

**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. Michael von Bergwelt**

**Der Einfluss der Stammzellquelle auf das Therapieergebnis
bei HLA-differenter allogener hämatopoetischer
Stammzelltransplantation**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Tarek Abu-Hamdeh
aus
Eggenburg
2019**

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter:

Prof. Dr. med. Wolfgang Hiddemann

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. med. Michael Albert

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter:

Dr. med. Andreas Hausmann

Dekan:

Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung:

31.01.2019

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1 Grundlagen und Definitionen	5
1.2 HLA-System und Spenderauswahl	8
1.2.1 HLA-System	8
1.2.2 Spendersuche	10
1.3 Stammzellgewinnung	11
1.3.1 Knochenmark	11
1.3.2 Periphere Blutstammzellen (PBSC).....	11
1.3.3 Nabelschnurblut.....	12
1.4 Ablauf der Stammzelltransplantation.....	14
1.4.1 Konditionierung.....	14
1.4.2 Transplantation	16
1.4.3 Engraftment und Immunrekonstitution.....	16
1.5.Komplikationen nach allogener Stammzelltransplantation	17
1.5.1 Rezidive.....	17
1.5.2 Transplantat-Versagen	17
1.5.3 Graft-versus-Host Erkrankung	18
1.5.4 Transplantationsassoziierte Infektionen.....	23
1.5.5 EBV-assoziierte Lymphoproliferative Erkrankung (PTLD)	24
2. Fragestellung und Ziel	25
3. Patienten und Methoden	27
3.1 Methoden	27
3.2 Vergleichsgruppen	28
3.2.1 Patientencharakteristika des Gesamtkollektivs	38
4. Ergebnisse	43
4.1 Gesamtüberleben (OS)	43
4.2 Erkrankungsfreies Überleben (DFS)	45
4.3 Akute Graft-versus-Host-Disease (aGvHD).....	47
4.4 Chronische Graft-versus-Host-Disease (cGvHD).....	50
4.5 Rezidivinzidenz (RI)	52

4.6 Non-Relapse Mortality (NRM)	54
5. Diskussion	56
5.1 Mismatch-Fremdspendertransplantation (MMURD-Transplantation)	59
5.2 Transplantation von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut ((D-)CB- Transplantation)	62
5.3 Haploidentische Transplantation mit hochdosierter Cyclophosphamid-Gabe nach Transplantation (PTCY-Haplotransplantation)	65
5.4 Haploidentische Transplantation mit CD6+ T-Zelldepletion (CD6- Haplotransplantation)	69
5.5 Limitationen.....	70
5.6 Ausblick.....	72
6. Zusammenfassung	74
7. Anhang	76
7.1 Abbildungsverzeichnis.....	76
7.2 Tabellenverzeichnis.....	76
7.3. Literaturverzeichnis.....	77
8. Curriculum Vitae.....	87
9. Danksagung.....	88
10. Eidesstattliche Versicherung.....	89

1. Einleitung

Die allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation stellt für eine Vielzahl von malignen und nicht malignen hämatologischen Erkrankungen die einzige kurative Therapieoption dar, insbesondere für Patienten mit einer Erkrankung des myeloischen und lymphatischen Systems [1, 2]. Für ca. 25-30% der Patienten in Deutschland finden sich HLA-identische Spender innerhalb der Kernfamilie. In den übrigen Fällen kann eine Suche innerhalb nationaler und internationaler Spenderdatenbanken initiiert werden. Abhängig von der Suchdauer und der ethnischen Zugehörigkeit kann so in ca. 70% der Fälle ein HLA-kompatibler, unverwandter Spender identifiziert werden [3]. Für alle anderen Patienten muss ein(e) alternative(r) Stammzellspender/Stammzellquelle in Betracht gezogen werden. Die vorliegende Arbeit analysiert die Behandlungsergebnisse von 248 alternativen Spendertransplantationen, die im Bereich der hämatopoetischen Stammzelltransplantation der Medizinischen Klinik III des Klinikums der Universität München-Großhadern in der Zeit von 2000 bis 2014 durchgeführt wurden und vergleicht diese mit den bisher beschriebenen Ergebnissen HLA-differenter, alternativer Spendertransplantationen in der Literatur. Dieser Analyse vorangestellt ist eine thematische Einführung in das Gebiet der allogenen Stammzelltransplantation.

1.1 Grundlagen und Definitionen

Stammzellen sind niedrig differenzierte Vorläuferzellen mit der Fähigkeit zur Weiterdifferenzierung und Selbsterneuerung [4]. Aus ihnen geht bei der Zellteilung sowohl eine differenzierte Tochterzelle, als auch ein klonales Replikat der Mutterzelle hervor („asymmetrische Zellteilung“)[5]. Die pluripotente hämatopoetische Stammzelle (HSZ) ist die Vorläuferzelle sämtlicher lymphoider, myeloider und erythroider Zellreihen. Sie bringt diese ein Leben lang hervor - ohne dass dabei der Stammzellbestand selbst verringert wird - und führt so zu einer annähernd konstanten zellulären Zusammensetzung des Bluts [6]. Die hämatopoetische Stammzelle ist Bestandteil der ein - bis zweiprozentigen Fraktion der Knochenmarkzellen, welche das Antigen CD34 exprimieren. Sie exprimiert allerdings weder CD38, noch andere Marker

der lymphatischen oder myeloischen Reihe und wird daher als CD34+/CD38- und „lineage-negative“ beschrieben [7-9].

Das Prinzip der hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSZT) ist die Übertragung pluripotenter hämatopoetischer Vorläuferzellen von einem Spender auf einen Empfänger, mit dem Ziel der Wiederherstellung einer normalen hämato- und lymphopoetischen Funktion nach intensiver Radio- und Chemotherapie im autologen, und zusätzlich der Bekämpfung maligner hämatologischer Erkrankungen im allogenen Setting [10-14]. Erste Experimente mit der Transplantation von Knochenmarkstammzellen fanden in den 1950er Jahren statt. Mäuse konnten eine tödliche Dosis einer Ganzkörperbestrahlung überleben, wenn ihre Milz durch ein Bleischild geschützt war. Anfangs war die Ursache unklar: Überlebten die Mäuse, weil es einen besonderen humoralen Faktor gab, der aus der Milz kam und das Knochenmark schützte, oder waren es zelluläre Bestandteile, die die Fähigkeit hatten, aus dem geschützten Gewebe der Milz wieder in das Knochenmark einzuwandern [15]? Lorenz und Kollegen konnten schließlich zeigen, dass es eindeutig intravenös gegebene Zellen waren, die die Mäuse die letale Bestrahlung überleben ließen [16]. 1955 wurde berichtet, dass Hauttransplantate eines Knochenmarkspenders vom Knochenmarkempfänger nicht abgestoßen wurden, was als Hinweis dafür gewertet wurde, dass die Immunzellen des Spenders das Immunsystem des Empfängers aufbauen [17, 18]. Es wurde zudem im Mausmodell beobachtet, dass nach Ganzkörperbestrahlung und Transplantation eine sogenannte „secondary disease“ in Form eines „wasting syndrome“ nach hämatopoetischer Erholung auftrat, bei der immunreaktive Zellen des Spenders gegen den Empfänger arbeiteten. Diese Beobachtung wurde als „Graft versus Host disease/GvHD“ oder Spender-gegen-Wirt Reaktion bezeichnet [19, 20]. Mac Culloch und Till konnten die blutbildende Stammzelle im Knochenmark von Mäusen nachweisen, Goodman und Kollegen entdeckten 1962 die periphere blutbildende Stammzelle in Mäusen [21]. 1969 wurde von Thomas und Storb in Seattle/USA ein Knochenmarktransplantationsprogramm begonnen, bei dem zum ersten Mal von einer klinisch erfolgreichen Knochenmarktransplantation bei Patienten mit aplastischen Anämien und Leukämien berichtet werden konnte. 1973 fand die erste erfolgreiche Knochenmarktransplantation in Deutschland statt. Thomas erhielt zusammen mit Murray 1990 den Nobelpreis für Medizin für die Einführung der Methode der Übertragung von Gewebe und Organen

als klinische Praxis in die Humanmedizin [16, 22-26]. Die stetige Weiterentwicklung auf dem Gebiet der Immunologie – insbesondere das Verständnis der Rolle der HLA-Merkmale – führte zu immer besseren therapeutischen Ergebnissen und zu einer zunehmenden Verbreitung dieser Behandlungsmethode. Heute stellt die HSZT eine etablierte und in vielen Fällen sogar die einzige potentiell kurative Behandlungsmöglichkeit einer Vielzahl von hämatologischen, immunologischen und metabolischen Erkrankungen dar (siehe Tabelle 1) [1].

Prinzipiell wird zwischen einer autologen und einer allogenen Transplantation hämatopoetischer Stammzellen unterschieden. Von einer autologen Transplantation spricht man, wenn Empfänger und Spender identisch sind [27]. Die Stammzellen werden dem Patienten selbst entnommen, zwischenzeitlich kryokonserviert und nach einer intensiven Chemotherapie (und/oder einer Bestrahlung) des Patienten diesem re-infundiert. Somit kann die Intensität einer zytostatischen Therapie bis hin zur irreversiblen Knochenmarksschädigung gesteigert werden. Die anschließend re-infundierten Stammzellen ermöglichen die Wiederherstellung der patienteneigenen lympho- und hämatopoetischen Funktion [28, 29].

Maligne Erkrankungen	Nichtmaligne Erkrankungen
<ul style="list-style-type: none"> - Akute myeloische Leukämie - Akute lymphatische Leukämie - Chronisch myeloische Leukämie - Myelodysplastische Syndrome - Myeloproliferative Neoplasien - Non-Hodgkin Lymphome - Morbus Hodgkin - Chronisch lymphatische Leukämie - Multiples Myelom - Juvenile chronisch myeloische Leukämie 	<ul style="list-style-type: none"> - Aplastische Anämie - Paroxysmale nächtliche Hämoglobinurie - Fanconi-Anämie - Blackfan-Diamond-Anämie - Thalassämia major - Sichelzellanämie - Severe Combined Immunodeficiency (SCID) - Wiskott-Aldrich-Syndrom - Angeborene metabolische Erkrankungen

Tabelle 1: Klinische Indikationen zur allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation. (modifiziert nach Copelan [1])

Bei der allogenen Transplantation unterscheiden sich hingegen Spender und Empfänger. Auch hier führt die blutbildende Stammzelle zu einer Rekonstitution des lympho-hämatopoetischen Systems mit Etablierung von Erythrozyten, Thrombozyten, Leukozyten, sowie dendritischer Zellen und anderer antigenpräsentierender Zellen, ergo zur Etablierung einer Spenderhämatopoese. Transplantationsvoraussetzung ist eine „ausreichende Gewebeverträglichkeit“ bzw. HLA-Kompatibilität, wie bereits 1968 von Epstein und Kollegen im Hundemodell gezeigt [30-32]. Hinsichtlich der Gewebeverträglichkeit können dabei vollständig- („matched“), oder nicht vollständig HLA-identische („mismatched“) Spender-Empfänger-Verhältnisse unterschieden werden. Letztere können sich wiederum im Ausmaß ihres Spender-Empfänger Verhältnisses von einem nur in einem Allel differenten bis hin zu einem nur halbidentischen („haploidischen“) HLA-Muster (siehe Kapitel 1.2) unterscheiden [33]. Das allogene Transplantat enthält immunkompetente Zellen, die in der Lage sein können, maligne Zellen des Empfängers anzugreifen und möglicherweise auszulöschen, wodurch die maligne Grunderkrankung bekämpft und das Auftreten von Rezidiven potentiell reduziert werden kann („Graft-versus-Leukämie-Effekt“ (siehe oben) oder „Graft-versus-Tumor-Effekt“) [34-36] Quellen hämatopoetischer Stammzellen sind Knochenmark und Nabelschnurblut, in denen sie enthalten sind; alternativ können sie mit Hilfe von Granulozyten-Kolonie stimulierendem Faktor (G-CSF) im Knochenmark vermehrt und ins periphere Blut mobilisiert werden, um dort mittels einer Blutstammzellapherese gesammelt zu werden.

1.2 HLA-System und Spenderauswahl

1.2.1 HLA-System

Die Auswahl eines geeigneten Blutstammzellspenders hat einen wesentlichen Einfluss auf den Erfolg einer allogenen Transplantation. Entscheidend ist dabei eine möglichst gute Übereinstimmung der HLA-Merkmale bzw. der „Histokompatibilitätsantigene“ zwischen Spender und Empfänger [37-39].

Die HLA-Merkmale werden von einer Gruppe von Genen des Major Histocompatibility Complex (MHC) kodiert, einer Region auf dem kurzen Arm von Chromosom 6 [40]. Sie kodieren für Proteine, deren Hauptfunktion darin liegt, Fremdantigene und -Peptide

an den Zelloberflächen zu präsentieren. Sie zeigen entsprechend dieser Funktion einen äußerst vielfältig ausgeprägten Polymorphismus [14]. Anhand von Funktion und Verteilung im Major Histocompatibility-Komplex unterscheidet man drei Klassen von HLA-Genen [41].

HLA I-Gene kodieren für Oberflächenmoleküle, die auf praktisch allen kernhaltigen Zellen des Körpers vorkommen und die Fremdantigene für CD8+ zytotoxischen T-Zellen präsentieren. Sie umfassen u.a. die für die Stammzelltransplantation relevanten Antigene HLA-A, HLA-B und HLA-C [42].

HLA II-Proteine hingegen kommen hauptsächlich auf spezialisierten Immunzellen vor und präsentieren Antigene mittels CD4+ T-Helferzellen. Beispiele für relevante HLA II Allele sind HLA DRB1, HLA-DP, HLA-DQ und HLA-DR[42].

HLA Gene der Klasse III kodieren u.a. für diverse Komplementfaktoren und Zytokine, die an der unspezifischen Abwehr beteiligt sind [42]

Die Bedeutung einer möglichst guten Übereinstimmung der HLA-Merkmale liegt darin, dass mit einer steigenden Disparität der HLA-Merkmale zwischen Spender und Empfänger das Risiko für schwerwiegende immunologische Komplikationen wie Transplantatabstoßungen oder Graft-versus-Host Erkrankungen (GvHD) steigt; dies ist mit einer schlechteren Gesamtprognose verbunden [43, 44].

Zur Typisierung der HLA-Merkmale von Spender und Empfänger kommen inzwischen DNS-basierte Methoden zum Einsatz. Die Bestimmung von HLA-Antigenen mittels serologischer Methoden (komplementvermittelte Zell-Lyse) wird häufig nur noch zur Primärtypisierung der HLA-Antigene der Klasse I im Rahmen einer Familientypisierung verwendet. Die Untersuchung der 5 Loci HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 und HLA-DQB1 gilt inzwischen als Standard für das „Matching“. Im Idealfall stimmen alle Loci (jeweils mit Allelen) überein, sodass man von einem 10/10 Matching spricht [45].

1.2.2 Spendersuche

Die Spendersuche beginnt innerhalb der Kernfamilie des Empfängers mit einer Gewebetypisierung („HLA-Typisierung“) der Merkmale der Klasse I (HLA-A,-B,-C) und der Klasse II (HLA-DR,-DQ) der verfügbaren Familienmitglieder [41]. Die HLA-Merkmale unterliegen dem mendelschen Vererbungsmodus und werden *en bloc* vererbt [46]. Die Kindergeneration erhält jeweils einen halben Chromosomensatz von Vater und Mutter. Eltern sind also HLA-haploidentisch („halbidentisch“) mit ihren Kindern und diese umgekehrt mit ihren Eltern [6]. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Geschwister genotypisch HLA-identisch (Idealfall: „matched sibling donor“) sind, liegt bei 25%. Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Geschwister ein gemeinsames väterliches oder mütterliches Chromosom teilen, also haploidentisch sind, liegt hingegen bei 50%. Bei anderen Verwandten ist die Wahrscheinlichkeit für HLA-Identität im Familienbereich bedeutend geringer („matched related donor“ – MRD)[6]. Dabei trägt eine Typisierung innerhalb der Kernfamilie, die nicht nur Geschwister, sondern auch Eltern mit einschließt, über die Bestimmung der Haplotypenverteilung zur Sicherheit des Typisierungsergebnisses bei [47]. In Europa findet sich statistisch gesehen nur in etwa einem Drittel der Fälle ein vollständig HLA-kompatibler Spender aus dem Familienkreis [3]. Für alle anderen Patienten kommen unverwandte Spender, die sich in europaweiten und/oder weltweiten Spenderdatenbanken mit ihrem HLA-Typ haben registrieren lassen, als potentielle Blutstammzellspender in Frage. Ziel einer Fremdspendersuche ist die Identifizierung eines HLA-kompatiblen unverwandten Spenders („matched unrelated donor“). Aufgrund von seltenen HLA-Merkmalskombinationen führt diese Suche nicht für jeden HLA-Typ zum Erfolg. Entweder sind nur partiell kompatible, also nicht komplett im HLA-Muster übereinstimmende („mismatched unrelated“) Spender verfügbar oder es kann überhaupt kein HLA-kompatibler Spender gefunden werden, da zu viele Mismatches vorliegen. Das Ausmaß des nicht übereinstimmenden HLA-Musters ist unterschiedlich und kann nur ein/mehrere Allele oder auch ein/mehrere Antigene des HLA-Komplexes betreffen. Sollte die Suche nach einem HLA-identischen Familien- oder HLA-kompatiblen Fremdspender nicht mit Erfolg verbunden sein, ist vor dem Hintergrund der Erkrankung und ihrer Dynamik zu entscheiden, ob eine alternative Stammzellquelle wie Nabelschnurblut oder ein alternativer Spender wie ein nicht HLA-

identischer Fremdspender oder ein HLA- haploidentischer Familienspender in Betracht kommt [48-50].

1.3 Stammzellgewinnung

1.3.1 Knochenmark

Knochenmark war seit dem Beginn der hämatopoetischen Stammzelltransplantation in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts die klassische Quelle der Blutstammzellgewinnung [51, 52]. Dem Spender werden in Vollnarkose oder alternativ in Periduralanästhesie durch wiederholte Aspirationen aus dem Beckenkamm adäquate Mengen Knochenmark entnommen (etwa 1-1,5 Liter); die vollständige Prozedur dauert in etwa eine Stunde. Das so gewonnene Knochenmark wird über Filter von groben Partikeln (Gerinnsel, Knochen, Fett) gereinigt und anschließend, je nach Blutgruppenkonstellation von Spender und Empfänger weiterverarbeitet (Plasmaseparation und/oder Erythrozytendepletion). Der Spender wird 1-2 Monate vor der Operation auf Spendefähigkeit untersucht, am Tag vor der Knochenmarkentnahme stationär aufgenommen und am Tag danach entlassen. Das Knochenmark des Spenders regeneriert sich innerhalb weniger Wochen [53].

1.3.2 Periphere Blutstammzellen (PBSC)

Unter physiologischen Bedingungen ist die Anzahl der im peripheren Blut zirkulierenden Blutstammzellen (weniger als 0.001% aller zirkulierenden kernhaltigen Zellen [54]) zu gering für eine erfolgreiche Transplantation. Durch Gabe von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren, die zu einer gesteigerten Produktion und Mobilisation von Vorläuferzellen aus dem Knochenmark führen, kann die Ausbeute jedoch erheblich gesteigert werden (z.B. durch rekombinantes G-CSF und/oder GM-CSF [55]). Für die Stammzellgewinnung wird dem Spender 5 Tage lang zweimal täglich G-CSF subkutan verabreicht, wobei die Dosis an das Köpergewicht des Spenders adaptiert wird. Anschließend werden die aus dem Knochenmark mobilisierten hämatopoetischen Progenitor-Zellen in einer oder zwei Leukapheresen aus dem peripheren Blut gesammelt und angereichert [33, 56]. Dies hat für den Spender den Vorteil, dass die Stammzellen nicht invasiv und im Gegensatz zur

Knochenmarksspende ohne Narkose gewonnen werden können. Für den Empfänger liegt der Vorteil in einer schnelleren Rekonstitution der Hämatopoese [57, 58].

Derzeit werden ca. 60-70% aller Stammzelltransplantationen mittels peripherer Blutstammzellen durchgeführt[59]. Es ist allerdings noch nicht abschließend geklärt, ob beide Stammzellquellen im Transplantationserfolg für den Patienten als absolut gleichwertig zu betrachten sind. Für einzelne Krankheitsentitäten (z.B. schwere aplastische Anämie = SAA und akute lymphatische Leukämie = ALL) und Transplantationsformen (Geschwistertransplantation, möglicherweise auch haploidentische Transplantation) ergeben sich Hinweise dafür, dass Knochenmark als Blutstammzellquelle eventuell zu günstigeren Behandlungsergebnissen führt [60-62].

1.3.3 Nabelschnurblut

Im Nabelschnurblut finden sich regelhaft Blutstammzellen. Um eine „Nabelschnurtransplantation“ durchführen zu können, müssen vorab die Blutstammzellen aus der Nabelschnur Neugeborener unmittelbar nach der Entbindung isoliert und kryokonserviert werden. Die Stammzellen können dabei ohne Gefahr für Mutter und Kind und praktisch nach jeder Geburt gewonnen werden. Da es sich bei dem Verfahren um eine gesetzlich geregelte Arzneimittel-Herstellung handelt, ist diese nur in ausgewiesenen Entbindungsstationen verfügbar [63]. Gegenüber der Knochenmarkstransplantation bestehen relevante Unterschiede betreffend der enthaltenen Zelldosis (u.a. der hämatopoetischen Stammzellen), den Histokompatibilitäts-Anforderungen und der Verfügbarkeit eines Transplantats. Ein wichtiger Vorteil der Transplantation von Nabelschnurblut-Blutstammzellen liegt in der großen Anzahl an potentiell verfügbaren Spendern; auch wird vermutet, dass schwere Abstoßungsreaktionen auf Grund der Unreife der Nabelschnurblut-Leukozyten weniger häufig und weniger schwerwiegend als bei anderen allogenen Transplantationsverfahren verlaufen [2]. Grundsätzlich hat sich gezeigt, dass die im Nabelschnurblut enthaltenen T-Lymphozyten nach allogener Stimulation deutlich weniger proliferieren als T-Lymphozyten aus Knochenmark. Dies erklärt die geringere Ausprägung der Graft-versus-host Reaktion, die eine größere Anzahl an HLA-Inkompatibilitäten (Unterschiede in 2-3 Antigenen) bei der Suche nach einem akzeptablen Nabelschnurblut-Präparat zulässt [64]. Ein Nachteil ist die im Vergleich zur Knochenmarkstransplantation etwa zehnmal geringere Stammzellzahl, die im

Nabelschnurblut vorhanden ist. Die Menge an erforderlichen Zellen im Transplantat ist abhängig vom Körpergewicht des Empfängers. Bei einer zu geringen Anzahl steigt das Risiko für eine akute Abstoßung durch den Empfänger oder für eine beeinträchtigtes und verzögertes Anwachsen (Engraftment), sowie insgesamt für ein primäres oder sekundäres Transplantatversagen [63]. Eine Möglichkeit, diesen Nachteil zu überwinden und die Zelldosis insbesondere bei Erwachsenen zu erhöhen, besteht in der Transplantation von Blutzellstammzellen aus dem Blut zweier verschiedener Nabelschnur-Präparate (im Weiteren als Doublecord-Transplantation bezeichnet), wobei der Empfänger von zwei immunologisch unverwandten Spendern transplantiert wird [65].

Knochenmark

- Gewinnung der Stammzellen unter Narkose (Spender)
- Limitierte Anzahl an hämatopoetischen Stammzellen
- Mediane Anzahl mononukleärer Zellen: $2 \times 10^8/\text{kg}$
- Mediane Anzahl von CD34+-Zellen: $2.8 \times 10^6/\text{kg}$
- Mediane Anzahl von T-Zellen: $2.2 \times 10^7/\text{kg}$

G-CSF mobilisierte PBSC

- Stammzellgewinnung unkompliziert (Spender)
- Keine Notwendigkeit einer Narkose
- Nebenwirkungen von G-CSF
- Hohe Anzahl an hämatopoetischen Stammzellen
- Mediane Anzahl mononukleärer Zellen: $9 \times 10^8/\text{kg}$
- Mediane Anzahl von CD34+-Zellen: $7 \times 10^6/\text{kg}$
- Mediane Anzahl von T-Zellen: $27 \times 10^7/\text{kg}$

Nabelschnurblut

- Stamzellgewinnung unkompliziert und ungefährlich
- Zeitnahe Verfügbarkeit kryokonservierter Einheiten
- Erniedrigtes Risiko für übertragbare Erkrankungen
- Höherer Grad an HLA-Inkompatibilitäten akzeptabel
- Anzahl der Stammzellen limitierender Faktor
- Mediane Anzahl mononukleärer Zellen: $0.3 \times 10^8/\text{kg}$
- Mediane Anzahl von CD34+-Zellen: $0.2 \times 10^6/\text{kg}$
- Mediane Anzahl von T-Zellen: $0.4 \times 10^7/\text{kg}$

Tabelle 2: Vergleich unterschiedlicher Stammzellquellen. (Modifiziert nach: EBMT-Handbook 2008)

1.4 Ablauf der Stammzelltransplantation

1.4.1 Konditionierung

Unter Konditionierung versteht man die Vorbehandlung des Empfängers für die Transplantation des Blutstammzellpräparats. Dies geschieht mittels Chemotherapie und/oder Ganzkörperbestrahlung und biologischen Behandlungsverfahren (z.B. Antikörpern). Sie dient bei der autologen Blutstammzelltransplantation zur möglichst vollständigen Eradikation residualer Tumorzellen. Bei der allogenen Transplantation dient die Konditionierung nicht nur dazu, einen direkten zytotoxischen Effekt auf die zugrunde liegende Erkrankung auszuüben, sondern auch zur Immunsuppression des Patienten und zur Verhinderung einer übermäßigen Immunreaktion von Spender und Empfänger: Im Empfänger verhindert dies die Abstoßung des Transplantat (Host-versus-Graft; HvG Reaktion) und im Transplantat eine zu intensive Reaktion alloreaktiver T-Zellen gegen den Empfänger (Graft-versus-Host = GvH Reaktion) [61, 66, 67].

