (aus: Zoellner et al., 2015)

Auch hier wird die Vergleichbarkeit der Behandlungsergebnisse eingeschränkt durch die Heterogenität der Patientenkohorten, dem retrospektiven Charakter der Analyse sowie durch kleine Fallzahlen. Insbesondere für refraktäre, aggressive Lymphomerkrankungen liegen wenig Vergleichsdaten vor (Gopal et al., 2011; Sauter et al., 2014; Sirvent et al., 2010). Eine sequentielle Therapie war bisher in der Behandlung von Patienten mit aggressiver Lymphomerkrankung nicht angewandt worden. Dennoch ist das Outcome nach sequentieller haplo-HSZT mit PTCY auch im Vergleich zur HLA-gematchten Transplantation mit reduzierter Konditionierungsintensität als sehr günstig anzusehen (Gopal et al., 2011; Sauter et al., 2014; Sirvent et al., 2010). So berichteten Gopal et al. über 40 Patienten mit persistierender indolenter und aggressiver Lymphomerkrankung (85% Chemotherapie-refraktär): Das PFS nach 2 Jahren mit 31% war vergleichsweise niedrig (Gopal et al., 2011). Für die Subgruppe der diffus großzelligen B-Zelllymphome (DLBCL) und MCL, die in unserer Kohorte mehr als ¼ der Diagnosen ausmachten, waren nur sehr frühe Behandlungsergebnisse angegeben worden: Nach 6 Monaten lag das PFS für DLBCL bei 50% und für MCL bei 43%. Demgegenüber konnten wir diese günstigen Behandlungsergebnisse in unserer Hochstrisikokohorte auch längerfristig bestätigten. Glass und Kollegen berichteten über die Ergebnisse einer randomisierten Phase-II- Studie, im Rahmen derer 86% Patienten mit aggressiver T- und B-Zelllymphomerkrankung (55% Chemotherapie-refraktär) von einem HLA-kompatiblen Spender nach myeloablativer Konditionierung mit Busulfan transplantiert worden waren: Vergleichsweise war das 1-Jahres PFS hier mit 45% leichtgradig geringer, während die TRM mit 35% jedoch merkbar höher war (Glass et al., 2014).

Durch den Einsatz eines sequentiellen Konzepts in der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY scheint zeigt sich eine Verbesserung des Outcomes im Vergleich zu einer alleinigen unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY für Patienten mit refraktärem aggressiven Lymphom erreichbar zu sein; die Vergleichsdaten hierzu sind noch begrenzt. So war nach alleiniger NMA unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY für Patienten mit aggressivem NHL und MCL, die überwiegend keine Remission erreicht hatten, nur ein 2-Jahres PFS von 35% berichtet worden (Y. L. Kasamon, Bolaños-Meade, J., Gladstone, D, 2013).

Wie bereits erwähnt, wurde bisher ein sequentielles Transplantationskonzept in der Behandlung von Patienten mit Lymphomerkrankungen nicht eingesetzt; eine vergleichende Diskussion ist somit an dieser Stelle nicht möglich.

5.7. Zusammenfassung

Zusammenfassend zeigte sich die sequentielle unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY sowohl für Patienten mit nicht remittierter akuter Leukämie, als auch für Patienten mit nicht komplett remittierter, Chemotherapie-refraktärer aggressiver Lymphomerkrankung als sicher und gut verträglich mit guter Kontrolle der bidirektionalen Allo-Reaktivität, akzeptabler Toxizität und einer geringen Infektionsrate; dies spiegelt sich wieder in einer vergleichsweise gemäßigten TRM.

Durch Einführung des sequentiellen Konzepts konnte eine vergleichsweise verbesserte Erkrankungskontrolle erzielt werden, die Ergebnisse ähneln denen, die bei der Behandlung von Patienten mit Hochrisiko- AML und MDS nach dem „FLAMSA-RIC“ Protokoll in der HLA-gematchten Transplantationssituation erzielt wurden. Erstmals konnten wir zeigen, dass bei aggressiver, nicht remittierter Lymphomerkrankung durch das Konzept der sequentiellen Therapie eine gute frühe Erkrankungskontrolle erreicht werden kann. Dieses Konzept trägt mutmaßlich wesentlich dazu bei, dass ausreichend Zeit für die Entwicklung eines GvL Effekts erwirkt wird.

So kann bei Fehlen eines konventionellen, HLA-kompatiblen Stammzellspenders die sequentielle unmanipulierte haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY als wertvolle alternative Therapieoption für Patienten mit Höchststrisikoerkrankungen angesehen werden.

6. Die unmanipulierte HLA-haploidentische Stammzelltransplantation mit Einsatz von Posttransplantations-Cyclophosphamid als Zweittransplantationsverfahren bei Patienten mit Rezidiv einer akuten Leukämie nach erster allogener Stammzelltransplantation

6.1. Hintergrund

Die Prognose von Patienten, die nach einer ersten allogenen Stammzelltransplantation (HSZT1) ein Rezidiv ihrer Grunderkrankung erleiden, ist infaust (Barrett et al., 1991; Kishi et al., 1997; Porter et al., 2010; Schmid et al., 2012); eine Standardtherapieempfehlung existiert in dieser schwierigen Situation nicht. Mögliche Therapiealternativen (alleine oder in Kombination) können eine erneute chemotherapeutische Behandlung mit bevorzugtem Einsatz von hypometylierenden Substanzen, eine Behandlung mit Antikörpern oder anderen zielgerichteten Substanzen, sowie eine Spenderlymphozytengabe sein (Pawson et al., 2001; Schmid et al., 2007; Schmid et al., 2004; Schroeder et al., 2013). Angesichts der Tatsache, dass bisher eine längerfristige Remission nur nach einer erneuten immuntherapeutischen Intervention wie der Gabe von Spenderlymphozyten oder einer zweiten allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation zu erreichen war (Andreola et al., 2015; Gokbuget et al., 2012; Pawson et al., 2001; Pollyea et al., 2007; Schmid et al., 2012), kann für Patienten mit gutem Performance Status und ohne wesentliche Begleiterkrankungen eine erneute, zweite allogene Stammzelltransplantation (HSZT2) in Betracht gezogen werden. Unter der Annahme, dass das Rezidiv auf ein Versagen des GvL Effekts, der durch hämatopoetische Stammzellen des ersten Spenders induziert werden sollte, zurückzuführen ist, wird im Einzelfall auch ein Wechsel des Stammzellspenders für die HSZT2 erwogen (Christopeit et al., 2013; Duus et al., 2005; Eapen et al., 2004). Welche Rolle der Spenderwechsel in dieser Zweittransplantationssituation spielt, ist allerdings unklar. Hierzu liegen nur wenige Erfahrungen vor, die in retrospektiven Analysen aufgearbeitet werden; Daten einer prospektiven Studie fehlen (Christopeit et al., 2013; Duus et al., 2005; Eapen et al., 2004; Ruutu et al., 2015; Shaw et al., 2008).

Im Rahmen einer größeren, retrospektiven Analyse bezüglich der Fragestellung des Spenderwechsels in der HLA-gematchten Transplantationssituation war die Durchführbarkeit auch bei Einbeziehung

von unterschiedlichen MUDs gezeigt worden; es ergab sich ein Trend zu einem verbesserten Gesamtüberleben, wenn nach einer ersten MUD Transplantation ein anderer, alternativer MUD zur HSZT2 herangezogen wurde (Christopeit et al., 2013). In einer großen EBMT-Registeranalyse wurde ein Trend zu einer geringeren Rezidiv-assoziierten Mortalität bei einem Wechsel des Stammzellspenders beobachtet. Dieser positive Effekt wurde jedoch durch eine erhöhte TRM, insbesondere bei Wechsel des MUDs, aufgehoben. Ein eindeutiger Überlebensvorteil bei Spenderwechsel konnte in dieser (Ruutu et al., 2015) und in anderen Studien nicht gezeigt werden (Christopeit et al., 2013; Eapen et al., 2004; Vrhovac et al., 2016).

6.2. Behandlungsergebnisse der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY als Zweittransplantationsverfahren

Der Einsatz einer zweiten unmanipulierten HLA-haploidentischen HSZT mit PTCY zur GvHD Prophylaxe bei Patienten mit Rezidiv nach einer vorangegangenen allogenen HSZT erschien aus folgenden Gründen günstig: Das Verfahren hatte sich bei niedriger TRM als gut verträglich erwiesen (Luznik et al., 2008), die Spenderverfügbarkeit ist, besonders im Vergleich zu einem MUD unproblematisch und es kann ein verbesserter GvL Effekt angenommen werden, der durch die besondere HLA-Disparität in der haploidentischen Situation vermittelt werden kann (Huo et al., 2012; Y. L. Kasamon et al., 2010). Wir behandelten 20 Patienten (medianes Alter 37 Jahre: range 21-59; 12 männlich; AML n=14; ALL n=5; biphänotypische AL n=1), wobei 12 dieser Patienten ein Rezidiv nach einer ersten MUD Transplantation aufwiesen. Bei 50% der Patienten lag die Remissionsdauer nach HSZT1 unter 6 Monaten. Alle Patienten (85%), die vor der HSZT2 keine Remission erreicht hatten, wurden nach dem Konzept der „sequentiellen Therapie“ behandelt (Schmid et al., 2012; Schmid et al., 2005; Tischer et al., 2013). Die Konditionierungsbehandlung bestand in Analogie zum „Baltimore Protokoll“ aus Cyclophosphamid und Fludarabin (Luznik et al., 2008), dann erfolgte eine Intensivierung der Konditionierung mit Melphalan oder TBI bzw. mit Treosulfan und Etoposid bei Patienten, die bei der HSZT1 bereits eine TBI erhalten hatten. Als GvHD Prophylaxe wurde Cyclophosphamid in hoher Dosis (50 mg/kg KG) an Tag +3 und +4 nach der unmanipulierten haplo-HSZT gegeben. Behandlungsschema siehe *Abb. 11*.

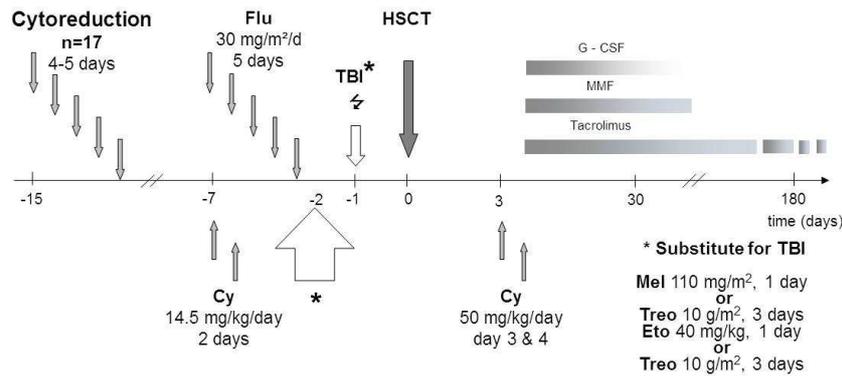


Abb. 11 Therapieschema zur unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY als Zweittransplantationsverfahren für Patienten mit Rezidiv einer akuten Leukämie nach erster allogener Transplantation aus (Tischer et al., 2013)

Damit konnte auch in dieser speziellen, immunologisch unübersichtlichen Transplantationsituation eine sehr gute Kontrolle der bidirektionalen Allo-Reaktivität erreicht werden. Ein Engraftment wurde bei 85% der Patienten erreicht; eine akute Abstoßung trat nicht ein. Diese Ergebnisse waren sicher mit denen vergleichbar, die mit einer ersten unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY (Ciurea et al., 2012; Luznik et al., 2008) erzielt worden waren, die aber auch nach einer zweiten HLA-gematchten allogenen Transplantation erreicht wurden (Bosi et al., 2001; Duus et al., 2005; Hosing et al., 2005; Kedmi et al., 2009; Michallet et al., 2000). Gleichzeitig zeigte sich eine bemerkenswert geringe GvHD Rate: So war eine aGvHD Grad II-IV nur bei 35% der Patienten zu beobachten, während nur 5 dieser Patienten (25%) eine cGvHD in milder oder moderater Ausprägung entwickelten. Auch diese Ergebnisse entsprachen denen, die nach einer ersten unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY beschrieben worden waren (Ciurea et al., 2012; Luznik et al., 2008). Die GvHD-Raten waren auch zumindest vergleichbar und teilweise besser als die, welche nach einer zweiten HLA-gematchten HSZT, vor allem bei Spenderwechsel, beschrieben worden waren (Christopeit et al., 2013; Eapen et al., 2004; Martino et al., 1994; Shaw et al., 2008). In der HLA-gematchten Zweittransplantationsituation mit Spenderwechsel eines MUDs wurde eine Inzidenz der aGvHD Grade II-IV von 54% beschrieben (Christopeit et al., 2013).

