

Aus der
Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie
der Heinrich Heine Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. R. Haas

**Verbesserung der Prognose von Patienten mit Multiplem Myelom
durch Fortschritte in Diagnostik und Therapie**

Habilitationsschrift

Zur Erlangung der Venia legendi für das Fach
Innere Medizin
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Heinrich Heine Universität Düsseldorf

Vorgelegt von

Dr. med. Roland Fenk
aus München

2008

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
Zusammenfassung	4
Einleitung	5

Themenkomplex 1: Verbesserung der Hochdosistherapie und autologen

Blutstammzelltransplantation	10
- Mobilisation hämatopoetischer Stammzellen durch Chemotherapie und die einmalige Applikation von pegyliertem „granulocyte colony-stimulating factor“ (G-CSF, Pegfilgrastim) im Vergleich zu konventionellem G-CSF (Filgrastim).....	10
- Genexpressionsanalyse von Blutstammzellen, die mit pegyliertem G-CSF (Pegfilgrastim) mobilisiert wurden.....	12
- Randomisierte Studie zur Intensivierung der Hochdosistherapie mit autologer Blutstammzelltransplantation.....	14
- Verringerung der Toxizität nach Hochdosistherapie und autologer Blutstammzelltransplantation durch pegyliertes G-CSF (Pegfilgrastim) und Keratinozyten-Wachstumsfaktor (Palifermin)	19

Themenkomplex 2: Verbesserung der Rezidivtherapie durch Thalidomid

und Bortezomib	24
- Entwicklung einer Risiko-adaptierten Therapie mit Thalidomid als Mono- oder Kombinationstherapie bei Patienten mit rezidivierter Erkrankung.....	24

- Entwicklung eines Eskalationsalgorithmus mit Bortezomib als Mono- oder Kombinations- therapie bei Patienten mit rezidivierter Erkrankung	27
Themenkomplex 3: Verbesserung der Diagnostik.....	31
- Vorhersage einer Krankheitsprogression durch den molekularen Nachweis von minimaler Resterkrankung.....	31
- Verbesserter Nachweis von Osteolysen und extramedullären Manifestationen durch die „low dose“ Computertomographie.....	38
Themenkomplex 4: Verbesserung der Therapie durch Zelltherapie.....	40
- Nutzung der allogenen „graft-versus-myeloma“-Reaktion.....	40
- Dendritische Zellen für klinische Vakzinierungsbehandlungen.....	42
Schlussfolgerung und Ausblick.....	49
Abkürzungsverzeichnis.....	54
Zusammengefasste Publikationen.....	55
Literatur.....	58
Danksagung.....	75
Anhang: Sonderdrucke der zusammengefassten Publikationen.....	76

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit fasst eine Auswahl meiner wissenschaftlichen Arbeiten zur Verbesserung der Prognose von Patienten mit Multiplem Myelom zusammen und gibt einen Überblick über die Verbesserungen in der Therapie und Diagnostik dieser Erkrankung während der letzten 20 Jahre. Die Hochdosistherapie mit autologer Blutstammzelltransplantation ist für Patienten bis zu einem Alter von 65 Jahren der therapeutische Goldstandard. Wir konnten zeigen, dass die für eine Hochdosistherapie notwendige Blutstammzellmobilisation mit dem neuen Wachstumsfaktor Pegfilgrastim nicht nur durchführbar ist, sondern im Vergleich zu einer Stimulation mit Filgrastim auch mit einer verkürzten Dauer der kritischen Neutropenie einhergeht. Nach einer Hochdosistherapie führt die Kombination von Pegfilgrastim mit dem Keratinozyten-Wachstumsfaktor Palifermin zu einer Verringerung der Transplantations-assoziierten Nebenwirkungen. Hinsichtlich der Effektivität der Hochdosistherapie konnten wir zeigen, dass eine weitere Dosissteigerung der Konditionierungschemotherapie zu Dosis-limitierenden Toxizitäten führt und das Gesamtüberleben der Patienten nicht verbessern kann. Auf der Suche nach weiteren Verbesserungen der Hochdosistherapie gab uns die molekulare Bestimmung der minimalen Resterkrankung im Knochenmark weitere Hinweise. Wir konnten vor Hochdosistherapie einen Grenzwert definieren, der ein unabhängiger Prognoseparameter ist und bei Überschreiten eine Intensivierung der Induktionstherapie nahe legt. Eine solche Therapieintensivierung ist durch Thalidomid und Bortezomib möglich. Diese Substanzen zeigten in unseren Studien bei Patienten mit rezidivierter oder refraktärer Erkrankung eine beachtliche Wirkung, wobei wir bei der Verabreichung Risiko-adaptierte bzw. Ansprechen-orientierte Therapiealgorithmen verwendet haben.