Es gibt kein einzelnes Standardverfahren zur Konditionierung: je nach Diagnose, Krankheitsstadium, Komorbidität und Zeitpunkt der Transplantation werden verschiedene Kombinationen/Protokolle zytostatischer wirkender Medikamente in unterschiedlicher Intensität, sowie verschiedene Bestrahlungsverfahren und Biologika eingesetzt [6]. Häufig werden Kombinationen hochdosierter Chemotherapeutika und Ganzkörperbestrahlung verwendet. Von einer myeloablativen Konditionierung spricht man, wenn Dosis und Intensität der Konditionierung die Knochenmarks- und Immunfunktion derart unterdrücken, dass die Patienten ohne anschließende Blutstammzelltransplantation nicht überleben würden. Hier kann keine Rekonstitution der patienteneigenen Hämatopoiese, die für ein mittelfristiges Überleben unverzichtbar ist, stattfinden [68]. Da diese Form der Konditionierung auf Grund der hohen Toxizität nicht für alle Patienten (z.B. Ältere oder solche mit schwerwiegenden Komorbiditäten) geeignet ist, wurden dosisreduzierte, nicht myeloablative Konditionierungsverfahren entwickelt. Diese wirken ausreichend immunsuppressiv, um ein Anwachsen des Transplantats zu erlauben, setzen jedoch den Patienten keiner zu hohen Toxizität aus. Die Behandlung der Grunderkrankung erfolgt hierbei in erster Linie über den

immunologischen Effekt der Blutstammzellen (Graft-versus-leukemia Effekt). Dafür muss ein geringerer antineoplastischer Effekt der Konditionierung in Kauf genommen werden [69]. Durch die Konditionierung wird der Patient zunächst panzytopen. Zum Wiederanstieg der neutrophilen Granulozyten im Rahmen des Engraftments kommt es etwa 14-21 Tage nach Transplantation [70]. In dieser Zeit besteht ein hohes Risiko für Infektionen. Die Patienten werden zur Reduktion des exogenen Infektionsrisikos üblicherweise in einem Bereich mit besonderen Isolierungsmaßnahmen („Umkehrisolation“) behandelt. Auch in der Zeit nach dem stationären Aufenthalt besteht durch die allogene Blutstammzelltransplantation und die Fortführung der Immunsuppression eine erhöhte Infekt-Anfälligkeit.

Ein in unserem Zentrum häufig eingesetztes Konditionierungsverfahren ist das sogenannte FLAMSA-RIC-Protokoll. Die Patienten erhalten dabei zur Zytoreduktion eine Kombination aus Fludarabin (30 mg/m^2), hochdosiertem Cytarabin (2g/m^2) und Amsacrin (100mg/m^2) für 4 Tage (an den Tagen -12 bis -9 vor der Transplantation). Dieses Protokoll ist v.a. für Patienten mit AML/MDS geeignet und zielt darauf ab, im Rahmen eines sequentiellen Konzepts durch eine der eigentlichen Konditionierungsbehandlung vorgeschalteten intensiven Chemotherapie die leukämische Last zu verringern, um anschließend mehr Zeit für den potentiellen GvL Effekt erreichen zu können. Es schließt sich eine „*Reduced Intensity Conditioning*“ („RIC“) an: Nach 3 Tagen Pause erhalten die Patienten eine Ganzkörperbestrahlung mit 4 Gy, Cyclophosphamid an den Tagen -4 und -3, sowie Antithymozyten-Globulin (ATG Fresenius) an den Tagen -4 bis -2. Das Verfahren ermöglicht eine verringerte Toxizität und bietet Vorteile bei älteren und/oder komorbidien Patienten [71].

Das in der vorliegenden Dissertation untersuchte Konditionierungsschema bei den haploidentischen Transplantationen, das hochdosiertes Cyclophosphamid nach der Transplantation zur Immunsuppression verwendet („PTCY“-Transplantation) wird in Kapitel 3.2 (Vergleichsgruppen) dargestellt.

1.4.2 Transplantation

Die Transplantation erfolgt durch Verabreichung des Stammzellpräparats über einen zentralen Venenkatheter in die venöse Blutbahn. Die Stammzellen verlassen die Blutbahn und nisten sich in den leeren Knochenmarksnischen sowie in extramedullären Organen wie Milz und Leber ein. Durch den Einfluss der dort herrschenden Mikroumgebung und durch Gewebefaktoren beginnen sie dann üblicherweise im Knochenmark neue Blutbildungsinseln zu bilden [6, 10, 72]

1.4.3 Engraftment und Immunrekonstitution

„Engraftment“ bezeichnet das erfolgreiche Anwachsen des Transplantats in den Knochenmarksräumen und die beginnende Neuproduktion der hämato- und lymphopoetischen Zellen. Dies kann durch ein Wiederansteigen der Leukozyten und Thrombozytenzahlen im peripheren Blut verfolgt werden. Von einem erfolgreichen Engraftment kann dann gesprochen werden, wenn die Neutrophilenzahl innerhalb 3 konsekutiver Tage stabil über 500/ μ l, und die Thrombozytenzahl (ebenfalls innerhalb von 3 konsekutiven Tagen und ohne Verabreichung von Thrombozytenkonzentraten) stabil bei über 20 000/ μ l liegt [73]. Das Engraftment erfolgt abhängig vom Konditionierungsverfahren und der verwendeten Stammzellquelle ca. zwischen 15 und 40 Tagen nach der Transplantation [70].

Nach dem Anwachsen des Transplantats folgt die graduelle Wiederherstellung des Immunsystems durch periphere Expansion der übertragenen Stammzellen und durch Reifung bis dahin unreifer Vorläuferzellen. Obwohl die maßgeblichen zellulären Elemente des Immunsystems und der Hämatopoese (Leukozyten, Thrombozyten, Erythrozyten) normalerweise relativ rasch neugebildet werden, dauert es in der Regel länger als ein Jahr, bis es zur funktionellen Wiederherstellung und Reifung der vielfältigen und komplexen zellulären und nichtzellulären Faktoren und Interaktionen kommt, die dann zur weitgehenden Wiederherstellung der Immunkompetenz des Empfängers beitragen [6]. In dieser Zeit sind die Patienten vermehrt anfällig für infektiöse Komplikationen[74]. Faktoren, die die Immunrekonstitution beeinflussen, sind: Intensität der Konditionierung, Stammzellquelle, Alter des Empfängers und des Spenders, Anzahl der reifen T-Zellen im Transplantat (vgl. Verzögerung durch T-

Zelldepletion!), Vorhandensein oder Nichtvorhandensein einer GvHD, sowie Art und Intensität der Immunsuppression.

1.5.Komplikationen nach allogener Stammzelltransplantation

1.5.1 Rezidive

20-70% der Patienten mit Leukämien erleiden nach einer allogenen Transplantation ein Rezidiv ihrer Grunderkrankung [75]. Damit ist das Auftreten von Rezidiven die häufigste Ursache für ein Therapieversagen nach allogener hämatopoetischer Transplantation [76]. Das Risiko eines Rezidivs hängt wesentlich von der jeweiligen Grunderkrankung und dem Erkrankungsstadium zum Zeitpunkt der Transplantation ab. Die Prognose ist zumeist ungünstig [77, 78]. Die therapeutischen Möglichkeiten im Falle eines Rezidivs nach allogener Blutstammzelltransplantation sind begrenzt: Es können erneut Zytostatika –zumeist in palliativer Intention- verabreicht werden. Die Gabe von Donor-Lymphozyten mit oder ohne vorausgehender Chemotherapie[79], oder eine erneute, zweite Transplantation von allogenem hämatopoetischen Blutstammzellen nach Vorbehandlung, -evtl. auch von einem differenten Stammzellspender- können in Einzelfällen versucht werden [80-82].

1.5.2 Transplantat-Versagen

Wenn es nach erfolgter Transplantation nicht zu einer Wiederherstellung der Knochenmarksfunktion kommt, bzw. diese nach anfänglicher Erholung wieder verloren geht, so spricht man von einem primären oder sekundärem Transplantat-Versagen [10]. Dies geschieht z.B. wenn immunkompetente Zellen des Wirtsorganismus (T-Zellen, NK-Zellen) oder aber auch Antikörper das Transplantat angreifen und zerstören (meistens innerhalb der ersten 60 Tage nach Transplantation) · [10]. Das Transplantat-Versagen ist eine schwerwiegende Komplikation, die nach myeloablativer Konditionierung häufig tödlich endet [83]. Faktoren, die das Auftreten eines Transplantatversagen begünstigen, sind die Verwendung nicht HLA-identischer

Transplantate, die Infusion einer zu geringen Zelldosis, T-Zelldepletion und nicht-myeloablativen Konditionierungsverfahren [84].

1.5.3 Graft-versus-Host Erkrankung

Die Graft-versus-Host Erkrankung (*Graft-versus-Host-Disease*, GvHD) gehört zu den Hauptkomplikationen nach allogener Blutstammzelltransplantationen [72]. Sie ist eine in erster Linie von Spender (Donor) T-Lymphozyten vermittelte Immunreaktion, die sich gegen Oberflächenantigene im Organismus des Empfängers richtet und einen erheblichen Teil der transplantsassoziierten Mortalität ausmacht. Diese ist einerseits durch das Auftreten einer GvHD per se erhöht, zum anderen bedingt die intensive immunsuppressive Therapie, die zur Behandlung der GvHD erforderlich ist, eine erhöhte Mortalität durch Infektionen [6, 72].

Die herkömmliche pathophysiologische Vorstellung der GvHD entspricht einem Drei-Phasen Modell (vgl. Abbildung 1) [85] : Die *erste Phase* wird noch vor der eigentlichen Stammzelltransplantation durch die konditionierungsbedingte Gewebeschädigung eingeleitet. Diese verursacht eine generalisierte Immunreaktion mit unter Umständen massiver Ausschüttung von Zytokinen. Die Konditionierung kann auch direkt zu einer Beschädigung der endothelialen Barriere des Gastrointestinaltrakts und damit zur Translokation mikrobieller Bestandteile wie Lipopolysacharid (LPS), einem potenzen Stimulator der inflammatorischen Zytokinproduktion, ins Blut führen [27]. In einer *zweiten Phase* - nach erfolgter Transplantation - werden T-Zellen des Spenders aktiviert und zur klonalen Expansion angeregt. Diese Aktivierung führt erneut zur Expression proinflammatorischer Zytokine und deren Rezeptoren, die den „Zytokininsturm“ der Phase 1 weiter verstärken und schließlich zur Anlockung der Effektor T-Zellen an die Oberflächenantigene der Zielorgane wie Haut, Leber, Darm (*Phase 3*) führen [86].

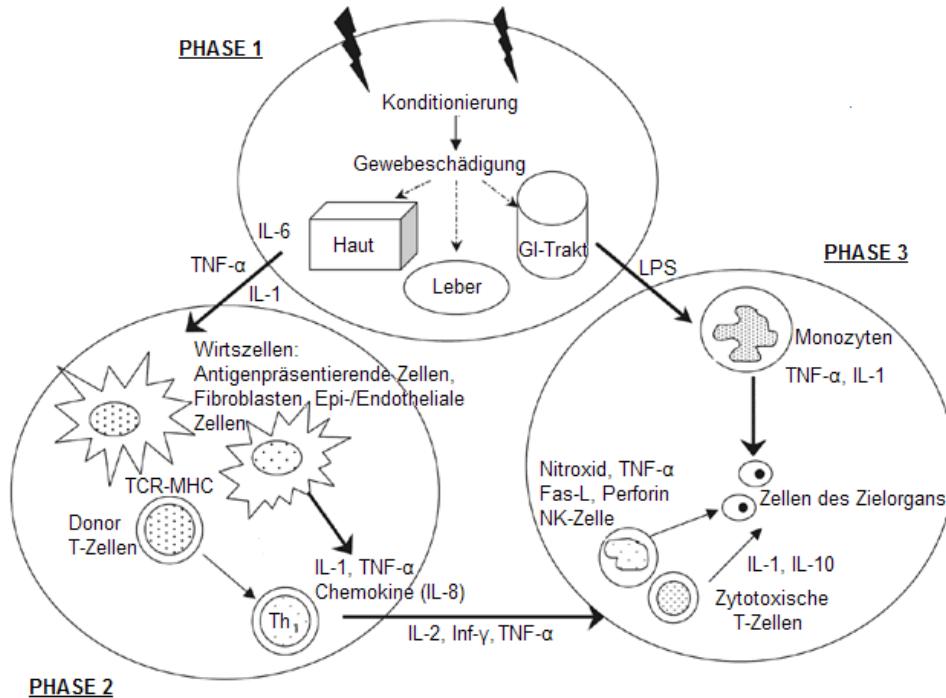


Abbildung 1: Pathophysiologie der GvHD nach Hill/Ferrara [87] modifiziert aus [88]

Die akute (aGvHD) Form der GvHD tritt in den ersten Wochen und Monaten (nach früherer Definition bis Tag +100) nach Transplantation auf und ist vor allem durch epitheliale Nekrosen von Haut, Leber und Gastrointestinal (GI)-Trakt charakterisiert [88]. In schweren Fällen können diese zum Tod führen. Hauterscheinungen können vom diskreten makulopapulösen Exanthem und Erythem bis hin zum Ganzkörperexanthem mit Desquamation und Blasenbildung, ähnlich dem Stevens-Johnson-Syndrom, sowie einer Erythrodermie reichen. Leberschäden können sich in einem Anstieg des Gesamtbilirubins, der Cholestaseparameter, sowie auch der Transaminasen bis hin zum kompletten Ausfall der hepatischen Syntheseleistung manifestieren. Auch im GI-Trakt können die Symptome von Übelkeit, Innapetenz und leichten Diarrhoen bis hin zu massiven Diarrhoen mit proteinverlierender Enteropathie, Blutungen und Ileus reichen [6]. Die (modifizierten) Glucksberg Kriterien definieren je nach Organbeteiligung und Schweregrad ein System zum Staging und Grading der akuten GvHD (siehe Tabellen 3 und 4) [89-91].

Bei der chronischen cGvHD (klassischerweise nach Tag +100) treten seltener akute Nekrosen auf, dafür aber im zeitlichen Verlauf Atrophien und Fibrosen der befallenen Organe, die bei schwerer Ausprägung mittel- bis langfristig ebenfalls zum Tod durch

Organversagen führen können [88]. Das klinische Bild der chronischen GvHD umfasst typischerweise sklerodermiforme Haut, Schleimhaut- und Weichteilveränderungen, entzündlich-desquamative und fibrosierende Läsionen im GI-Trakt, Sicca-Symptome, cholestatiche Leberveränderungen und eine Lungenbeteiligung in Form der Bronchiolitis obliterans [33]. Es können praktisch alle Organe durch eine chronische GvHD betroffen sein. Begleitend ist häufig die Immunrekonstitution gestört, sowohl durch die cGvHD selbst, als auch durch die benötigte immunsuppressive Behandlung [92]. Es kann zur Ausbildung einer Neutropenie und eines Antikörpermangelsyndroms kommen, was darüber hinaus zu einer vermehrten Infekt-Anfälligkeit beitragen kann [93]. Es kann eine funktionelle Asplenie auftreten, die die Patienten in erster Linie gegenüber bekapselten Erregern (z.B. Pneumokokken) anfällig macht [94]. Regelmäßige interdisziplinäre Nachsorgestrategien sowie Impfungen mit Totimpfstoffen (z.B. Pneumokokken, Influenza) sind notwendig [95]. Obwohl Übergänge von der akuten zur chronischen Form der GvHD häufig fließend sind, spricht man im Rahmen von Studien häufig dann von einer akuten GvHD, wenn diese innerhalb der ersten 100 Tage nach Transplantation auftritt - danach von einer chronischen GvHD. In den meisten Transplantationszentren in Europa und in den Vereinigten Staaten wird die chronische GvHD jedoch nach den Kriterien des National Institutes of Health Consensus Development Projekts klassifiziert, welche im Jahre 2005 publiziert wurden und die vielfältigen Erscheinungsformen der cGvHD unabhängig vom Zeitpunkt des Auftretens - aber besser an die diversen Organmanifestationen adaptiert erfassen und so eine bessere prognostische Einordnung ermöglichen soll [96-98].

Im Hinblick auf die besondere Rolle der T-Zellen bei der Entstehung der GvHD haben sich zu deren Prävention zwei Vorgehensweisen herausgebildet: Zum Einen die kombinierte Anwendung von Immunsuppressiva vor und nach Transplantation, die eine Aktivierung und Proliferation alloreaktiver T-Zellen verhindern soll (z.B durch Metothrexat, Cyclosporin A, FK506, Cyclophosphamid, Mycophenolat Mofetil, etc.) und zum Anderen die direkte Manipulation der Transplantate, mit dem Ziel, alloreaktive T-Zellen bereits vorab aus dem Transplantat zu entfernen. Hier kommen Verfahren zur T-Zelldepletion mittels monoklonaler Antikörper, T-Zell-spezifischer Immunotoxine oder auch Immunabsorption zum Einsatz [84, 99].

Bei der Primärbehandlung der aGvHD werden in erster Linie Glukokortikoide verwendet – initial in hohen Dosierungen. Bei fehlendem oder unzureichendem Ansprechen existiert bisher keine standardisierte Vorgehensweise. Die o.g. Immunsuppressiva können in Kombination mit Glukokortikoiden eingesetzt werden, darüber hinaus werden u.a. ATG (Antithymozyten-Globulin) [100], T-Zellspezifische Antikörper oder die extrakorporale Photopherese (s.u.) eingesetzt [101]. Diese Therapien sind zum Teil mit erheblichen Nebenwirkungen behaftet und führen typischerweise zu einer erhöhten Infekt-Anfälligkeit der Patienten, insbesondere durch opportunistische Erreger. Einige Patienten sterben trotz intensiver Behandlung an den Folgen der GvHD oder der damit verbundenen Infektionen wie der CMV-induzierten interstitiellen Pneumonie, invasiven Pilzerkrankungen (z.B. invasive pulmonale Aspergillose) oder bakteriellen Septitiden [84]. Bei der Behandlung der manifesten cGvHD steht in erster Linie ebenfalls zunächst die Verabreichung von Glukokortikoiden im Vordergrund, gegebenenfalls auch in Kombination mit Cyclosporin A [102]. Bei nicht ausreichendem Ansprechen kann die Therapie mit zusätzlichen Immunsuppressiva wie Azathioprin, MMF, Tacrolimus und Sirolimus eskaliert werden [103]; einen neuen Ansatz bei muskuloskeletalen und kutanen Manifestationen bietet die Anwendung des chimären, monoklonalen Anti-B-Zellantikörpers Rituximab – dieser richtet sich gegen Antikörper-vermittelte Komponenten der cGvHD [104].

Bei der extrakorporalen Photochemotherapie (ECP) werden periphere Blutlymphozyten extrakorporal gesammelt und mit 8-Methoxypsoralen – einem „Photosensitizer“- behandelt. Eine anschließende Bestrahlung mit UV-Licht bewirkt danach die Quervernetzung von Pyrimidinbasen innerhalb der DNS der so behandelten Zellen und führt zu deren Apoptose. Nach der Reinfusion erfolgen intrakorporal eine Reihe immunmodulatorischer Effekte, darunter eine verstärkte Produktion antiinflammatorischer- bei gleichzeitig geringerer Produktion proinflammatorischer Zytokine, sowie eine geringere Stimulation von Effektor-T-Zellen [103, 105].

	Stadium 0	Stadium 1	Stadium 2	Stadium 3	Stadium 4
Haut	Kein Exanthem	Exanthem <25% KOF	25-50% KOF	>50% bzw. generalisierte Erythrodermie	+Bullae und Desquamation
oberer GI-Trakt	-	schwere Übelkeit/ Erbrechen	-	-	-
unterer GI-Trakt	Durchfall <500 ml/d	500-1000 ml/d	1001-1500 ml/d	>1500 ml/d	Schwere Schmerzen abdомinale +/- Flankenschmerzen Ileus, oder Meläna
Leber	Bilirubin ≤ 2mg/dl	2,1-3 mg/dl	3,1-6 mg/dl	6,1-15 mg/dl	>15 mg/dl

Tabelle 3: Staging der akuten GvHD nach den modifizierten Glucksberg Kriterien [89]

Grad	Haut	Leber	GI-Trakt
I	1-2	0	0
II	3	1	1
III	-	2-3	2-4
IV	4	4	-

Tabelle 4: Grading der akuten GvHD [89, 91]

Limited Disease	Lokalisierte Hautbeteiligung und/oder Nachweis einer hepatischen Dysfunktion
Extensive Disease	<ol style="list-style-type: none"> 1. Generalisierte Hautbeteiligung 2. Limited Disease mit zusätzlich mindestens einem der Nachfolgenden: <ul style="list-style-type: none"> - Leberhistologie mit Nachweis einer chronisch progressiven Hepatitis, Brückennekrosen, oder einer Zirrhose - Augenbeteiligung (pathologischer Schirmer-Test) - Beteiligung der Speicheldrüsen oder enoralen Mukosa (bioptisch) - Beteiligung eines beliebigen anderen Zielorgans

Tabelle 5: Historische Gradingeinteilung der chronischen GvHD nach [106]

1.5.4 Transplantationsassoziierte Infektionen

Transplantationsassoziierte Infektionen tragen zu einem großen Teil der Morbidität und Mortalität nach HSZT bei [107]. Die Patienten sind zu verschiedenen Phasen vor und nach der Transplantation anfällig für Infektionen bakterieller, viraler und fungaler Genese: In der Anfangsphase vor dem Anwachsen des Transplantats ist das Immunsystem der Patienten noch stark durch die schädigende Wirkung der Konditionierungsbehandlung beeinträchtigt (Panzytopenie und Mukositis). Zudem bieten die zentralen Venenkatheter der Patienten oder andere Fremdmaterialien eine Eintrittspforte für pathogene Keime. Die Dauer dieser Phase ist variabel, liegt aber in der Regel bei ca. einem Monat [108]. Selbst nach dem Engraftment bis ca. 60-100 Tage danach ist sowohl die zellvermittelte als auch die humorale Immunantwort der Patienten geschwächt [72]. Neben akuten bakteriellen Infektionen bis hin zur Sepsis (meist endogener Ursache durch Keime der Schleimhäute und des GI-Trakts) kommt es vor allem zu viralen Infektionen/Reaktivierung wie von CMV und anderen Viren der Herpes-Gruppe; auch opportunistische Infektionen mit Pneumocystis carinii (PcP), Toxoplamodia gondii und Hefe- und Schimmelpilzen (Candida species, Aspergillus species und andere seltene Erreger, z.B. Mucor) sind ein Risiko [108]. Das Auftreten einer GvHD kann je nach Schweregrad und Therapie zu einer Risikoerhöhung für z.B. CMV, EBV, Adenoviren und invasiven Pilzinfektionen führen [109]. Aufgrund der ausgeprägten T-Zell Immundefizienz kann es EBV-assoziiert zum Auftreten eines Posttransplantations-Lymphoms kommen (s.u.) [110]. Beim regulären Verlauf nach Transplantation kommt es erst nach einiger Zeit zur graduellen Wiederherstellung der Immunfunktion. Die Dauer hierfür variiert individuell erheblich und ist von verschiedenen Faktoren (s.u.) abhängig [72]. Das Auftreten einer chronischen GvHD kann mit einer defizitären Wiederherstellung der zellvermittelten und humoralen Immunität und einer mangelhaften Funktion des retikuloendothelialen Systems einhergehen[92]. CMV, VZV, Haemophilus influenzae und Streptococcus pneumoniae sind die wichtigsten Pathogene in dieser Phase [108]. Im Allgemeinen hängt das Risiko für das Auftreten von Infektionen mit einer Vielzahl von Faktoren zusammen, wie der Grunderkrankung, dem verwendeten Konditionierungsprotokoll, der Stammzellquelle (z.B. Nabelschnurpräparate assoziiert mit häufigen viralen Infekten), der Histokompatibilität zwischen Spender und Empfänger (Matching), der Art der verwendeten immunsuppressiven Therapie (z.B. Risikoerhöhung durch T-

Zellantikörper), dem Auftreten einer GvHD (abhängig vom Schweregrad), sowie bereits vorhandenen latenten Infektionen [6, 111].

1.5.5 EBV-assoziierte Lymphoproliferative Erkrankung (PTLD)

Die EBV-assoziierte lymphoproliferative Erkrankung (englisch *EBV positive Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder*) ist eine weitere, potentiell lebensbedrohliche, wenn auch seltene Komplikation nach HSZT [110]. Der Begriff umfasst eine heterogene Gruppe von EBV-Virus-assoziierten, hyperproliferativen B- (oder sehr selten auch T-) Zellerkrankungen, die von einem benignen, mononukleose-ähnlichen Krankheitsbild bis hin zur fulminant verlaufenden Form eines hochmalignen Non-Hodgkin-Lymphoms reichen können [112]. Die Ursache ist eine quantitative und qualitative Störung EBV-spezifischer Abwehrzellen im Rahmen der gestörten Immunfunktion des Empfängers. Es kommt infolge dessen zu einer vermehrten B-Zellproliferation, erst polymorph, polyklonal, dann im weiteren Verlauf monomorph, monoklonal, bis schließlich zum Vollbild einer hochmalignen, monoklonalen Lymphomerkrankung [112]. Als Risikofaktoren gelten: HLA-Disparität zwischen Spender und Empfänger, T-Zell-Depletion der Spender-Zellen, nicht-myeloablative Konditionierungsverfahren, intensive Immunsuppression mit T-Zell-Antikörpern zur Prophylaxe/Therapie einer GvHD und eine zugrunde liegende primäre Immundefizienz[113]. Therapeutische Optionen umfassen den Einsatz des monoklonalen B-Zell Antikörpers Rituximab, evtl. in Kombination mit einem Virustatikum, bzw. die Durchführung einer adoptiven Immuntherapie mit unspezifischen -oder nach neueren Ansätzen- EBV-spezifischen Zellen [114].

2. Fragestellung und Ziel

Nach dem derzeitigen medizinischen Kenntnisstand wird bei einer allogenen Blutstammzelltransplantation angestrebt, dass Spender und Empfänger HLA-identisch bzw. kompatibel (verwandt oder unverwandt) sind. Dies verspricht den höchsten Therapieerfolg und geringere Komplikationsraten. Die Suche nach diesem Idealspender beginnt innerhalb der Kernfamilie des Patienten bei den Geschwistern. Aufgrund des Mendel'schen Vererbungsmodus mit einer 25%igen Wahrscheinlichkeit für das Vorhandenseins eines HLA-identischem Geschwister und der zumeist kleinen Familien in Europa, ist diese Suche innerhalb der Kernfamilie nur in etwa 25-30% der Fälle erfolgreich[3]. Wird kein passender Blutstammzellspender gefunden, erfolgt eine Suche über internationale Datenbanken, in denen freiwillige Spender mit ihren zugehörigen HLA-Merkmalen gelistet sind. Ziel ist es auch hier, einen HLA-kompatiblen Spender zu finden. Ist kein HLA-kompatibler Spender zu identifizieren, stellt sich die Frage nach einer geeigneten alternativen Stammzellquelle bzw. nach einem geeigneten alternativen, wenn auch HLA-differenten Stammzellspender. Prinzipiell bestehen in dieser Situation drei Möglichkeiten, das potentiell kurative Verfahren einer allogenen hämatopoetischen Stammzelltransplantation zu realisieren: Mit einem HLA-kompatiblen Mismatch-Fremdspender (Mismatched-unrelated-donor = „MMURD“), wobei je nach HLA-Lokus mehr als ein Antigen Mismatch als zu risikobehaftet insbesondere bezüglich der Entwicklung einer GvHD gilt. Mit Blutstammzellen aus einem bzw. zwei bereits kryokonservierten Nabelschnurblut-Präparaten, bei denen mehrere HLA-Mismatches akzeptabel sein können (siehe oben); oder die Transplantation erfolgt von einem HLA-haploididentischen Familienspender, der in mehr als einem Antigen im Haplotyp differiert.