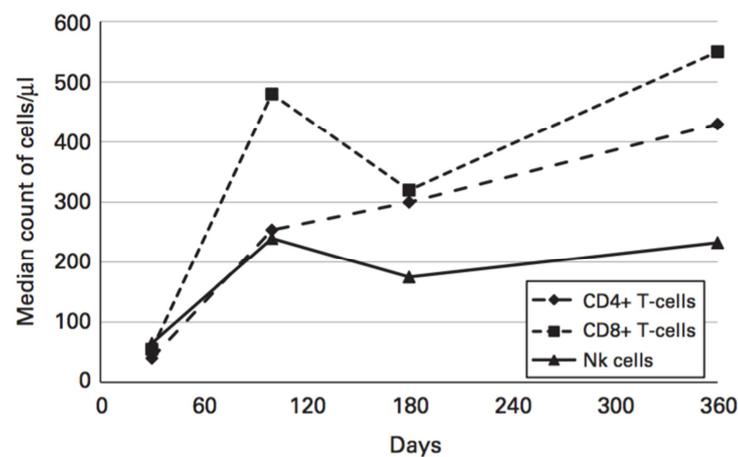
Die Toxizität des Behandlungskonzeptes war insgesamt moderat (*Tabelle 7*): Ein Drittel der Patienten entwickelte eine höhergradige (Grad III-IV) Toxizität. Am häufigsten litten die Patienten an einer schweren Mucositis (30%). Bei 20% der Patienten war eine höhergradige Hyperbilirubinämie mit vorübergehender Erhöhung der Transaminasen zu beobachten, wobei keine VOD zu diagnostizieren war. Wesentlich häufiger (21-64%) war eine VOD nach einer HLA-gematchten Zweittransplantation auch ohne Spenderwechsel und besonders bei Einsatz von Busulfan in der Konditionierungsbehandlung (Michallet et al., 2000; Radich et al., 1993). Bei 6 Patienten wurde

wegen eines akuten Nierenversagens eine Hämodialyse erforderlich, fünf dieser Patienten entwickelten ein MOF und wurden intensivmedizinisch einschließlich mechanischer Beatmung und kontinuierlicher Hämofiltration behandelt.

Toxicities	Grade I	Grade II	Grade III	Grade IV
<i>GI tract</i>				
Mucositis	3	9	4	2
Nausea & vomiting	2	5		-
Diarrhea		2		
<i>Cardiovascular system</i>				
Hypertension	1	2	-	-
Arrhythmia		3	-	-
<i>Lung</i>				
Dyspnoea	-	2	-	-
<i>Urinary tract</i>				
Creatinine elevation	5	2	3	1
Hemorrhagic cystitis	-	1	1	-
<i>Liver</i>				
Hyperbilirubinemia	2	4	2	2
Elevation of transaminases	2	4	3	1
Ascites			1	
<i>CNS</i>				
Headache	1	3	-	-
Confusion	1	-	-	-
Paraesthesia	1			
<i>Constitutional symptoms</i>				
Fever	-	8	-	-
Musculoskeletal Pain		1		
<i>Skin</i>				
Hand-foot syndrome	1	3	3	-
Rash	4	3	-	-

Tab7.: Behandlungsassoziierte Toxizität nach einer zweiten unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY (Tischer et al., 2014)

Wie in der *Diskussion* der Virusinfekte bereits dargelegt (Ciurea et al., 2012; Luznik & Fuchs, 2010; Luznik et al., 2008; Tischer et al., 2015) war bei Einsatz von PTCY auch in dieser HLA-haploidentischen Zweittransplantationssituation eine rasche und robuste Immunrekonstitution zu erreichen (*siehe Abb. 12*). So wurden bereits an Tag +100 nach haplo-HSZT $>250/\mu\text{l}$ CD4+ T-Zellen von gemessen.



Days / absolute median cell counts / μl	CD4+ T-cells	CD8+ T-cells	Nk cells
d +30	40	55	65
d +100	254	480	240
d +180	300	320	175
d +360	430	550	233

Abb. 12: Immunrekonstitution nach zweiter unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY (Tischer et al., 2014)

Die Rate der viralen Komplikationen war gering: Nur 30% der Patienten entwickelten eine CMV Reaktivierung. PTLDs wurden nicht beobachtet. Allerdings entwickelten 30% der Patienten eine invasive, pulmonale Aspergillose, die bei 5/6 dieser Patienten trotz antimykotischer Doppelbehandlung (Rieger et al., 2008) nicht zu kontrollieren war und meist als (Teil-)Todesursache resultierte. Denkbare Gründe für die erhöhte infektassoziierte Letalität sind ausgeprägt vorbehandelten Patienten mit einer invasiven Aspergillose in der Anamnese, sowie die überwiegende Verwendung von Knochenmark als Stammzellquelle (70%).

Wie bereits erwähnt, ist die Prognose von rezidierten Patienten mit AL nach der ersten allogenen HSZT infaust (Barrett et al., 1991). In dieser schwierigen klinischen Situation ist die erneute, zweite, allogene Stammzelltransplantation bisher als die einzige therapeutische Option mit kurativem Potential anzusehen (Gokbuget et al., 2012; Schmid et al., 2012). Einschränkend muss die damit verbundene erhöhte Toxizität erwähnt werden. So wird für HLA-gematchte

Zweittransplantationsverfahren eine 1-Jahres TRM von 23-45% bei Verwendung des ursprünglichen Stammzellspenders (Eapen et al., 2004; Kedmi et al., 2009; Michallet et al., 2000), und von 35-51% bei Wechsel des Stammzellspenders beschrieben (Christopeit et al., 2013; Eapen et al., 2004; Hosing et al., 2005; Michallet et al., 2000). Das Outcome nach HSZT2 (zumeist ohne Spenderwechsel) war begrenzt: Das 1-Jahres OS lag bei 14-20% (Kedmi et al., 2009; Mrcic et al., 1992; Radich et al., 1993). Bessere Ergebnisse wurden im Rahmen einer größeren EBMT Registeranalyse von 2004 berichtet (Eapen et al., 2004). In dieser Studie wurde das Outcome von 279 Patienten analysiert, die ein Rezidiv einer AL (29% mit CML; 50% jünger als 30 Jahre) nach einer HLA-identischen Geschwistertransplantation erlitten hatten und in 85% der Fälle vom selben HLA-identischen Stammzellspender wiederholt transplantiert wurden (Eapen et al., 2004). Das 1-Jahres OS lag hier bei 41%, das 1-Jahres RFS betrug geschätzt 38%. In vielen weiteren kleinen Fallserien wurde für Patienten nach HSZT2 ohne Spenderwechsel ein 1-Jahres OS von 34-52% beschrieben (Grulich, Bertz, Spyridonidis, Muller, & Finke, 2008; Kishi et al., 1997; Tomonari et al., 2002). Im Jahre 2013 wurden in einer multizentrischen, deutschen Studie die Ergebnisse der HSZT2 bei 179 Patienten (medianes Alter 39 Jahre) mit Rezidiv einer AL nach einer ersten HLA-gematchten Transplantation (MRD n=75; MUD n=104) untersucht, wobei ein Wechsel des Stammzellspenders bei 97 der Patienten erfolgt war (Christopeit et al., 2013). Hier ergab sich ein 1-Jahres OS von 33%, während das 1-Jahres RFS 25% betrug. Wie bereits dargelegt, zeigte sich der Spenderwechsel, der im Rahmen der HSZT2 vollzogen worden war, als durchführbar, wenngleich dadurch auch kein Überlebensvorteil erreicht werden konnte (Christopeit et al., 2013).

Angesichtes dieser beschriebenen Behandlungsergebnisse, sind unsere Erfahrungen mit einer zweiten haplo-HSZT mit PTCY und Spenderwechsel bei Patienten mit Rezidiv einer AL nach HSZT1 durchaus günstig. Erneut ist an dieser Stelle das Höchstisikoprofil unserer Patienten hervorzuheben: 85% der Patienten wiesen zum Zeitpunkt der HSZT2 eine refraktäre Erkrankung auf und erhielten entsprechend eine sequentielle Therapie (Clofarabin n=14; FLAMSA n=2; FLAG-Ida n=1; andere n=3). Bei 50% der Patienten betrug die Remissionsdauer nach HSZT1 weniger als 6 Monate und 60% dieser Patienten hatten vorab eine MUD Transplantation erhalten. Die Behandlungsverträglichkeit war gut: Die 1-Jahres TRM lag bei akzeptablen 36%. Bei 88% der evaluierbaren Patienten konnte an Tag +30 nach haplo-HSZT eine Remission erreicht werden; das 1-Jahres OS betrug 45% und das 1-Jahres RFS lag bei 33%.

Demnach sind unsere Ergebnisse mit denen einer zweiten HLA-identischen Geschwistertransplantation ohne Spenderwechsel vergleichbar, aber auch besser als nach HSZT2 nach Verwendung des gleichen oder eines anderen MUD.

Faktoren wie das Alter der Patienten, der Remissionstatus vor HSZT und die Dauer der Remission nach HSZT1 haben Einfluss auf das Überleben der Patienten nach HSZT2 (Christopeit et al., 2013; Ruutu et al., 2015; Vrhovac et al., 2016). In unserer retrospektiven Analyse mit kleiner Fallzahl konnten wir allein die Dauer der Remission nach HSZT1 als signifikanten Prädiktor des Überlebens bestätigen. Wie erwähnt, hatten alle Patienten mit nicht remittierter Erkrankung vor HSZT2 eine sequentielle Therapie erhalten. Wir konnten zeigen, dass durch diese Behandlungsform auch in der HLA- haploidentischen Zweittransplantation eine verbesserte Krankungskontrolle erreicht werden konnte; daher hatte der Remissionstatus vor HSZT2 möglicherweise keinen Einfluß auf das Überleben. Demnach sollte eine zweite unmanipulierte haplo-HSZT nur bei Patienten in Betracht gezogen werden, deren Remissionsdauer nach HSZT1 mehr als 6 Monate beträgt. Das Nicht-Erreichen einer Remission schließt unserer Meinung nach eine zweite haplo-HSZT nicht aus, wenn ein sequentielles Therapiekonzept zum Einsatz kommt.

6.3. Zusammenfassung

Erstmalig konnten wir in einer größeren Fallserie zeigen, dass eine zweite, unmanipulierte haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY erfolgreich bei Patienten mit Rezidiv einer AL nach einer ersten allogenen Transplantation durchgeführt werden kann. Die bessere, d.h. kurzfristige Spenderverfügbarkeit der HLA-haploidentischen Familienspender gegenüber eines MUD sowie der mutmaßlich bessere GvL Effekt könnten wesentliche Vorteile dieser Transplantationsstrategie für Patienten mit ansonsten infauster Prognose darstellen. Dieses haploidentische Zweittransplantationsverfahren mit Spenderwechsel war gut verträglich und ermöglichte zudem eine gute Krankungskontrolle mit günstigen frühen Behandlungsergebnissen. Die Analyse der Überlebensprädiktoren zeigte, dass nur die Remissionsdauer nach HSZT1 einen Einfluss auf das Überleben dieser Patienten hatte, während der Remissionstatus vor HSZT2 mit Einsatz der sequentiellen Therapie keine Rolle spielte. So können wir folgern, dass eine zweite unmanipulierte haplo-HSZT nur bei Patienten, deren Erkrankung mehr als 6 Monate nach HSZT1 in Remission geblieben war, in Betracht gezogen werden sollte, während gleichzeitig das Nicht-Erreichen einer Remission eine zweite haplo-HSZT mit PTCY bei Einsatz eines sequentiellen Therapiekonzepts nicht ausschließt. So erachten wir die zweite unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY als wertvolle Alternative für alle Patienten mit Rezidiv nach HSZT1, auch wenn zuvor keine Remission erreicht werden konnte.

7. Zusammenfassung

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation ist für eine Vielzahl von Patienten mit nicht-malignen und malignen hämatologischen Erkrankungen eine kurative Therapieoption. Für Patienten mit Hochrisiko- bzw. rezidivierender oder refraktärer Erkrankung stellt sie aktuell die einzige Möglichkeit der Heilung dar. Zur Durchführung einer allogenen Transplantation muss ein geeigneter, im besten Fall, ein HLA-identischer bzw. HLA-kompatibler Stammzellspender zur Verfügung stehen. Ein solcher Spender ist nur in begrenztem Umfang (30%) als HLA-identischer Geschwisterspender verfügbar. Ein HLA-kompatibler Fremdspender kann in bis zu 50% in nationalen und internationalen „Spenderregistern“ identifiziert werden. Für alle anderen Patienten sind Alternativen zu prüfen. Eine Option kann zum Beispiel die Anwendung von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut, die sogenannte CBT, sein. Auch die Transplantation von einem HLA-haploidentischen Familienspender kommt unter bestimmten Voraussetzungen in Frage. Die nahezu universelle (>90%) und schnelle Spenderverfügbarkeit ist ein besonderer Vorteil des haploidentischen Verfahrens. Zudem besteht bei der Transplantation von einem haploidentischen Stammzellspender die Möglichkeit der adoptiven Immuntherapie, da der Spender in der Regel auch für einen Stammzellboost oder eine Lymphozytenspende zur Verfügung steht. Dies ist bei der CBT nicht umsetzbar.

Das Hauptproblem in der HLA-haploidentischen Transplantationsituation ist die starke bidirektionale Allo-Reaktivität, die sich in Transplantatabstoßung und GvHD widerspiegelt, und die in frühen Transplantationsversuchen mit unmanipulierten haploidentischen Stammzellen zu einer inakzeptabel hohen TRM (>50%) mit niedrigem, längerfristigem Überleben (<10%) geführt hat. Zur Verbesserung dieser unzureichenden Behandlungsergebnisse wurden im weiteren Verlauf verschiedene in-vitro Verfahren zur T-Zelldepletion des haploidentischen Stammzellpräparats etabliert. Bei stark reduzierter zellulärer Immunität und einer nach der manipulierten HLA-haploidentischen hämatopoetischen Stammzelltransplantation (haplo-HSZT) verzögert erfolgenden Immunrekonstitution, blieben jedoch Infektionen und Rezidive die prognosebestimmenden Faktoren.