Ungeachtet dieser Erfolge ist zu erwarten, dass die Kombination aus Hochdosistherapie und „Neuen Substanzen“ die Prognose der Patienten mit Multiplem Myelom weiter verbessern wird, ohne jedoch eine Heilung zu erzielen. Auf der Suche nach neuen Behandlungsformen untersuchten und charakterisierten wir dendritische Zellen, die mit Interferon α hergestellt wurden. Diese Zellen hatten alle Eigenschaften herkömmlicher dendritischer Zellen und außerdem NK-Zell Eigenschaften mit der Fähigkeit, Tumorzellen zu töten. Diese Zelltherapie hat das Potenzial als Vakzinierungsbehandlung das Überleben der Patienten mit Multiplem Myelom zu verbessern.

Einleitung

Das Multiple Myelom (MM) ist eine maligne Plasmazellerkrankung, deren Anteil an allen hämatologischen Neoplasien etwa 10 % beträgt¹. Bei einigen Patienten geht der Erkrankung ein asymptomatisches und nicht-malignes Stadium voraus, das durch eine klonale Plasmazellproliferation gekennzeichnet ist und als „monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz“ (MGUS) bezeichnet wird. Ein MGUS ist bei mehr als 3 % der Bevölkerung mit einem Alter über 50 Jahre nachweisbar und birgt ein Risiko von 1 % pro Jahr in ein MM oder eine damit verwandte maligne Erkrankung überzugehen². Die jährliche Inzidenz des MM beträgt 4,3 Fälle pro 100.000 Einwohner³.

Die erste wissenschaftliche Beschreibung eines Patienten mit MM erfolgte durch Doktor Samuel Solly im Jahr 1844⁴. Es handelte sich um eine 39 Jahre alte Patientin, die an Fatigue und Knochenschmerzen aufgrund multipler Knochenbrüche litt. Nach ihrem Tod zeigte sich bei der Autopsie eine gallertartige rote Substanz, die das gesamte Knochenmark ersetzt hatte. Bereits ein Jahr später zeigte Henry Bence Jones bei einem ähnlichen Patienten, dass nach Erhitzen des Urins des Patienten auf 60 °C ein zuvor bei Raumtemperatur lösliches Protein ausfiel und sich nach Erhitzen auf 100 °C wieder löste. Beim Abkühlen war das Protein wieder als Präzipitat nachweisbar⁵. Er etablierte mit diesem Verfahren die Nachweismethode für die nach ihm benannte Proteinurie. Im Jahre 1889 beschrieb Otto Kahler erstmals eine Krankheitsentität bestehend aus der Trias multiple Knochenbrüche, Bence Jones Proteinurie und großen, runden Zellen im Knochenmark. In der Literatur wurden daraufhin zahlreiche Fallberichte über Patienten mit „Morbus Kahler“ veröffentlicht und 1928 wurden diese von Geschickter und Copeland⁶ zu einer ersten Serie von 412 Fällen von Patienten mit MM zusammengefasst.