Bisher gibt es keine klare Empfehlung zur eindeutigen Verwendung eines der genannten Verfahren. Aufgrund der Heterogenität der Grunderkrankungen und Erkrankungsstadien, der unterschiedlichen Verfügbarkeit der Stammzellquellen, der Erfahrungen verschiedener Zentren in verschiedenen Ländern gibt es keine klare Evidenz, ob ein Verfahren dem anderen über- oder unterlegen ist. Ergebnisse prospektiv randomisierter Studien zu dieser Fragestellung liegen bisher noch nicht vor. Hinzu kommt, dass im Gegensatz zu MMURD-Transplantationen, haploididentische Verfahren insbesondere mit Einsatz von hochdosiertem-Cyclophosphamid post

transplantationem („PTCY“), relativ neue Methoden mit kleineren Fallzahlen und kurzem Beobachtungszeitraum darstellen. In der Medizinischen Klinik III am Klinikum Großhadern in München ist im letzten Jahrzehnt eine große Anzahl an alternativen, nicht HLA-identischen, insbesondere auch an haploidentischen Blutstammzell-Transplantationen, durchgeführt worden. Ziel der vorliegenden Dissertation ist es, die Therapieergebnisse der vier verschiedenen an diesem Zentrum verwendeten alternativen, HLA-differenten Transplantationsverfahren: 1) Mismatch-Fremdspendertransplantation („MMURD-Transplantationen“) 2) Blutstammzelltransplantation aus Nabelschnurblut bzw. Doublecord-Transplantation („(D-)CB-Transplantationen“) 3) HLA-haploidentische-Transplantation mit hochdosierter Cyclophosphamidgabe *post transplantationem* („PTCY-Haplotransplantationen“) sowie 4) HLA-haploidentische Transplantation unter Verwendung einer CD6+ T-Zelldepletion („CD6-Haplotransplantationen“) zu analysieren und miteinander zu vergleichen.

Durch die Identifizierung relevanter Unterschiede im Gesamtüberleben, bei Rezidivraten, Therapieassozierter Mortalität und GvHD soll dazu beigetragen werden, dass für Patienten ohne HLA-identischen bzw. -kompatiblen Stammzellspender bei der Auswahl einer alternativen Stammzellquelle eine Entscheidungshilfe zur Verfügung gestellt werden kann.

3. Patienten und Methoden

Die Analysen umfassten die Daten von 248 HLA-Mismatch Transplantationen, die im Zeitraum von September 2000 bis Januar 2014 in der Abteilung für Hämatopoetische Stammzelltransplantationen der Medizinischen Klinik III am Klinikum der Universität München-Campus Großhadern durchgeführt wurden. Patienten, die bereits vormals eine allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation erhalten hatten, wurden nicht eingeschlossen. Als Stichtag für die Datenerhebung wurde der 17.06.2015 festgelegt.

Primärer Endpunkt war das Gesamtüberleben (*overall-survival*, in Folge: OS); sekundäre Endpunkte waren: Erkrankungsfreies Überleben (*disease-free-survival*, in Folge: DFS), Therapieassoziierte Mortalität (*non-relapse-mortality*, in Folge: NRM), Rezidivinzidenz (in Folge: RI) sowie Auftreten und Schweregrad von akuten und chronischen Graft-versus-Host-Erkrankungen (in Folge: aGvHD und cGvHD).

3.1 Methoden

Zur Beschreibung der Daten wurden adäquate Lokalisations- und Streuungsmaße (Median, Spanne) berechnet. Für Unterschiede zwischen den vier Gruppen wurden adäquate statistische Tests (χ^2 , Kruskal-Wallis-Test) durchgeführt.

OS wurde als Überleben ab dem Transplantationsdatum definiert. DFS wurde als rezidivfreies Überleben ausgehend vom Transplantationsdatum bis zum Nachweis eines Rezidivs der Grunderkrankung bzw. Tod berechnet. Die Wahrscheinlichkeiten für OS und DFS wurden mit der Kaplan-Meier-Methode berechnet und mittels Log-Rank-Test miteinander verglichen. Zudem wurde jeweils das Cox-Regressionsmodell zur Modellierung des jeweilig untersuchten Endpunktes verwendet.

Die Schweregrade der akuten GvHD wurden nach den modifizierten Glucksberg-Kriterien [89] in Grad I-IV, und die der chronischen GvHD nach der Seattle-Klassifikation „limited“ und „extensive“ erfasst [106]. Beginn und maximaler Schweregrad der GvHD wurden dokumentiert. Bei der Berechnung von kumulativen

Inzidenzen wurden Rezidive und Todesfälle ohne GvHD als konkurrierende Ereignisse betrachtet. Die kumulativen Inzidenzen wurden nach der Methode von Fine und Gray berechnet [115].

Für NRM und RI wurde Tod ohne Nachweis von Rezidiv als konkurrierendes Ereignis betrachtet. Hierfür wurden ebenfalls kumulative Inzidenzen nach der Methode von Fine und Gray berechnet.

Als potentielle Einflussfaktoren auf die interessierenden Endpunkte und konkurrierenden Ereignisse wurden die Variablen Therapie, Alter, Geschlecht, Diagnose, Zytogenetik, Erkrankungsstadium und Dauer zwischen Erstdiagnose und Transplantation herangezogen. Die Variablenelektion in multiplen Regressionsmodellen wurde anhand einer Rückwärtselimination durchgeführt. Hierbei wurden sowohl uni- als auch multivariate Analysen für die Modellierung durchgeführt.

Ein p-Wert von kleiner 0,05 wurde als statistisch signifikant betrachtet. Alle statistischen Analysen wurden mit Hilfe der Software-Programme SPSS Statistics Version 17.0.0 (23.08.08), Microsoft Office Excel 2003 und R (Version 2.12.0) durchgeführt.

3.2 Vergleichsgruppen

Das Patientenkollektiv, bestehend aus 248 Patienten, die eine HLA-mismatch bzw. alternative Spendertransplantation erhalten hatten, wurde in 4 Vergleichsgruppen eingeteilt:

- 1) Mismatch-Fremdspendertransplantationen („MMURD“, n=94)
- 2) (Doppel-)Nabelschnurbluttransplantationen („(D-)CB-Transplantationen“, n=26)
- 3) HLA-haploidentische Transplantationen mit hochdosiertem Cyclophosphamid *post transplantationem* („PTCY-Haplotransplantationen“, n= 66)
- 4) HLA-haploidentische Transplantationen mit CD6+ T-Zelldepletion („CD6-Haplotransplantationen“, n= 62)

1) Mismatch-Fremdspendertransplantationen („MMURD“)

Die 94 Patienten in dieser Gruppe erhielten partiell HLA-gematchte Fremdspendertransplantate, die sich in einem HLA-Allel- oder Antigen von denjenigen des Empfängers unterschieden. Die eingesetzten Konditionierungsverfahren sind aus Tabelle 6 ersichtlich. Patienten mit akuten myeloischen Leukämien (AML) und myelodysplastischen Syndromen (MDS) wurden in der Regel nach dem FLAMSA-RIC Protokoll (n=42) [71] oder nach dem FBM-Protokoll [116] (Fludarabin, BCNU, Melphalan) (n=9) behandelt. Patienten mit akuten lymphatischen Leukämien (ALL) erhielten zumeist eine myeloablativen Ganzkörperbestrahlung (TBI) mit 12 Gray sowie Antithymozyten-Antigen (=ATG) und Cyclophosphamid (n=12) oder Fludarabin (n=1); 3 ALL Patienten wurden entsprechend dem FLAMSA-RIC-Protokoll behandelt. Von 5 Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie (CML), die im Stadium der Akzeleration oder Blastenkrise diagnostiziert wurden, erhielten 3 Patienten eine Behandlung nach dem FLAMSA-RIC Protokoll und zwei Patienten eine myeloablativen Ganzkörperbestrahlung. Von 9 Patienten mit Multiplem Myelom (MMY) wurden 6 myeloablativ mit Fludarabin/Melphalan behandelt, ein Patient mit Rituximab/Melphalan und ein Patient mit Fludarabin in Kombination mit 4 Gy Ganzkörperbestrahlung. Patienten mit Osteomyelofibrose wurden dosisreduziert mit Fludarabin und Busulfan (n=4) oder Fludarabin/TBI (8Gy) (n=1) konditioniert. Die restlichen angewandten Konditionierungsverfahren sind in Tabelle 6 ersichtlich.

Diagnose	Konditionierung
AML/MDS (n=51)	FLAMSA-RIC (n=42) FBM (n=9)
ALL (n=16)	FLAMSA-RIC (n=3) myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY (n=12) + ATG/FLU (n=1)
CML (n=5)	FLAMSA-RIC (n=3) myeloablativ Ganzkörperbestrahlung (n=2)
MMY (n=9)	Fludarabin/Melphalan (n=6) Rituximab/Melphalan (n=1) Fludarabin/Treosulfan (n=1) myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + Fludarabin (n=1)
OMF (n=5)	Fludarabin/Busulfan (n=4) myeloablativ Ganzkörperbestrahlung mit Fludarabin (n=1)
SAA (n=1)	totale nodale Bestrahlung mit 8 Gy (n=1)
CLL (n=3)	myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY (n=1) + Fludarabin/CY (n=1) Fludarabin/ATG/CY (n=1)
MPS (n=3)	FLAMSA RIC (n=1) FBM (n=1) Fludarabin/Busulfan (n=1)
NHL (n=1)	myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY (n=1)

Tabelle 6: Konditionierungsschemata innerhalb der MMURD-Gruppe. AML/MDS = Akute myeloische Leukämie/ Myelodysplastisches Syndrom, ALL = Akute lymphatische Leukämie, ATG = Antithymozytenglobulin, CML = Chronische myeloische Leukämie, CLL= Chronisch lymphatische Leukämie, CY= Cyclophosphamid, FLU = Fludarabin MMY = Multiples Myelom, MPS = Myeloproliferative Syndrome, NHL = Non-Hodgkin-Lymphome, OMF = Osteomyelofibrose SAA = schwere aplastische Anämie

Die eingesetzten Immunsuppressiva zur GvHD-Prophylaxe sind in Tabelle 7 aufgelistet. 65 Patienten erhielten Cyclosporin A/Mycophenolat Mofetil (CSA/MMF); 16 Patienten wurde Cyclosporin A/Methotrexat (CSA/MTX) verabreicht. Andere Kombinationen bestanden aus Sirolimus/Mycophenolat Mofetil (SIR/MMF; n=5), Tacrolimus/MMF/SIR (n=1), CSA/SIR (n=1), MMF (n=1) und SIR/Bortezomib (n=1). Bei 4 Patienten konnten Art und Umfang der GvHD-Prophylaxe nicht mehr eruiert werden.

GvHD-Prophylaxe	Anzahl der Patienten
CSA/MMF	n = 65
CSA/MTX	n = 16
SIR/MMF	n = 5
TACR/MMF/SIR	n = 1
CSA/SIR	n = 1
MMF	n = 1
SIR/Bortezomib	n = 1
unbekannt	n = 4
insgesamt	n = 94

Tabelle 7: GvHD-Prophylaxe innerhalb der MMURD-Gruppe. CSA = Cyclosporin A, MMF = Mycophenolat Mofetil, MTX = Methotrexat, SIR= Sirolimus, TACR = Tacrolimus

2) (Doppel-)Nabelschnurbluttransplantationen („(D-)CB-Transplantationen“)

Blutstammzellen aus Nabelschnurpräparaten wurden 26 Patienten verabreicht, wobei 25 dieser Patienten Blutstammzellen aus Doppelnabelschnurpräparaten erhielten. Patienten mit AML/MDS wurden in der Regel nach dem FLAMSA-RIC Protokoll konditioniert (n=12), 6 Patienten nach dem FBM-Protokoll. ALL-Patienten erhielten eine myeloablativen Ganzkörperbestrahlung sowie ATG, CY; ATG, CY und Treosulfan (n=1); ATG, CY und Rituximab (n=1) oder FLAMSA–RIC (n=1). Zwei Patienten mit CML wurden ebenfalls nach dem FLAMSA–RIC-Protokoll konditioniert. Ein Patient mit Mantelzelllymphom (MCL) erhielt Fludarabin, Clofarabin und CY; eine Patientin, ebenfalls mit MCL, erhielt ATG, Fludarabin und CY (vgl. Tabelle 8).

Diagnose	Konditionierung
AML/MDS (n=18)	FLAMSA-RIC (n=12) FBM (n=6)
ALL (n=4)	myeloablative Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY/CSA (n=1) + ATG/CY/Treosulfan (n=1) + ATG/CY/Rituximab (n=1) FLAMSA-RIC (n=1)
CML (n=2)	FLAMSA-RIC (n=2)
NHL (n=2)	ATG/CY/Fludarabin (n=1) Fludarabin/Clofarabin/CY (n=1)

Tabelle 8: Konditionierungsschemata innerhalb der (D-)CB-Gruppe. AML/MDS = Akute myeloische Leukämie/Myelodysplastisches Syndrom, ALL = Akute lymphatische Leukämie, ATG = Antithymozytenglobulin, CML = Chronische myeloische Leukämie, CSA = Cyclosporin A CY = Cyclophosphamid, NHL = Non-Hodgkin-Lymphome

Die GvHD-Prophylaxe bestand bei 15 Patienten aus CSA/MMF und bei 5 Patienten aus Tacrolimus/Sirolimus. Andere Schemata bestanden aus Kombinationen aus MMF/Sirolimus (n=2); MMF/Sirolimus/Tacrolimus (n=2), MMF/Sirolimus/CSA (n=1), oder Tacrolimus/MMF (n=1) (s. Tabelle 9).

GvHD-Prophylaxe	Anzahl der Patienten
CSA/MMF	n = 15
TACR/SIR	n = 5
MMF/SIR	n= 2
MMF/SIR/TACR	n = 2
MMF/SIR/CSA	n = 1
TACR/MMF	n = 1
Insgesamt	n= 26

Tabelle 9: GvHD-Prophylaxe innerhalb (D-)CB-Gruppe. CSA= Cyclosporin A, MMF = Mycophenolat Mofetil, TACR= Tacrolimus, SIR= Sirolimus

3) HLA-haploidentische Transplantationen mit hochdosiertem Cyclophosphamid *post transplantationem* („PTCY-Haplotransplantationen“)

Die 66 Patienten in dieser Gruppe erhielten alle nicht T-Zell depletierte, also nicht manipulierte, haploidentische Transplantate von einem Familienspender mit einem identischen HLA-Haplotypen, wobei sich -wie bei allen Haplotransplantationen in der vorliegenden Arbeit- der zweite Haplotyp in 2 oder mehr HLA-Antigenen unterscheiden konnte (2-5). In gleicher Weise erhielten alle Patienten dieser Gruppe eine einheitliche Immunsuppression nach der Transplantation, analog des Protokolls nach Luznik et. al [117] (vgl. Abbildung 2). Vor der Transplantation erhielten diese Patienten Cyclophosphamid (14,5 mg/kg/Tag) an den Tagen -6 und -5, sowie Fludarabin (30 mg/m²/Tag) an den Tagen -6 bis -2. Am Tag vor der Transplantation wurde entweder eine Ganzkörperbestrahlung durchgeführt (n=31) oder zwei Tage vorher Melphalan (n=35) verabreicht. Nach Transplantation erhielten die Patienten zur Immunsuppression/GvHD-Prophylaxe hochdosiertes Cyclophosphamid (50mg/kg Tag +3 und +4), danach MMF und Tacrolimus (ab Tag +5). Patienten mit refraktären Erkrankungen erhielten eine Zytoreduktionsbehandlung mit Clofarabin (n=19) oder FLAMSA (n=14) im Rahmen eines sequentiellen Konzepts vor der Konditionierung. Tabelle 10 zeigt die eingesetzten Konditionierungsregime. Alle AML/MDS Patienten wurden dosisreduziert konditioniert. Bezuglich der behandelten Grunderkrankungen zeigten sich bei den PTCY-Haplotransplantationen wesentlich mehr Patienten mit B-Zell-Neoplasien als in den anderen Vergleichsgruppen, hingegen aber weniger an AML/MDS erkrankte Patienten.

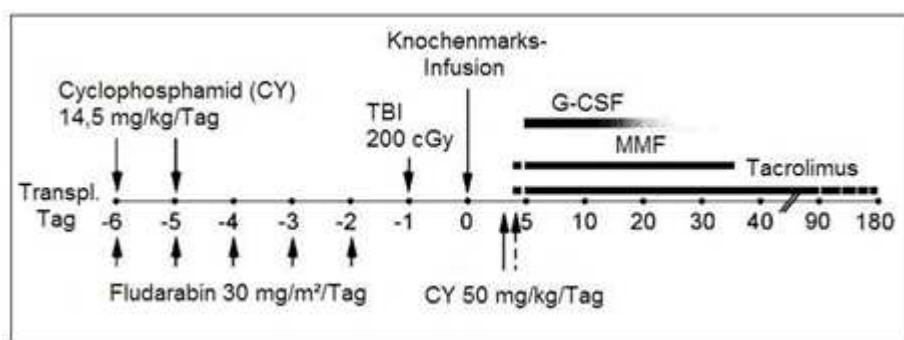


Abbildung 2: Schema der PTCY-Haplotransplantation, modifiziert nach Luznik et. al [117]

Diagnose	Konditionierung
AML/MDS (n=30)	Fludarabin/Melphalan (n=6) FLAMSA-RIC (n=12) Fludarabin/Melphalan + Clofarabin (n=5) Fludarabin + Ganzkörperbestrahlung 4 Gy (n=6) Fludarabin/Clofarabin + Ganzkörperbestrahlung 4 Gy (n=1)
ALL (n=10)	Fludarabin + 8 Gy /12 Gy (n=7) FLAMSA-RIC (n=1) Fludarabin/Melphalan+ Clofarabin (n=1) Fludarabin/Treosulfan/Vepesid (n=1)
NHL,CLL,MZL (n=25)	Fludarabin/Melphalan + Clofarabin (n=11) Fludarabin/Melphalan (n=5) Fludarabin + Ganzkörperbestrahlung 2 Gy (n=7) Fludarabin + Ganzkörperbestrahlung 2 Gy + Clofarabin (n=1) FLAMSA-RIC n(=1)
MMY (n=1)	Fludarabin/Melphalan (n=1)

Tabelle 10: Konditionierungsschemata innerhalb PTCY-Haplo-Gruppe. AML/MDS = Akute myeloische Leukämie/ Myelodysplastisches Syndrom, ALL = Akute lymphatische Leukämie, CLL = Chronisch lymphatische Leukämie, CY = Cyclophosphamid, MMY = Multiples Myelom, MZL = Mantelzellymphome, NHL = Non-Hodgkin-Lymphome

4) HLA-haploidentische Transplantationen mit CD6+ T-Zelldepletion („CD6-Haplotransplantationen“)

Die 62 Patienten dieser Gruppe erhielten zwei Stammzellprodukte von einem Familienspender, der mindestens einen identischen HLA-Haplotyp aufwies: nicht G-CSF stimulierte Blutstammzellen aus Knochenmark sowie in-vitro T-Zell depletierte periphere Blutstammzellen. Zusätzlich erhielten diese Patienten im Rahmen der Konditionierung nach der Ganzkörperbestrahlung und vor der Gabe von ATG und Cyclophosphamid (Tag -6) einen bestrahlten Donor-Buffycoat (Überstand weißer Blutzellen nach Zentrifugation). An Tag 0 wurde nicht manipuliertes Knochenmark transplantiert und an Tag +6 erfolgte die Gabe des G-CSF mobilisierten, sowie CD6+ depletierten peripheren Blutstammzellpräparats. Alle Patienten erhielten ATG zur in-vivo T-Zell Depletion vor Transplantation des Knochenmarks.

Die eingesetzten Konditionierungsverfahren sind aus Tabelle 11 ersichtlich. 35 Patienten mit AML/MDS wurden nach dem FLAMSA-RIC-Schema konditioniert, ein Patient erhielt eine myeloablativen Ganzkörperbestrahlung sowie ATG und CY. Patienten mit ALL erhielten zur Konditionierung eine myeloablativen Ganzkörperbestrahlung sowie ATG und CY (n=10) oder BCNU/Cytarabin (n=1). Von 9 Patienten mit Non-Hogkin-Lymphomen wurden 7 mit FLAMSA-RIC konditioniert und 2 mit myeloablative Ganzkörperbestrahlung in Kombination mit ATG und CY.

2 Patienten mit schwerer aplastischer Anämie erhielten zur Konditionierung eine myeloablativen Ganzkörperbestrahlung und ATG/CY, ebenso ein Patient mit M. Hodgin sowie ein Patient mit einem myeloproliferativen Syndrom. Ein CLL-Patient erhielt eine myeloablativen Ganzkörperbestrahlung und Alemtuzumab/CY. Ein CML-Patient wurde nach dem FLAMSA-RIC Protokoll behandelt.

Diagnose	Konditionierung
AML/MDS (n=36)	FLAMSA-RIC (n=35) myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY (n=1)
ALL (n=11)	myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY (n=10) + BCNU/Cytarabin (n=1)
NHL (n=9)	FLAMSA-RIC (n=7) myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY (n=2)
SAA (n=2)	myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY (n=2)
CLL (n=1)	myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + Alemtuzumab/CY (n=1)
CML (n=1)	FLAMSA RIC (n=1)
M.Hodgkin (n=1)	myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY (n=1)
MPS (n=1)	myeloablativ Ganzkörperbestrahlung + ATG/CY(n=1)

Tabelle 11: Konditionierungsschemata innerhalb CD6-Haplo-Gruppe. AML/MDS = Akute myeloische Leukämie / Myelodysplastisches Syndrom, ALL = Akute lymphatische Leukämie, ATG = Antithymocytenglobulin, BCNU = Bis-Chlorethyl-Nitroso-Urea CML = Chronische myeloische Leukämie, CLL= Chronisch lymphatische Leukämie, CY = Cyclophosphamid, MPS = Myeloproliferative Syndrome, NHL= Non-Hodgkin-Lymphome, SAA = schwere aplastische Anämie

Die GvHD-Prophylaxe war überwiegend einheitlich verwendet worden. So bestand diese bei 49 Patienten aus CSA/MTX und bei 3 Patienten aus CSA/MMF (n=3). Drei Patienten erhielten nur MTX. Andere Schemata bestanden aus MTX/SIR (n=1); bei 6 Patienten war die GvHD-Prophylaxe nicht mehr sicher eruierbar (vgl.Tabelle 12).

GvHD-Prophylaxe	Anzahl der Patienten
CSA/MTX	n = 49
MTX	n = 3
CSA/MMF	n = 3
MTX/SIR	n = 1
Unbekannt	n = 6
Insgesamt	n = 62

Tabelle 12: GvHD-Prophylaxe innerhalb CD6-Haplo-Gruppe. CSA = Cyclosporin A, MTX = Methotrexat, MMF = Mycophenolat Mofetil, SIR = Sirolimus

3.2.1 Patientencharakteristika des Gesamtkollektivs

Ein Überblick über die Patientencharakteristika des Gesamtkollektivs ist in Tabelle 13 gegeben.

Alter in Jahren (Median/Spanne)	47 (18-72)
Geschlecht	
-männlich	146 (59%)
-weiblich	102 (41%)
Grunderkrankung*	
-AML/sAML/MDS	135 (54,4%)
-ALL	41 (16,5%)
-B-Zellerkrankungen	41(16,5 %)
-andere	31 (12,5%)
AML Zytogenetik **	
-favorable	19 (16,2%)
-intermediate I	43 (36,7%)
-intermediate II	13 (11,1%)
-adverse	42 (36 %)
Zeitspanne ED-Tx In Monaten (Median/Spanne)	10 (1-277)
Erkrankungsstadium***	
-früh	38 (15,3%)
-fortgeschritten	210 (84,7%)

Tabelle 13: Patientencharakteristika des Gesamtkollektivs. *Grunderkrankung: AML/sAML/MDS = Akute myeloische Leukämie / sekundäre akute myeloische Leukämie / Myelodysplastisches Syndrom, ALL = Akute lymphatische Leukämie. B-Zellerkrankungen umfassten Non-Hodgkin-Lymphome, Mantelzelllymphome und Chronische lymphatische Leukämien. Andere Diagnosen umfassten: CML = Chronisch myeloische Leukämie, MMY = Multiples Myelom, SCA = Sichelzellanämie, SAA = Schwere Aplastische-Anämie. ** Die Zytogenetik wurde nur bei Patienten mit AML erhoben. Definitionen siehe unten im Text ***Erkrankungsstadium: „früh“ = 1. Remission; „fortgeschritten“ = Rezidiv/refraktäre Erkrankung/ > 1. Remission

Zusätzlich zeigt Tabelle 14 die Zusammensetzung der einzelnen Therapiegruppen im Vergleich.