Die Verfahren der haplo-HSZT wurden mit dem Einsatz von Posttransplantations-Cyclophosphamid zur GvHD Prophylaxe revolutioniert. Die in der HLA-haploidentischen Situation vorherrschende starke bidirektionale Allo-Reaktivität kann durch hochdosiertes Cyclophosphamid, das kurz nach der Transplantation eines T-Zellhaltigen, also unmanipulierten Stammzellpräparats gegeben wird, sicher kontrolliert werden. Durch PTCY wird eine effektive in-vivo Depletion von „allo-reaktiven“ Zellen erreicht, während „ruhende“ Zellen mit ihrem regenerativen, hämatopoetischen und möglicherweise

antiviralen und antileukämischen Potential geschont werden. Das zytoplasmatische Enzym Aldehyddehydrogenase hat hier insofern eine Schlüsselrolle, da es in hämatopoetischen Stammzellen und regulatorischen T-Zellen das Aldehyd Cyclophosphamid entgiftet und diese Zellen so gegen die zytotoxische Wirkung der Substanz „resistent“ macht.

Bei Einsatz von PTCY zur GvHD Prophylaxe kann nach unmanipulierter haplo-HSZT eine Immunrestitution angenommen werden, die quantitativ derjenigen nach einer HLA-identischen Transplantation gleicht. Im Vergleich zu einem anderen haploidentischen Transplantationsverfahren, bei dem eine in-vitro T-Zelldepletion (CD34+ Selektion) des Stammzelltransplantats zur Überwindung der HLA-Barriere durchgeführt wurde, war die Immunrestitution nach unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY verbessert; weniger Infekte, v.a. weniger Pilzinfektionen wurden beobachtet. In unserem Vergleich von Virusinfektionen im Zusammenhang mit der Immunrestitution nach unmanipulierter haplo-HSZT mit PTCY mit einem anderen haplo-HSZT Verfahren, das sich einer in-vivo Depletion mit ATG und zweier haploidentischer Stammzelltransplantate, eines davon T-Zelldepletiert, bediente, konnten wir die bisherigen Ergebnisse präzisieren. Als Vorteil der unmanipulierten haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY konnten wir ebenfalls die rasche Immunrestitution, besonders die zügige Reconstitution der CD4+ T-Zellen, identifizieren. Damit verbunden beobachteten wir in unserer Patientenkohorte eine deutlich geringere Anzahl von Herpesvirusinfektionen. Es zeigten sich nicht nur weniger CMV Reaktivierungen, sondern auch ein verbessertes Ansprechen auf die antivirale Therapie. Kein Patient erkrankte nach der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY an der lebensgefährlichen Komplikation eines PTLD, im Gegensatz zu 25% PTLD-Fällen in der von uns beschriebenen haplo-HSZT Gruppe, in der ATG zu in-vivo T-Zelldepletion und CD6-depletierte PBSZ in Kombination mit einem unmanipulierten Knochenmarkpräparat zur HLA-haploidentischen Transplantation verwendet wurde.

So ist anzunehmen, dass bei Einsatz von Cyclophosphamid nach einer T-Zellhaltigen haplo-HSZT, bei rascher Immunrestitution, auch ein Teil der antiviralen Immunität bewahrt werden kann; es kann also eine verbesserte Kontrolle von latenten Virusinfektionen, wie die einer Herpesvirusinfektion, erfolgen. Dieses Transplantationsverfahren verbessert das Problem der verzögerten Immunrestitution und Virusinfektionen nach haplo-HSZT. Der Vergleich dieser neuen Strategie mit dem genannten älteren und wesentlich aufwändigeren haploidentischen Transplantationsverfahren, zeigt die Fortschritte, welche durch den Einsatz von PTCY in der haploidentischen Transplantation erzielt werden können.

Das Hauptproblem des anfänglich angewandten Verfahrens der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY, das sich einer NMA Konditionierung bediente, war die unzureichende Erkrankungskontrolle. Dies deutete sich bereits in der Pilotstudie aus Baltimore aus dem Jahr 2008 an: Mehr als 50% der

Patienten hatten nach einem Jahr ein Rezidiv entwickelt. Auch nachfolgende Studien zeigten eine hohe Rezidivinzidenz (RI) bei ungenügendem erkrankungsfreien Überleben (EFS). Besonders Patienten mit Hochrisikoerkrankungen nach DRI waren betroffen. Zur Verbesserung der Erkrankungskontrolle wurde von verschiedenen Transplantationsgruppen eine Intensivierung der Konditionierungsbehandlung vorgenommen. Bei akzeptabler Toxizität zeigten sich jedoch die Ergebnisse für Patienten, die zum Zeitpunkt der haplo-HSZT mit PTCY eine aktive Erkrankung aufwiesen, nur bedingt verbessert. Nach unserer Erfahrung sind günstigere Ergebnisse für Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung nur durch ein sequentielles Therapiekonzept zu erzielen. Dieses sieht vor, dass durch eine intensive zytoreduktive Chemotherapie, die kurz vor Beginn einer Konditionierung mit reduzierter Intensität verabreicht wird, eine Reduktion der Erkrankungslast und im besten Falle eine erneute Remission erreicht werden kann, und so ausreichend Zeit für den erwünschten GvL Effekt gewonnen wird.

Mit dem Ziel der Verbesserung der Erkrankungskontrolle integrierten wir im Jahr 2009 die sequentielle Therapie in die unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY. Das vorab beschriebene günstige Toxizitätsprofil dieses haplo-HSZT Verfahrens, das dem einer HLA-identischen Geschwistertransplantation ähnlich ist, ließ die Addition zytotoxischer Substanzen, die kurz vor Beginn der Konditionierung verabreicht werden, als möglich und durchführbar erscheinen. Diese sequentielle unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY zeigte sich sowohl bei Patienten mit aktiver akuter Leukämie, als auch bei Patienten mit Chemotherapie-refraktärer aggressiver Lymphomerkrankung als sicher und gut verträglich. Die bidirektionale Allo-Reaktivität war gut kontrolliert, die Toxizität akzeptabel und die Infektionsrate relativ gering. Dies spiegelt sich in einer vergleichsweise gemäßigten 1-Jahres TRM von 23% für Patienten mit aktiver akuter Leukämie und von 19% für Patienten mit nicht komplett remittierter Lymphomerkrankung wider.

Durch Einführung des sequentiellen Konzepts konnte bei unseren Patienten mit Hochrisikoerkrankung eine vergleichsweise befriedigende Erkrankungskontrolle erzielt werden. Behandlungsergebnisse, ähnlich wie bei Patienten mit Hochrisiko AML und MDS nach dem „FLAMSA-RIC“ Protokoll in der HLA-gematchten Transplantationssituation, zeichnen sich ab. Zudem konnten wir erstmalig zeigen, dass bei aggressiver, nicht remittierter Lymphomerkrankung eine bemerkenswert gute frühe Erkrankungskontrolle durch die sequentielle Therapie erreicht werden kann. So konnte anzunehmenderweise ausreichend Zeit für die Entwicklung des GvL Effekts gewonnen werden, dessen Auswirkungen wir beobachten konnten.

Aufgrund unserer ersten Ergebnisse der sequentiellen haplo-HSZT kann angenommen werden, dass bei Fehlen eines konventionellen, HLA-kompatiblen Spenders diese sequentielle unmanipulierte HLA-haploidentische Stammzelltransplantation mit Einsatz von PTCY zur GvHD Prophylaxe eine wertvolle

alternative Therapieoption für Patienten ist, welche vor Transplantation keine Remission der Grunderkrankung erreichen konnten. Ein besonderer Vorteil dieses alternativen Transplantationsverfahrens ist es, dass aufgrund der unkomplizierten und raschen Verfügbarkeit eines haploidentischen Familienspenders auch Patienten mit aggressiv verlaufender Erkrankung eine potentiell kurative Behandlung ohne Verzögerung erhalten können. Ein systematischer Vergleich der Ergebnisse der sequentiellen Therapie in der HLA-gematchten versus HLA-haploidentischen Transplantationssituation wird vorbereitet.

U.a. basierend auf unseren Behandlungsergebnissen wurde eine deutschlandweite Multizentrum-Studie zur Behandlung von aggressiven Lymphomen mit einer unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY initiiert.

Wir konnten erstmalig in einer größeren Fallserie zeigen, dass eine zweite, unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY bei Patienten mit Rezidiv einer akuten Leukämie nach einer ersten allogenen Transplantation erfolgreich durchgeführt werden kann. Die bessere und kurzfristige Spenderverfügbarkeit der HLA-haploidentischen Familienspender gegenüber einem MUD sowie der mutmaßlich bessere GvL Effekt könnten wesentliche Vorteile dieser Transplantationsstrategie für Patienten mit infauster Prognose darstellen. Die Analyse der Überlebensprädiktoren zeigte, dass nur die Remissionsdauer nach HSZT1 einen Einfluss auf das Überleben dieser Patienten hatte, während der Remissionstatus vor HSZT2 mit Einsatz der sequentiellen Therapie keine Rolle spielte. So können wir daraus schließen, dass eine zweite unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY nur bei Patienten, die länger als 6 Monate nach HSZT1 in Remission waren, in Betracht gezogen werden sollte. Jedoch schließt das Nicht-Erreichen einer Remission eine zweite haplo-HSZT mit PTCY bei Einsatz eines sequentiellen Therapiekonzepts nicht aus. Demnach sehen wir die zweite unmanipulierte haplo-HSZT mit PTCY als wertvolle Behandlungsoption für Patienten mit Rezidiv nach HSZT1 ohne kurzfristig verfügbaren Stammzellspender an, auch wenn zuvor keine Remission erreicht werden konnte. Unsere publizierten Erfahrungen gaben Anstoß für eine deutschlandweite Multizentrum-Analyse, die die Ergebnisse der haploidentischen Zweittransplantation bei Patienten mit Rezidiv nach einer ersten allogenen Stammzelltransplantation evaluieren wird.

Zusammenfassend konnten wir die Vorteile des alternativen Transplantationsverfahrens der unmanipulierten haplo-HSZT mit PTCY nicht nur bestätigen, sondern auch präzisieren und erweitern. Zum einen waren bei guter Immunrestitution weniger Herpesvirusinfekte zu beobachten; die lebensgefährliche Komplikation eines PTLD trat nicht auf. Zum anderen konnten auch bei Patienten mit aktiver und aggressiv verlaufender Erkrankung durch die Addition des sequentiellen Therapiekonzepts bei akzeptabler Toxizität befriedigende Ergebnisse hinsichtlich der Krankungskontrolle erzielt werden. Die Ergebnisse sind mit denen der sequentiellen Therapie in der

HLA-gematchten Transplantationssituation gut vergleichbar. Für Patienten mit aktiver und aggressiver Erkrankung ist das unmanipulierte HLA-haploidentische Transplantationsverfahren mit Einsatz von PTZY zur GvHD Prophylaxe in Kombination mit einem sequentiellen Therapiekonzept eine sinnvolle Alternative, wenn ein konventioneller Stammzellspender nicht zur Verfügung steht. Sie bietet diesen Patienten die einzige Option einer potentiell kurativen Behandlung. Das Gleiche gilt auch für Patienten mit Rezidiv einer akuten Leukämie nach einer ersten allogenen Stammzelltransplantation.