Weitere Meilensteine in der Diagnostik des MM waren die Erfindung der Serumproteinelektrophorese⁷ und der Antikörper-basierte Nachweis von freien Leichtketten im Serum⁸. Eine erste Stadieneinteilung der Erkrankung aus dem Jahre 1975 geht auf Salmon und Durie⁹ zurück und erlaubt aufgrund der Diagnose von Erkrankungs-assoziierten Organschäden eine Abschätzung der Prognose und der Therapienotwendigkeit. Diese Stadieneinteilung wird heute ergänzt durch das auf Albumin und β 2-Mikroglobulin basierende „International Staging System“¹⁰ sowie

durch zytogenetische Klassifikationen ¹¹. Zytogenetische Aberrationen stellen zum gegenwärtigen Zeitpunkt die bedeutendsten Prognosefaktoren dar.

Historie der Behandlung des Multiplen Myeloms

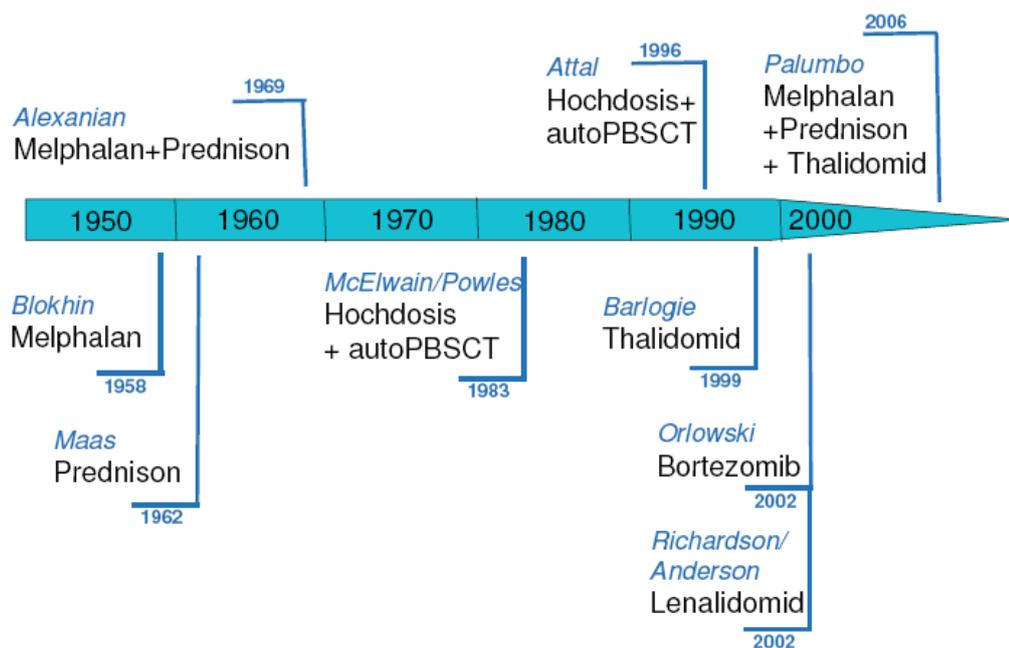


Abbildung 1: Zeitstrahl Historie Diagnostik und Therapie

Parallel zur Entwicklung der Diagnostik des MM wurden auch die Behandlungsansätze für die Patienten entwickelt. Die erste beschriebene Behandlung bestand 1844 bei dem durch Solly ⁴ veröffentlichtem Patienten aus Rhabarber und Orangenschalen. Es dauerte bis 1958 bis mit dem alkylierenden Chemotherapeutikum Melphalan erstmals eine wirksame Substanz in die Therapie des MM eingeführt wurde ¹². Kurze Zeit später wurde die Wirksamkeit einer Steroidbehandlung bei Patienten mit MM gezeigt ¹³ und 1969 wurde von Alexanian et al. ¹⁴ mit einer randomisierten Studie das klassische Therapieschema bestehend aus Melphalan und Prednisolon (MP) eingeführt. In den folgenden über 30 Jahren wurden diverse Chemotherapiekombinationen gegen MP als Goldstandard in klinischen Studien verglichen und es zeigte sich in einer Metaanalyse mit 6.633 Patienten aus 27 randomisierten Studien ¹⁵, dass andere Kombinationen zwar höhere Ansprechraten und einen schnelleren Wirkungseintritt erreichen konnten, jedoch

keinen Einfluss auf das Gesamtüberleben der Patienten hatten. Aus diesem Grunde blieb eine Therapie mit MP jahrzehntlang der Therapiestandard bei Patienten mit MM.