	MMURD (n=94)	(D-)CB (n=26)	PTCY-Haplo (n=66)	CD6-Haplo (n=62)	p-Wert
Alter in Jahren (Median/Spanne)	48(18-72)	55 (27-71)	53 (23-71)	35,5 (18-62)	<0,001
Geschlecht					0,979
-männlich	59 (62,8%)	14 (53,8%)	35 (53%)	38 (61,3%)	
-weiblich	35 (37,2%)	12(46,2%)	31 (47%)	24 (38,7%)	
Grunderkrankung*					0,045
-AML/sAML/MDS	51 (54,2%)	18 (69,2)	30 (45,4%)	36 (58,1%)	
-ALL	16 (17,0%)	4 (15,4%)	10 (15,2%)	11 (17,7%)	
-B-Zellerkrankungen	4 (4,3%)	2 (7,7%)	25 (37,9%)	10 (16,1%)	
-andere	23 (24,5%)	2 (7,7%)	1 (1,5%)	5 (8,1%)	
Zytogenetik**					0,196
-favorable	6/43 (11,6%)	4/17 (23,5%)	8/29 (27,5%)	5/31(16,1%)	
-intermediate	28/43 (65,1%)	6/17 (35,3%)	11/29 (38)	11/31 (35,5%)	
-adverse	10/43 (23,3%)	7/17 (41,2%)	10/29 (34,5)	15/31 (48,4%)	
Zeitspanne ED-Tx Monate (Median/Spanne)	10,5 (1-244)	14,0 (2-233)	10,5 (1-277)	7 (2-119)	0,007
Erkrankungsstadium***					0,047
-früh	19 (20,2%)	1 (3,8%)	10 (15,2%)	8 (12,9%)	
-fortgeschritten	75 (79,8%)	25 (96,2%)	56 (84,8%)	54(87,1%)	
Medianes Follow-up Monate (Median, Spanne)	54,6	52,7	33,7	83,5	0,497

Tabelle 14: Patientencharakteristika der Vergleichsgruppen. * Grunderkrankung: AML/sAML/MDS = Akute myeloische Leukämie / sekundäre akute myeloische Leukämie / Myelodysplastisches Syndrom ALL = Akute lymphatische Leukämie. B-Zellerkrankungen umfassten Non-Hodgkin-Lymphome, Mantelzelllymphome und Chronische lymphatische Leukämien. Andere Diagnosen: CML = Chronisch-myeloische-Leukämie, MMY = Multiples Myelom, SCA =Sichelzellanämie, SAA = Schwere Aplastische-Anämie. **Die Zytogenetik wurde nur bei Patienten mit AML erhoben. Definitionen unten im Text ***Erkrankungsstadium: „früh“ = 1.Komplettremission; „fortgeschritten“ = Rezidiv/refraktäre Erkrankung/ > 1.Komplettremission

Alter: Das Alter im Gesamtkollektiv lag zum Zeitpunkt der Transplantation im Median bei 47 Jahren, wobei Patienten im Alter von 18 bis 72 Jahren alternativ transplantiert worden waren. Die Patienten der CD6-Haplo-Gruppe waren am jüngsten; das mediane Alter lag bei 36 Jahren. Die Patienten der anderen Gruppen waren im Median merkbar älter (MMURD-Gruppe: 48 Jahre, (D-)CB-

Gruppe: 55 Jahre, PTCY-Haplotransplantationen: 53 Jahre). Insgesamt war die Altersverteilung innerhalb der Gruppen signifikant unterschiedlich ($p < 0,001$)

Geschlecht: Im Gesamtkollektiv waren 59% der Patienten männlich und 41% weiblich. Auch unter den Vergleichsgruppen war dies ähnlich verteilt und nicht signifikant unterschiedlich.

Grunderkrankungen: Die meisten Patienten erhielten eine Transplantation auf Grund einer AML/sAML oder eines MDS (54,4% aller Transplantationen), gefolgt von ALL (16,5%) und in gleicher Weise anderen lymphatischen Erkrankungen (B-Zellerkrankungen). Unter den B-Zellerkrankungen wurden aus methodisch-statistischen Gründen Non-Hodgkin-Lymphome, Mantelzelllymphome und Chronisch Lymphatische Leukämien zusammengefasst. Unter „anderen Diagnosen“ wurden die Chronisch-Myeloischen Leukämien, Multiple Myelome, schwere Aplastische Anämien und die Sichelzellanämie zusammengefasst.

AML/sAML und MDS lagen als Grunderkrankung bei mehr als 50 % der Patienten in der MMURD- (54%), CD6-Haplo- (58%) und insbesondere der (D)-CB Gruppe (69%) vor, während Patienten in der PTCY-Haplo Gruppe häufiger im Vergleich zu den Patienten der drei anderen Gruppen an B-Zellerkrankungen litten. So waren 38 % der Patienten in der PTCY-Haplo gegenüber 16 % in der CD6-Haplo Gruppe an einer B-Zell-Neoplasie erkrankt, während nur 4% in der MMURD und 8% in der (D)CB Gruppe an einer solchen Erkrankung litten. So ergab sich entsprechend eine unterschiedliche Verteilung der Grunderkrankungen innerhalb der Vergleichsgruppen, welche statistisch signifikant war ($p = 0,045$, s. Tabelle 14).

Zytogenetik: Die Zytogenetik wurde für alle AML Patienten gemäß ELN-Klassifikation [118] erhoben und entsprechend in die Risikoklassen „favorable“, „intermediate I“, „intermediate II“ und „adverse“ eingeteilt (s. Tabelle 15).

Risikogruppe	Zytogenetik
favorable	t(8;21)(q22;q22); RUNX1-RUNX1T1 inv(16)(p13.1q22) oder t(16;16(p13.1;q22); CBFB-MYH11 Mutiertes NPM1 ohne FLT3-ITD (normaler Karyotyp) Mutiertes CEBPA (normaler Karyotyp)
intermediate I	Mutiertes NPM1 und FLT3-ITD (normaler Karyotyp) Wildtyp NPM1 und FLT3-ITD (normaler Karyotyp) Wildtyp NPM1 ohne FLT3-ITD (normaler Karyotyp)
intermediate II	t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL Zytogenetik, die nicht als favorable oder adverse einzustufen ist
adverse	Inv (3)(q21q26.2) oder t (3;3)(q21; q26.2); RPN1-EVI1 t (6;9)(p23;q34); DEK-NUP214 t(v;11)(v;q23); MLL rearranged Monosomie 5 oder del(5q); Monosomie 7; abnormales 17p; komplexer Karyotyp (≥ 3 Abnornitäten)

Tabelle 15: ELN-Klassifikation der AML-Zytogenetik [118]

Im Gesamtkollektiv hatten 35,9% der AML-Patienten eine ungünstige Zytogenetik. Am niedrigsten war der Anteil bei den MMURD-Transplantationen mit 23,3%, während der Anteil in der CD6-Gruppe mit 48,4% am höchsten war. In der PTCY-Gruppe lag der Anteil mit 34,5% etwas niedriger als in der (D)-CB-Gruppe mit 41,2%. Die Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen waren nicht signifikant.

Dauer zwischen Erstdiagnose und Transplantation: Im Gesamtkollektiv vergingen zwischen Erstdiagnose und Transplantation im Median 10 Monate, wobei die alternative Transplantation frühestens nach einem Monat und spätestens nach über 4 Jahren durchgeführt worden war. Zwischen den Vergleichsgruppen fanden sich hier signifikante Unterschiede: Die kürzeste Zeitspanne war in der CD6-Haplo Gruppe mit einem Median von 7 Monaten zu beobachten ($p=0,007$), während in der PTCY-Gruppe der Median bei 10,5 Monaten lag. Bei den MMURD-Transplantationen oder bei der (D)-CB-Gruppe verging im Median in gleicher Weise Zeit zur PTCY-Haplotransplantation (10,5 Monate) oder auch, wie bei der (D)-CB-Gruppe bemerkbar mehr (14 Monate) Zeit bis zur Transplantation.

Erkrankungsstadien: Im Gesamtkollektiv wurden nur 15,3% der Transplantationen in einem frühen Erkrankungsstadium (früh = „early“) durchgeführt. Dagegen wurden 84,7% der Transplantationen im Rezidiv, bei refraktärer Erkrankung, oder in >= 2. kompletter Remission durchgeführt (fortgeschritten = „advanced“). Hierbei zeigten sich zwischen den Vergleichsgruppen signifikante Unterschiede ($p=0,047$).

Bei den MMURD-Transplantationen waren 79,8% der Patienten zum Zeitpunkt der Transplantation in einem fortgeschrittenen Stadium, sowie 96,2% aller (D-)CB-Transplantationen. In der PTCY-Gruppe waren 84,8% in fortgeschrittenem Stadium und bei den CD6-Haplotransplantationen 87,1%.

Medianes Follow-up: Das mediane Follow-up lag in der MMURD-Gruppe bei 54,6 Monaten. Bei den (D-)CB-Transplantationen betrug es in ähnlicher Weise 52,7 Monate. Bei den PTCY-Haplotransplantationen war es mit 33,7 Monaten am kürzesten. In der CD6-Haplo-Gruppe war das mediane Follow-up mit 83,5 Monaten am längsten. Die Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen waren nicht signifikant.

4. Ergebnisse

4.1 Gesamtüberleben (OS)

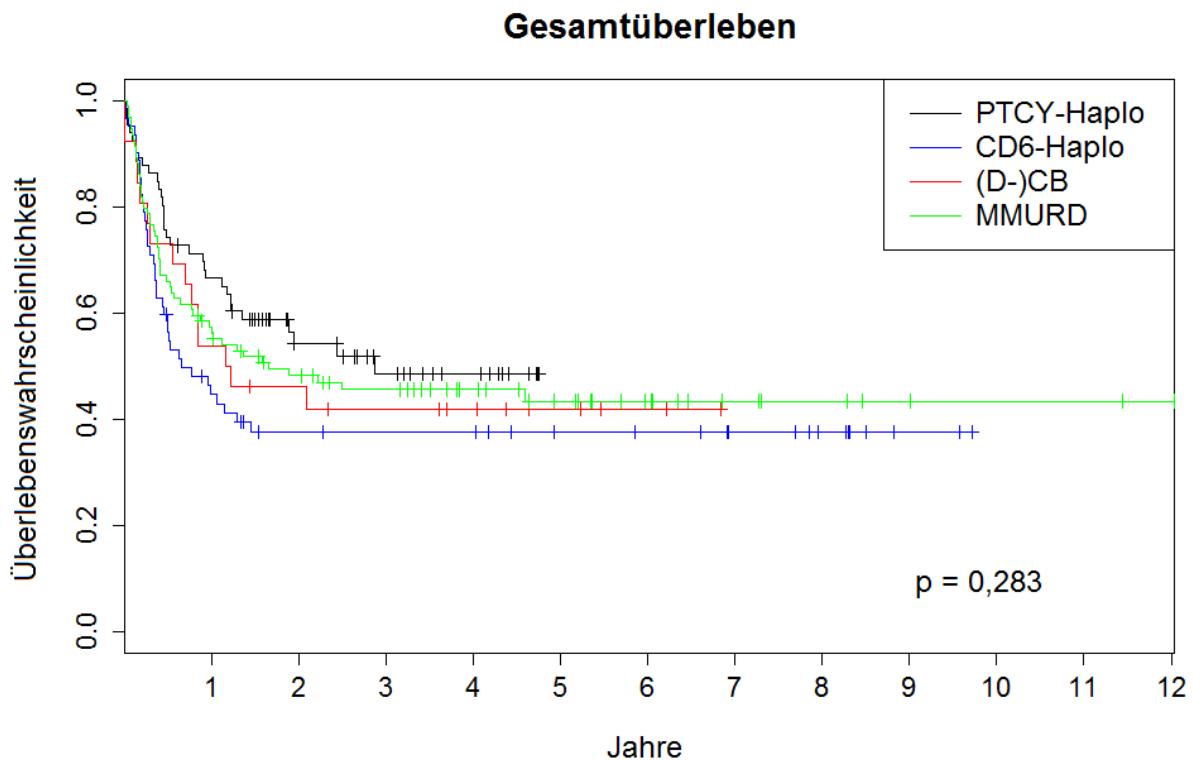


Abbildung 3: Gesamtüberleben stratifiziert nach alternativer Therapieform in Jahren nach Transplantation

Das Gesamtüberleben (OS) bei den MMURD-Transplantationen lag nach einem Jahr bei 55%, nach 2 Jahren bei 48% und nach 3 Jahren bei 46%. In ähnlicher Weise betrug das OS bei den (D-)CB-Transplantationen 54% nach einem- und 46% nach 2 Jahren, sowie 42% nach 3 Jahren. Am höchsten war das OS nach einem Jahr (67%) und 2 Jahren (54%) bei den PTCY-Haplotransplantationen, wobei nach 3 Jahren, ähnlich zu dem der MMURD-Gruppe, ein OS von 48% zu beobachten war, wobei das mediane Follow-up in der PTCY-Gruppe am niedrigsten war. Ein Trend zu niedrigerem OS ergab sich bei den CD6-Haplotransplantationen mit 45% nach einem Jahr, 38% nach 2 Jahren und ebenfalls 38% nach 3 Jahren. Im Log-rank-Test sowie in der uni- und multivariaten Analyse konnte jedoch kein signifikanter Unterschied im OS zwischen den Transplantationsverfahren (Referenz: MMURD-Transplantationen) gezeigt werden.

werden. Auch die übrigen untersuchten Faktoren hatten im uni- und multivariaten Modell keinen signifikanten Einfluss (s. Tabelle 16)

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
PTCY-Haplo	0,797	0,51	1,247	0,320
CD6-Haplo	1,272	0,836	1,937	0,262
(D-)CB	1,066	0,599	1,895	0,828
Alter	1,009	0,997	1,021	0,139
Advanced vs. Early	1,567	0,916	2,681	0,101
Dauer ED-Tx > 1 Jahr vs ≤ 1 Jahr	1,249	0,891	1,751	0,197
Zytogenetik intermediate I	1,044	0,457	2,386	0,918
intermediate II	0,911	0,298	2,786	0,87
adverse	1,866	0,847	4,111	0,122
ALL	0,955	0,581	1,57	0,855
B-Zellerkankung*	1,413	0,923	2,22	0,109
Andere **	1,053	0,62	1,789	0,848

Tabelle 16: Univariate Analyse für den Endpunkt Gesamtüberleben. Tod wurde als interessierendes Ereignis betrachtet. Therapiegruppen: Referenz = MMURD; Diagnosen: Referenz = AML, Zytogenetik: Referenz = favorable * B-Zellerkrankungen: Chronisch-lymphatische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphom, Mantelzelllymphom **Andere Diagnosen: Chronisch-myeloische-Leukämie, Multiples Myelom, Sichelzellanämie, SAA Schwere Aplastische-Anämie.

4.2 Erkrankungsfreies Überleben (DFS)

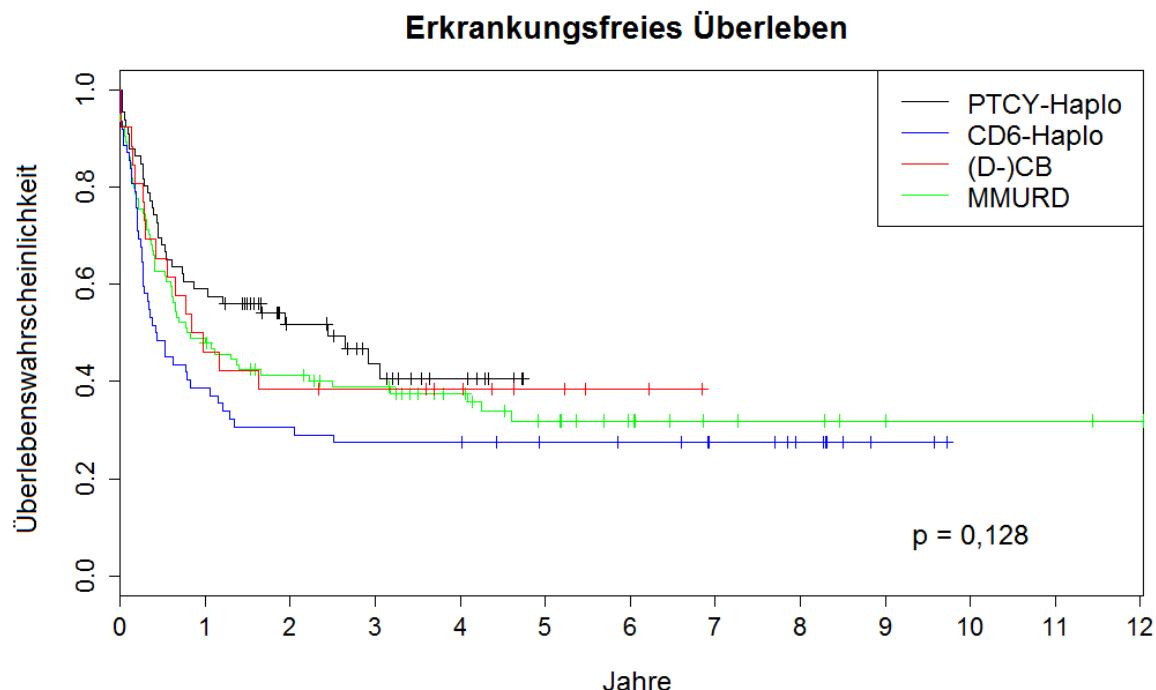


Abbildung 4: Erkrankungsfreies Überleben stratifiziert nach alternativer Therapieform

Das erkrankungsfreie Überleben (DFS) nach 2 Jahren betrug bei den MMURD-Transplantationen 41%, bei den (D-)CB-Transplantationen 39% und war bei den PTCY-Haplortransplantationen mit 52% am höchsten. Bei den CD6-Haplortransplantationen lag dieses nach 2 Jahren bei 31% und war somit am niedrigsten im Vergleich (Abb. 4). Im Log-rank-Test sowie in der univariaten Analyse ergaben sich hier keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen alternativen Transplantationsverfahren. Patienten mit AML mit Hochrisikozytogenetik hatten im univariaten Modell ein geringeres DFS (HR 2,10; 95%-KI: 1,05-4,418; $p=0,049$ für die Ereignisse Tod oder Rezidiv) (s. Tabelle 17). Im multivariaten Modell konnte ein signifikant höheres DFS bei der Gruppe der PTCY-Haplortransplantationen gezeigt werden (HR 0,612; 95%-KI 0,382-0,981; $p=0,041$ für die Ereignisse Tod oder Rezidiv). Gleichzeitig ergab sich ein signifikant niedrigeres DFS für Patienten mit den B-Zellerkrankungen, die in der Gruppe der PTCY-Haplortransplantierten signifikant häufiger vertreten waren (HR 1,948; 95%-KI 1,228 – 3,0915; $p=0,004$ für die Ereignisse Tod oder Rezidiv, s.Tabelle 18). Die in der vorliegenden Arbeit eingeschlossenen Patienten mit B-Zellerkrankungen befanden sich über alle Vergleichsgruppen verteilt fast ausschliesslich in fortgeschrittenen Erkrankungstadien.

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
PTCY-Haplo	0,755	0,498	1,145	0,185
CD6-Haplo	1,282	0,872	1,885	0,207
(D-)CB	0,916	0,528	1,589	0,756
Alter	1,007	0,996	1,018	0,186
Advanced vs. Early	1,523	0,943	2,462	0,086
Dauer ED-Tx >1 Jahr vs. ≤ 1 Jahr	1,19	0,87	1,628	0,277
Zytogenetik intermediate I	1,147	0,53	2,48	0,728
intermediate II	0,952	0,339	2,675	0,925
Adverse	2,107	1,005	4,418	0,049
ALL	0,98	0,621	1,547	0,932
B-Zellerkrankung*	1,45	0,958	2,95	0,079
Andere**	1,263	0,781	2,041	0,341

Tabelle 17: Univariante Analyse für den Endpunkt DFS. Rezidiv oder Tod wurde als interessierendes Ereignis betrachtet. Therapiegruppen: Referenz = MMURD; Diagnosen: Referenz = AML, Zytogenetik: Referenz = favorable * B-Zellerkrankungen: Chronisch-lymphatische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphom, Mantelzelllymphom **Andere Diagnosen: Chronisch-myeloische-Leukämie, Multiples Myelom, Sichelzellanämie, SAA Schweren Aplastischen-Anämie.

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
PTCY-Haplo	0,612	0,382	0,981	0,041
B-Zellerkrankung*	1,948	1,228	3,091	0,004

Tabelle 18: Multivariate Analyse für den Endpunkt DFS. Rezidiv oder Tod wurden als interessierendes Ereignis betrachtet. Nicht-signifikante Variablen wurden eliminiert und daher nicht mehr in der Tabelle aufgeführt. * B-Zellerkrankungen: Chronisch-lymphatische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphom, Mantelzelllymphom

4.3 Akute Graft-versus-Host-Disease (aGvHD)

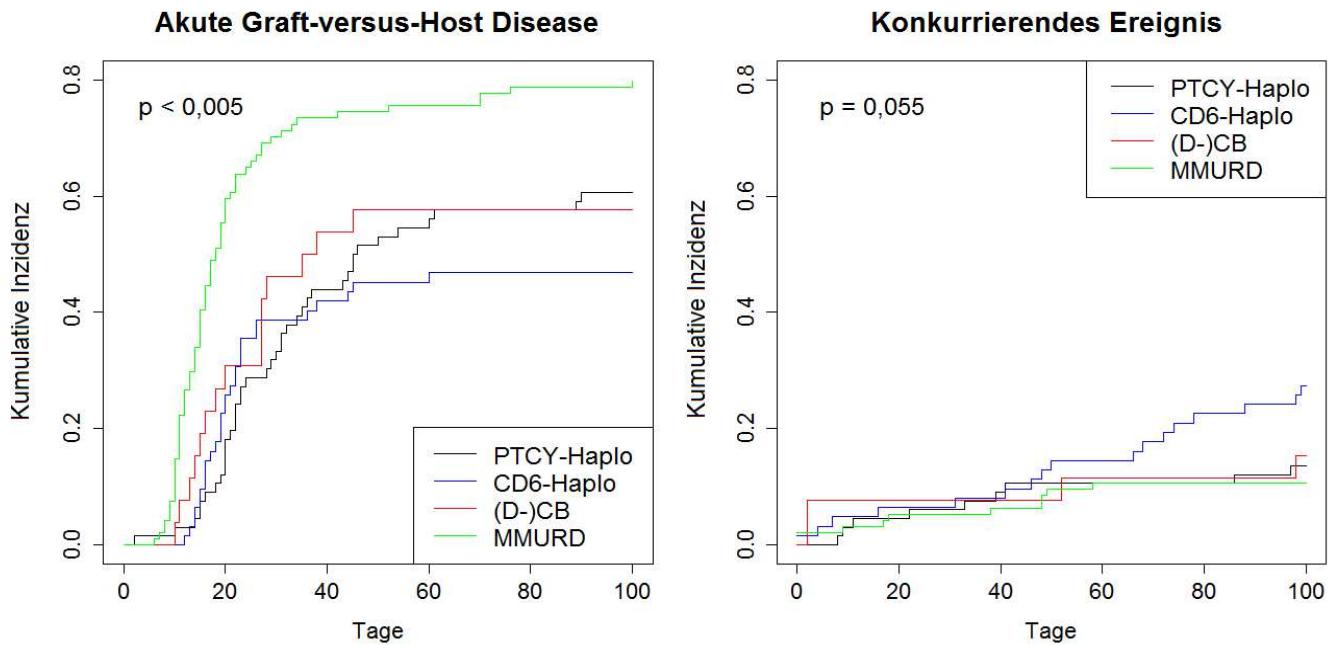


Abbildung 5: Kumulative Inzidenz der akuten GvDH stratifiziert nach alternativer Therapieform mit Darstellung des konkurrierenden Ereignisses (i.e. Tod innerhalb von 100 Tagen nach Transplantation oder Rezidiv der Grunderkrankung)

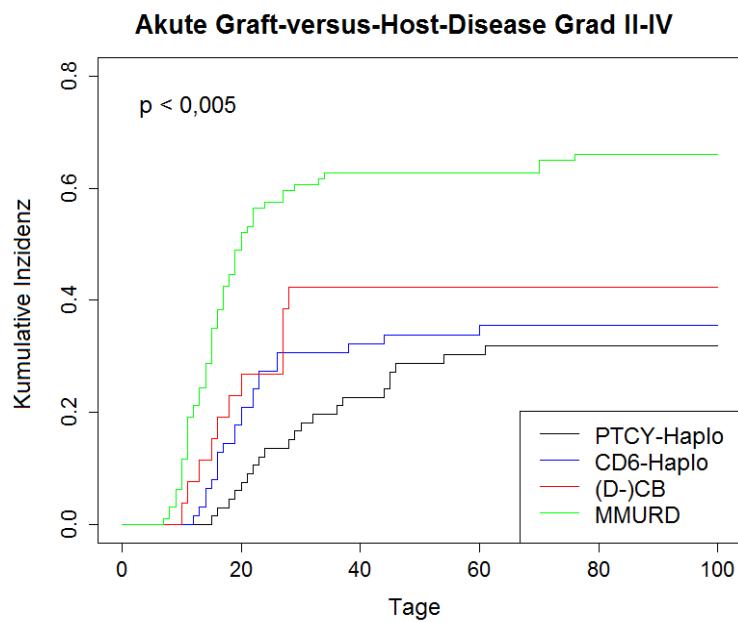


Abbildung 6: Kumulative Inzidenz der akuten GvDH Grad II-IV stratifiziert nach alternativer Therapieform

Im Vergleich zu den MMURD-Transplantationen zeigten sowohl die (D-)CB als auch die PTCY- und CD6-Haplotransplantationen signifikant niedrigere kumulative Inzidenzen für eine akute GvHD aller Grade ($p < 0,005$), insbesondere aber auch für eine aGvHD der Grade II-IV ($p < 0,005$). Diese ergaben sich sowohl im uni- als auch im multivariaten Modell (s.Tabellen 18 und 19). Daneben zeigte sich im uni- und multivariaten Modell ein erhöhtes aGvHD-Risiko für das weibliche Geschlecht. Wie Abbildung 5 zeigt, lag die kumulative Inzidenz der aGvHD unter Berücksichtigung aller Stadien bei den MMURD-Transplantationen nach 100 Tagen bei 79%. Eine signifikant geringere Inzidenz der aGvHD war bei allen anderen alternativen Transplantationsverfahren zu beobachten; so betrug diese bei der (D-)CB-Gruppe 58%, bei der PTCY-Gruppe 61%, und bei den CD6-Haplo-Gruppe 47%.

Die kumulativen Inzidenz der aGvHD der Schweregrade II bis IV lag bei den MMURD-Transplantationen bei 66% im Vergleich zu 42% bei den (D-)CB-Transplantationen, 32% bei den PTCY-, und 35% bei den CD6-Haplotransplantationen (Abbildung 6). Die Unterschiede in den kumulativen Inzidenzen erwiesen sich als hochsignifikant ($p<0,005$) (s. Abb 6).

Als konkurrierendes Ereignis zur aGvHD wurde Rezidiv/Progression und/oder Tod ohne aGvHD innerhalb von 100 Tagen gewertet. Bei den MMURD-Transplantationen lag die kumulative Inzidenz des konkurrierenden Ereignisses bei 11%, verglichen mit 16% bei den (D-)CB-Transplantationen und 14% bei den PTCY-Haplotransplantationen. Bei den CD6-Haplotransplantationen lag die Inzidenz für das konkurrierende Ereignis bei 27%. Der Unterschied bei Betrachtung der kumulativen Inzidenzen war mit $p=0,055$ nahezu signifikant (s. Abb 5, rechts). Im uni- sowie auch im multivariaten Modell zeigten sich zudem signifikant erhöhte Hazards beim weiblichen Geschlecht (s.Tabellen 19 und 20). Das Erkrankungsstadium sowie die Art der Grunderkrankung hatten keinen signifikanten Einfluss hinsichtlich des Auftretens einer aGvHD.