8. Literaturverzeichnis

- Abramson, J. S., Takvorian, R. W., Fisher, D. C., Feng, Y., Jacobsen, E. D., Brown, J. R., . . . Hochberg, E. P. (2013). Oral clofarabine for relapsed/refractory non-Hodgkin lymphomas: results of a phase 1 study. *Leuk Lymphoma*, *54*(9), 1915-1920. doi:10.3109/10428194.2013.763397
- Anasetti, C., Beatty, P. G., Storb, R., Martin, P. J., Mori, M., Sanders, J. E., . . . Hansen, J. A. (1990). Effect of HLA incompatibility on graft-versus-host disease, relapse, and survival after marrow transplantation for patients with leukemia or lymphoma. *Hum Immunol*, *29*(2), 79-91.
- Andersson, B. S., Valdez, B. C., de Lima, M., Wang, X., Thall, P. F., Worth, L. L., . . . Champlin, R. E. (2011). Clofarabine +/- fludarabine with once daily i.v. busulfan as pretransplant conditioning therapy for advanced myeloid leukemia and MDS. *Biol Blood Marrow Transplant*, *17*(6), 893-900. doi:10.1016/j.bbmt.2010.09.022
- Andreola, G., Labopin, M., Beelen, D., Chevallier, P., Tabrizi, R., Bosi, A., . . . Mohty, M. (2015). Long-term outcome and prognostic factors of second allogeneic hematopoietic stem cell transplant for acute leukemia in patients with a median follow-up of 10 years. *Bone Marrow Transplant*, *50*(12), 1508-1512. doi:10.1038/bmt.2015.193
- Armand, P., Kim, H. T., Logan, B. R., Wang, Z., Alyea, E. P., Kalaycio, M. E., . . . Saber, W. (2014). Validation and refinement of the Disease Risk Index for allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, *123*(23), 3664-3671. doi:10.1182/blood-2014-01-552984
- Arnold, R., de Witte, T., van Biezen, A., Hermans, J., Jacobsen, N., Runde, V., . . . Apperley, J. F. (1998). Unrelated bone marrow transplantation in patients with myelodysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukemia: an EBMT survey. European Blood and Marrow Transplantation Group. *Bone Marrow Transplant*, *21*(12), 1213-1216. doi:10.1038/sj.bmt.1701269
- Ash, R. C., Horowitz, M. M., Gale, R. P., van Bekkum, D. W., Casper, J. T., Gordon-Smith, E. C., . . . et al. (1991). Bone marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings: effect of T cell depletion. *Bone Marrow Transplant*, *7*(6), 443-452.
- Aversa, F., Tabilio, A., Terenzi, A., Velardi, A., Falzetti, F., Giannoni, C., . . . et al. (1994). Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical "three-loci" incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood*, *84*(11), 3948-3955.
- Aversa, F., Tabilio, A., Velardi, A., Cunningham, I., Terenzi, A., Falzetti, F., . . . Martelli, M. F. (1998). Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med*, *339*(17), 1186-1193. doi:10.1056/nejm199810223391702
- Aversa, F., Terenzi, A., Tabilio, A., Falzetti, F., Carotti, A., Ballanti, S., . . . Martelli, M. F. (2005). Full haplotype-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation: a phase II study in patients with acute leukemia at high risk of relapse. *J Clin Oncol*, *23*(15), 3447-3454. doi:10.1200/jco.2005.09.117
- Bacigalupo, A., Ballen, K., Rizzo, D., Giralt, S., Lazarus, H., Ho, V., . . . Horowitz, M. (2009). DEFINING THE INTENSITY OF CONDITIONING REGIMENS : working definitions. *Biol Blood Marrow Transplant*, *15*(12), 1628-1633. doi:10.1016/j.bbmt.2009.07.004
- Ballen, K. K., Koreth, J., Chen, Y. B., Dey, B. R., & Spitzer, T. R. (2012). Selection of optimal alternative graft source: mismatched unrelated donor, umbilical cord blood, or haploidentical transplant. *Blood*, *119*(9), 1972-1980. doi:10.1182/blood-2011-11-354563
- Baron, F., Maris, M. B., Storer, B. E., Sandmaier, B. M., Stuart, M. J., McSweeney, P. A., . . . Storb, R. (2005). HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning for patients with chronic myeloid leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*, *11*(4), 272-279. doi:10.1016/j.bbmt.2004.12.326

- Barrett, A. J., Locatelli, F., Treleaven, J. G., Gratwohl, A., Szydlo, R., & Zwaan, F. E. (1991). Second transplants for leukaemic relapse after bone marrow transplantation: high early mortality but favourable effect of chronic GVHD on continued remission. A report by the EBMT Leukaemia Working Party. *Br J Haematol*, *79*(4), 567-574.
- Bashey, A., Zhang, X., Sizemore, C. A., Manion, K., Brown, S., Holland, H. K., . . . Solomon, S. R. (2013). T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. *J Clin Oncol*, *31*(10), 1310-1316. doi:10.1200/jco.2012.44.3523
- Bastien, J. P., Kros, G., Therien, C., Rashkovan, M., Scotto, C., Cohen, S., . . . Roy, D. C. (2010). Photodepletion differentially affects CD4+ Tregs versus CD4+ effector T cells from patients with chronic graft-versus-host disease. *Blood*, *116*(23), 4859-4869. doi:10.1182/blood-2010-03-273193
- Beatty, P. G., Clift, R. A., Mickelson, E. M., Nisperos, B. B., Flournoy, N., Martin, P. J., . . . et al. (1985). Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings. *N Engl J Med*, *313*(13), 765-771. doi:10.1056/nejm198509263131301
- Berenbaum, M. C., & Brown, I. N. (1963). PROLONGATION OF HOMOGRAFT SURVIVAL IN MICE WITH SINGLE DOSES OF CYCLOPHOSPHAMIDE. *Nature*, *200*, 84.
- Bertaina, A., Merli, P., Rutella, S., Pagliara, D., Bernardo, M. E., Masetti, R., . . . Locatelli, F. (2014). HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of alpha-beta+ T and B cells in children with nonmalignant disorders. *Blood*, *124*(5), 822-826. doi:10.1182/blood-2014-03-563817
- Bethge, W. A., Faul, C., Bornhauser, M., Stuhler, G., Beelen, D. W., Lang, P., . . . Kanz, L. (2008). Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: an update. *Blood Cells Mol Dis*, *40*(1), 13-19. doi:10.1016/j.bcmd.2007.07.001
- Bishop, M. R., Dean, R. M., Steinberg, S. M., Odom, J., Pavletic, S. Z., Chow, C., . . . Fowler, D. H. (2008). Clinical evidence of a graft-versus-lymphoma effect against relapsed diffuse large B-cell lymphoma after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Ann Oncol*, *19*(11), 1935-1940. doi:10.1093/annonc/mdn404
- Bosi, A., Laszlo, D., Labopin, M., Reffeirs, J., Michallet, M., Gluckman, E., . . . Frasson, F. (2001). Second allogeneic bone marrow transplantation in acute leukemia: results of a survey by the European Cooperative Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol*, *19*(16), 3675-3684. doi:10.1200/jco.2001.19.16.3675
- Breccia, M., Capria, S., Iori, A. P., Foa, R., Alimena, G., & Meloni, G. (2010). Clofarabine-based regimen as useful bridge therapy for allogeneic transplantation in myeloid blast crisis of Philadelphia-positive chronic myeloid leukemia resistant to imatinib and dasatinib. *Acta Haematol*, *124*(3), 150-152. doi:10.1159/000319630
- Brunstein, C. G., Fuchs, E. J., Carter, S. L., Karanes, C., Costa, L. J., Wu, J., . . . O'Donnell, P. V. (2011). Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood*, *118*(2), 282-288. doi:10.1182/blood-2011-03-344853
- Brunstein, C. G., Weisdorf, D. J., DeFor, T., Barker, J. N., Tolar, J., van Burik, J. A., & Wagner, J. E. (2006). Marked increased risk of Epstein-Barr virus-related complications with the addition of antithymocyte globulin to a nonmyeloablative conditioning prior to unrelated umbilical cord blood transplantation. *Blood*, *108*(8), 2874-2880. doi:10.1182/blood-2006-03-011791
- Buchholz, S., Dammann, E., Stadler, M., Krauter, J., Beutel, G., Trummer, A., . . . Ganser, A. (2012). Cytoreductive treatment with clofarabine/ara-C combined with reduced-intensity conditioning and allogeneic stem cell transplantation in patients with high-risk, relapsed, or refractory acute myeloid leukemia and advanced myelodysplastic syndrome. *Eur J Haematol*, *88*(1), 52-60. doi:10.1111/j.1600-0609.2011.01703.x
- Burroughs, L. M., O'Donnell, P. V., Sandmaier, B. M., Storer, B. E., Luznik, L., Symons, H. J., . . . Maloney, D. G. (2008). Comparison of outcomes of HLA-matched related, unrelated, or HLA-

- haploidentical related hematopoietic cell transplantation following nonmyeloablative conditioning for relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*, *14*(11), 1279-1287. doi:10.1016/j.bbmt.2008.08.014
- Carreras, E., Bertz, H., Arcese, W., Vernant, J. P., Tomas, J. F., Hagglund, H., . . . Apperley, J. F. (1998). Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: a prospective cohort study of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. European Group for Blood and Marrow Transplantation Chronic Leukemia Working Party. *Blood*, *92*(10), 3599-3604.
- Castagna, L., Bramanti, S., Devillier, R., Sarina, B., Crocchiolo, R., Furst, S., . . . Blaise, D. (2017). Haploidentical transplantation with post-infusion cyclophosphamide in advanced Hodgkin lymphoma. *Bone Marrow Transplant*. doi:10.1038/bmt.2016.348
- Castagna, L., Bramanti, S., Furst, S., Giordano, L., Crocchiolo, R., Sarina, B., . . . Santoro, A. (2014). Nonmyeloablative conditioning, unmanipulated haploidentical SCT and post-infusion CY for advanced lymphomas. *Bone Marrow Transplant*, *49*(12), 1475-1480. doi:10.1038/bmt.2014.197
- Castagna, L., Crocchiolo, R., Furst, S., Bramanti, S., El Cheikh, J., Sarina, B., . . . Blaise, D. (2014). Bone marrow compared with peripheral blood stem cells for haploidentical transplantation with a nonmyeloablative conditioning regimen and post-transplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant*, *20*(5), 724-729. doi:10.1016/j.bbmt.2014.02.001
- Castagna, L., Sarina, B., Crocchiolo, R., Bramanti, S., Furst, S., Devillier, R., . . . Blaise, D. (2016). Outcomes of Hodgkin lymphoma patients who relapse after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, *51*(12), 1644-1646. doi:10.1038/bmt.2016.257
- Chang, Y. J., Zhao, X. Y., Huo, M. R., Xu, L. P., Liu, D. H., Liu, K. Y., & Huang, X. J. (2012). Immune reconstitution following unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical transplantation compared with HLA-identical sibling transplantation. *J Clin Immunol*, *32*(2), 268-280. doi:10.1007/s10875-011-9630-7
- Chevallier, P., Labopin, M., Buchholz, S., Ganser, A., Ciceri, F., Lioure, B., . . . Mohty, M. (2012). Clofarabine-containing conditioning regimen for allo-SCT in AML/ALL patients: a survey from the Acute Leukemia Working Party of EBMT. *Eur J Haematol*, *89*(3), 214-219. doi:10.1111/j.1600-0609.2012.01822.x
- Christopeit, M., Kuss, O., Finke, J., Bacher, U., Beelen, D. W., Bornhauser, M., . . . Schmid, C. (2013). Second allograft for hematologic relapse of acute leukemia after first allogeneic stem-cell transplantation from related and unrelated donors: the role of donor change. *J Clin Oncol*, *31*(26), 3259-3271. doi:10.1200/jco.2012.44.7961
- Ciceri, F., Labopin, M., Aversa, F., Rowe, J. M., Bunjes, D., Lewalle, P., . . . Rocha, V. (2008). A survey of fully haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in adults with high-risk acute leukemia: a risk factor analysis of outcomes for patients in remission at transplantation. *Blood*, *112*(9), 3574-3581. doi:10.1182/blood-2008-02-140095
- Ciurea, S. O., Mulanovich, V., Saliba, R. M., Bayraktar, U. D., Jiang, Y., Bassett, R., . . . Champlin, R. E. (2012). Improved early outcomes using a T cell replete graft compared with T cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, *18*(12), 1835-1844. doi:10.1016/j.bbmt.2012.07.003
- Ciurea, S. O., Zhang, M. J., Bacigalupo, A. A., Bashey, A., Appelbaum, F. R., Aljitan, O. S., . . . Eapen, M. (2015). Haploidentical transplant with posttransplant cyclophosphamide vs matched unrelated donor transplant for acute myeloid leukemia. *Blood*, *126*(8), 1033-1040. doi:10.1182/blood-2015-04-639831
- Copelan, E. A. (2006). Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med*, *354*(17), 1813-1826. doi:10.1056/NEJMra052638
- Curtis, R. E., Travis, L. B., Rowlings, P. A., Socie, G., Kingma, D. W., Banks, P. M., . . . Deeg, H. J. (1999). Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study. *Blood*, *94*(7), 2208-2216.
- Dahlke, J., Kroger, N., Zabelina, T., Ayuk, F., Fehse, N., Wolschke, C., . . . Zander, A. R. (2006). Comparable results in patients with acute lymphoblastic leukemia after related and