Die einzige Verbesserung der Therapie in dieser Zeit gelang durch die Einführung der Hochdosischemotherapie (HDT) mit autologer peripherer Blutstammzelltransplantation (PBSZT). Diese wurde 1983 von McElwain and Powles¹⁶ erstmals bei einem Patienten mit Plasmazelleukämie durchgeführt. Heute stellt das MM die häufigste Indikation für eine HDT mit autologer PBSZT in Europa dar¹⁷. Randomisierte Studien^{18;19}, die bei Patienten bis 65 Jahre eine konventionelle Chemotherapie mit MP gegenüber einer HDT verglichen, zeigten, dass Patienten nach HDT nicht nur mit 50 % versus 42 % eine höhere Rate an kompletten und sehr guten partiellen Remission aufwiesen, sondern dass die HDT auch zu einem mit 28 % versus 10 % verlängerten ereignisfreien Überleben nach 5 Jahren sowie einem mit 42 % versus 21 % verlängerten Gesamtüberleben nach 7 Jahren führte. Diese Studienergebnisse begründeten einen neuen Therapiestandard für die Patienten dieser Altersgruppe.

Eine weitere Verbesserung brachte die Einführung von Thalidomid, Bortezomib und Lenalidomid, die als „Neue Substanzen“ bezeichnet werden. Wegen des teratogenen Potenzials von Thalidomids, das unter dem Namen „Contergan“ bekannt wurde, wurde dieses Medikament in den sechziger Jahren weltweit vom Markt genommen. Im Jahre 1999 ließ sich bei etwa 30% einer Gruppe von Patienten mit rezidiviertem oder refraktärem MM durch das antiangiogenetisch und immunmodulatorisch wirkende Thalidomid eine anhaltende Remission erzielen²⁰. Die Wirkung dieser Substanz ist nicht nur auf Tumorzellen gerichtet, sondern auch auf die umgebenden Stromazellen des Knochenmarks, in denen es zu einer Abnahme der für die Myelomzellen lebensnotwendigen Zytokinfreisetzung und Zelladhäsion führt²¹.

In dem Versuch die Wirksamkeit zu steigern und die Toxizität zu vermindern, wurden synthetische Analoga des Thalidomids entwickelt, die sogenannten „immunomodulatory drugs“ (IMiD). Aus dieser Substanzgruppe kristallisierte sich in zwei randomisierten Studien das Lenalidomid als Wirkstoff für Patienten mit rezidiviertem oder refraktärem MM heraus^{22;23}. Die Kombination aus Lenalidomid und Dexamethason war in diesen Studien einer Dexamethason-Monotherapie hinsichtlich der Rate an kompletten und partiellen Remissionen mit 60 % versus 24 % überlegen und führte zu einem verbesserten ereignisfreien Überleben von im

Median 11 versus 5 Monaten. Auch das Überleben war mit einer Hazard-Ratio von 0,66 signifikant verlängert. Aufgrund dieser Ergebnisse und der nachgewiesenen Wirksamkeit selbst bei Patienten, die bereits mit Thalidomid vorthera­piert waren, stellt Lenalidomid heute eine zusätzliche Behandlungsoption bei Patienten mit MM dar.