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
PTCY-Haplo	0,421	0,286	0,62	< 0,005
CD6-Haplo	0,341	0,221	0,524	< 0,005
(D-)CB	0,467	0,268	0,814	< 0,005
Alter	1,003	0,992	1,015	0,543
weibliches Geschlecht	1,382	1,01	1,889	0,0429
Advanced vs. Early	1,012	0,66	1,551	0,9562
Dauer ED-Tx >1 Jahr vs. ≤ 1 Jahr	1,15	0,816	1,523	0,4935
Zytogenetik intermediate I	1,44	0,755	2,746	0,268
intermediate II	0,885	0,353	2,22	0,794
adverse	0,819	0,412	1,628	0,569
ALL	1,125	0,725	1,746	0,6001
B-Zellerkrankung*	0,759	0,483	1,194	0,2334
Andere**	1,581	0,997	2,507	0,0597

Tabelle 19: Univariate Analyse für den Endpunkt aGvHD aller Stadien. Therapiegruppen: Referenz = MMURD; Diagnosen: Referenz = AML, Zytogenetik: Referenz = favorable * B-Zellerkrankungen: Chronisch-lymphatische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphom, Mantelzelllymphom **Andere Diagnosen: Chronisch-myeloische-Leukämie, Multiples Myelom, Sichelzellanämie, SAA Schre Aplastische-Anämie.

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
PTCY-Haplo	0,409	0,278	0,060	< 0,005
CD6-Haplo	0,345	0,224	0,531	< 0,005
(D-)CB	0,465	0,266	0,810	< 0,005
weibliches Geschlecht	1,400	1,023	1,913	0,035

Tabelle 20: Multivariate Analyse für den Endpunkt aGvHD aller Stadien. Nicht-signifikante Variablen wurden eliminiert und daher nicht mehr in der Tabelle aufgeführt.

4.4 Chronische Graft-versus-Host-Disease (cGvHD)

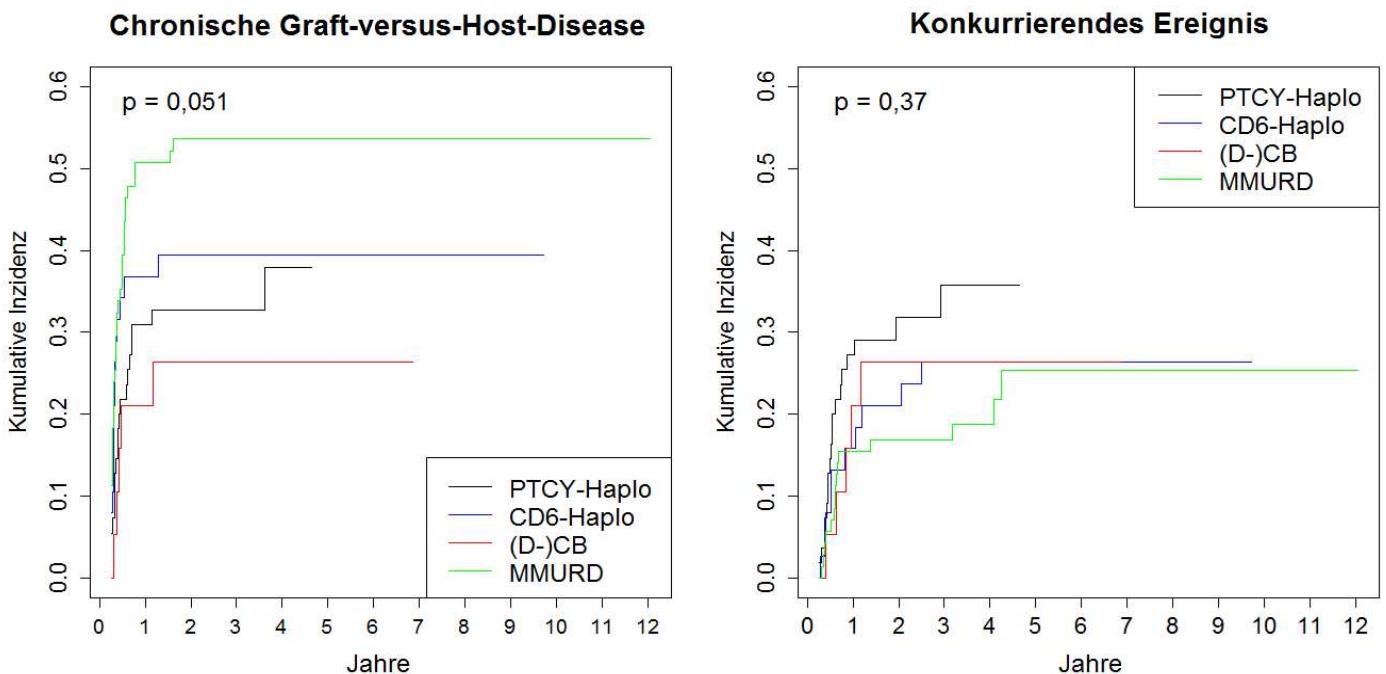


Abbildung 7: Kumulative Inzidenz der chronischen GvHD stratifiziert nach alternativer Therapieform mit Darstellung des konkurrierenden Ereignisses (i.e. Tod ohne Auftreten einer cGvHD oder Rezidiv der Grunderkrankung)

Die kumulative Inzidenz für das Auftreten einer cGvHD („limited“ und „extensive disease“) war bei den MMURD-Transplantationen mit 51% nach einem Jahr und 54% nach 2 Jahren am höchsten. Am niedrigsten war sie bei den (D-)CB-Transplantationen mit 21% nach einem Jahr und 27% nach 2 Jahren. Bei den PTCY-Haplotransplantationen lag diese bei 31% nach einem- und 33% nach 2 Jahren, bei den CD6-Haplotransplantationen bei 37% nach einem Jahr und 39% nach 2 Jahren (s. Abb. 7). Der p-Wert für den Unterschied der kumulativen Inzidenzen betrug 0,051 und war damit nahezu signifikant.

Am häufigsten trat eine cGvHD in der Ausprägung einer „extensive disease“ im Rahmen einer MMURD Transplantation auf. So hatten in dieser Gruppe insgesamt 23 Patienten eine „extensive disease“ (entsprechend 24,5% aller MMURD-transplantierten Patienten bzw. 59% aller Fälle von cGvHD innerhalb der MMURD-Gruppe). Bei den (D-)CB-Transplantationen hatten nur 3 Patienten eine „extensive disease“ (entsprechend 11,5% aller (D-)CB-Transplantationen). Bei den PTCY-Haplotransplantationen hatten 5 Patienten eine „extensive disease“ (7,6% von allen PTCY-Haplotransplantationen). Bei den CD6-Haplotransplantationen hatten 6

Patienten eine „extensive disease“ (9,7% von allen CD6-Haplotransplantationen). Im univariaten Modell zeigte sich eine signifikant niedrigere cGvHD-Rate bei den PTCY-Haplotransplantationen (HR 0,557; 95%-KI 0,322-0,963; p= 0,036) (s. Tabelle 21), dies bestätigte sich jedoch nicht im multivariaten Modell.

Der p-Wert für den Unterschied der kumulativen Inzidenzen für das konkurrierende Ereignis war mit 0,37 nicht signifikant.

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
PTCY-Haplo	0,557	0,322	0,963	0,036
CD6-Haplo	0,673	0,370	1,221	0,192
(D-)CB	0,435	0,184	1,028	0,058
Alter	0,998	0,984	1,013	0,798
Advanced vs. Early	1,25	0,609	2,081	0,707
Dauer ED-Tx >1 Jahr vs. ≤1 Jahr	1,246	0,8	1,941	0,330
Zytogenetik intermediate I	0,77	0,329	1,801	0,546
intermediate II	0,563	0,169	1,873	0,349
Adverse	0,661	0,266	1,645	0,373
ALL	0,631	0,308	1,292	0,208
B-Zellerkrankung*	0,912	0,459	1,813	0,793
Andere**	1,759	0,991	3,119	0,054

Tabelle 21: Univariate Analyse für den Endpunkt cGvHD. Therapiegruppen: Referenz = MMURD; Diagnosen: Referenz = AML, Zytogenetik: Referenz = favorable * B-Zellerkrankungen: Chronisch-lymphatische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphom, Mantelzelllymphom **Andere Diagnosen: Chronisch-myeloische-Leukämie, Multiples Myelom, Sichelzellanämie, SAA Schweren Aplastischen-Anämie.

4.5 Rezidivinzidenz (RI)

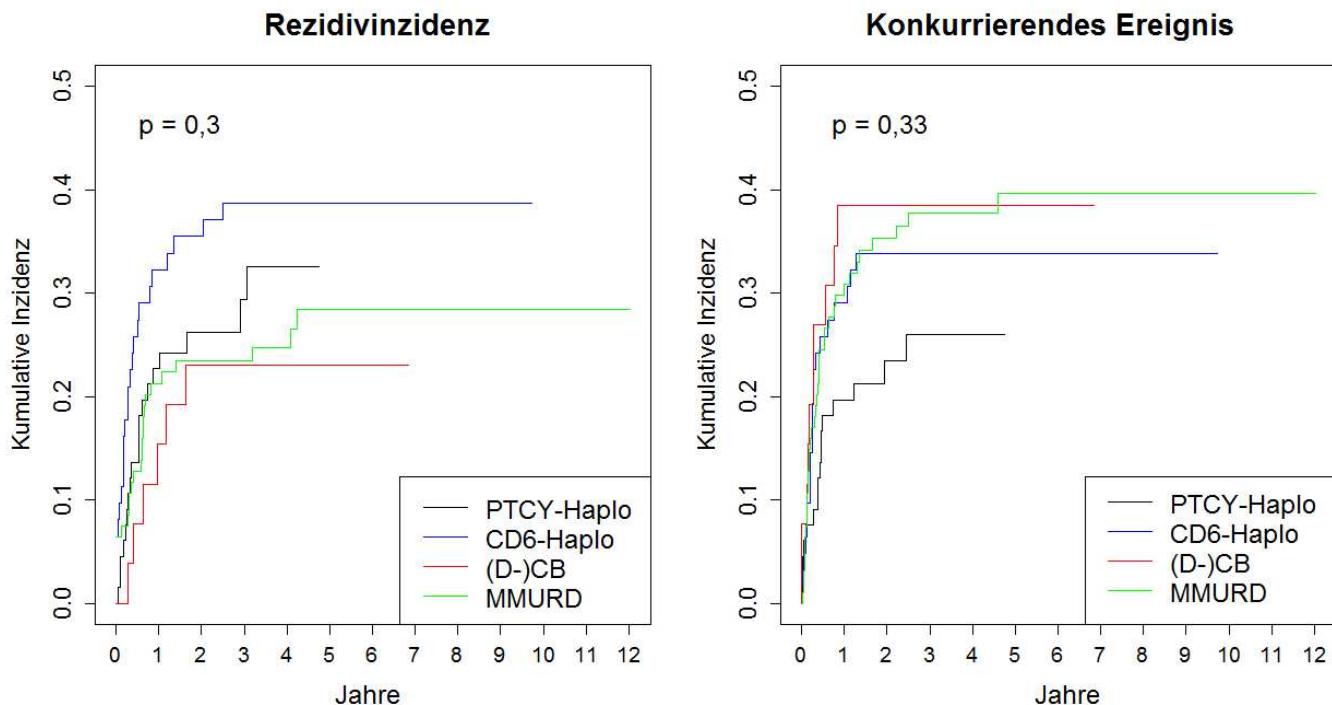


Abbildung 8: Rezidivinzidenz stratifiziert nach alternativer Therapieform mit Darstellung des konkurrierenden Ereignisses (i.e.Tod ohne Nachweis eines Rezidivs)

Die Rezidivinzidenz (RI) nach einem Jahr betrug bei den MMURD-Transplantationen 21%, bei den (D-)CB-Transplantationen 16%, bei den PTCY-Haplotransplantationen 24% und bei den CD6-Haplotransplantationen 32% (s. Abb. 8).

Die RI nach zwei Jahren war bei den MMURD-Transplantationen mit 24%, bei den (D-)CB-Transplantationen mit 23% und bei den PTCY-Haplotransplantationen mit 26% vergleichbar; bei den CD6-Haplotransplantationen betrug diese 34%.

Im uni- und multivariaten Modell zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Vergleichsgruppen der alternativen Therapieformen. Wie zu erwarten hatten Patienten, die in einem fortgeschrittenem Erkrankungsstadium transplantiert wurden, eine signifikant erhöhte RI (HR 4,780; 95%-KI 1,662-13,744; $p < 0,005$); dies war auch für Patienten mit den B-Zellerkrankungen (CLL, NHL, MZL) zu beobachten (HR 2,018; 95%-KI 1,142-3,567; $p < 0,005$) (vgl. Tabelle 23). Eine höhere RI zeigte sich im univariaten Modell auch für AML-Patienten mit ungünstiger Zytogenetik (HR 3,47; 95%-KI 1,015-11,855; $p = 0,047$) (s.Tabelle 22), bestätigte sich allerdings nicht in der multivariaten Analyse.

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
PTCY-Haplo	1,02	0,561	1,854	0,949
CD6-Haplo	1,695	0,967	2,97	0,065
(D-)CB	0,836	0,343	2,037	0,693
Alter	1,003	0,987	1,018	0,743
Advanced vs. Early	3,741	1,365	10,25	0,010
Dauer ED-Tx >1 Jahr vs. ≤ 1 Jahr	0,901	0,566	1,434	0,661
Zytogenetik intermediate I	1,606	0,447	5,763	0,468
intermediate II	0,922	0,154	5,522	0,929
adverse	3,47	1,015	11,855	0,047
ALL	1,015	0,515	2	0,965
B-Zellerkrankungen*	2,018	1,142	3,567	0,016
Andere**	1,367	0,677	2,762	0,383

Tabelle 22: Univariate Analyse für den Endpunkt RI. Therapiegruppen: Referenz = MMURD; Diagnosen: Referenz = AML, Zytogenetik: Referenz = favorable * B-Zellerkrankungen: Chronisch-lymphatische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphom, Mantelzelllymphom **Andere Diagnosen: Chronisch-myeloische-Leukämie, Multiples Myelom, Sichelzellanämie, SAA Schwere Aplastische-Anämie.

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
Advanced vs. Early	4,780	1,662	13,744	< 0,005
B-Zellerkrankung*	2,018	1,142	3,567	< 0,005

Tabelle 23: Multivariate Analyse für den Endpunkt RI. Nicht-signifikante Variablen wurden eliminiert und daher nicht mehr in der Tabelle aufgeführt. * B-Zellerkrankungen: Chronisch-lymphatische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphom, Mantelzelllymphom

4.6 Non-Relapse Mortality (NRM)

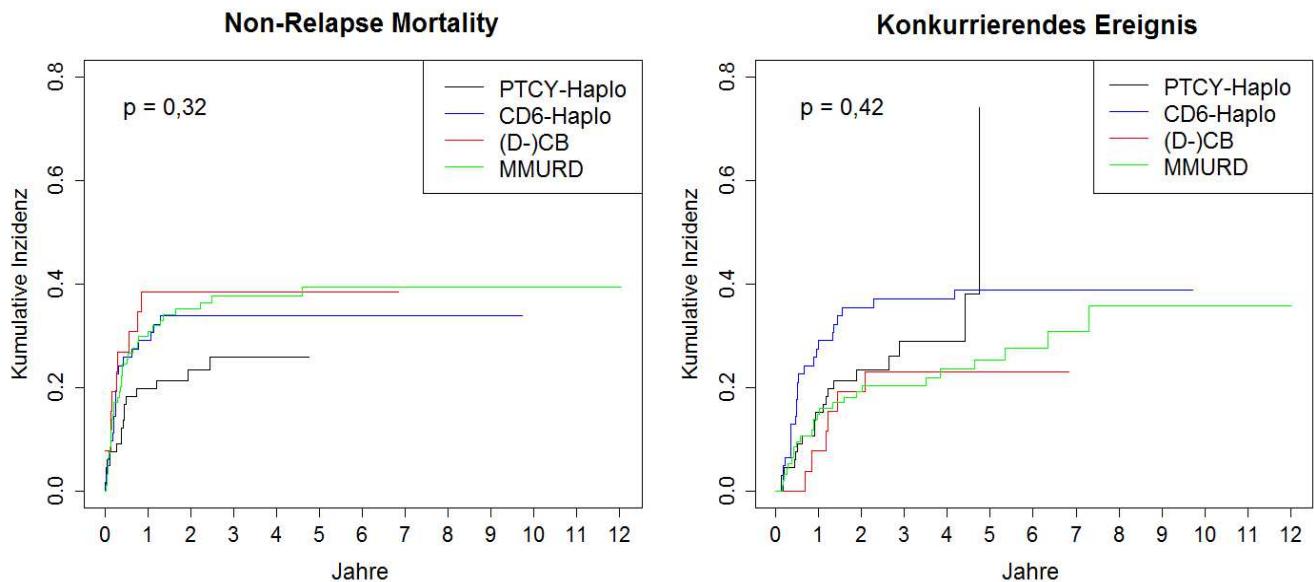


Abbildung 9: Non-Relapse Mortality stratifiziert nach alternativer Therapieform mit Darstellung des konkurrierendem Ereignis (i.e.Tod ohne Nachweis eines Rezidives)

Die Non-Relapse Mortality (NRM) lag in der Gruppe der MMURD-Transplantationen bei 30% nach einem Jahr und 35% nach 2 Jahren, bei den (D-)CB-Transplantationen 38% nach einem und nach 2 Jahren. Bei den PTCY-Haplortransplantationen war diese mit 19% nach einem und 22% nach 2 Jahren am niedrigsten. In der Gruppe der CD6-Haplortransplantationen war die NRM höher und erreichte 29% nach einem und 34% nach 2 Jahren. Zwischen den Therapiegruppen gab es im uni- und multivariaten Modell keinen signifikanten Unterschied (vgl. Tabelle 24 mit der univariaten Analyse). Patienten, bei denen zwischen Erstdiagnose und Transplantation mehr als ein Jahr verging, hatten eine tendenziell ungünstigere NRM im uni- und multivariaten Modell (HR 1,795; 95%-KI 1,071-3,005; p= 0,053), (vgl. Tabl 25).

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
PTCY-Haplo	0,593	0,329	1,069	0,082
CD6-Haplo	0,972	0,567	1,666	0,917
(D-)CB	1,01	0,501	2,036	0,977
Alter	1,011	0,996	1,027	0,141
Advanced vs. Early	0,869	0,496	1,521	0,622
Dauer ED-Tx >1 Jahr vs. ≤ 1 Jahr	1,53	0,993	2,358	0,054
Zytogenetik intermediate I	0,9	0,338	2,4	0,834
intermediate II	1,001	0,282	3,55	0,999
adverse	1,336	0,518	3,447	0,549
ALL	0,952	0,514	1,764	0,877
B-Zellerkrankung*	0,999	0,54	1,85	0,998
Andere**	1,045	0,541	2,018	0,896

Tabelle 24 Univariate Analyse für den Endpunkt NRM. Therapiegruppen: Referenz = MMURD; Diagnosen: Referenz = AML, Zytogenetik: Referenz =favorable * B-Zellerkrankungen: Chronisch-lymphatische Leukämie, Non-Hodgkin-Lymphom, Mantelzelllymphom ** Andere Diagnosen: Chronisch-myeloische-Leukämie, Multiples Myelom, Sichelzellanämie, SAA Schwere Aplastische-Anämie.

Variable	Hazard-Ratio	Untere Grenze	Obere Grenze	p-Wert
Dauer ED-Tx >1 Jahr vs. ≤ 1 Jahr	1,795	1,071	3,005	0,053

Tabelle 25: Multivariate Analyse für den Endpunkt NRM. Nicht-signifikante Variablen wurden eliminiert und daher nicht mehr in der Tabelle aufgeführt.

5. Diskussion

Der Erfolg einer allogenen hämatopoietischen Stammzelltransplantation hängt im Wesentlichen von der Grunderkrankung und ihrem Stadium, vom Zeitpunkt der Transplantation (früh vs. spät), von den Komorbiditäten des Patienten, sowie von der Spenderauswahl ab. Die Suche nach einem passenden Blutstammzellspender muss die Dringlichkeit der Transplantation berücksichtigen, insbesondere die Risiken, die mit einem Aufschieben der Transplantation verbunden sind [119]. Dem HLA-Matching kommt dabei prognostisch eine Schlüsselrolle zu: jedes HLA-Mismatch auf Allel-Ebene kann zu einem progressiven Abfall der Gesamtüberlebenswahrscheinlichkeit um etwa 10% nach 5 Jahren führen [120-123] ; Wenn jedoch ein hohes Progressions- bzw. Rezidivrisiko besteht und gleichzeitig die Wahrscheinlichkeit einen HLA-identischen Spender zu finden gering ist, kann ein nicht vollständig HLA-gematchtes, also HLA-differentes Transplantat einer ausgedehnten Spendersuche vorzuziehen sein [119]. Aufgrund von besseren Behandlungsergebnissen bei gleichzeitig schnellerer und besserer Verfügbarkeit wird in der Regel als erste Wahl- falls vorhanden und für eine Stammzellspende geeignet - ein HLA-identisches Geschwister als Spender bevorzugt. Bei immer kleiner werdenden Familien in Europa sinkt jedoch zunehmend die Wahrscheinlichkeit, einen solchen Spender zu finden [3]; sie liegt aktuell bei etwa 25-30%. Falls kein identischer Familienspender identifiziert werden kann, wird im nächsten Schritt ein unverwandter HLA-identischer Spender aus einem weltweit immer grösser werdenden Register freiwilliger Fremdspender gesucht (aktuell etwa 20 Millionen potentielle Spender) [3]. Je nach Suchdauer kann in ca. 70% der Fälle ein HLA-kompatibler Spender gefunden werden [3]. Diese Quote hängt jedoch stark vom ethnischen Hintergrund des Patienten ab. Bei einer schwierigen und langwierigen Suche nach einem HLA-kompatiblen Fremdspender, insbesondere bei einem Hochrisikopatienten mit einer rasch fortschreitenden Erkrankung, drängt häufig die Zeit. Darüber hinaus kommt es selbst bei Vorhandensein eines potentiellen kompatiblen Spenders nicht immer zu einer tatsächlichen Stammzellspende. So wurden in einer Studie bei 326 Patienten, für die eine Spendersuche aktiviert worden war, nur 121 Patienten (37%) transplantiert, wobei die Dauer bis zur Transplantation im Median 169 Tage betragen hat (Zeitspanne zwischen 68 und 772 Tage). Bei 192

Patienten (59%) wurde die Suche erfolglos beendet aufgrund Versterben des Patienten (n=100), Krankheitsprogression (n=34), Aussichtslosigkeit der Suche (n=11), Widerruf des Einverständnisses (n=8), oder Auswahl einer alternativen Therapie (n=39) [124]. In einer ähnlichen Studie wurden von 240 Patienten, für die eine Fremdspenderersuche durchgeführt worden war, nur 86 Patienten (36%) letztendlich transplantiert [119, 125].

Lässt sich in adäquater Zeit kein potentieller verwandter oder unverwandter HLA-identischer Stammzellspender identifizieren, gibt es verschiedene HLA-Mismatch-Stammzellquellen, die eine Alternative darstellen können: Mismatch-Fremdspender, Blutstammzellen aus Nabelschnurblut und HLA-haploidentische Spender aus der Familie. Bis heute liegen keine Ergebnisse prospektiv randomisierter Studien vor, die die Frage nach einer möglichen Überlegenheit einer dieser alternativen Transplantationsverfahren in einer solchen Situation beantworten. Mismatch-Fremdspender Transplantationen sind die am längsten erprobte Alternative. Das Risiko, eine GvHD zu entwickeln, steigt allerdings proportional zur Art und Anzahl der HLA-Matche [72, 101, 126]. Da die Fallzahlen haploidentischer Transplantationen bisher verhältnismäßig klein und die Beobachtungszeiträume kürzer waren und zudem die Konditionierungsprotokolle sowie die verwendeten Verfahren differieren, wird ihr Nutzen unterschiedlich bewertet [100, 127]. Historisch gesehen wurden haploidentische Transplantationen aufgrund hoher Inzidenzen von GvHD, Transplantatabstoßungen und therapieassozierter Mortalität als riskant angesehen [128]. Entwicklungen und Modifikationen wie Verfahren zur T-Zell Depletion verminderten das GvHD-Risiko, führten aber wiederum häufiger zum Transplantatversagen, Problemen bei der Immunrekonstitution und zu Rezidiven [129-131]. Die haploidentische Transplantation eines nicht zuvor T-Zell depletierten (s.g. „T-cell-replete“) Stammzellpräparates mit der hochdosierten Gabe von Cyclophosphamid nach der Transplantation, das zur Elimination alloreaktiver T-Zellen beiträgt, stellt eine vielversprechende, neue Variante der HLA-haploidentischen Transplantation dar [117, 132].

Die erste Transplantation von Stammzellen aus Einzelnabelschnurblut (UCBT) wurde im Jahre 1988 durchgeführt [2]. Seither wurde auch diese Methode zunehmend als alternative Transplantationsmethode eingesetzt, mittlerweile wurden mehr als 20.000

solcher Transplantationen durchgeführt, meist bei Kindern [133]. Um die Hauptlimitierung der UCBT bei Erwachsenen, - die relativ niedrige Anzahl an Progenitor-Zellen im Nabelschnurblut- zu überwinden, hat sich die Transplantation von Blutstammzellen aus zwei verschiedenen Nabelschnüren (Doublecord-Transplantation) etabliert. Es konnte gezeigt werden, dass hierdurch das Engraftment verbessert wurde, während Rezidive, aber bemerkenswerterweise auch schwere GvHD-Verläufe im Vergleich zur Transplantation von Blutstammzellen aus nur einer einzigen Nabelschnur weniger häufig aufzutreten schienen [64, 114]. Auch im Vergleich zu anderen Mismatch-Stammzellquellen scheinen die Daten in der Literatur, insbesondere für Kinder, ermutigend zu sein [100, 134].

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der Frage nach der, im Falle des Fehlens eines HLA-identischen bzw. vollständig HLA-gematchten Spenders, zu präferierenden alternativen HLA-Mismatch-Stammzellquelle. Die an unserem Zentrum zu evaluierende sehr große Anzahl an nicht HLA-identischen Transplantationen, erlaubte den retrospektiven Vergleich von verschiedenen HLA-Mismatch bzw. alternativen Stammzelltransplantationsverfahren, die über einen Zeitraum von mehr als einem Jahrzehnt durchgeführt worden sind. Die Behandlungsergebnisse unseres Patientenkollektivs legen nahe, dass sowohl Doublecord-, als auch HLA-haploidische Transplantationen akzeptable Alternativen zu Mismatch-Fremdspendertransplantationen darstellen können. Insbesondere das neuere „Haplo-Protokoll“, mit der Verwendung von hochdosiertem Cyclophosphamid *post transplantationem*, stellt sich als ein vielversprechender Ansatz mit einem signifikant besseren erkrankungsfreien Überleben, signifikant weniger GvH-Erkrankungen, sowie dem Trend zu einer geringeren Non-Relapse Mortality dar. Die Ergebnisse sind zudem vor dem Hintergrund zu sehen, dass es sich gerade bei dieser Gruppe von Patienten um ein Hochrisiko-Kollektiv, mit einem hohen Anteil an B-Zell Erkrankungen handelt. Einschränkend müssen die noch moderaten Fallzahl und die vergleichsweise kürzere Nachbeobachtungszeit berücksichtigt werden. Die Morbidität der Mismatch-Fremdspendertransplantationen ist stark mit der signifikant häufiger auftretenden und schwerer verlaufenden GvH-Erkrankung verbunden. Demgegenüber zeigt sich auch die Transplantation nach einem haploidischen Protokoll, das konsekutiv die Gabe eines unmanipulierten Knochenmark- sowie eines CD6-depletierten peripheren Blutstammzellpräparats vorsieht, mit einer deutlich niedrigeren GvHD-Inzidenz

verbunden; dafür stellt sich diese Methode der haploidentischen Transplantation allerdings als technisch aufwendiger und für den Spender durch eine Mehrfachspende in kurzer zeitlicher Abfolge deutlich belastender dar; zudem ist die CD6-Haplotransplantation aufgrund der zur Überwindung der HLA-Barriere durchgeföhrten intensiven in-vivo T-Zelldepletion mit deutlich mehr infektiösen und hier v.a. viralen Komplikationen, als die PTCY-Haplotransplantation vergesellschaftet [135].