- unrelated stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 37(2), 155-163.
doi:10.1038/sj.bmt.1705221
- de Lima, M., Anagnostopoulos, A., Munsell, M., Shahjahan, M., Ueno, N., Ippoliti, C., . . . Giralt, S. (2004). Nonablative versus reduced-intensity conditioning regimens in the treatment of acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome: dose is relevant for long-term disease control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 104(3), 865-872. doi:10.1182/blood-2003-11-3750
- Devillier, R., Bramanti, S., Furst, S., Sarina, B., El-Cheikh, J., Crocchiolo, R., . . . Blaise, D. (2016). T-replete haploidentical allogeneic transplantation using post-transplantation cyclophosphamide in advanced AML and myelodysplastic syndromes. *Bone Marrow Transplant*, 51(2), 194-198. doi:10.1038/bmt.2015.270
- Di Ianni, M., Falzetti, F., Carotti, A., Terenzi, A., Castellino, F., Bonifacio, E., . . . Martelli, M. F. (2011). Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood*, 117(14), 3921-3928. doi:10.1182/blood-2010-10-311894
- Di Stasi, A., Milton, D. R., Poon, L. M., Hamdi, A., Rondon, G., Chen, J., . . . Ciurea, S. O. (2014). Similar transplantation outcomes for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome patients with haploidentical versus 10/10 human leukocyte antigen-matched unrelated and related donors. *Biol Blood Marrow Transplant*, 20(12), 1975-1981.
doi:10.1016/j.bbmt.2014.08.013
- Di Stasi, A., Tey, S. K., Dotti, G., Fujita, Y., Kennedy-Nasser, A., Martinez, C., . . . Brenner, M. K. (2011). Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy. *N Engl J Med*, 365(18), 1673-1683. doi:10.1056/NEJMoa1106152
- Dietrich, S., Finel, H., Martinez, C., Tischer, J., Blaise, D., Chevallier, P., . . . Dreger, P. (2016). Post-transplant cyclophosphamide-based haplo-identical transplantation as alternative to matched sibling or unrelated donor transplantation for non-Hodgkin lymphoma: a registry study by the European society for blood and marrow transplantation. *Leukemia*, 30(10), 2086-2089. doi:10.1038/leu.2016.125
- Doocey, R. T., Toze, C. L., Connors, J. M., Nevill, T. J., Gascoyne, R. D., Barnett, M. J., . . . Song, K. W. (2005). Allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation for relapsed and refractory aggressive histology non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol*, 131(2), 223-230.
doi:10.1111/j.1365-2141.2005.05755.x
- Duus, J. E., Stiff, P. J., Choi, J., Parthasarathy, M., Rodriguez, T., & Toor, A. A. (2005). Second allografts for relapsed hematologic malignancies: feasibility of using a different donor. *Bone Marrow Transplant*, 35(3), 261-264. doi:10.1038/sj.bmt.1704761
- Eapen, M., Giralt, S. A., Horowitz, M. M., Klein, J. P., Wagner, J. E., Zhang, M. J., . . . deLima, M. (2004). Second transplant for acute and chronic leukemia relapsing after first HLA-identical sibling transplant. *Bone Marrow Transplant*, 34(8), 721-727. doi:10.1038/sj.bmt.1704645
- Edinger, M., Hoffmann, P., Ermann, J., Drago, K., Fathman, C. G., Strober, S., & Negrin, R. S. (2003). CD4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Nat Med*, 9(9), 1144-1150.
doi:10.1038/nm915
- Einsele, H., Bertz, H., Beyer, J., Kiehl, M. G., Runde, V., Kolb, H. J., . . . Klingebiel, T. (2001). [Epidemiology and interventional treatment strategies of infectious complications after allogeneic stem-cell transplantation]. *Dtsch Med Wochenschr*, 126(45), 1278-1284.
doi:10.1055/s-2001-18331
- Eto, M., Mayumi, H., Tomita, Y., Yoshikai, Y., Nishimura, Y., & Nomoto, K. (1990). Sequential mechanisms of cyclophosphamide-induced skin allograft tolerance including the intrathymic clonal deletion followed by late breakdown of the clonal deletion. *J Immunol*, 145(5), 1303-1310.
- Faderl, S., Verstovsek, S., Cortes, J., Ravandi, F., Beran, M., Garcia-Manero, G., . . . Kantarjian, H. M. (2006). Clofarabine and cytarabine combination as induction therapy for acute myeloid leukemia (AML) in patients 50 years of age or older. *Blood*, 108(1), 45-51. doi:10.1182/blood-2005-08-3294

- Frag, S. S., Wood, L. L., Schwartz, J. E., Srivastava, S., Nelson, R. P., Jr., Robertson, M. J., . . . Jones, D. R. (2011). Phase I trial and pharmacokinetic study of high-dose clofarabine and busulfan and allogeneic stem cell transplantation in adults with high-risk and refractory acute leukemia. *Leukemia*, *25*(4), 599-605. doi:10.1038/leu.2010.319
- Federmann, B., Bornhauser, M., Meisner, C., Kordelas, L., Beelen, D. W., Stuhler, G., . . . Bethge, W. A. (2012). Haploidentical allogeneic hematopoietic cell transplantation in adults using CD3/CD19 depletion and reduced intensity conditioning: a phase II study. *Haematologica*, *97*(10), 1523-1531. doi:10.3324/haematol.2011.059378
- Ferrara, J. L., Levine, J. E., Reddy, P., & Holler, E. (2009). Graft-versus-host disease. *Lancet*, *373*(9674), 1550-1561. doi:10.1016/s0140-6736(09)60237-3
- Feucht, J., Opherk, K., Lang, P., Kayser, S., Hartl, L., Bethge, W., . . . Feuchtinger, T. (2015). Adoptive T-cell therapy with hexon-specific Th1 cells as a treatment of refractory adenovirus infection after HSCT. *Blood*, *125*(12), 1986-1994. doi:10.1182/blood-2014-06-573725
- Feuchtinger, T., Opherk, K., Bethge, W. A., Topp, M. S., Schuster, F. R., Weissinger, E. M., . . . Einsele, H. (2010). Adoptive transfer of pp65-specific T cells for the treatment of chemorefractory cytomegalovirus disease or reactivation after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood*, *116*(20), 4360-4367. doi:10.1182/blood-2010-01-262089
- Filipovich, A. H., Weisdorf, D., Pavletic, S., Socie, G., Wingard, J. R., Lee, S. J., . . . Flowers, M. E. (2005). 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*, *11*(12), 945-956. doi:10.1016/j.bbmt.2005.09.004
- Finke, J., Bethge, W. A., Schmoor, C., Ottinger, H. D., Stelljes, M., Zander, A. R., . . . Socie, G. (2009). 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*, *10*(9), 855-864. doi:10.1016/s1470-2045(09)70225-6
- Ganepola, S., Gentilini, C., Hilbers, U., Lange, T., Rieger, K., Hofmann, J., . . . Uharek, L. (2007). Patients at high risk for CMV infection and disease show delayed CD8+ T-cell immune recovery after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, *39*(5), 293-299. doi:10.1038/sj.bmt.1705585
- Ganguly, S., Ross, D. B., Panoskaltis-Mortari, A., Kanakry, C. G., Blazar, B. R., Levy, R. B., & Luznik, L. (2014). Donor CD4+ Foxp3+ regulatory T cells are necessary for posttransplantation cyclophosphamide-mediated protection against GVHD in mice. *Blood*, *124*(13), 2131-2141. doi:10.1182/blood-2013-10-525873
- Ghiso, A., Raiola, A. M., Gualandi, F., Dominiotto, A., Varaldo, R., Van Lint, M. T., . . . Bacigalupo, A. (2015). DLI after haploidentical BMT with post-transplant CY. *Bone Marrow Transplant*, *50*(1), 56-61. doi:10.1038/bmt.2014.217
- Giralt, S., Estey, E., Albitar, M., van Besien, K., Rondon, G., Anderlini, P., . . . Champlin, R. (1997). Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy. *Blood*, *89*(12), 4531-4536.
- Glass, B., Hasenkamp, J., Wulf, G., Dreger, P., Pfreundschuh, M., Gramatzki, M., . . . Schmitz, N. (2014). Rituximab after lymphoma-directed conditioning and allogeneic stem-cell transplantation for relapsed and refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma (DSHNHL R3): an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, *15*(7), 757-766. doi:10.1016/s1470-2045(14)70161-5
- Glucksberg, H., Storb, R., Fefer, A., Buckner, C. D., Neiman, P. E., Clift, R. A., . . . Thomas, E. D. (1974). Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*, *18*(4), 295-304.
- Godder, K. T., Henslee-Downey, P. J., Mehta, J., Park, B. S., Chiang, K. Y., Abhyankar, S., & Lamb, L. S. (2007). Long term disease-free survival in acute leukemia patients recovering with increased gammadelta T cells after partially mismatched related donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*, *39*(12), 751-757. doi:10.1038/sj.bmt.1705650

- Gokbuget, N., Stanze, D., Beck, J., Diedrich, H., Horst, H. A., Huttmann, A., . . . Hoelzer, D. (2012). Outcome of relapsed adult lymphoblastic leukemia depends on response to salvage chemotherapy, prognostic factors, and performance of stem cell transplantation. *Blood*, *120*(10), 2032-2041. doi:10.1182/blood-2011-12-399287
- Gopal, A. K., Guthrie, K. A., Rajendran, J., Pagel, J. M., Oliveira, G., Maloney, D. G., . . . Press, O. W. (2011). (9)(0)Y-Ibritumomab tiuxetan, fludarabine, and TBI-based nonmyeloablative allogeneic transplantation conditioning for patients with persistent high-risk B-cell lymphoma. *Blood*, *118*(4), 1132-1139. doi:10.1182/blood-2010-12-324392
- Gratwohl, A., Baldomero, H., Passweg, J., & Urbano-Ispizua, A. (2002). Increasing use of reduced intensity conditioning transplants: report of the 2001 EBMT activity survey. *Bone Marrow Transplant*, *30*(12), 813-831. doi:10.1038/sj.bmt.1703819
- Grigoleit, G. U., Kapp, M., Tan, S. M., Unzicker, C., Einsele, H., Mielke, S., . . . Stuhler, G. (2009). Clofarabine-based salvage chemotherapy for relapsed or refractory acute leukemia before allogeneic stem cell transplantation: results from a case series. *Leuk Lymphoma*, *50*(12), 2071-2074. doi:10.3109/10428190903350413
- Grullich, C., Bertz, H., Spyridonidis, A., Muller, C. I., & Finke, J. (2008). A fludarabine, thiotepa reduced toxicity conditioning regimen designed specifically for allogeneic second haematopoietic cell transplantation after failure of previous autologous or allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant*, *41*(10), 845-850. doi:10.1038/sj.bmt.1705989
- Handgretinger, R. (2012). New approaches to graft engineering for haploidentical bone marrow transplantation. *Semin Oncol*, *39*(6), 664-673. doi:10.1053/j.seminoncol.2012.09.007
- Handgretinger, R., Klingebiel, T., Lang, P., Schumm, M., Neu, S., Geiselhart, A., . . . Niethammer, D. (2001). Megadose transplantation of purified peripheral blood CD34(+) progenitor cells from HLA-mismatched parental donors in children. *Bone Marrow Transplant*, *27*(8), 777-783. doi:10.1038/sj.bmt.1702996
- Henslee-Downey, P. J., Abhyankar, S. H., Parrish, R. S., Pati, A. R., Godder, K. T., Neglia, W. J., . . . Gee, A. P. (1997). Use of partially mismatched related donors extends access to allogeneic marrow transplant. *Blood*, *89*(10), 3864-3872.
- Heslop, H. E., & Rooney, C. M. (1997). Adoptive cellular immunotherapy for EBV lymphoproliferative disease. *Immunol Rev*, *157*, 217-222.
- Horowitz, M. M., Gale, R. P., Sondel, P. M., Goldman, J. M., Kersey, J., Kolb, H. J., . . . et al. (1990). Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood*, *75*(3), 555-562.
- Hosing, C., Saliba, R. M., Shahjahan, M., Estey, E. H., Couriel, D., Giralt, S., . . . De Lima, M. (2005). Disease burden may identify patients more likely to benefit from second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation to treat relapsed acute myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant*, *36*(2), 157-162. doi:10.1038/sj.bmt.1705011
- Huang, X. J., Liu, D. H., Liu, K. Y., Xu, L. P., Chen, H., Han, W., . . . Lu, D. P. (2009). Treatment of acute leukemia with unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, *15*(2), 257-265. doi:10.1016/j.bbmt.2008.11.025
- Hubmann, M., Fritsch, S., Zoellner, A. K., Prevalsek, D., Engel, N., Bucklein, V., . . . Tischer, J. (2016). Occurrence, risk factors and outcome of adenovirus infection in adult recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Virol*, *82*, 33-40. doi:10.1016/j.jcv.2016.07.002
- Huo, M. R., Xu, L. P., Li, D., Liu, D. H., Liu, K. Y., Chen, H., . . . Huang, X. J. (2012). The effect of HLA disparity on clinical outcome after HLA-haploidentical blood and marrow transplantation. *Clin Transplant*, *26*(2), 284-291. doi:10.1111/j.1399-0012.2011.01499.x
- Jabado, N., Le Deist, F., Cant, A., De Graeff-Meesters, E. R., Fath, A., Morgan, G., . . . Fischer, A. (1996). Bone marrow transplantation from genetically HLA-nonidentical donors in children with fatal inherited disorders excluding severe combined immunodeficiencies: use of two monoclonal antibodies to prevent graft rejection. *Pediatrics*, *98*(3 Pt 1), 420-428.
- Jeha, S., Gaynon, P. S., Razzouk, B. I., Franklin, J., Kadota, R., Shen, V., . . . Steinherz, P. (2006). Phase II study of clofarabine in pediatric patients with refractory or relapsed acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*, *24*(12), 1917-1923. doi:10.1200/jco.2005.03.8554