Die dritte der „Neuen Substanzen“, das Bortezomib, gehört der neuen Substanzgruppe der Proteasomen-Inhibitoren an. Der Ubiquitin-Proteasomen Komplex ist bei Eukaryonten für den lebensnotwendigen Abbau der zellulären Proteine verantwortlich und eine Inhibition führt zur Apoptose, wobei schnell proliferierende Zellen besonders anfällig sind ²¹. Die Wirksamkeit des Bortezomib zeigte sich in einer randomisierten Studie mit Patienten mit rezidiviertem oder refraktärem MM. In dieser Studie wurde eine Bortezomib-Monotherapie mit einer Dexamethason-Monotherapie verglichen und es zeigte sich bei den mit Bortezomib behandelten Patienten eine höhere Rate an Remissionen mit 38 % versus 18%, ein längeres ereignisfreies Überleben mit im Median 6 versus 3 Monate sowie ein verbessertes Gesamtüberleben mit einer Hazard-Ratio von 0,57 ²⁴. Damit steht neben den immunmodulatorischen Substanzen Thalidomid und Lenalidomid mit dem Proteasomen-Inhibitor Bortezomib eine dritte „Neue Substanz“ zusätzlich zur klassischen Chemotherapie und HDT zur Behandlung der Patienten mit MM zur Verfügung. Dennoch kann auch mit diesen Substanzen bei Patienten mit MM keine Heilung erzielt werden und die meisten Patienten sterben aufgrund einer progredienten Erkrankung.

Generelles Ziel meiner Arbeiten war es, die Prognose der Patienten mit MM zu verbessern. Die Untersuchungen im ersten Teil beschäftigten sich mit einer Verbesserung der HDT mit autologer PBSZT als Primärtherapie der Patienten bis 65 Jahre. Initial erfolgten Untersuchungen zur Blutstammzellmobilisation als Voraussetzung für die Durchführung einer HDT mit autologer PBSZT. Dabei fanden wir, dass die Verwendung des Wachstumsfaktors Pegfilgrastim im Vergleich zu konventionellem G-CSF zu einer ausreichenden Mobilisation von hämatopoetischen Stammzellen führte und die Gabe nach zytotoxischer Therapie zu einer Verkürzung der Neutropeniedauer führte. Weitere Untersuchungen zeigten, dass die Toxizität der HDT durch die Wachstumsfaktoren Pegfilgrastim und Palifermin reduziert werden konnte. Dieser Teil der Arbeit endet mit einer randomisierten Studie, die zeigen

konnte, dass eine intensivierete Konditionierung nicht zu einer erhöhten Wirksamkeit führt.

In einem zweiten Teil stelle ich Untersuchungen zum Einsatz der „Neuen Substanzen“ Thalidomid und Bortezomib bei Patienten mit Rezidiv vor. Dabei wurden für beide Substanzen Kombinationstherapien mit klassischen Chemotherapeutika hinsichtlich Effektivität und Nebenwirkungen untersucht und unterschiedliche individuelle Strategien entwickelt mit dem Ziel, sowohl eine wirksamere Behandlung zu erzielen als auch die Toxizität möglichst gering zu halten. Da mit Hilfe der „Neuen Substanzen“ bessere Remissionsraten erzielt werden konnten, bedurfte es sensitiverer Methoden zur Beurteilung des Therapieerfolges.

Der dritte Teil meiner Habilitationsschrift widmet sich solchen diagnostischen Verbesserungen. Die niedrigdosierte Skelett-Computertomographie (CT) erlaubt aufgrund der höheren Auflösung im Vergleich zum konventionellen Röntgen nach Pariser Schema eine verbesserte Darstellung von Osteolysen und extramedullären Raumforderungen. Auf der Grundlage einer molekularen Nachweismethode zur Bestimmung der „minimalen Resterkrankung“ („minimal residual disease“, MRD) etablierten wir einen neuen unabhängigen Prognosefaktor, der als Hilfestellung für therapeutische Entscheidungen dient. Der vierte und letzte Teil widmet sich neuen Zelltherapien. Dies betrifft einerseits die allogenen PBSZT mit dosisreduzierter Konditionierungen und andererseits Vakzinierungsbehandlungen mit dendritischen Zellen. Im Einzelnen waren es Untersuchungen zur molekularen und funktionellen Charakterisierung von *in vitro* generierten dendritischen Zellen mit Interferon α .

Die oben genannten Untersuchungen wurden in mehreren Artikeln publiziert.