Nach unseren Behandlungsergebnissen sind Doublecord- und PTCY-Haplotransplantationen sicher durchzuföhrende und erfolgsversprechende Alternativen zur Mismatch-Fremdspendertransplantation bei Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen, die einer allogenen Stammzelltransplantation bedürfen, aber keinen HLA-identischen oder kompatibeln Spender zur Verfügung haben. Beide Verfahren weisen im Vergleich zur MMURD-Transplantation eine niedrigere GvHD-Inzidenz auf; die PTCY-haplotransplantierten Patienten hatten in unserem Kollektiv ein signifikant besseres DFS zu erwarten, gleichzeitig war in dieser Gruppe die niedrigste NRM zu beobachten. Die Entscheidung zwischen diesen beiden alternativen Stammzellquellen kann von Patienten und möglicherweise in Zukunft auch von krankheitsspezifischen Faktoren abhängig gemacht werden. Weitergehende Untersuchungen, insbesondere eine randomisierte prospektive Studie, sind erforderlich, um die Frage nach dem „idealen Mismatch Spender“ eindeutig zu beantworten.

5.1 Mismatch-Fremdspendertransplantation (MMURD-Transplantation)

Die MMURD-Transplantation am längsten verwendete und mit den meisten Daten unterstützte der in dieser Arbeit untersuchten Verfahren und wurde daher in den statistischen Analysen als Referenz herangezogen. Mit einer Patientenzahl von n=94 war dies zugleich die größte Gruppe. Das mediane Follow-up lag bei 54,6 Monaten und war das längste. Der überwiegende Anteil der Patienten dieser Gruppe wurde aufgrund einer AML oder eines MDS transplantiert. Zudem wurden verhältnismäßig mehr Patienten mit anderen Diagnosen wie CML, Aplastische Anämie und Multiplem Myelom transplantiert ($p=0,045$). Bei der Betrachtung der Resultate ist ein möglicher Bias zu Ungunsten der MMURD-Transplantationen zu beachten, der aus dem „Alter“ dieser Transplantationsmethode entsteht : Während MMURD-Transplantationen ab

dem Jahr 2000 eingeschlossen wurden, sind die alternativen Transplantationsverfahren Cordblood- und PTCY-Haplotransplantationen in der medizinischen Klinik und Poliklinik III des Klinikums der Universität München-Campus Grosshadern erst ab den Jahren 2004 bzw. 2009 eingeführt worden. Etwaige Verbesserungen und Weiterentwicklungen, die in diesem Zeitraum in einer Vielzahl von Bereichen der Medizin stattgefunden haben, müssen daher bei einem Vergleich dieser Transplantationsmethoden berücksichtigt werden: Diagnostik, antiinfektive und supportive Behandlungen, um nur einige Aspekte zu nennen. Andererseits könnte jedoch auch die längere Erfahrung unseres Transplantationszentrums mit den MMURD-Transplantationen einen potentiellen Bias zugunsten dieser Methode darstellen. Zudem wurden die Alternativmethoden wie Cordblood- und PTCY-Haplotransplantationen in ihren Anfangsjahren oftmals als „Rescue-Therapie“ bei Patienten mit besonders ungünstiger Prognose und weit fortgeschrittener bzw. refraktärer Erkrankung angewendet. So finden sich umgekehrt bei den MMURD-Transplantationen verhältnismäßig und signifikant mehr Patienten in einem frühen Erkrankungsstadium ($p=0,047$).

Das OS der MMURD-transplantierten Patienten lag bei 55% nach einem Jahr und bei 48% nach 2 Jahren (sowie 46% nach 3 Jahren); das DFS nach 2 Jahren lag bei 41% (und 38% nach 3 Jahren). Die RI nach einem Jahr lag bei 21%. Die NRM betrug nach einem Jahr 30% und stieg nach 2 Jahren auf 35 %. Diese Resultate stimmen gut mit den bereits publizierten Daten bei 7/8 HLA Mismatch Fremdspendertransplantationen überein. So findet sich etwa in einer Analyse von Lee et al., basierend auf den Daten von 3857 Patienten aus dem National Marrow Donor Program ein mittleres OS von 43% nach einem Jahr (Patienten mit AML, MDS, ALL und CML, die jedoch zwischen 1988 und 2003 transplantiert wurden)[120]. Bei Saber et al. (AML/MDS-Patienten in diversen Erkrankungsstadien, $n=406$) zeigte sich ein OS von 45% nach einem Jahr und 34% nach 3 Jahren, sowie ein DFS von 40% nach einem- und 31 % nach 3 Jahren. Die RI lag bei 27% nach einem Jahr und die NRM bei 32% nach einem Jahr [136]. In den meisten dieser Endpunkte zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zu den anderen alternativen Transplantationsmethoden in unserer Klinik. Die einzige Ausnahme stellt jedoch das signifikant höhere DFS der PTCY-Haplotransplantationen im multivariaten Modell dar. (HR 0,612; 95%-KI 0,382-0,981; $p= 0,041$ bei PTCY-Haplotransplantationen). Bei der Betrachtung der relativ niedrigen RI von 24% nach 2

Jahren in der Gruppe der MMURD-Transplantation muss der verhältnismäßig große Anteil der Patienten berücksichtigt werden, die in einem frühen Erkrankungsstadium transplantiert wurden (20,2% der Patienten in der MMURD-Gruppe). Bei einer HR von 4,78 (95%-KI 1,662-13,744; p < 0,005) zu Ungunsten fortgeschritten Erkrankungsstadien könnte dies zu einer relativen Unterschätzung der RI im Vergleich zu den anderen Transplantationsmethoden beigetragen haben und so die Aussagekraft der Ergebnisse limitieren.

Signifikante Unterschiede fanden sich bei der Untersuchung der kumulativen Inzidenz (KI) der akuten GvHD: mit 79% war diese für Patienten nach MMURD-Transplantation bemerkenswert hoch und signifikant höher als bei allen anderen HLA-differenten Transplantationsformen (p <0,005) wobei die KI der behandlungsbedürftigen aGvHD Grad II-IV bei 66% lag. Vergleichsweise mehr MMURD-transplantierte Patienten entwickelten eine chronische GvHD: die KI lag über 50 % nach einem Jahr und betrug 54% nach 2 Jahren, wobei 59% der betroffenen Patienten die schwere Verlaufsform („extensive disease“) zeigten. Es muss festgestellt werden, dass die Prophylaxe der GvHD bei dieser HLA-differenten Transplantationsform, in unserem Patientenkollektiv nicht ausreichend erscheint; ähnliche Ergebnisse werden auch von anderen Autoren beschrieben. So geben Weisdorf et al. in einer retrospektiven Untersuchung von 241 partiell HLA-gematchten Fremdspendertransplantationen eine KI von 49% für die akute und eine ebenfalls hohe Inzidenz von 60% für die chronische GvHD an [137]; auch Gupta et al. beschreiben eine KI von 52% bzw. 54% für die akute bzw. chronische GvHD [138]. Das häufige Auftreten einer akuten und chronischen GvHD, insbesondere in schweren Verlaufsformen trägt deutlich zur Morbidität und Mortalität der Patienten bei und stellt einen wesentlichen Nachteil dieser Transplantationsmethode dar. Eine behandlungsbedürftige GvHD bedarf einer intensiven Immunsuppression, die die Immunrekonstitution verzögert und das Auftreten von schwerwiegenden frühen und späten Infektionen, Sekundär malignomen und einer Vielzahl weiterer Komplikationen zur Folge haben kann [139, 140]. In Zukunft könnten Weiterentwicklungen in den Bereichen der GvHD-Prophylaxe, wie die Einbeziehung neuer Wirkstoffe (z.B. m-TOR Inhibitoren) [141, 142] , aber auch in Anlehnung an das haploidentische Setting die Gabe von Cyclophosphamid nach der Transplantation die Risiken einer MMURD-Transplantation mindern. Zudem könnten Verbesserungen in der Infektionsprophylaxe und –therapie, sowie neue Methoden zur Beschleunigung der Immunrekonstitution die

Ergebnisse entscheidend verbessern. Ist eine Entscheidung zwischen einer Transplantation von einem Mismatch-Fremdspender oder einer anderen alternativen Transplantation zu treffen, sollten neben den genannten Vor- und Nachteilen der MMURD-Transplantation auch andere Eigenschaften des Spenders ausschlaggebend sein, wie Alter, Geschlecht und CMV-Serostatus. Auch das Vorhandensein von donorspezifischen Antikörpern kann ein limitierender Faktor sein.

5.2 Transplantation von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut ((D-)CB-Transplantation))

Die Verwendung von Nabelschnurblut-Transplantaten bietet gegenüber der von Fremdspender-Transplantaten potentielle Vorteile: Zum einen erlaubt die relative Immuntoleranz der Nabelschnurleukozyten (auf Grund der funktionellen Unreife des Neugeborenen-Immunsystems) ein permissiveres HLA-Matching, also das Zulassen von Mismatches, ohne Erhöhung des GvHD-Risikos [143, 144]. Dies führt zu einer deutlichen Vergrößerung des Spenderpools bei gleichzeitig schneller Verfügbarkeit, die sich durch die kryokonservierte Vorratshaltung ergibt. Die Suche nach einem Nabelschnurbluttransplantat dauert im Median ca. einen Tag, die Beschaffung 4 bis 8 Wochen, verglichen mit 3-4 Monaten für ein Fremdspendertransplantat bei schwierigen Suchaussichten [145]. Allerdings benötigen die Voruntersuchungen des Präparates, insbesondere die genaue Bestimmung der für die Transplantation erforderlichen Infektionsmarker nochmals Zeit. Dennoch kann eine schnelle Verfügbarkeit vor allem Patienten mit rasch fortschreitenden Erkrankungen zu Gute kommen.

(D-)CB-Transplantationen wurden im Bereich der Transplantationseinheit der Medizinischen Klinik und Poliklinik III des Klinikums der Universität München-Campus Grosshadern nur in den Jahren 2004 bis 2013 durchgeführt. Die Fallzahl in der vorliegenden Arbeit war auf 26 erwachsene Patienten beschränkt (davon 25 Doublecord-Transplantationen). Die Gruppe war daher relativ klein, der Beobachtungszeitraum mit einem medianem Follow-up von 52,7 Monaten jedoch ausreichend. Der Großteil der Transplantationen wurde bei Patienten mit AML und ALL durchgeführt, von denen sich fast alle in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien

befanden. Der Altersmedian lag bei 55 Jahren und war damit höher als bei den anderen Vergleichsgruppen.

Unter dem Vorbehalt einer geringen Fallzahl bei den (D-)CB-Transplantationen zeigte sich in der vorliegenden Arbeit in allen untersuchten Aspekten kein signifikanter Unterschied in Hinblick auf die Endpunkte OS, DFS, RI und NRM, verglichen mit der Referenzgruppe der MMURD-Transplantationen. Das OS für die (D)CB-Transplantationen lag bei 54% nach einem Jahr und 46% nach 2 Jahren. Das DFS lag bei 39% nach 2 Jahren. Diese Ergebnisse liegen im allgemeinen Trend der veröffentlichten Daten zu diesem Transplantationsverfahren: In den Daten des Eurocord-Registers zeigte sich für 838 Patienten, die im Zeitraum von 1999-2010 mit Doublecord-Transplantationen behandelten worden waren, eine 1-Jahres OS von 48% [114] ; bei der von Brunstein et al. im Jahr 2011 publizierten multizentrischen Studie mit 50 Doublecord-Transplantationen nach dosisreduzierter Konditionierung ergab sich ein OS von 58% nach einem Jahr, und das DFS lag bei 46%. Die Inzidenz der akuten GvHD Grad II-IV lag bei 40%, für die chronische GvHD bei 25%. Die NRM und RI lagen bei 24% und 31% [100].

In unserem erwachsenen Patientenkollektiv lagen mit 58% und 27% signifikant niedrigere Inzidenzen für aGvHD und cGvHD vor, als bei den untersuchten MMURD-Transplantationen; eine aGvHD der Schweregrade II-IV trat mit einer kumulativen Inzidenz von 42% auf versus 66% bei den MMURD-Transplantationen ($p < 0,005$). Eine cGvHD mit dem Schweregrad „extensive disease“ war insgesamt bei nur 3 Patienten zu verzeichnen. Die NRM und RI lagen nach 2 Jahren bei 38% und 23%; beide Parameter waren mit einer NRM von 35% und einer RI von 24% nach 2 Jahren bei den MMURD-Transplantationen vergleichbar. Anzumerken ist erneut, dass sich MMURD-transplantierte Patienten häufiger in einem früheren Erkrankungsstadium befanden als (D)-CB-transplantierte Patienten.

Ein erhebliches Problem bei der Verwendung von Blustammzellen aus Nabelschnurblut ist die verzögerte Immunrekonstitution und die damit verbundene hohe Inzidenz von schweren bakteriellen, viralen und fungalen Infektionen, die für einen großen Teil der Morbidität und Mortalität bei diesem Transplantationsverfahren verantwortlich sind. Bereits zu Zeiten der Transplantation einzelner Nabelschnurblut

Einheiten konnte in mehreren Studien eine - im Vergleich zu den „alten“ Transplantationsverfahren - verzögerte Immunrekonstitution mit verlangsamter T-Zellrekonstitution festgestellt werden [146, 147]. Für Doublecord-Transplantationen sind nur eingeschränkte Daten vorhanden. In einer von Ruggeri et al. im Jahr 2011 publizierten Beobachtungsstudie mit 35 Patienten, die Doublecord-Transplantate erhielten, zeigten sich ähnliche Ergebnisse wie für Singlecord Transplantate [148]: Die Lymphozytenzahl sowie die T- und B-Zell- Subpopulationen (CD3+,CD4+,CD8+,CD3-,CD16+,CD56+,CD19+) blieben bis zu 9 Monate nach der Transplantation deutlich unterhalb des Normbereichs. Die B-Zellen waren auch nach dem ersten Jahr nach Transplantation noch extrem erniedrigt. Die CD4+ und CD8+ Zahlen blieben bis zum Ende der Nachbeobachtungszeit erniedrigt. Darüber hinaus konnte die hohe Inzidenz schwerwiegender Infektionen nach Transplantation von Einzelnabelschnurblut [149] auch für die Doublecord-Transplantationen bestätigt werden: In dieser Studie erlitten 35 Patienten insgesamt 99 Infektionen; bei 7 Patienten führten diese zum Tod. Die kumulative Inzidenz für virale Infektionen betrug 92% im ersten Jahr nach Transplantation. Vor allem CMV, ADV und HSV stellten eine große Herausforderung dar. Bakterielle Infektionen traten im ersten Jahr mit einer Inzidenz von 55% auf und führten bei 12 Patienten zu einer Sepsis und bei 7 zu einer Pneumonie. Die Inzidenz für Pilzinfektionen lag im ersten Jahr bei 37%[148] . Ein weiterer Nachteil der (D)CB-Transplantationen ist, dass für die Patienten bei einem Transplantatversagen oder einem Rezidiv keine „second donation“ möglich ist, d.h. diese Patienten können kein zweites Transplantat vom ihrem ursprünglichen Spender erhalten. Auch eine adaptive Immuntherapie (z.B. mit Donor-Lymphozyten-Infusionen) bei Chimärismusverlust oder im Rezidivfall ist nicht möglich. Die Beschaffung von Nabelschnurbluttransplantaten ist zudem mit Kosten von ca. 20 000- 30 000 \$ (15 000- 23 000 €) pro Nabelschnurblut-Einheit erheblich teurer als die von peripheren Blutstammzell-Produkte (ca. 6000 \$ / 4,5000 €)[150]. Unter dem Vorbehalt der methodischen Limitationen sind die (D-)CB-Transplantationen in unserer Untersuchung den etablierteren MMURD-Transplantationen nicht unterlegen (die Endpunkte OS, DFS, RI und NRM betreffend). Doublecord-Transplantation weisen eine signifikant niedrigere Rate an GvHD auf. Damit scheint dieses Transplantationsverfahren eine Alternative im Falle eines fehlenden HLA-identischen bzw. eines nur partiell HLA-gemachten Fremdspenders zu sein. Während die signifikant niedrigere GvHD-Rate einen Vorteil darstellen könnte, wird dieser wahrscheinlich durch die erhöhten Infektraten und somit die erhöhte NRM

aufgrund der verzögerten Immunrekonstitution relativiert. Eine randomisierte Phase III Studie (BTM CTN 1101), die zurzeit in den USA durchgeführt wird und in der Doublecord-Transplantationen und PTCY-Haplotransplantationen verglichen werden, soll zusätzlichen Aufschluss über Vor- und Nachteile der beiden Verfahren liefern.

5.3 Haploidentische Transplantation mit hochdosierter Cyclophosphamid-Gabe nach Transplantation (PTCY-Haplotransplantation)

Die prinzipiellen Vorteile einer haploidentischen Transplantation liegen in der universellen Verfügbarkeit eines Spenders für nahezu alle Patienten, zudem meist einer Auswahlmöglichkeit des bestmöglichen Spenders aus mehreren Mitgliedern der Kernfamilie, der raschen Verfügbarkeit, sowie einem unkomplizierten Zugang zu weiteren Blutprodukten des Spenders zum Beispiel für eine zelluläre Immuntherapie, im Anschluss an die Transplantation [127]. Die Transplantation mit nachfolgender hochdosierter Cyclophosphamid-Gabe wurde initial an Tiermodellen getestet. Es konnte gezeigt werden, dass damit sowohl GvH-Reaktionen als auch Transplantatsabstoßungen (HvG-Reaktion) zu einem großen Teil verhindert werden können [151]. Die zugrundeliegende Vorstellung ist, dass Cyclophosphamid durch Hemmung der DNS-Replikation zu einer selektiven Zerstörung klonaler, alloreaktiver T-Zellen des Transplantats führt, die bei Antigen-Stimulation kurz nach der haploidentischen Transplantation rasch proliferieren. Gleichzeitig werden andere, weniger stark proliferierende Zellen der Lymphohämatopoiese, insbesondere ruhende T-Memory Zellen, verschont, die für die Immunrekonstitution nach der Transplantation essentiell sind [152]. Die im Transplantat vorhandenen hämatopoetischen Stammzellen weisen zudem eine hohe Aldehydehydrogenase-Aktivität auf, die sie gegenüber toxischen Effekten von Cyclophosphamid schützt und ihnen eine Resistenz gegenüber Cyclophosphamid vermittelt [152, 153]. Luznik et al. kamen zu der Schlussfolgerung, dass das sichere Anwachsen eines haploidentischen Transplantates in diesem Setting keine myeloablativen Konditionierung erfordert [154] und somit auch als Alternative für ältere Patienten oder solche mit Komorbiditäten, die dosisreduziert konditioniert werden, in Frage kommen kann. Diese haploidentische Transplantationsform stellt das jüngste und aktuellste der in der vorliegenden Arbeit

untersuchten Transplantationsverfahren dar. Es wurde ab dem Jahr 2009 an der Medizinischen Klinik und Poliklinik III des Klinikums der Universität München-Campus Grosshadern eingeführt, die damit eine der ersten Kliniken in Deutschland war, die es verwendete. Für die in dieser Arbeit untersuchten Verfahren ergibt sich somit die kürzeste Nachbeobachtungszeit.

Die Behandlungsergebnisse der PTCY-Haplotransplantationen waren in unserer Analyse ermutigend und sicher vergleichbar mit den Ergebnissen der anderen HLA-differenten Transplantationsverfahren. Das OS von 54% nach 2 Jahren war nicht niedriger als bei den MMURD- oder (D-)CB-Transplantationen. Bemerkenswert ist, dass hinsichtlich des DFS ein signifikant besseres Ergebnis erzielt werden konnte (HR 0,612; 95%-KI 0,328-0,981; p= 0,04) und dies, obwohl signifikant mehr Patienten in dieser Gruppe an Erkrankungen der B-Zellreihe litten. Diese Patienten hatten in unserem Gesamtkollektiv ein signifikant niedrigeres DFS (HR 1,948; 95%-KI 1,228-3,091; p= 0,004). Eine bessere Erkrankungskontrolle, vermittelt durch die HLA-Disparität des haploidentischen Transplantats, die möglicherweise zur Induktion eines stärkeren GvL-Effekts führt, könnte eine Erklärung für diese Beobachtung sein [155]. Zudem scheinen insbesondere Patienten mit lymphatischer Erkrankung von einer PTCY-Haplotransplantation zu profitieren, wie bereits in einer unserer Analysen zur PTCY-Haplotransplantation bei Patienten mit refraktärer Lymphomerkrankung [156] und mehrfach auch in anderen, internationalen Analysen zu beobachten war [117, 157-161]. So zeigte sich post oder propter des hohen Anteils der B-Zellerkrankungen in dieser Patientengruppe ein verbessertes DFS.

Die kumulative Inzidenz für akute GvHD (66%) war signifikant niedriger als bei den MMURD-Transplantationen, wobei insbesondere geringere Grade an aGvHD zu beobachten waren; die KI der aGvHD Grad II-IV lag bei 32% vs. 66% bei MMURD-Transplantationen ($p < 0,005$). Die chronische GvHD trat mit einer kumulativen Inzidenz von 33% auf, wobei Fälle einer „extensive disease“ nur bei 5 Patienten bzw. 7,6% aller PTCY-Haplotransplantationen vs. 24,5% bei den MMURD-Transplantationen zu beobachten waren. Bereits in der Pilotstudie von Luznik et al. hatte sich gezeigt, dass durch den Einsatz von hochdosiertem Cyclophosphamid, das kurz nach der Transplantation eines haploidentischen T-Zellhaltigen

Stammzellpräparats gegeben wird, wenig GvH-Erkrankungen auftreten (KI aGvHD Grad III-IV: 6%; KI cGvHD extensive disease: <10%) [117]. Dies bestätigte sich auch in unserem Patientenkollektiv. Das Verfahren stellt eine sehr effektive GvHD Prophylaxe dar, die signifikant bessere Ergebnisse im Vergleich zu MMURD-Transplantationen ermöglicht.

Sowohl im Vergleich zu den (D)CB-Transplantationen (38%), als auch zu den CD6-Haplotransplantation (34%) lag die NRM mit 22% deutlich niedriger, wenngleich dies in unserem Patientenkollektiv nur einen Trend darstellte und keine statistische Signifikanz erreichte ($p = 0,32$). Möglicherweise kann die Analyse einer größeren Patientenkohorte mit längerer Nachbeobachtungszeit diese in Zukunft erbringen.

Trotz des Hochrisikokollektivs der Patienten (84,8% mit fortgeschrittener Erkrankung), lag die RI nach 2 Jahren für PTCY-haplotransplantierte Patienten nur bei 26%. Zu beachten ist hierbei insbesondere der unter den PTCY-haplotransplantierten Patienten signifikant höhere Anteil von B-Zellerkrankungen (37,9%; $p = 0,045$). Diese waren in unserem Patientenkollektiv mit einer signifikant höhere RI verbunden (HR 2,018; 95%-KI 1,142-3567; $p < 0,005$), in gleicher Weise wie – nicht unerwartet – das Erkrankungsstadium (HR 4,780; 95%-KI 1,662-13,744; $p < 0,005$). Hier deutet sich möglicherweise der Effekt eines besseren GvL-Effekts vermittelt durch die HLA-Disparität an [155], der durch diese HLA-haploidentische Transplantationsform bei niedriger NRM erreicht werden kann. In einer von Munchel et al. 2011 veröffentlichten retrospektiven Studie mit 210 pädiatrischen Patienten, die mit diesem Transplantationsverfahren behandelt worden waren, zeigten sich ebenfalls ähnliche Resultate [162]. Das OS lag bei 60% nach einem Jahr und 48% nach zwei Jahren. Das DFS lag bei 43% nach einem Jahr und 34% nach zwei Jahren. Die NRM lag bei 18%. Die kumulative Inzidenz für eine aGvHD Grad II-IV und III-IV lagen bei jeweils 27% und 5%. Eine chronische GvHD trat mit einer kumulativen Inzidenz von 13% auf. Von 113 Patienten, die während des Beobachtungszeitraumes der Studie gestorben sind, war bei 79 Patienten ein Rezidiv oder Fortschreiten der Erkrankung die Todesursache. 15 Patienten starben an Infektionen (ohne GvHD oder Progression) und 5 Patienten starben an einer GvHD. Die relativ hohen Rezidivraten wurden auch in anderen Studien mit nicht-myeloablativer Konditionierung beobachtet [100]. Die höheren Rezidivraten sind möglicherweise durch die Verwendung dosisreduzierter

Konditionierungen in diesen Studien, vor allem bei Hochrisikoerkrankungen, zu erklären. So zeigten sich in zwei weiteren Studien zur PTCY-Haplotransplantation mit vorhergehender myeloablativer Konditionierung ähnliche aGvHD-Raten, etwas höhere cGvHD-Raten (26% und 35%), eine ähnliche NRM (10% und 18%), aber niedrigere Rezidivraten (22% und 40%) [163, 164]; dies ist auch in der vorliegenden Arbeit zu beobachten. Zur Dauer und zum Verlauf der Immunrekonstitution nach diesem Verfahren liegen bisher nur wenige Daten vor [135, 165]. Wir konnten zeigen, dass nach PTCY- im Vergleich zu CD6-Haplotransplantation eine bessere Immunrekonstitution, insbesondere der CD4+ T-Zellen, zu erwarten ist. Deutlich geringere Raten an Herpesvirus-Infektionen/Reaktivierungen und insbesondere an PTLDs sind zu beobachten. Der höhere Anteil von CD4+Zellen an Tag 100 nach Transplantation in der Gruppe der PTCY-haplotransplantierten Patienten zeigte sich als signifikanter positiver Überlebensprädiktor. Diese Patienten hatten eine signifikant geringere Wahrscheinlichkeit an einer Virusinfektion zu versterben, als Patienten nach einer CD6-Haplotransplantation [135]. Unter Berücksichtigung der Daten und Behandlungsergebnisse unserer Arbeitsgruppe [166, 167], scheinen die PTCY-Haplotransplantationen eine sichere und vielversprechende Alternative bei fehlendem HLA-kompatiblen Spender zu sein: Die Blutstammzell-Transplantate sind rasch verfügbar und kostengünstig, die Transplantationen können sowohl nach myeloablativer als auch nach dosisreduzierter Konditionierung sicher durchgeführt werden [168], es zeigen sich niedrigere GvHD-Raten als bei der MMURD-Transplantationen und weniger infektassoziierte Komplikationen als bei den (D-)CB-Transplantationen [169]. Im Falle eines Rezidivs oder einer refraktären Virusinfektion können adoptive Immuntherapien durchgeführt werden. In einer Reihe weiterer Studien ergaben sich zunehmend günstige Ergebnisse für dieses alternative Transplantationsverfahren:

Die Ergebnisse der PTCY-Haplotransplantation in einer von Brunstein et al. 2011 veröffentlichten prospektiven Studie zeigten sich als zumindest vergleichbar mit denen der Doublecord-Transplantation [100], in einer Studie von Bashey et al. im Jahr 2013 als sicher vergleichbar mit denen einer HLA-gemachten Fremdspendertransplantation [164] und nach einer retrospektiven Analyse von Raiola et al. aus dem Jahr 2014 auch als vergleichbar mit den Ergebnissen, die nach einer HLA-identischen Geschwistertransplantation zu erreichen sind; zudem ergab sich in dieser Studie ein

signifikant besseres Überleben nach PTCY-Haplotransplantation im Vergleich zur Doublecord-Transplantation [163].