- Kanakry, C. G., Ganguly, S., Zahurak, M., Bolanos-Meade, J., Thoburn, C., Perkins, B., . . . Luznik, L. (2013). Aldehyde dehydrogenase expression drives human regulatory T cell resistance to posttransplantation cyclophosphamide. *Sci Transl Med*, *5*(211), 211ra157. doi:10.1126/scitranslmed.3006960
- Kanakry, J. A., Kasamon, Y. L., Bolanos-Meade, J., Borrello, I. M., Brodsky, R. A., Fuchs, E. J., . . . Ambinder, R. F. (2013). Absence of post-transplantation lymphoproliferative disorder after allogeneic blood or marrow transplantation using post-transplantation cyclophosphamide as graft-versus-host disease prophylaxis. *Biol Blood Marrow Transplant*, *19*(10), 1514-1517. doi:10.1016/j.bbmt.2013.07.013
- Kanakry, J. A., Kasamon, Y. L., Gocke, C. D., Tsai, H. L., Davis-Sproul, J., Ghosh, N., . . . Ambinder, R. F. (2013). Outcomes of related donor HLA-identical or HLA-haploidentical allogeneic blood or marrow transplantation for peripheral T cell lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*, *19*(4), 602-606. doi:10.1016/j.bbmt.2013.01.006
- Kanate, A. S., Mussetti, A., Kharfan-Dabaja, M. A., Ahn, K. W., DiGilio, A., Beitinjaneh, A., . . . Hamadani, M. (2016). Reduced-intensity transplantation for lymphomas using haploidentical related donors vs HLA-matched unrelated donors. *Blood*, *127*(7), 938-947. doi:10.1182/blood-2015-09-671834
- Kantarjian, H. M., Gandhi, V., Kozuch, P., Faderl, S., Giles, F., Cortes, J., . . . Keating, M. (2003). Phase I clinical and pharmacology study of clofarabine in patients with solid and hematologic cancers. *J Clin Oncol*, *21*(6), 1167-1173. doi:10.1200/jco.2003.04.031
- Karp, J. E., Ricklis, R. M., Balakrishnan, K., Briel, J., Greer, J., Gore, S. D., . . . Gandhi, V. (2007). A phase 1 clinical-laboratory study of clofarabine followed by cyclophosphamide for adults with refractory acute leukemias. *Blood*, *110*(6), 1762-1769. doi:10.1182/blood-2007-03-081364
- Kasamon, Y. L., Bolaños-Meade, J., Gladstone, D. (2013). Outcomes of nonmyeloablative (NMA) haploidentical blood or marrow transplantation (haploBMT) with high-dose post-transplantation cyclophosphamide (PT/Cy) for lymphoma. *Blood*, *112*(2091).
- Kasamon, Y. L., Luznik, L., Leffell, M. S., Kowalski, J., Tsai, H. L., Bolanos-Meade, J., . . . Fuchs, E. J. (2010). Nonmyeloablative HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high-dose posttransplantation cyclophosphamide: effect of HLA disparity on outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*, *16*(4), 482-489. doi:10.1016/j.bbmt.2009.11.011
- Kebriaei, P., Basset, R., Ledesma, C., Ciurea, S., Parmar, S., Shpall, E. J., . . . Andersson, B. S. (2012). Clofarabine combined with busulfan provides excellent disease control in adult patients with acute lymphoblastic leukemia undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, *18*(12), 1819-1826. doi:10.1016/j.bbmt.2012.06.010
- Kedmi, M., Resnick, I. B., Dray, L., Aker, M., Samuel, S., Gesundheit, B., . . . Shapira, M. Y. (2009). A retrospective review of the outcome after second or subsequent allogeneic transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, *15*(4), 483-489. doi:10.1016/j.bbmt.2009.01.009
- Kernan, N. A., Collins, N. H., Juliano, L., Cartagena, T., Dupont, B., & O'Reilly, R. J. (1986). Clonable T lymphocytes in T cell-depleted bone marrow transplants correlate with development of graft-v-host disease. *Blood*, *68*(3), 770-773.
- Khouri, I. F., & Champlin, R. E. (2012). Nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation for non-hodgkin lymphoma. *Cancer J*, *18*(5), 457-462. doi:10.1097/PPO.0b013e31826b124c
- Khouri, I. F., Romaguera, J., Kantarjian, H., Palmer, J. L., Pugh, W. C., Korbling, M., . . . Champlin, R. (1998). Hyper-CVAD and high-dose methotrexate/cytarabine followed by stem-cell transplantation: an active regimen for aggressive mantle-cell lymphoma. *J Clin Oncol*, *16*(12), 3803-3809. doi:10.1200/jco.1998.16.12.3803
- Kiehl, M. G., Kraut, L., Schwerdtfeger, R., Hertenstein, B., Remberger, M., Kroeger, N., . . . Ringden, O. (2004). 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*, *22*(14), 2816-2825. doi:10.1200/jco.2004.07.130
- Kintzel, P. E., Visser, J. A., & Campbell, A. D. (2011). Clofarabine-associated acute kidney injury and proteinuria. *Pharmacotherapy*, *31*(9), 923. doi:10.1592/phco.31.9.923

- Kishi, K., Takahashi, S., Gondo, H., Shiobara, S., Kanamaru, A., Kato, S., . . . Shibata, A. (1997). Second allogeneic bone marrow transplantation for post-transplant leukemia relapse: results of a survey of 66 cases in 24 Japanese institutes. *Bone Marrow Transplant*, *19*(5), 461-466. doi:10.1038/sj.bmt.1700680
- Klingebliel, T., Cornish, J., Labopin, M., Locatelli, F., Darbyshire, P., Handgretinger, R., . . . Rocha, V. (2010). Results and factors influencing outcome after fully haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in children with very high-risk acute lymphoblastic leukemia: impact of center size: an analysis on behalf of the Acute Leukemia and Pediatric Disease Working Parties of the European Blood and Marrow Transplant group. *Blood*, *115*(17), 3437-3446. doi:10.1182/blood-2009-03-207001
- Kolb, H.-J., Bigalke, I., Simoes, B., Falk, C., Tischer, J., Hill, W., & Ledderose, G. (2004). CD6-Depleted Mobilized Stem Cells for Modification of HVG and GVH Reactions after HLA-Haploidentical Marrow Transplantation. *Blood*, *104*(11), 978-978.
- Kolb, H. J. (2008). Graft-versus-leukemia effects of transplantation and donor lymphocytes. *Blood*, *112*(12), 4371-4383. doi:10.1182/blood-2008-03-077974
- Kolb, H. J., Schattenberg, A., Goldman, J. M., Hertenstein, B., Jacobsen, N., Arcese, W., . . . Ansari, H. (1995). Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood*, *86*(5), 2041-2050.
- Korngold, R., & Sprent, J. (1978). Lethal graft-versus-host disease after bone marrow transplantation across minor histocompatibility barriers in mice. Prevention by removing mature T cells from marrow. *J Exp Med*, *148*(6), 1687-1698.
- Kuzmina, Z., Eder, S., Bohm, A., Pernicka, E., Vormittag, L., Kalhs, P., . . . Greinix, H. T. (2012). 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*, *26*(4), 746-756. doi:10.1038/leu.2011.257
- Lacerda, J. F., Martins, C., Carmo, J. A., Lourenco, F., Juncal, C., Rodrigues, A., . . . Lacerda, J. M. (2003). Haploidentical stem cell transplantation with purified CD34 cells after a chemotherapy-alone conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*, *9*(10), 633-642. doi:10.1016/s1083
- Lang, P., Greil, J., Bader, P., Handgretinger, R., Klingebiel, T., Schumm, M., . . . Niethammer, D. (2004). Long-term outcome after haploidentical stem cell transplantation in children. *Blood Cells Mol Dis*, *33*(3), 281-287. doi:10.1016/j.bcmd.2004.08.017
- Leen, A. M., Christin, A., Myers, G. D., Liu, H., Cruz, C. R., Hanley, P. J., . . . Bollard, C. M. (2009). Cytotoxic T lymphocyte therapy with donor T cells prevents and treats adenovirus and Epstein-Barr virus infections after haploidentical and matched unrelated stem cell transplantation. *Blood*, *114*(19), 4283-4292. doi:10.1182/blood-2009-07-232454
- Locke, F. L., Artz, A., Rich, E., Zhang, Y., van Besien, K., & Stock, W. (2010). Feasibility of clofarabine cyto-reduction before allogeneic transplant conditioning for refractory AML. *Bone Marrow Transplant*, *45*(12), 1692-1698. doi:10.1038/bmt.2010.32
- Long-Boyle, J., Huang, J., Rydholm, N., Smith, A., Orchard, P., Tolar, J., & Jacobson, P. (2011). Pharmacokinetics of clofarabine in patients with high-risk inherited metabolic disorders undergoing brain-sparing hematopoietic cell transplantation. *J Clin Pharmacol*, *51*(5), 679-686. doi:10.1177/0091270010372519
- Lu, D. P., Dong, L., Wu, T., Huang, X. J., Zhang, M. J., Han, W., . . . Liu, K. Y. (2006). Conditioning including antithymocyte globulin followed by unmanipulated HLA-mismatched/haploidentical blood and marrow transplantation can achieve comparable outcomes with HLA-identical sibling transplantation. *Blood*, *107*(8), 3065-3073. doi:10.1182/blood-2005-05-2146
- Luznik, L., & Fuchs, E. J. (2010). High-dose, post-transplantation cyclophosphamide to promote graft-host tolerance after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Immunol Res*, *47*(1-3), 65-77. doi:10.1007/s12026-009-8139-0
- Luznik, L., Jalla, S., Engstrom, L. W., Iannone, R., & Fuchs, E. J. (2001). Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with

- fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplantation cyclophosphamide. *Blood*, *98*(12), 3456-3464.
- Luznik, L., O'Donnell, P. V., Symons, H. J., Chen, A. R., Leffell, M. S., Zahurak, M., . . . Fuchs, E. J. (2008). HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant*, *14*(6), 641-650. doi:10.1016/j.bbmt.2008.03.005
- Magenau, J., Tobai, H., Pawarode, A., Braun, T., Peres, E., Reddy, P., . . . Mineishi, S. (2011). Clofarabine and busulfan conditioning facilitates engraftment and provides significant antitumor activity in nonremission hematologic malignancies. *Blood*, *118*(15), 4258-4264. doi:10.1182/blood-2011-06-358010
- Malard, F., Labopin, M., Stuhler, G., Bittenbring, J., Ganser, A., Tischer, J., . . . Nagler, A. (2016). Sequential Intensified Conditioning Regimen Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Adult Patients with Intermediate- or High-Risk Acute Myeloid Leukemia in Complete Remission: A Study from the Acute Leukemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. doi:10.1016/j.bbmt.2016.11.002
- Martelli, M. F., Di Ianni, M., Ruggeri, L., Pierini, A., Falzetti, F., Carotti, A., . . . Velardi, A. (2014). "Designed" grafts for HLA-haploidentical stem cell transplantation. *Blood*, *123*(7), 967-973. doi:10.1182/blood-2013-10-531764
- Martino, R., Badell, I., Brunet, S., Sureda, A., Nomdedeu, J., Altes, A., . . . Domingo-Albos, A. (1994). Second bone marrow transplantation for leukemia in untreated relapse. *Bone Marrow Transplant*, *14*(4), 589-593.
- Mathe, G., Amiel, J. L., Schwarzenberg, L., Cattan, A., Schneider, M., Devries, M. J., . . . Flaisler, A. (1965). SUCCESSFUL ALLOGENIC BONE MARROW TRANSPLANTATION IN MAN: CHIMERISM, INDUCED SPECIFIC TOLERANCE AND POSSIBLE ANTI-LEUKEMIC EFFECTS. *Blood*, *25*, 179-196.
- Mayumi, H., & Good, R. A. (1989). Long-lasting skin allograft tolerance in adult mice induced across fully allogeneic (multimajor H-2 plus multimajor histocompatibility) antigen barriers by a tolerance-inducing method using cyclophosphamide. *J Exp Med*, *169*(1), 213-238.
- Mayumi, H., Himeno, K., Tokuda, N., & Nomoto, K. (1986). Drug-induced tolerance to allografts in mice. VII. Optimal protocol and mechanism of cyclophosphamide-induced tolerance in an H-2 haplotype-identical strain combination. *Transplant Proc*, *18*(2), 363-369.
- Mayumi, H., Umesue, M., & Nomoto, K. (1996). Cyclophosphamide-induced immunological tolerance: an overview. *Immunobiology*, *195*(2), 129-139. doi:10.1016/s0171-2985(96)80033-7
- McCurdy, S. R., Kanakry, J. A., Showel, M. M., Tsai, H. L., Bolanos-Meade, J., Rosner, G. L., . . . Kasamon, Y. L. (2015). Risk-stratified outcomes of nonmyeloablative HLA-haploidentical BMT with high-dose posttransplantation cyclophosphamide. *Blood*, *125*(19), 3024-3031. doi:10.1182/blood-2015-01-623991
- Mehta, J., Singhal, S., Gee, A. P., Chiang, K. Y., Godder, K., Rhee Fv, F., . . . Henslee-Downey, P. J. (2004). Bone marrow transplantation from partially HLA-mismatched family donors for acute leukemia: single-center experience of 201 patients. *Bone Marrow Transplant*, *33*(4), 389-396. doi:10.1038/sj.bmt.1704391
- Meyers, J. D., & Atkinson, K. (1983). Infection in bone marrow transplantation. *Clin Haematol*, *12*(3), 791-811.
- Michallet, M., Tanguy, M. L., Socie, G., Thiebaut, A., Belhabri, A., Milpied, N., . . . Feguex, N. (2000). Second allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in relapsed acute and chronic leukaemias for patients who underwent a first allogeneic bone marrow transplantation: a survey of the Societe Francaise de Greffe de moelle (SFGM). *Br J Haematol*, *108*(2), 400-407.
- Middeke, J. M., Herbst, R., Parmentier, S., Bug, G., Hanel, M., Stuhler, G., . . . Schetelig, J. (2016). Clofarabine salvage therapy before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory AML: results of the BRIDGE trial. *Leukemia*, *30*(2), 261-267. doi:10.1038/leu.2015.226