Themenkomplex 1:

Verbesserung der Hochdosistherapie und autologen Blutstammzelltransplantation

Mobilisation hämatopoetischer Stammzellen durch Chemotherapie und die einmalige Applikation von pegyliertem G-CSF (Pegfilgrastim) im Vergleich zu konventionellem G-CSF (Filgrastim)

Für Patienten bis 65 Jahre stellt die HDT mit anschließender autologer PBSZT den Goldstandard der Therapie dar^{18;19}. Nach einer myeloablativen Chemotherapie werden autologe Blutstammzellen infundiert, um eine Rekonstitution der Hämatopoese und des Immunsystems zu gewährleisten. Durch extrakorporale Aphereseverfahren werden dazu etwa $2,0 \times 10^6$ CD 34+ Zellen / kg KG gesammelt²⁵. Um hämatopoetische Stamm- und Vorläuferzellen in das periphere Blut zu mobilisieren, kann eine zytotoxische Chemotherapie, hämatopoetische Wachstumsfaktoren wie G-CSF oder eine Kombination aus beidem verwendet werden²⁵⁻²⁷.

Bei Patienten mit malignen Lymphomen konnte die einmalige Gabe einer Polyethylen-Glycol (PEG) - konjugierten Form des G-CSF (Pegfilgrastim) mit einer längeren Halbwertszeit die Zeit der therapieassoziierten Neutropenie nach einer konventionellen Chemotherapie in gleicher Weise verkürzen, wie eine mehrfache, tägliche G-CSF Applikation²⁸⁻³⁰. Daher lag es nahe, Pegfilgrastim auch für die Mobilisation autologer hämatopoetischer Vorläuferzellen einzusetzen. Zur Untersuchung des Mobilisationspotenzials von Pegfilgrastim applizierten wir im Rahmen einer Kohortenstudie zunächst 12 mg Pegfilgrastim bei 15 Patienten mit MM im Anschluss an eine zytotoxische Chemotherapie mit Cyclophosphamid (**Referenz A**). Wir wählten für diese Kohorte das Doppelte der üblichen Pegfilgrastimdosis, da zu diesem Zeitpunkt wenig über die Mobilisationseigenschaften des Pegfilgrastim bekannt war. Bei allen Patienten konnten durch im Median eine Apherese (Spanne: 1-3) ausreichend periphere Blutstammzellen für mindestens eine autologe PBSZT gewonnen werden (Tabelle 1). Im Vergleich zu einer historischen "matched pair" Kontrollgruppe, die mit konventionellem G-CSF behandelt wurden, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die maximale Höhe der CD34+ Zellen und

die absolute Menge der gesammelten CD 34+ Zellen / kg KG. Auch die Daten dieser beiden Patientengruppen zur Neutrophilenrekonstitution im Rahmen der durchgeführten HDT und autologen PBSZT waren identisch, ebenso wie die peripheren Zellwerte 100 Tage nach Transplantation. Auffällig war jedoch, dass die Zeit bis zur Neutrophilenrekonstitution in der Pegfilgrastimgruppe signifikant um zwei Tage kürzer war als in der historischen Kontrollgruppe und dies führte dazu, dass die Apherese im Median zwei Tage früher durchgeführt werden konnte.

Variable	Pegfilgrastim-Gruppe		G-CSF-Gruppe
	6 mg	12 mg	
Zytokin-Dosis †			
Total (mg)	6	12	6 (3.4-13.4)
Berechnet (µg/kg/Tag)			8.2 (4.6-11.9)
Anzahl der Gaben †	1	1	11 (8-15)
1. Tag d. Zytokin-Gabe	4 (2-9)	4 (3-6)	4 (2-7)
Anzahl Tage bis Rekonstitution d. Leukozyten	12 (8-16)	12 (7-14)	14 (11-15)
>1 × 10 ⁹ /L ‡			
Anzahl Tage bis Thromboz.-Rekonst.			
>20 × 10 ⁹ /L	11 (0-14)	11 (10-15)	12 (10-18)
>50 × 10 ⁹ /L	13 (9-16)	13 (10-17)	14 (10-23)
Tag d. max. CD34+- Messung im PB	13 (11-18)	12 (11-16)	14 (12-18)
Max. Cd34+-Zellzahl/µl PB	131 (39-1084)	85 (7-1055)	75 (5-760)

† p < 0.05.
‡ p = 0.03.