5.4 Haploidentische Transplantation mit CD6+ T-Zelldepletion (CD6-Haplotransplantation)

Die haploidentische Transplantation mit CD6+ T-Zelldepletion ist ein Verfahren, dass zeitlich vor den PTCY-Haplotransplantationen an der Medizinischen Klinik und Poliklinik III des Klinikums der Universität München-Campus Grosshadern zur Anwendung kam. Dieses Verfahren zur HLA-differenten, haploidentischen Stammzelltransplantation entwickelte sich als eine von mehreren Strategien zur T-Zell Depletion, die allesamt das Ziel hatten, die historisch gesehen exzessiv hohen Raten an GvH-Erkrankungen und die hohen Raten an Transplantatabstötungen bei dieser Transplantationsform zu senken. Rohatiner und Soiffer konnten bereits frühzeitig zeigen, dass eine selektive Depletion von CD6+ T-Zellen die Inzidenz der GvHD senken kann, ohne dass dadurch das Anwachsen des Transplantates beeinträchtigt wird [170, 171]. T-Zelldepletionsverfahren werden jedoch auch mit einer starken Verzögerung der Immunrekonstitution in Verbindung gebracht, die häufige Infektionen, Rezidive und lymphoproliferative Störungen zur Folge haben kann [172, 173]. Die Patienten, die im Rahmen dieses haploidentischen Protokolls an unserem Transplantationszentrum behandelt wurden, erhielten ein nicht G-CSF stimuliertes Knochenmarktransplantat und 6 Tage danach G-CSF mobilisierte, CD6+ T-Zell-depletierte periphere Blutstammzellen, unter der Vorstellung, dadurch Toleranz zu induzieren [174, 175]. Es zeigte sich ein OS von 45% nach dem ersten- und 38% nach dem zweiten Jahr. Das DFS lag bei 31% nach zwei Jahren. Die RI nach einem Jahr und NRM lagen bei 32% und 29%. Hinsichtlich OS, DFS, RI und NRM zeigten sich keine signifikanten Unterschiede gegenüber den MMURD-Transplantationen. Die aGvHD-Inzidenz war signifikant niedriger als bei den MMURD-Transplantationen und betrug 47%. Die kumulative Inzidenz für eine aGvHD der Schweregrade II-IV lag bei 35% und war damit am zweitniedrigsten nach der Gruppe der PTCY-Haplotransplantationen (32%), sodass das ursprüngliche Ziel, die bei haploidentischen Transplantationen relativ hohen aGvHD-Raten zu senken, gelang. Einschränkend muss jedoch festgestellt werden, dass dieser Vorteil bei den CD6-

Haplotransplantationen womöglich durch ein häufigeres Auftreten des „konkurrierenden Ereignisses“, d.h. Tod innerhalb von 100 Tagen oder Rezidiv/bzw. Progression der Grunderkrankung, relativiert wurde (kumulative Inzidenz von 27% innerhalb von 100 Tagen, $p= 0,055$). Die KI der chronischen GvHD betrug 39% nach zwei Jahren, wobei insgesamt nur 6 Patienten eine „extensive disease“ hatten. Insgesamt waren die Resultate dieses Transplantationsverfahrens den anderen in vielen Endpunkten ähnlich, allerdings ist auf die im Vergleich zu den anderen HLA-differenten Transplantationsverfahren hohe NRM hinzuweisen, die 34% nach zwei Jahr betrug, während sie z.B. nach einer PTCY-Haplotransplantation bei nur 22% lag. In anderen nationalen oder internationalen Transplantationszentren wurden kaum CD6-Haplotransplantationen in grösserem Umfang, insbesondere bei Erwachsenen, durchgeführt, sodass ein Vergleich mit Daten aus der Literatur, sowie eine Bewertung im Kontext von grösseren Fallzahlen oder selektierteren Patientengruppen nicht möglich ist. Ein Problem der haploidentischen Transplantation mit T-Zelldepletion bleibt generell die verzögerte Immunrekonstitution: Da die Thymusfunktion bei Erwachsenen wenig zur Immunrekonstitution beiträgt, ist diese hauptsächlich von der peripheren Expansion der transplantierten T-Zellen abhängig; diese war jedoch in der hier untersuchten CD6-Haplotransplantation durch eine intensive in vivo T-Zelldepletion mit ATG und nachfolgende in-vitro T-Zelldepletion durch die Entfernung CD6+ T-Zellen deutlich kompromittiert. Die Empfänger waren und bleiben anfällig für lebensbedrohliche insbesondere opportunistische (Viren, Pilze) Infektionen. In diesem Setting traten gehäuft Fälle der PTLD auf (post-transplant lymphoproliferative disease, vgl. Kap. 1.5.5)[127], insbesondere im Vergleich zu den PTCY-Haplotransplantationen [135]. In unserem Transplantationszentrum wurde dieses Transplantationsverfahren nach dem Jahr 2006 nicht mehr durchgeführt.

5.5 Limitationen

Methodische Limitationen der Arbeit, die die Interpretation der gewonnenen Resultate erschweren, müssen an dieser Stelle Erwähnung finden: Allen voran sind der retrospektive Charakter der Analyse sowie die Heterogenität der Patientengruppen sowohl innerhalb der Vergleichsgruppen, als auch über die untersuchte

Gesamtpopulation hinweg, zu erwähnen. Diese Heterogenität zeigt sich in einer Vielzahl verschiedener Grunderkrankungen mit darüber hinaus teils differierenden prognostischen Merkmalen innerhalb der einzelnen Entitäten (z.B. AML mit Hochrisiko Zytogenetik vs. AML mit intermediärrisiko-Zytogenetik). Signifikante Unterschiede zeigten sich auch bei den Erkrankungsstadien (early vs. advanced), der Zeitspanne zwischen Erstdiagnose und Transplantation, sowie im Alter der Patienten und in der Fülle der unterschiedlichen eingesetzten Konditionierungsverfahren und GvHD-Prophylaxen. Der Versuch, die Patienten auf eine Diagnose, z.B. AML, die häufigste Diagnose), eine homogene Altersgruppe oder ein einheitliches Erkrankungsstadium zu beschränken, hätte eine zu geringe Fallzahl der einzelnen Subgruppen bedingt und somit keine ausreichend valide Analyse ermöglicht. In der Literatur zur hämatopoietischen Blutstammzelltransplantation und insbesondere bei den sich entwickelnden neuen Transplantationsverfahren stellt das Problem, ausreichende Fallzahlen in zunehmend heterogenen Gruppen zu erreichen, eine häufige Limitation dar. Ein speziell für die Stammzelltransplantation ausreichend validiertes und allgemein anerkanntes Instrument zur Risikostratifizierung über diverse Krankheitsentitäten, Krankheitsstadien und zytogenetische Merkmale hinweg existiert bisher leider nicht; es gibt jedoch Bemühungen in diese Richtung mit zum Teil vielversprechenden Aussichten [176]. Gerade zur Beurteilung der Sicherheit von Transplantationsverfahren, die häufig zwar klinisch etabliert, aber nur von wenigen, in erster Linie retrospektiv erhobenen Daten unterstützt sind, wie dies auch für die PTCY-Haplotransplantationen, die CD6-Haplotransplantation sowie die (D-)CB-Transplantationen in unserer Analyse gilt, ist auch eine deskriptive Bewertung der Resultate bereits nützlich. Ferner ist zu beachten, dass die in der vorliegenden Arbeit verglichenen Transplantationsverfahren zu unterschiedlichen Zeitpunkten eingeführt wurden: Obwohl Blutstammzelltransplantationen ab dem Jahr 2000 mit in die Auswertung eingeschlossen wurden, fand die erste Cordblood-Transplantation in Grossshadern erst im Jahr 2004 und die erste PTCY-Haplotransplantation im Jahr 2009 statt. So könnte, wie bereits zuvor erwähnt, ein statistischer Bias zugunsten letzterer Transplantationsverfahren bzw. zu Ungunsten der MMURD und CD6-Haplotransplantationen entstehen und somit den direkten Vergleich erschweren. Eine statistische Analyse der (D-)CB-Transplantationen war trotz der geringen Fallzahl möglich, sollte aber mit Vorsicht interpretiert werden. Ein Vergleich unserer Daten mit

der Literatur zeigt, dass die Ergebnisse im allgemeinen Trend liegen und nachvollziehbar sind.

In den uni- und multivariaten Analysen der Daten hatten etablierte Einflussfaktoren wie Grunderkrankung, Zytogenetik, Remissionsstatus (early vs. advanced) sowie Dauer zwischen Diagnosestellung und Transplantation oftmals keinen signifikanten Einfluss; dies könnte in einer nicht immer ausreichenden Power begründet sein.

5.6 Ausblick

Das Ziel dieser Arbeit war, besser einschätzen zu können, ob eines von vier möglichen HLA-Mismatch-Transplantationsverfahren bei fehlendem HLA-identischen Blutstammzellspender bevorzugt werden sollte. Von besonderem Interesse war die Beurteilung des damals neuen und im klinischen Alltag gut praktikablen Protokolls der PTCY-Haplotransplantation. Unter Vorbehalt der oben erwähnten Limitationen der Arbeit hat sich dieses Verfahren in unserer retrospektiven Analyse als mindestens nicht unterlegen, wenn nicht sogar vorteilhafter als die anderen Verfahren herausgestellt. Bei dringlicher Notwendigkeit einer allogenen Blutstammzelltransplantation haben PTCY- oder (D-)CB-Transplantationen gegenüber einer MMURD-Transplantation den Vorteil einer deutlich schnelleren Verfügbarkeit, bei geringeren GvHD-Raten und wahrscheinlich zumindest vergleichbarem Gesamtüberleben [163]. Der logistische Aufwand und die Beschaffungskosten im Rahmen einer PTCY-Haplotransplantation sind als günstiger im Vergleich zu (D-)CB und MMURD-Transplantationen einzuschätzen. (D-)CB-Transplantationen und CD6-Haplotransplantationen haben den Nachteil einer verzögerten Immunrekonstitution, der insbesondere bei Patienten mit EBV-/CMV- Seropositivität oder anderen infektiösen Problemen bedacht werden muss [177, 178]; weiterhin besteht im Setting der (D)CB-Transplantation keine Möglichkeit zur adoptiven Immuntherapie. In den letzten, wenigen Jahren nach unserem Beobachtungszeitraum zeichnen sich - bei wachsenden Fallzahlen für die PTCY-Haplotransplantationen - zunehmend unterstützende Ergebnisse für dieses Verfahren in mehreren prospektiven Studien (Phase II) ab (CTN 0603 und CTN 0604: Vergleich PTCY und DCB) [100, 159, 179]. Eine randomisierte Phase III Studie (BTM CTN 1101), die zurzeit in den USA durchgeführt wird und in der ebenfalls PTCY-

Haplotransplantationen mit DCB-Transplantationen (nach RIC) verglichen werden, wird zusätzlichen Aufschluss über Vor- und Nachteile der beiden Verfahren liefern. Nach unserer Einschätzung und den aktuellen Entwicklungen im Bereich der Blutstammzelltransplantationen werden PTCY-Haplotransplantationen immer mehr an Bedeutung gewinnen und die konventionellen MMURD-Transplantationen bei fehlendem vollständig HLA-kompatiblen Stammzellspender ablösen. Randomisierte Studien befinden sich bereits in Planung. Prospektive randomisierte Studien werden die Methode auch gegen andere etablierte Transplantationsstrategien vergleichen, um die Ergebnisse bei definierten Erkrankungsentitäten noch weiter verbessern zu können. In kleineren risikoadjustierten retrospektiven Studien zeigten sich bereits Ergebnisse vergleichbar mit 8/8 gematchten Fremdspender-Transplantationen [161, 164]. Den Vergleich der PTCY-Haplotransplantation mit T-Zell depletierenden Verfahren betreffend, besteht aktuell der Konsens, dass letztere nur bei anschließender Möglichkeit einer adoptiven Immuntherapie durchgeführt werden sollten (italienischer Konsensus) [180]. In den aktuell vorgetragenen und publizierten Daten spielen diese Verfahren, die eine in-vitro T-Zelldepletion beinhalten, eine zunehmend geringere Rolle.

Über unseren Beobachtungszeitraum und unseren Vergleich hinausblickend, gewinnt die PTCY-Haplotransplantation nicht nur im Bereich der Mismatch-Transplantation zunehmend an Bedeutung, sondern wird bereits mit einer Reihe etablierter Strategien wie der vollständig HLA-kompatiblen Fremdspender- und HLA-identischen Geschwistertransplantation verglichen und zeigt dort ähnliche Resultate [163] .

6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden Ergebnisse von vier verschiedenen Methoden der HLA-differenten Blutstammzelltransplantation, die bei Fehlen eines HLA-identischen Blutstammzellspenders zur Anwendung kommen können, retrospektiv analysiert: 1) Mismatch-Fremdspendertransplantation, 2) Transplantation von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut, 3) HLA-haploidentische Transplantation mit hochdosiertem Cyclophosphamid post transplantationem und 4) HLA-haploidentische Transplantation mit CD6+ T-Zelldepletion. Es wurden die Daten von 248 HLA-Mismatchtransplantationen, die im Zeitraum von September 2000 bis Januar 2014 an der Medizinischen Klinik und Poliklinik III am Klinikum der Universität München-Campus Großhadern (Ludwigs-Maximilians Universität München) durchgeführt worden waren, ausgewertet. Die behandelten Patienten waren in erster Linie an einer AML/sAML oder einem MDS (54,4%) erkrankt. 16.5% litten an einer ALL, ebenfalls 16,5% an einer B-Zellerkrankung (CLL,NHL,MZL) und 12,5% an anderen Erkrankungen (CML, MMY, SAA) . Der Altersmedian lag bei 47 Jahren (18-72).

Die Gruppe der MMURD-Transplantationen wies ein OS von 48% und ein DFS von 41% nach 2 Jahren auf. Die NRM lag bei 35% und die RI lag bei 24% nach 2 Jahren. Eine akute GvHD trat in 79% der Fälle auf, die kumulative Inzidenzrate für aGvHD der Schweregrade II-IV lag bei 66%. Die 2-Jahresinzidenz für chronische GvHD lag bei 54%; Bei (D-)CB-Transplantationen lag das 2-Jahres OS und DFS bei 46% und 39%. Die NRM lag bei 38% nach 2 Jahren und die RI lag bei 23% nach 2 Jahren. Akute und chronische GvHD traten mit Inzidenzen von 58% und 27% auf, jedoch deutlich seltener als bei den MMURD-Transplantationen mit schweren Erkrankungsverläufen. Bei den PTCY-Haplotransplantationen lag das 2-Jahres-OS und -DFS bei 54% und 52%. Das DFS erwies sich im multivariaten Regressionsmodell als signifikant höher als bei den anderen Transplantationsverfahren. Die NRM lag bei 22% nach 2 Jahren und war somit die vergleichsweise niedrigste in unserem Patientenkollektiv der HLA-differenten Transplantationen. Rezidive traten mit einer Inzidenz von 26% innerhalb von 2 Jahren auf. Akute und chronische GvHD traten mit einer Inzidenz von 61% und 33% auf, allerdings wiederum deutlich seltener mit schweren Erkrankungsverläufen verglichen mit den MMURD-Transplantationen. In der Gruppe der CD6-Haplotransplantationen lag das 2-Jahres OS und DFS bei 38% und 31%, und die NRM betrug nach 2 Jahren

34%. Rezidive traten mit einer Inzidenz von 34% nach 2 Jahren auf. Akute und chronische GvHD traten jeweils mit 47% und 39% auf. Unter Vorbehalt vorhandener Limitationen der Arbeit (allem voran der Heterogenität der Stichproben) waren die Ergebnisse der damals noch neuen PTCY-Haplotransplantation in den meisten Endpunkten mit denen der etablierteren MMURD-Transplantationen vergleichbar - in den Endpunkten DFS, aGvHD und tendenziell auch der cGvHD sogar überlegen. Auch die Ergebnisse der (D-)CB-Transplantationen waren akzeptabel, jedoch bleiben u.a. die verzögerte Immunrekonstitution und die höheren Kosten Nachteile dieses Verfahrens. Diese retrospektive Analyse lässt den Schluss zu, dass sowohl (D-)CB-Transplantationen als auch haploidatische Transplantationen, insbesondere PTCY-Haplotransplantationen, geeignete alternative Transplantationsverfahren für Patienten mit hämatologischen (Hochrisiko-) Erkrankungen sind, die bei Fehlen eines HLA-identischen Familien- oder Fremdspenders verwendet werden können. Diese Verfahren haben, verglichen mit den Fremdspender-Mismatchtransplantationen, eine geringere Inzidenz und weniger schwere Verläufe an Graft-versus Host-Erkrankungen, sowie vergleichbare Gesamtüberlebensraten. Bei den PTCY-haplotransplantierten Patienten konnte zudem ein signifikant besseres DFS bei akzeptabler und niedrigerer NRM beobachtet werden. Nach unseren Ergebnissen und unserer Einschätzung stellt die PTCY-Haplotransplantation eine vielversprechende Alternative im Bereich der Mismatch Transplantationen dar und wird in Zukunft zunehmend an Bedeutung gewinnen.

7. Anhang

7.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Pathophysiologie der GvHD nach Hill/Ferrara	19
Abbildung 2: Schema der PTCY-Haplotransplantation, modifiziert nach Luznik	33
Abbildung 3: Gesamtüberleben nach Therapieform	43
Abbildung 4: Erkrankungsfreies Überleben nach alternativer Therapieform.....	45
Abbildung 5: Kumulative Inzidenz der akuten GvDH nach Therapieform	47
Abbildung 6: Kumulative Inzidenz der akuten GvDH Grad II-IV nach Therapieform.	47
Abbildung 7: Kumulative Inzidenz der chronischen GvHD nach Therapieform.....	50
Abbildung 8: Rezidivinzidenz stratifiziert nach Therapieform.....	52
Abbildung 9: Non-Relapse Mortality nach Therapieform	54

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klinische Indikationen zur allogenen Stammzelltransplantation	7
Tabelle 2: Vergleich unterschiedlicher Stammzellquellen	13
Tabelle 3: Staging der akuten GvHD nach den modifizierten Glucksberg Kriterien ..	22
Tabelle 4: Grading der akuten GvHD	22
Tabelle 5: Historische Gradingeinteilung der chronischen GvHD	22
Tabelle 6: Konditionierungsschemata innerhalb der MMURD-Gruppe.	30
Tabelle 7: GvHD-Prophylaxe innerhalb der MMURD-Gruppe.....	31
Tabelle 8: Konditionierungsschemata innerhalb der (D-)CB-Gruppe.	32
Tabelle 9: GvHD-Prophylaxe innerhalb (D-)CB-Gruppe.....	32
Tabelle 10: Konditionierungsschemata innerhalb PTCY-Haplo-Gruppe.....	34
Tabelle 11: Konditionierungsschemata innerhalb CD6-Haplo-Gruppe	36
Tabelle 13: Patientencharakteristika des Gesamtkollektivs.	38
Tabelle 14: Patientencharakteristika der Vergleichsgruppen.	39
Tabelle 15: ELN-Klassifikation der AML-Zytogenetik	41
Tabelle 16: Univariate Analyse für den Endpunkt Gesamtüberleben	44
Tabelle 17: Univariate Analyse für den Endpunkt DFS.	46
Tabelle 18: Multivariate Analyse für den Endpunkt DFS.	46
Tabelle 19: Univariate Analyse für den Endpunkt aGvHD aller Stadien.....	49

Tabelle 21: Univariate Analyse für den Endpunkt cGvHD	51
Tabelle 22: Univariate Analyse für den Endpunkt RI.....	53
Tabelle 23: Multivariate Analyse für den Endpunkt RI.....	53
Tabelle 24 Univariate Analyse für den Endpunkt NRM	55
Tabelle 25: Multivariate Analyse für den Endpunkt NRM	55

7.3 Literaturverzeichnis

1. Copelan , E.A., *Hematopoietic Stem-Cell Transplantation*. New England Journal of Medicine, 2006. **354**(17): p. 1813-1826.
2. Wagner, J.E. and E. Gluckman, *Umbilical cord blood transplantation: the first 20 years*. Semin Hematol, 2010. **47**(1): p. 3-12.
3. ZKRD.
http://www.zkrd.de/de/informationen_fuer_knochenmarkspender/wo_wird_gesucht.php. 2011.
4. Sieburg, H.B., et al., *The hematopoietic stem compartment consists of a limited number of discrete stem cell subsets*. Blood, 2006. **107**(6): p. 2311-6.
5. Bongso, A. and E.H. Lee, *Stem cells: from bench to bedside*. 2005: World Scientific.
6. Soiffer, R.J., *Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. 2008: Humana Press.
7. Gallacher, L., et al., *Isolation and characterization of human CD34-Lin- and CD34+Lin- hematopoietic stem cells using cell surface markers AC133 and CD7*. Blood, 2000. **95**(9): p. 2813-2820.
8. Murray, L., et al., *Analysis of human hematopoietic stem cell populations*. Blood Cells, 1994. **20**(2-3): p. 364-9; discussion 369-70.
9. Morel, F., et al., *Primitive hematopoietic cells in murine bone marrow express the CD34 antigen*. Blood, 1996. **88**(10): p. 3774-84.
10. Bishop, M.R., *Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. 2009: Springer.
11. Thomas, E.D., et al., *Bone-marrow transplantation (second of two parts)*. N Engl J Med, 1975. **292**(17): p. 895-902.
12. Ljungman, P., et al., *Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe*. Bone Marrow Transplant, 2006. **37**(5): p. 439-449.
13. Thomas, E., et al., *Bone-marrow transplantation (first of two parts)*. N Engl J Med, 1975. **292**(16): p. 832-43.
14. Atkinson, K., *Clinical bone marrow and blood stem cell transplantation*. 2004: Cambridge University Press.
15. Jacobson, L.O., et al., *Recovery from radiation injury*. Science, 1951. **113**(2940): p. 510-11.
16. Lorenz, E., et al., *Modification of irradiation injury in mice and guinea pigs by bone marrow injections*. J Natl Cancer Inst, 1951. **12**(1): p. 197-201.
17. Trentin, J.J., *Mortality and skin transplantability in x-irradiated mice receiving isologous, homologous or heterologous bone marrow*. Proc Soc Exp Biol Med, 1956. **92**(4): p. 688-93.
18. Main, J.M. and R.T. Prehn, *Successful skin homografts after the administration of high dosage X radiation and homologous bone marrow*. J Natl Cancer Inst, 1955. **15**(4): p. 1023-9.

19. Ledney, G.D. and D.W. van Bekkum, *Secondary disease in irradiated mice grafted with allogeneic bone marrow from antilymphocyte serum-treated donors*. J Natl Cancer Inst, 1969. **42**(4): p. 633-41.
20. Van Bekkum, D.W., O. Vos, and W.W.H. Weyzen, *THE PATHOGENESIS OF THE SECONDARY DISEASE AFTER FOREIGN BONE MARROW TRANSPLANTATION IN X-IRRADIATED MICE*. Journal Name: Journal of the National Cancer Institute (U.S.) Changed to JNCI, J. Natl. Cancer Inst.; Journal Volume: Vol: 23; Other Information: Orig. Receipt Date: 31-DEC-59, 1959: p. Medium: X; Size: Pages: 75-89.
21. Goodman, J.W. and G.S. Hodgson, *Evidence for stem cells in the peripheral blood of mice*. Blood, 1962. **19**: p. 702-14.
22. Baron, F., R. Storb, and M.-T. Little, *Hematopoietic cell transplantation: five decades of progress*. Archives of Medical Research, 2003. **34**(6): p. 528-544.
23. Perry, A.R. and D.C. Linch, *The history of bone-marrow transplantation*. Blood Rev, 1996. **10**(4): p. 215-9.
24. Dameshek, W., *Editorial: Bone Marrow Transplantation—A Present-Day Challenge*. Blood, 1957. **12**(4): p. 321-323.
25. Barnes, D.W. and J.F. Loutit, *Treatment of murine leukaemia with x-rays and homologous bone marrow. II*. Br J Haematol, 1957. **3**(3): p. 241-52.
26. REKERS, P.E., M.P. COULTER, and S.L. WARREN, *EFFECT OF TRANSPLANTATION OF BONE MARROW INTO IRRADIATED ANIMALS*. Arch Surg, 1950. **60**(4): p. 635-667.
27. Armitage, J.O., *Bone marrow transplantation*. N Engl J Med, 1994. **330**(12): p. 827-38.
28. Goldman, J.M., *Autografting cryopreserved buffy coat cells for chronic granulocytic leukaemia in transformation*. Exp Hematol, 1979. **7 Suppl 5**: p. 389-97.
29. Kessinger, A., et al., *Autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation restores hematopoietic function following marrow ablative therapy*. Blood, 1988. **71**(3): p. 723-727.
30. Storb, R., et al., *Marrow grafts by combined marrow and leukocyte infusions in unrelated dogs selected by histocompatibility typing*. Transplantation, 1968. **6**(4): p. 587-93.
31. Epstein, R.B., et al., *Cytotoxic typing antisera for marrow grafting in littermate dogs*. Transplantation, 1968. **6**(1): p. 45-58.
32. Storb, R., et al., *Marrow engraftment by allogeneic leukocytes in lethally irradiated dogs*. Blood, 1967. **30**(6): p. 805-11.
33. Hiddemann, W. and C.R. Bartram, *Die Onkologie*. 2009: Springer.
34. Weiden, P.L., et al., *Antileukemic effect of chronic graft-versus-host disease: contribution to improved survival after allogeneic marrow transplantation*. N Engl J Med, 1981. **304**(25): p. 1529-33.
35. Butturini, A., M.M. Bortin, and R.P. Gale, *Graft-versus-leukemia following bone marrow transplantation*. Bone Marrow Transplant, 1987. **2**(3): p. 233-42.
36. Weiden , P.L., et al., *Antileukemic Effect of Graft-versus-Host Disease in Human Recipients of Allogeneic-Marrow Grafts*. New England Journal of Medicine, 1979. **300**(19): p. 1068-1073.
37. Beatty, P.G., et al., *Marrow transplantation from related donors other than HLA-identical siblings*. N Engl J Med, 1985. **313**(13): p. 765-71.
38. Powles, R.L., et al., *MISMATCHED FAMILY DONORS FOR BONE-MARROW TRANSPLANTATION AS TREATMENT FOR ACUTE LEUKAEMIA*. The Lancet, 1983. **321**(8325): p. 612-615.