- Mielke, S., Nunes, R., Rezvani, K., Fellowes, V. S., Venne, A., Solomon, S. R., . . . Barrett, A. J. (2008). A clinical-scale selective allodepletion approach for the treatment of HLA-mismatched and matched donor-recipient pairs using expanded T lymphocytes as antigen-presenting cells and a TH9402-based photodepletion technique. *Blood*, *111*(8), 4392-4402. doi:10.1182/blood-2007-08-104471
- Moosmann, A., Bigalke, I., Tischer, J., Schirrmann, L., Kasten, J., Tippmer, S., . . . Kolb, H. J. (2010). Effective and long-term control of EBV PTLD after transfer of peptide-selected T cells. *Blood*, *115*(14), 2960-2970. doi:10.1182/blood-2009-08-236356
- Mrsic, M., Horowitz, M. M., Atkinson, K., Biggs, J. C., Champlin, R. E., Ehninger, G., . . . et al. (1992). Second HLA-identical sibling transplants for leukemia recurrence. *Bone Marrow Transplant*, *9*(4), 269-275.
- Mulanovich, V. E., Jiang, Y., de Lima, M., Shpall, E. J., Champlin, R. E., & Ciurea, S. O. (2011). Infectious complications in cord blood and T-cell depleted haploidentical stem cell transplantation. *Am J Blood Res*, *1*(1), 98-105.
- Nabhan, C., Davis, N., Bitran, J. D., Galvez, A., Fried, W., Tolzien, K., . . . Venugopal, P. (2011). Efficacy and safety of clofarabine in relapsed and/or refractory non-Hodgkin lymphoma, including rituximab-refractory patients. *Cancer*, *117*(7), 1490-1497. doi:10.1002/cncr.25603
- Nguyen, V. H., Shashidhar, S., Chang, D. S., Ho, L., Kambham, N., Bachmann, M., . . . Negrin, R. S. (2008). The impact of regulatory T cells on T-cell immunity following hematopoietic cell transplantation. *Blood*, *111*(2), 945-953. doi:10.1182/blood-2007-07-103895
- Nirmul, G., Severin, C., & Taub, R. N. (1973). Mechanisms and kinetics of cyclophosphamide-induced specific tolerance to skin allografts in mice. *Transplant Proc*, *5*(1), 675-678.
- O'Donnell, P. V., Eapen, M., Horowitz, M. M., Logan, B. R., DiGilio, A., Brunstein, C., . . . Blaise, D. (2016). Comparable outcomes with marrow or peripheral blood as stem cell sources for hematopoietic cell transplantation from haploidentical donors after non-ablative conditioning: a matched-pair analysis. *Bone Marrow Transplant*, *51*(12), 1599-1601. doi:10.1038/bmt.2016.215
- O'Donnell, P. V., Luznik, L., Jones, R. J., Vogelsang, G. B., Leffell, M. S., Phelps, M., . . . Fuchs, E. J. (2002). Nonmyeloablative bone marrow transplantation from partially HLA-mismatched related donors using posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant*, *8*(7), 377-386.
- Ottinger, H., Grosse-Wilde, M., Schmitz, A., & Grosse-Wilde, H. (1994). Immunogenetic marrow donor search for 1012 patients: a retrospective analysis of strategies, outcome and costs. *Bone Marrow Transplant*, *14 Suppl 4*, S34-38.
- Parody, R., Martino, R., Rovira, M., Vazquez, L., Vazquez, M. J., de la Camara, R., . . . Sanz, G. F. (2006). Severe infections after unrelated donor allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults: comparison of cord blood transplantation with peripheral blood and bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, *12*(7), 734-748. doi:10.1016/j.bbmt.2006.03.007
- Pawson, R., Potter, M. N., Theocharous, P., Lawler, M., Garg, M., Yin, J. A., . . . Prentice, H. G. (2001). Treatment of relapse after allogeneic bone marrow transplantation with reduced intensity conditioning (FLAG +/- Ida) and second allogeneic stem cell transplant. *Br J Haematol*, *115*(3), 622-629.
- Perruccio, K., Tosti, A., Burchielli, E., Topini, F., Ruggeri, L., Carotti, A., . . . Velardi, A. (2005). Transferring functional immune responses to pathogens after haploidentical hematopoietic transplantation. *Blood*, *106*(13), 4397-4406. doi:10.1182/blood-2005-05-1775
- Platzbecker, U., Binder, M., Schmid, C., Rutt, C., Ehninger, G., & Bornhauser, M. (2008). Second donation of hematopoietic stem cells from unrelated donors for patients with relapse or graft failure after allogeneic transplantation. *Haematologica*, *93*(8), 1276-1278. doi:10.3324/haematol.12798
- Pollyea, D. A., Artz, A. S., Stock, W., Daugherty, C., Godley, L., Odenike, O. M., . . . van Besien, K. (2007). Outcomes of patients with AML and MDS who relapse or progress after reduced

- intensity allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 40(11), 1027-1032. doi:10.1038/sj.bmt.1705852
- Porter, D. L., Alyea, E. P., Antin, J. H., DeLima, M., Estey, E., Falkenburg, J. H., . . . van Besien, K. (2010). NCI First International Workshop on the Biology, Prevention, and Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Report from the Committee on Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 16(11), 1467-1503. doi:10.1016/j.bbmt.2010.08.001
- Powles, R. L., Morgenstern, G. R., Kay, H. E., McElwain, T. J., Clink, H. M., Dady, P. J., . . . Robinson, B. (1983). Mismatched family donors for bone-marrow transplantation as treatment for acute leukaemia. *Lancet*, 1(8325), 612-615.
- Przepiorka, D., Weisdorf, D., Martin, P., Klingemann, H. G., Beatty, P., Hows, J., & Thomas, E. D. (1995). 1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant*, 15(6), 825-828.
- Radich, J. P., Sanders, J. E., Buckner, C. D., Martin, P. J., Petersen, F. B., Bensinger, W., . . . Hansen, J. A. (1993). Second allogeneic marrow transplantation for patients with recurrent leukemia after initial transplant with total-body irradiation-containing regimens. *J Clin Oncol*, 11(2), 304-313. doi:10.1200/jco.1993.11.2.304
- Raiola, A., Dominietto, A., Varaldo, R., Ghiso, A., Galaverna, F., Bramanti, S., . . . Castagna, L. (2014). Unmanipulated haploidentical BMT following non-myeloablative conditioning and post-transplantation CY for advanced Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant*, 49(2), 190-194. doi:10.1038/bmt.2013.166
- Raiola, A. M., Dominietto, A., di Grazia, C., Lamparelli, T., Gualandi, F., Ibatici, A., . . . Bacigalupo, A. (2014). Unmanipulated haploidentical transplants compared with other alternative donors and matched sibling grafts. *Biol Blood Marrow Transplant*, 20(10), 1573-1579. doi:10.1016/j.bbmt.2014.05.029
- Raiola, A. M., Dominietto, A., Ghiso, A., Di Grazia, C., Lamparelli, T., Gualandi, F., . . . Bacigalupo, A. (2013). Unmanipulated haploidentical bone marrow transplantation and posttransplantation cyclophosphamide for hematologic malignancies after myeloablative conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant*, 19(1), 117-122. doi:10.1016/j.bbmt.2012.08.014
- Reisner, Y., Kapoor, N., O'Reilly, R. J., & Good, R. A. (1980). Allogeneic bone marrow transplantation using stem cells fractionated by lectins: VI, in vitro analysis of human and monkey bone marrow cells fractionated by sheep red blood cells and soybean agglutinin. *Lancet*, 2(8208-8209), 1320-1324.
- Rezvani, A. R., Norasetthada, L., Gooley, T., Sorrow, M., Bouvier, M. E., Sahebi, F., . . . Maloney, D. G. (2008). Non-myeloablative allogeneic haematopoietic cell transplantation for relapsed diffuse large B-cell lymphoma: a multicentre experience. *Br J Haematol*, 143(3), 395-403. doi:10.1111/j.1365-2141.2008.07365.x
- Rieger, C. T., Ostermann, H., Kolb, H. J., Fiegl, M., Huppmann, S., Morgenstern, N., & Fischer, J. (2008). A clinical cohort trial of antifungal combination therapy: efficacy and toxicity in haematological cancer patients. *Ann Hematol*, 87(11), 915-922. doi:10.1007/s00277-008-0534-4
- Rigacci, L., Puccini, B., Doderio, A., Iacopino, P., Castagna, L., Bramanti, S., . . . Bosi, A. (2012). Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with diffuse large B cell lymphoma relapsed after autologous stem cell transplantation: a GITMO study. *Ann Hematol*, 91(6), 931-939. doi:10.1007/s00277-011-1395-9
- Ringden, O., Horowitz, M. M., Gale, R. P., Biggs, J. C., Gajewski, J., Rimm, A. A., . . . Bortin, M. M. (1993). Outcome after allogeneic bone marrow transplant for leukemia in older adults. *Jama*, 270(1), 57-60.
- Ringden, O., Labopin, M., Ehninger, G., Niederwieser, D., Olsson, R., Basara, N., . . . Rocha, V. (2009). Reduced intensity conditioning compared with myeloablative conditioning using unrelated donor transplants in patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*, 27(27), 4570-4577. doi:10.1200/jco.2008.20.9692

- Ringden, O., Labopin, M., Schmid, C., Sadeghi, B., Polge, E., Tischer, J., . . . Mohty, M. (2016). Sequential chemotherapy followed by reduced-intensity conditioning and allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in adult patients with relapse or refractory acute myeloid leukaemia: a survey from the Acute Leukaemia Working Party of EBMT. *Br J Haematol*. doi:10.1111/bjh.14428
- Rizzieri, D. A., Koh, L. P., Long, G. D., Gasparetto, C., Sullivan, K. M., Horwitz, M., . . . Chao, N. J. (2007). Partially matched, nonmyeloablative allogeneic transplantation: clinical outcomes and immune reconstitution. *J Clin Oncol*, 25(6), 690-697. doi:10.1200/jco.2006.07.0953
- Robak, T. (2006). New agents in chronic lymphocytic leukemia. *Curr Treat Options Oncol*, 7(3), 200-212.
- Roberto, A., Castagna, L., Zanon, V., Bramanti, S., Crocchiolo, R., McLaren, J. E., . . . Lugli, E. (2015). Role of naive-derived T memory stem cells in T-cell reconstitution following allogeneic transplantation. *Blood*, 125(18), 2855-2864. doi:10.1182/blood-2014-11-608406
- Ross, D., Jones, M., Komanduri, K., & Levy, R. B. (2013). Antigen and lymphopenia-driven donor T cells are differentially diminished by post-transplantation administration of cyclophosphamide after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 19(10), 1430-1438. doi:10.1016/j.bbmt.2013.06.019
- Ruggeri, A., Labopin, M., Sanz, G., Piemontese, S., Arcese, W., Bacigalupo, A., . . . Mohty, M. (2015). Comparison of outcomes after unrelated cord blood and unmanipulated haploidentical stem cell transplantation in adults with acute leukemia. *Leukemia*, 29(9), 1891-1900. doi:10.1038/leu.2015.98
- Ruggeri, A., Peffault de Latour, R., Carmagnat, M., Clave, E., Douay, C., Larghero, J., . . . Rocha, V. (2011). Outcomes, infections, and immune reconstitution after double cord blood transplantation in patients with high-risk hematological diseases. *Transpl Infect Dis*, 13(5), 456-465. doi:10.1111/j.1399-3062.2011.00632.x
- Ruutu, T., de Wreede, L. C., van Biezen, A., Brand, R., Mohty, M., Dreger, P., . . . Kroger, N. (2015). Second allogeneic transplantation for relapse of malignant disease: retrospective analysis of outcome and predictive factors by the EBMT. *Bone Marrow Transplant*, 50(12), 1542-1550. doi:10.1038/bmt.2015.186
- Saber, W., Opie, S., Rizzo, J. D., Zhang, M. J., Horowitz, M. M., & Schriber, J. (2012). Outcomes after matched unrelated donor versus identical sibling hematopoietic cell transplantation in adults with acute myelogenous leukemia. *Blood*, 119(17), 3908-3916. doi:10.1182/blood-2011-09-381699
- Sauter, C. S., Chou, J. F., Papadopoulos, E. B., Perales, M. A., Jakubowski, A. A., Young, J. W., . . . Castro-Malaspina, H. (2014). A prospective study of an alemtuzumab containing reduced-intensity allogeneic stem cell transplant program in patients with poor-risk and advanced lymphoid malignancies. *Leuk Lymphoma*, 55(12), 2739-2747. doi:10.3109/10428194.2014.894185
- Scappini, B., Gianfaldoni, G., Caracciolo, F., Mannelli, F., Biagiotti, C., Romani, C., . . . Bosi, A. (2012). Cytarabine and clofarabine after high-dose cytarabine in relapsed or refractory AML patients. *Am J Hematol*, 87(12), 1047-1051. doi:10.1002/ajh.23308
- Scheper, W., van Dorp, S., Kersting, S., Pietersma, F., Lindemans, C., Hol, S., . . . Kuball, J. (2013). gammadeltaT cells elicited by CMV reactivation after allo-SCT cross-recognize CMV and leukemia. *Leukemia*, 27(6), 1328-1338. doi:10.1038/leu.2012.374
- Schmid, C., Labopin, M., Nagler, A., Bornhauser, M., Finke, J., Fassas, A., . . . Rocha, V. (2007). Donor lymphocyte infusion in the treatment of first hematological relapse after allogeneic stem-cell transplantation in adults with acute myeloid leukemia: a retrospective risk factors analysis and comparison with other strategies by the EBMT Acute Leukemia Working Party. *J Clin Oncol*, 25(31), 4938-4945. doi:10.1200/jco.2007.11.6053
- Schmid, C., Labopin, M., Nagler, A., Niederwieser, D., Castagna, L., Tabrizi, R., . . . Mohty, M. (2012). Treatment, risk factors, and outcome of adults with relapsed AML after reduced intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, 119(6), 1599-1606. doi:10.1182/blood-2011-08-375840