39. Apperley, E.C., E. Gluckman, A. Gratwohl, T. Masszi, ed. *The EBMT-ESH Handbook*. 2008.
40. Passarge, E., *Color atlas of genetics*. 2007: Thieme.
41. Mehra, N.K., *The HLA complex in biology and medicine: a resource book*. 2010: Jaypee Medical Publishers.
42. Marsh, S.G.E., P. Parham, and L.D. Barber, *The HLA factsbook*. 2000: Academic Press.
43. Barker, J.N., et al., *Survival after transplantation of unrelated donor umbilical cord blood is comparable to that of human leukocyte antigen-matched unrelated donor bone marrow: results of a matched-pair analysis*. Blood, 2001. **97**(10): p. 2957-61.
44. Goulmy, E., et al., *Mismatches of minor histocompatibility antigens between HLA-identical donors and recipients and the development of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation*. N Engl J Med, 1996. **334**(5): p. 281-5.
45. Treleaven, J. and A.J. Barrett, *Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Clinical Practice*. 2008: Churchill Livingstone/Elsevier.
46. Hillyer, C.D., *Blood banking and transfusion medicine: basic principles & practice*. 2007: Churchill Livingstone/Elsevier.
47. La Nasa, G., et al., *Unrelated donor bone marrow transplantation for thalassemia: the effect of extended haplotypes*. Blood, 2002. **99**(12): p. 4350-6.
48. Aversa, F., et al., *Treatment of High-Risk Acute Leukemia with T-Cell-Depleted Stem Cells from Related Donors with One Fully Mismatched HLA Haplotype*. New England Journal of Medicine, 1998. **339**(17): p. 1186-1193.
49. Rubinstein, P., et al., *Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors*. N Engl J Med, 1998. **339**(22): p. 1565-77.
50. Kernan, N.A., et al., *Analysis of 462 transplants from unrelated donors facilitated by the National Marrow Donor Program*. N Engl J Med, 1993. **328**(9): p. 593-602.
51. Thomas, E.D., et al., *Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man*. J Clin Invest, 1959. **38**: p. 1709-16.
52. Thomas, E.D., et al., *Intravenous infusion of bone marrow in patients receiving radiation and chemotherapy*. N Engl J Med, 1957. **257**(11): p. 491-6.
53. ZKRD.
https://www.zkrd.de/de/informationen_fuer_knochenmarkspender/ablauf_einer_spende.php. 2011; Available from: http://www.zkrd.de/de/informationen_fuer_knochenmarkspender/ablauf_einer_spende.php.
54. Abkowitz, J.L., *Can human hematopoietic stem cells become skin, gut, or liver cells?* N Engl J Med, 2002. **346**(10): p. 770-2.
55. Gianni, A.M., et al., *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to harvest circulating haemopoietic stem cells for autotransplantation*. Lancet, 1989. **2**(8663): p. 580-5.
56. Farley, T.J., et al., *Optimization of CD34+ cell selection using immunomagnetic beads: implications for use in cryopreserved peripheral blood stem cell collections*. J Hematother, 1997. **6**(1): p. 53-60.
57. Ottinger, H., et al., *Improved immune reconstitution after allotransplantation of peripheral blood stem cells instead of bone marrow*. Blood, 1996. **88**(7): p. 2775-2779.

58. Bensinger, W.I., et al., *Transplantation of allogeneic peripheral blood stem cells mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor*. Blood, 1995. **85**(6): p. 1655-8.
59. Gratwohl, A., et al., *EBMT activity survey 2004 and changes in disease indication over the past 15 years*. Bone Marrow Transplant, 2006. **37**(12): p. 1069-85.
60. Anasetti, C., B.R. Logan, and D.L. Confer, *Peripheral-blood versus bone marrow stem cells*. N Engl J Med, 2013. **368**(3): p. 288.
61. Hoffbrand, A.V., et al., *Postgraduate Haematology*. 2011: Wiley.
62. Schrezenmeier, H., et al., *Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia*. Blood, 2007. **110**(4): p. 1397-400.
63. Haspel, R.L. and K.K. Ballen, *Double cord blood transplants: filling a niche?* Stem Cell Rev, 2006. **2**(2): p. 81-6.
64. Barker, J.N., et al., *Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy*. Blood, 2005. **105**(3): p. 1343-7.
65. Tse, W. and M.J. Laughlin, *Umbilical Cord Blood Transplantation: A New Alternative Option*. ASH Education Program Book, 2005. **2005**(1): p. 377-383.
66. Truitt, R. and A. Atasoylu, *Impact of pretransplant conditioning and donor T cells on chimerism, graft-versus-host disease, graft-versus-leukemia reactivity, and tolerance after bone marrow transplantation*. Blood, 1991. **77**(11): p. 2515-2523.
67. Vriesendorp, H.M., *Aims of conditioning*. Experimental Hematology, 2003. **31**(10): p. 844-854.
68. Baranov, A., et al., *Bone marrow transplantation after the Chernobyl nuclear accident*. N Engl J Med, 1989. **321**(4): p. 205-12.
69. Servais, S., F. Baron, and Y. Beguin, *Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) after reduced intensity conditioning*. Transfus Apher Sci, 2011. **44**(2): p. 205-10.
70. Kamble, R.T., M. Hamadani, and G.B. Selby, *Delayed myeloid engraftment due to vancomycin in allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2006. **57**(4): p. 795-796.
71. Schmid, C., et al., *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, 2005. **23**(24): p. 5675-5687.
72. Thomas, E.D., et al., *Thomas' hematopoietic cell transplantation*. 2004: Blackwell Pub.
73. Maziarz, R.T. and S. Slater, *Blood and Marrow Transplant Handbook: Comprehensive Guide for Patient Care*. 2010: Springer.
74. Storek, J., et al., *Infectious morbidity in long-term survivors of allogeneic marrow transplantation is associated with low CD4 T cell counts*. American Journal of Hematology, 1997. **54**(2): p. 131-138.
75. Eapen, M., et al., *Second transplant for acute and chronic leukemia relapsing after first HLA-identical sibling transplant*. Bone Marrow Transplant, 2004. **34**(8): p. 721-7.
76. Bosi, A., et al., *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, 2001. **19**(16): p. 3675-84.

77. Kumar, L., *Leukemia: management of relapse after allogeneic bone marrow transplantation*. J Clin Oncol, 1994. **12**(8): p. 1710-7.
78. Mrsic, M., et al., *Second HLA-identical sibling transplants for leukemia recurrence*. Bone Marrow Transplant. 1992 Apr;9(4):269-75.
79. Kolb, H., et al., *Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients*. Blood, 1990. **76**(12): p. 2462-2465.
80. Savani, B.N., et al., *Management of relapse after allo-SCT for AML and the role of second transplantation*. Bone Marrow Transplant, 2009. **44**(12): p. 769-77.
81. Schmid, C., et al., *Treatment, risk factors, and outcome of adults with relapsed AML after reduced intensity conditioning for allogeneic stem cell transplantation*. Blood, 2012. **119**(6): p. 1599-606.
82. Spyridonidis, A., et al., *Outcomes and prognostic factors of adults with acute lymphoblastic leukemia who relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation. An analysis on behalf of the Acute Leukemia Working Party of EBMT*. Leukemia, 2012. **26**(6): p. 1211-7.
83. Mattsson, J., O. Ringdén, and R. Storb, *Graft Failure after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation*. Biology of Blood and Marrow Transplantation, 2008. **14**(1, Supplement): p. 165-170.
84. Lazarus, H. and M. Laughlin, *Allogeneic Stem Cell Transplantation*. 2009: SPRINGER VERLAG NY.
85. Reddy, P. and J.L. Ferrara, *Immunobiology of acute graft-versus-host disease*. Blood Rev, 2003. **17**(4): p. 187-94.
86. Jacobsohn, D.A. and G.B. Vogelsang, *Acute graft versus host disease*. Orphanet J Rare Dis, 2007. **2**: p. 35.
87. Hill, G.R. and J.L. Ferrara, *The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft-versus-host disease: rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation*. Blood, 2000. **95**(9): p. 2754-9.
88. Khan, M.M., *Immunopharmacology*. 2008: Springer.
89. Glucksberg, H., et al., *Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors*. Transplantation, 1974. **18**(4): p. 295-304.
90. Przepiorka, D., et al., *1994 Consensus Conference on Acute GVHD Grading*. Bone Marrow Transplant, 1995. **15**(6): p. 825-8.
91. Rowlings, P.A., et al., *IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade*. Br J Haematol, 1997. **97**(4): p. 855-64.
92. Atkinson, K., et al., *Analysis of late infections in 89 long-term survivors of bone marrow transplantation*. Blood, 1979. **53**(4): p. 720-31.
93. Filipovich, A.H., *Diagnosis and manifestations of chronic graft-versus-host disease*. Best Practice & Research Clinical Haematology, 2008. **21**(2): p. 251-257.
94. Cuthbert, R.J., et al., *Functional hyposplenism following allogeneic bone marrow transplantation*. J Clin Pathol, 1995. **48**(3): p. 257-9.
95. Hilgendorf, I., et al., *Vaccination of allogeneic haematopoietic stem cell transplant recipients: Report from the International Consensus Conference on Clinical Practice in chronic GVHD*. Vaccine, 2011. **29**(16): p. 2825-2833.
96. Vigorito, A.C., et al., *Evaluation of NIH consensus criteria for classification of late acute and chronic GVHD*. Blood, 2009. **114**(3): p. 702-8.

97. Filipovich, A.H., et al., *National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report*. Biol Blood Marrow Transplant, 2005. **11**(12): p. 945-56.
98. Greinix, H.T., et al., *Diagnosis and staging of chronic graft-versus-host disease in the clinical practice*. Biol Blood Marrow Transplant, 2011. **17**(2): p. 167-75.
99. Degos, L., D.C. Linch, and B. Löwenberg, *Textbook of malignant hematology*. 2005: Taylor & Francis.
100. Brunstein, C.G., et al., *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, 2011. **118**(2): p. 282-8.
101. Kernan, N.A., et al., *Analysis of 462 Transplantations from Unrelated Donors Facilitated by the National Marrow Donor Program*. New England Journal of Medicine, 1993. **328**(9): p. 593-602.
102. Arora, M., *Therapy of chronic graft-versus-host disease*. Best practice & research. Clinical haematology, 2008. **21**(2): p. 271-279.
103. Wolff, D., et al., *Consensus Conference on Clinical Practice in Chronic GVHD: Second-Line Treatment of Chronic Graft-versus-Host Disease*. Biology of Blood and Marrow Transplantation. **17**(1): p. 1-17.
104. Zaja, F., et al., *Treatment of refractory chronic GVHD with rituximab: a GITMO study*. Bone Marrow Transplant, 2007. **40**(3): p. 273-7.
105. Klassen, J., *The role of photopheresis in the treatment of graft-versus-host disease*. Curr Oncol, 2010. **17**(2): p. 55-8.
106. Shulman, H.M., et al., *Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients*. Am J Med, 1980. **69**(2): p. 204-17.
107. Cant, A.J., A. Galloway, and G. Jackson, *Practical Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. 2007: Blackwell Pub.
108. Dykewicz, C.A., *Summary of the Guidelines for Preventing Opportunistic Infections among Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients*. Clin Infect Dis, 2001. **33**(2): p. 139-44.
109. Fukuda, T., et al., *Risks and outcomes of invasive fungal infections in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplants after nonmyeloablative conditioning*. Blood, 2003. **102**(3): p. 827-33.
110. Gottschalk, S., C.M. Rooney, and H.E. Heslop, *Post-transplant lymphoproliferative disorders*. Annu Rev Med, 2005. **56**: p. 29-44.
111. *Guidelines for preventing opportunistic infections among hematopoietic stem cell transplant recipients. Recommendations of CDC, the Infectious Disease Society of America, and the American Society of Blood and Marrow Transplantation*. Cytotherapy, 2001. **3**(1): p. 41-54.
112. Loren, A.W., et al., *Post-transplant lymphoproliferative disorder: a review*. Bone Marrow Transplant, 2003. **31**(3): p. 145-55.
113. Curtis, R.E., et al., *Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study*. Blood, 1999. **94**(7): p. 2208-16.
114. Rocha, V., et al., *Double cord blood transplantation: extending the use of unrelated umbilical cord blood cells for patients with hematological diseases*. Best Pract Res Clin Haematol, 2010. **23**(2): p. 223-9.
115. RJ, G., *A class of K-sample tests for comparing the cumulative incidence of a competing risk*. ANNALS OF STATISTICS, (1988). **16**:1141-1154.

116. Wasch, R., et al., *Rapid achievement of complete donor chimerism and low regimen-related toxicity after reduced conditioning with fludarabine, carmustine, melphalan and allogeneic transplantation*. Bone Marrow Transplant, 2000. **26**(3): p. 243-50.
117. Luznik, L., et al., *HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide*. Biol Blood Marrow Transplant, 2008. **14**(6): p. 641-50.
118. Dohner, H., et al., *Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet*. Blood, 2010. **115**(3): p. 453-74.
119. Negrin, R.S., *Donor selection for hematopoietic cell transplantation in www.uptodate.com*. 2016.
120. Lee, S.J., et al., *High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation*. Blood, 2007. **110**(13): p. 4576-83.
121. Loiseau, P., et al., *HLA Association with hematopoietic stem cell transplantation outcome: the number of mismatches at HLA-A, -B, -C, -DRB1, or -DQB1 is strongly associated with overall survival*. Biol Blood Marrow Transplant, 2007. **13**(8): p. 965-74.
122. Furst, D., et al., *High-resolution HLA matching in hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective collaborative analysis*. Blood, 2013. **122**(18): p. 3220-9.
123. Morishima, Y., et al., *Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation*. Blood, 2015. **125**(7): p. 1189-97.
124. Rambaldi, A., et al., *Outcome of patients activating an unrelated donor search: the impact of transplant with reduced intensity conditioning in a large cohort of consecutive high-risk patients*. Leukemia, 2012. **26**(8): p. 1779-1785.
125. Oudshoorn, M., et al., *Problems and possible solutions in finding an unrelated bone marrow donor. Results of consecutive searches for 240 Dutch patients*. Bone Marrow Transplant, 1997. **20**(12): p. 1011-7.
126. Nademanee, A., et al., *The outcome of matched unrelated donor bone marrow transplantation in patients with hematologic malignancies using molecular typing for donor selection and graft-versus-host disease prophylaxis regimen of cyclosporine, methotrexate, and prednisone*. Blood, 1995. **86**(3): p. 1228-34.
127. Reisner, Y., D. Hagin, and M.F. Martelli, *Haploididential hematopoietic transplantation: current status and future perspectives*. Blood, 2011.
128. Munchel, A.T., Y.L. Kasamon, and E.J. Fuchs, *Treatment of hematological malignancies with nonmyeloablative, HLA-haploididential bone marrow transplantation and high dose, post-transplantation cyclophosphamide*. Best Practice & Research Clinical Haematology, 2011. **24**(3): p. 359-368.
129. Ho, V.T. and R.J. Soiffer, *The history and future of T-cell depletion as graft-versus-host disease prophylaxis for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Blood, 2001. **98**(12): p. 3192-204.
130. Keever, C., et al., *Immune reconstitution following bone marrow transplantation: comparison of recipients of T-cell depleted marrow with recipients of conventional marrow grafts*. Blood, 1989. **73**(5): p. 1340-1350.
131. Roux, E., et al., *Analysis of T-cell repopulation after allogeneic bone marrow transplantation: significant differences between recipients of T-cell depleted and unmanipulated grafts*. Blood, 1996. **87**(9): p. 3984-92.

132. Munchel, A.T., Y.L. Kasamon, and E.J. Fuchs, *Treatment of hematological malignancies with nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation and high dose, post-transplantation cyclophosphamide*. Best Pract Res Clin Haematol, 2011. **24**(3): p. 359-68.
133. Sideri, A., et al., *An overview of the progress on double umbilical cord blood transplantation*. Haematologica, 2011. **96**(8): p. 1213-1220.
134. Brunstein, C.G., et al., *Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy: relative risks and benefits of double umbilical cord blood*. Blood, 2010. **116**(22): p. 4693-4699.
135. Tischer, J., et al., *Virus infection in HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: incidence in the context of immune recovery in two different transplantation settings*. Ann Hematol, 2015. **94**(10): p. 1677-88.
136. Saber, W., et al., *Outcomes after matched unrelated donor versus identical sibling hematopoietic cell transplantation in adults with acute myelogenous leukemia*. Blood, 2012. **119**(17): p. 3908-16.
137. Weisdorf, D.J., et al., *Allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia: comparative analysis of unrelated versus matched sibling donor transplantation*. Blood, 2002. **99**(6): p. 1971-7.
138. Gupta, V., et al., *Comparable survival after HLA-well-matched unrelated or matched sibling donor transplantation for acute myeloid leukemia in first remission with unfavorable cytogenetics at diagnosis*. Blood, 2010. **116**(11): p. 1839-1848.
139. Baron, F., et al., *Unrelated donor status and high donor age independently affect immunologic recovery after nonmyeloablative conditioning*. Biol Blood Marrow Transplant, 2006. **12**(11): p. 1176-87.
140. Ochs, L., et al., *Late infections after allogeneic bone marrow transplantations: comparison of incidence in related and unrelated donor transplant recipients*. Blood, 1995. **86**(10): p. 3979-86.
141. Satake, A., et al., *Inhibition of calcineurin abrogates while inhibition of mTOR promotes regulatory T cell expansion and graft-versus-host disease protection by IL-2 in allogeneic bone marrow transplantation*. PLoS One, 2014. **9**(3): p. e92888.
142. Lutz, M. and S. Mielke, *New perspectives on the use of mTOR inhibitors in allogeneic haematopoietic stem cell transplantation and graft-versus-host disease*. Br J Clin Pharmacol, 2016. **82**(5): p. 1171-1179.
143. Gluckman, E., G. Koegler, and V. Rocha, *Human leukocyte antigen matching in cord blood transplantation*. Semin Hematol, 2005. **42**(2): p. 85-90.
144. Gluckman, E., et al., *Factors associated with outcomes of unrelated cord blood transplant: guidelines for donor choice*. Exp Hematol, 2004. **32**(4): p. 397-407.
145. Schoemans, H., et al., *Adult umbilical cord blood transplantation: a comprehensive review*. Bone Marrow Transplant, 2006. **38**(2): p. 83-93.
146. Thomson, B.G., et al., *Analysis of engraftment, graft-versus-host disease, and immune recovery following unrelated donor cord blood transplantation*. Blood, 2000. **96**(8): p. 2703-11.
147. Inoue, H., et al., *The kinetics of immune reconstitution after cord blood transplantation and selected CD34+ stem cell transplantation in children: comparison with bone marrow transplantation*. Int J Hematol, 2003. **77**(4): p. 399-407.
148. Ruggeri, A., et al., *Outcomes, infections, and immune reconstitution after double cord blood transplantation in patients with high-risk hematological diseases*. Transpl Infect Dis, 2011. **13**(5): p. 456-465.

149. Szabolcs, P. and D. Niedzwiecki, *Immune reconstitution after unrelated cord blood transplantation*. Cytotherapy, 2007. **9**(2): p. 111-22.
150. Ballen, K.K. and T.R. Spitzer, *The great debate: haploidentical or cord blood transplant*. Bone Marrow Transplant, 2011. **46**(3): p. 323-9.
151. Luznik, L., et al., *Durable engraftment of major histocompatibility complex-incompatible cells after nonmyeloablative conditioning with fludarabine, low-dose total body irradiation, and posttransplantation cyclophosphamide*. Blood, 2001. **98**(12): p. 3456-64.
152. Bashey, A. and S.R. Solomon, *T-cell replete haploidentical donor transplantation using post-transplant CY: an emerging standard-of-care option for patients who lack an HLA-identical sibling donor*. Bone Marrow Transplant, 2014. **49**(8): p. 999-1008.
153. Kastan, M.B., et al., *Direct demonstration of elevated aldehyde dehydrogenase in human hematopoietic progenitor cells*. Blood, 1990. **75**(10): p. 1947-50.
154. Luznik, L., et al., *Posttransplantation cyclophosphamide facilitates engraftment of major histocompatibility complex-identical allogeneic marrow in mice conditioned with low-dose total body irradiation*. Biol Blood Marrow Transplant, 2002. **8**(3): p. 131-8.
155. Kasamon, Y.L., et al., *Nonmyeloablative HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high-dose posttransplantation cyclophosphamide: effect of HLA disparity on outcome*. Biol Blood Marrow Transplant, 2010. **16**(4): p. 482-9.
156. Zoellner, A.K., et al., *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, 2015. **50**(5): p. 679-84.
157. Kanate, A.S., et al., *Reduced-intensity transplantation for lymphomas using haploidentical related donors vs HLA-matched unrelated donors*. Blood, 2016. **127**(7): p. 938-47.
158. Castagna, L., et al., *Reduced-intensity conditioning regimen with in vivo T-cell depletion for patients with haematological malignancies: results using unrelated and sibling donors*. Bone Marrow Transplant, 2014. **49**(9): p. 1246-7.
159. Raiola, A.M., et al., *Unmanipulated Haploidentical Transplants Compared with Other Alternative Donors and Matched Sibling Grafts*. Biology of Blood and Marrow Transplantation. **20**(10): p. 1573-1579.
160. Kanakry, J.A., et al., *Outcomes of related donor HLA-identical or HLA-haploidentical allogeneic blood or marrow transplantation for peripheral T cell lymphoma*. Biol Blood Marrow Transplant, 2013. **19**(4): p. 602-6.
161. Burroughs, L.M., et al., *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, 2008. **14**(11): p. 1279-87.
162. Munchel, A., et al., *Nonmyeloablative, HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high dose, post-transplantation cyclophosphamide*. Pediatr Rep, 2011. **3 Suppl 2**: p. e15.
163. Raiola, A.M., et al., *Unmanipulated haploidentical transplants compared with other alternative donors and matched sibling grafts*. Biol Blood Marrow Transplant, 2014. **20**(10): p. 1573-9.
164. Bashey, A., et al., *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, 2013. **31**(10): p. 1310-6.
165. Ciurea, S.O., et al., *Improved Early Outcomes Using a T Cell Replete Graft Compared with T Cell Depleted Haploidentical Hematopoietic Stem Cell Transplantation.* Biology of Blood and Marrow Transplantation. **18**(12): p. 1835-1844.
 166. Tischer, J., et al., *Second haematopoietic SCT using HLA-haploidentical donors in patients with relapse of acute leukaemia after a first allogeneic transplantation.* Bone Marrow Transplant, 2014. **49**(7): p. 895-901.
 167. Tischer, J., et al., *Feasibility of clofarabine cytoreduction followed by haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory advanced acute leukemia.* Ann Hematol, 2013. **92**(10): p. 1379-88.
 168. Ciurea, S.O., et al., *Haploidentical transplant with posttransplant cyclophosphamide vs matched unrelated donor transplant for acute myeloid leukemia.* Blood, 2015. **126**(8): p. 1033-40.
 169. Mulanovich, V.E., et al., *Infectious complications in cord blood and T-cell depleted haploidentical stem cell transplantation.* Am J Blood Res, 2011. **1**(1): p. 98-105.
 170. Rohatiner, A., et al., *Depletion of T cells from human bone marrow using monoclonal antibodies and rabbit complement. A quantitative and functional analysis.* Transplantation, 1986. **42**(1): p. 73-80.
 171. Soiffer, R.J., et al., *Prevention of graft-versus-host disease by selective depletion of CD6-positive T lymphocytes from donor bone marrow.* J Clin Oncol, 1992. **10**(7): p. 1191-200.
 172. Marmont, A., et al., *T-cell depletion of HLA-identical transplants in leukemia.* Blood, 1991. **78**(8): p. 2120-2130.
 173. Drobyski, W.R., *Evolving strategies to address adverse transplant outcomes associated with T cell depletion.* J Hematother Stem Cell Res, 2000. **9**(3): p. 327-37.
 174. Schuster, F.R., et al., *Anti-leukaemic activity of a novel haploidentical-transplantation approach employing unmanipulated bone marrow followed by CD6-depleted peripheral blood stem cells in children with refractory/relapsed acute leukaemia.* Br J Haematol, 2013. **162**(6): p. 802-7.
 175. Kolb, H.-J., et al., *CD6-Depleted Mobilized Stem Cells for Modification of HVG and GVH Reactions after HLA-Haploidentical Marrow Transplantation.* Blood, 2004. **104**(11): p. 978-978.
 176. Armand, P., et al., *A disease risk index for patients undergoing allogeneic stem cell transplantation.* Blood, 2012. **120**(4): p. 905-13.
 177. Laughlin, M.J., et al., *Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia.* N Engl J Med, 2004. **351**(22): p. 2265-75.
 178. Kekre, N. and J.H. Antin, *Hematopoietic stem cell transplantation donor sources in the 21st century: choosing the ideal donor when a perfect match does not exist.* Blood, 2014. **124**(3): p. 334-43.
 179. Mo, X.D., et al., *Umbilical cord blood transplantation and unmanipulated haploidentical hematopoietic SCT for pediatric hematologic malignancies.* Bone Marrow Transplant, 2014. **49**(8): p. 1070-1075.
 180. Patriarca, F., et al., *Experts' considerations on HLA-haploidentical stem cell transplantation.* European Journal of Haematology, 2014. **93**(3): p. 187-197.

10. Eidesstattliche Versicherung

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema:

„Der Einfluss der Stammzellquelle auf das Therapieergebnis bei HLA-differenter allogener hämatopoetischer Stammzelltransplantation“

selbständig verfasst, mich außer den angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht habe und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundseite einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Seite zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 31.01.2019

Tarek Abu-Hamdeh