- Schmid, C., Schleuning, M., Aschan, J., Ringden, O., Hahn, J., Holler, E., . . . Kolb, H. J. (2004). Low-dose ARAC, donor cells, and GM-CSF for treatment of recurrent acute myeloid leukemia after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*, *18*(8), 1430-1433. doi:10.1038/sj.leu.2403412
- Schmid, C., Schleuning, M., Hentrich, M., Markl, G. E., Gerbitz, A., Tischer, J., . . . Kolb, H. J. (2008). High antileukemic efficacy of an intermediate intensity conditioning regimen for allogeneic stem cell transplantation in patients with high-risk acute myeloid leukemia in first complete remission. *Bone Marrow Transplant*, *41*(8), 721-727. doi:10.1038/sj.bmt.1705965
- Schmid, C., Schleuning, M., Ledderose, G., Tischer, J., & Kolb, H. J. (2005). Sequential regimen of chemotherapy, reduced-intensity conditioning for allogeneic stem-cell transplantation, and prophylactic donor lymphocyte transfusion in high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol*, *23*(24), 5675-5687. doi:10.1200/jco.2005.07.061
- Schmid, C., Schleuning, M., Schwerdtfeger, R., Hertenstein, B., Mischak-Weissinger, E., Bunjes, D., . . . Kolb, H. J. (2006). Long-term survival in refractory acute myeloid leukemia after sequential treatment with chemotherapy and reduced-intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation. *Blood*, *108*(3), 1092-1099. doi:10.1182/blood-2005-10-4165
- Schroeder, T., Frobel, J., Cadeddu, R. P., Czibere, A., Dienst, A., Platzbecker, U., . . . Kobbe, G. (2013). Salvage therapy with azacitidine increases regulatory T cells in peripheral blood of patients with AML or MDS and early relapse after allogeneic blood stem cell transplantation. *Leukemia*, *27*(9), 1910-1913. doi:10.1038/leu.2013.64
- Shaw, B. E., Mufti, G. J., Mackinnon, S., Cavenagh, J. D., Pearce, R. M., Towilson, K. E., . . . Russell, N. H. (2008). Outcome of second allogeneic transplants using reduced-intensity conditioning following relapse of haematological malignancy after an initial allogeneic transplant. *Bone Marrow Transplant*, *42*(12), 783-789. doi:10.1038/bmt.2008.255
- Sirvent, A., Dhedin, N., Michallet, M., Mounier, N., Faucher, C., Yakoub-Agha, I., . . . Milpied, N. (2010). Low nonrelapse mortality and prolonged long-term survival after reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for relapsed or refractory diffuse large B cell lymphoma: report of the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire. *Biol Blood Marrow Transplant*, *16*(1), 78-85. doi:10.1016/j.bbmt.2009.09.002
- Solomon, S. R., Sizemore, C. A., Sanacore, M., Zhang, X., Brown, S., Holland, H. K., . . . Bashey, A. (2012). Haploidentical transplantation using T cell replete peripheral blood stem cells and myeloablative conditioning in patients with high-risk hematologic malignancies who lack conventional donors is well tolerated and produces excellent relapse-free survival: results of a prospective phase II trial. *Biol Blood Marrow Transplant*, *18*(12), 1859-1866. doi:10.1016/j.bbmt.2012.06.019
- Solomon, S. R., Sizemore, C. A., Sanacore, M., Zhang, X., Brown, S., Holland, H. K., . . . Bashey, A. (2015). Total Body Irradiation-Based Myeloablative Haploidentical Stem Cell Transplantation Is a Safe and Effective Alternative to Unrelated Donor Transplantation in Patients Without Matched Sibling Donors. *Biol Blood Marrow Transplant*, *21*(7), 1299-1307. doi:10.1016/j.bbmt.2015.03.003
- Storb, R., Yu, C., Wagner, J. L., Deeg, H. J., Nash, R. A., Kiem, H. P., . . . Shulman, H. (1997). Stable mixed hematopoietic chimerism in DLA-identical littermate dogs given sublethal total body irradiation before and pharmacological immunosuppression after marrow transplantation. *Blood*, *89*(8), 3048-3054.
- Szydlo, R., Goldman, J. M., Klein, J. P., Gale, R. P., Ash, R. C., Bach, F. H., . . . Horowitz, M. M. (1997). Results of allogeneic bone marrow transplants for leukemia using donors other than HLA-identical siblings. *J Clin Oncol*, *15*(5), 1767-1777. doi:10.1200/jco.1997.15.5.1767
- Thomas. (2004). Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation Vol. 3rd ed. *Malden Blackwell Publishing; 2004, MA.*
- Thomas, E., Storb, R., Clift, R. A., Fefer, A., Johnson, F. L., Neiman, P. E., . . . Buckner, C. D. (1975). Bone-marrow transplantation (first of two parts). *N Engl J Med*, *292*(16), 832-843. doi:10.1056/nejm197504172921605

- Thomas, E. D., Buckner, C. D., Banaji, M., Clift, R. A., Fefer, A., Flournoy, N., . . . Weiden, P. L. (1977). One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation. *Blood*, *49*(4), 511-533.
- Thomas, E. D., Lochte, H. L., Jr., Lu, W. C., & Ferrebee, J. W. (1957). Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy. *N Engl J Med*, *257*(11), 491-496. doi:10.1056/nejm195709122571102
- Thomas, E. D., Storb, R., Clift, R. A., Fefer, A., Johnson, L., Neiman, P. E., . . . Buckner, C. D. (1975). Bone-marrow transplantation (second of two parts). *N Engl J Med*, *292*(17), 895-902. doi:10.1056/nejm197504242921706
- Tischer, J., Engel, N., Fritsch, S., Prevalsek, D., Hubmann, M., Schulz, C., . . . Hausmann, A. (2014). Second haematopoietic SCT using HLA-haploidentical donors in patients with relapse of acute leukaemia after a first allogeneic transplantation. *Bone Marrow Transplant*, *49*(7), 895-901. doi:10.1038/bmt.2014.83
- Tischer, J., Engel, N., Fritsch, S., Prevalsek, D., Hubmann, M., Schulz, C., . . . Hausmann, A. (2015). Virus infection in HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: incidence in the context of immune recovery in two different transplantation settings. *Ann Hematol*, *94*(10), 1677-1688. doi:10.1007/s00277-015-2423-y
- Tischer, J., Stemmler, H. J., Engel, N., Hubmann, M., Fritsch, S., Prevalsek, D., . . . Hausmann, A. (2013). Feasibility of clofarabine cytoreduction followed by haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory advanced acute leukemia. *Ann Hematol*, *92*(10), 1379-1388. doi:10.1007/s00277-013-1862-6
- Tomonari, A., Iseki, T., Ooi, J., Takahashi, S., Ishii, K., Takahashi, T., . . . Asano, S. (2002). Using related donors other than genotypically HLA-matched siblings in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematologic disease: a single institution experience in Japan. *Int J Hematol*, *76*(4), 354-359.
- van Kampen, R. J., Canals, C., Schouten, H. C., Nagler, A., Thomson, K. J., Vernant, J. P., . . . Sureda, A. (2011). Allogeneic stem-cell transplantation as salvage therapy for patients with diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma relapsing after an autologous stem-cell transplantation: an analysis of the European Group for Blood and Marrow Transplantation Registry. *J Clin Oncol*, *29*(10), 1342-1348. doi:10.1200/jco.2010.30.2596
- Vrhovac, R., Labopin, M., Ciceri, F., Finke, J., Holler, E., Tischer, J., . . . Mohty, M. (2016). Second reduced intensity conditioning allogeneic transplant as a rescue strategy for acute leukaemia patients who relapse after an initial RIC allogeneic transplantation: analysis of risk factors and treatment outcomes. *Bone Marrow Transplant*, *51*(2), 186-193. doi:10.1038/bmt.2015.221
- Walker, I., Shehata, N., Cantin, G., Couture, F., Dhedin, N., Barty, R., . . . Mitchell, D. (2004). Canadian multicenter pilot trial of haploidentical donor transplantation. *Blood Cells Mol Dis*, *33*(3), 222-226. doi:10.1016/j.bcmd.2004.08.006
- Wirk, B., Fenske, T. S., Hamadani, M., Zhang, M. J., Hu, Z. H., Akpek, G., . . . Saber, W. (2014). Outcomes of hematopoietic cell transplantation for diffuse large B cell lymphoma transformed from follicular lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant*, *20*(7), 951-959. doi:10.1016/j.bbmt.2014.03.014
- Witherspoon, R. P., Deeg, H. J., Storer, B., Anasetti, C., Storb, R., & Appelbaum, F. R. (2001). Hematopoietic stem-cell transplantation for treatment-related leukemia or myelodysplasia. *J Clin Oncol*, *19*(8), 2134-2141. doi:10.1200/jco.2001.19.8.2134
- Wundergem, M. J., Dijkstra, F. S., Visser, O. J., Zweegman, S., Ossenkoppele, G. J., Witte, B. I., & Janssen, J. J. (2014). Allogeneic transplantation after reduced-intensity conditioning with fludarabine-CY for both indolent and aggressive lymphoid malignancies. *Bone Marrow Transplant*, *49*(4), 513-518. doi:10.1038/bmt.2013.221
- Zeidan, A. M., Forde, P. M., Symons, H., Chen, A., Smith, B. D., Pratz, K., . . . Bolanos-Meade, J. (2014). HLA-haploidentical donor lymphocyte infusions for patients with relapsed hematologic malignancies after related HLA-haploidentical bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, *20*(3), 314-318. doi:10.1016/j.bbmt.2013.11.020

- Zittoun, R. A., Mandelli, F., Willemze, R., de Witte, T., Labar, B., Resegotti, L., . . . et al. (1995). Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Leukemia Cooperative Groups. *N Engl J Med*, *332*(4), 217-223. doi:10.1056/nejm199501263320403
- Zoellner, A. K., Fritsch, S., Prevalsek, D., Engel, N., Hubmann, M., Reibke, R., . . . Tischer, J. (2015). Sequential therapy combining clofarabine and T-cell-replete HLA-haploidentical haematopoietic SCT is feasible and shows efficacy in the treatment of refractory or relapsed aggressive lymphoma. *Bone Marrow Transplant*, *50*(5), 679-684. doi:10.1038/bmt.2014.328

DANKSAGUNG

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Wolfgang Hiddemann, Direktor der Medizinischen Klinik und Poliklinik III des Klinikums der Universität München für seine kontinuierliche und stimulierende Unterstützung meiner wissenschaftlichen Arbeit. Meine ärztliche Ausbildung verdanke ich ihm und seiner Klinik.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. em. Hans-Jochem Kolb, dem Nestor der allogenen Stammzelltransplantation in Deutschland, unter dessen Anleitung ich eine profunde klinische und wissenschaftliche Ausbildung in allen Aspekten dieses Gebietes erhielt.

Bei Herrn Professor Dr. med. Helmut Ostermann bedanke ich mich für die Jahre der kollegialen Zusammenarbeit und für seine Unterstützung als Mitglied meines Fachmentorats.

Ich bedanke mich bei meinen Kolleginnen und Kollegen der Arbeitsgruppe KMT der Medizinischen Klinik und Poliklinik III, Dr. med. Andreas Hausmann, Dr. med. Dusan Prevalsek, Dr. med. Susanne Fritsch, Dr. med. Nicole Engel, Dr. med. Anna-Katharina Zoellner, nicht zuletzt bei Alessia Fraccaroli für ihre immer zuverlässige Kooperation, ihren stimulierenden Ideenreichtum und ihren Enthusiasmus. Herrn Dr. med. Georg Ledderose danke ich für sein informelles Mentoring, seine freundliche Motivation und seine unbedingte Unterstützung.

Ich bedanke mich ganz besonders auch bei allen nicht-ärztlichen Kolleginnen und Kollegen der Hämatopoetischen Zelltransplantation der Medizinischen Klinik und Poliklinik III; hervorgehoben sei Fr. Margarete Rothmayer als KMT-Koordinatorin, die mich mit ihrem klugen Rat und immer offenen Ohr über Jahre tatkräftig unterstützt hat.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern und meinen Geschwistern für den immerwährenden zuverlässigen familiären Zusammenhalt und ihre unschätzbare emotionale Unterstützung. Ebenso bedanke ich mich bei Fr. Dr. med. vet. Anja Dörrzapf, nicht zuletzt dafür, dass sie mir in absoluter Freundschaft bei der Erhaltung meiner work-life-balance entscheidend hilft. Mein besonderer Dank gilt Herrn Dipl. Stat. Michael Scholz für die kontinuierliche geduldige Zuwendung und zahlreiche wertvolle Anregungen, die wesentlich zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen haben.