Tabelle 1: Daten zur Stammzellmobilisierung mit Pegfilgrastim 6 mg (n=15), Pegfilgrastim 12 mg (n=15) und G-CSF (n=15)

In einem zweiten Schritt verringerten wir die Pegfilgrastimdosis auf 6 mg und behandelten weitere 15 Patienten (**Referenz B**). Die Mobilisationsergebnisse dieser Gruppe unterschieden sich nicht von den Ergebnissen der mit Pegfilgrastim 12mg behandelten Patienten und zeigten dieselben signifikanten Unterschiede im Vergleich zum historischen Kontrollkollektiv.

Die Schlussfolgerung aus diesen Ergebnissen war, dass bei Patienten mit MM eine Mobilisation hämatopoetischer Blutstammzellen mit Hilfe von Pegfilgrastim möglich ist. Die einmalige Applikation von 6 mg Pegfilgrastim war der täglichen Gabe von konventionellem G-CSF gleichwertig. Eine weitere Dosissteigerung des Pegfilgrastim

schien keinen weiteren Nutzen zu haben. Vorteilhaft für die Pegfilgrastimgabe war die schnellere Neutrophilenrekonstitution, die mit einer Verringerung des Risikos für infektiologische Komplikationen in der Phase der Neutropenie einherging. Ebenso vorteilhaft war die Reduktion der erforderlichen Injektionen von im Median 11 (Spanne 8-15) auf eine einzige Applikation und damit eine potentielle Verbesserung der Patienten-„Compliance“. Mittlerweile konnten unsere Daten zur Pegfilgrastim induzierten zytotoxischen Blutstammzellmobilisation auch von anderen Gruppen bestätigt werden ^{31;32}. Da die wachstumsfaktorabhängige Mobilisation hämatopoetischer Vorläuferzellen jedoch starken individuellen Schwankungen unterliegt, sind größere randomisierte Studien notwendig.

Genexpressionsanalyse von Blutstammzellen, die mit pegyliertem G-CSF (Pegfilgrastim) mobilisiert wurden

In einer weiteren Untersuchung gingen wir der Frage nach, ob mit Pegfilgrastim mobilisierte hämatopoetische Vorläuferzellen andere biologische Eigenschaften als mit herkömmlichem G-CSF stimulierte Zellen haben. Dazu führten wir Genexpressionsanalysen mit Hilfe von „Affimetrix Microarrays“ durch. Wir untersuchten immunomagnetisch isolierte CD34+ Zellen aus dem Leukaphereseprodukt von 16 Patienten mit MM, die nach zytotoxischer Chemotherapie mit Pegfilgrastim oder unkonjugiertem G-CSF behandelt worden waren (**Referenz C**). In der Gruppe der mit Pegfilgrastim behandelten Patienten fanden wir eine höhere Expression von Genen, die mit einer frühen Hämatopoese und unreifen Vorläuferzellen einhergehen, wie HOXA9, MEIS1 and GATA3 ³³⁻³⁶. Im Gegensatz dazu waren Gene, die mit Erythropoese und späteren Stufen der Myelopoese assoziiert sind, geringer exprimiert. Diese Ergebnisse wurden durch FACS-Analysen und funktionelle „Colony forming assays“ bestätigt. Bei den mit Pegfilgrastim behandelten Patienten fand sich eine höhere Anzahl an hämatopoetischen Stammzellen und „common myeloid progenitors“ und weniger Vorläuferzellen der Erythro- und Megakaryozytopoese. Ein Ergebnis, das auch in der funktionellen Analyse durch eine signifikant verringerte Ratio „burst forming unit - erythrocyte“ (BFU-E) / „colony forming unit – granulocyte / macrophage“ (CFU-GM)

bei den Zellen der mit Pegfilgrastim behandelten Patienten bestätigt werden konnte (Abbildung 2).

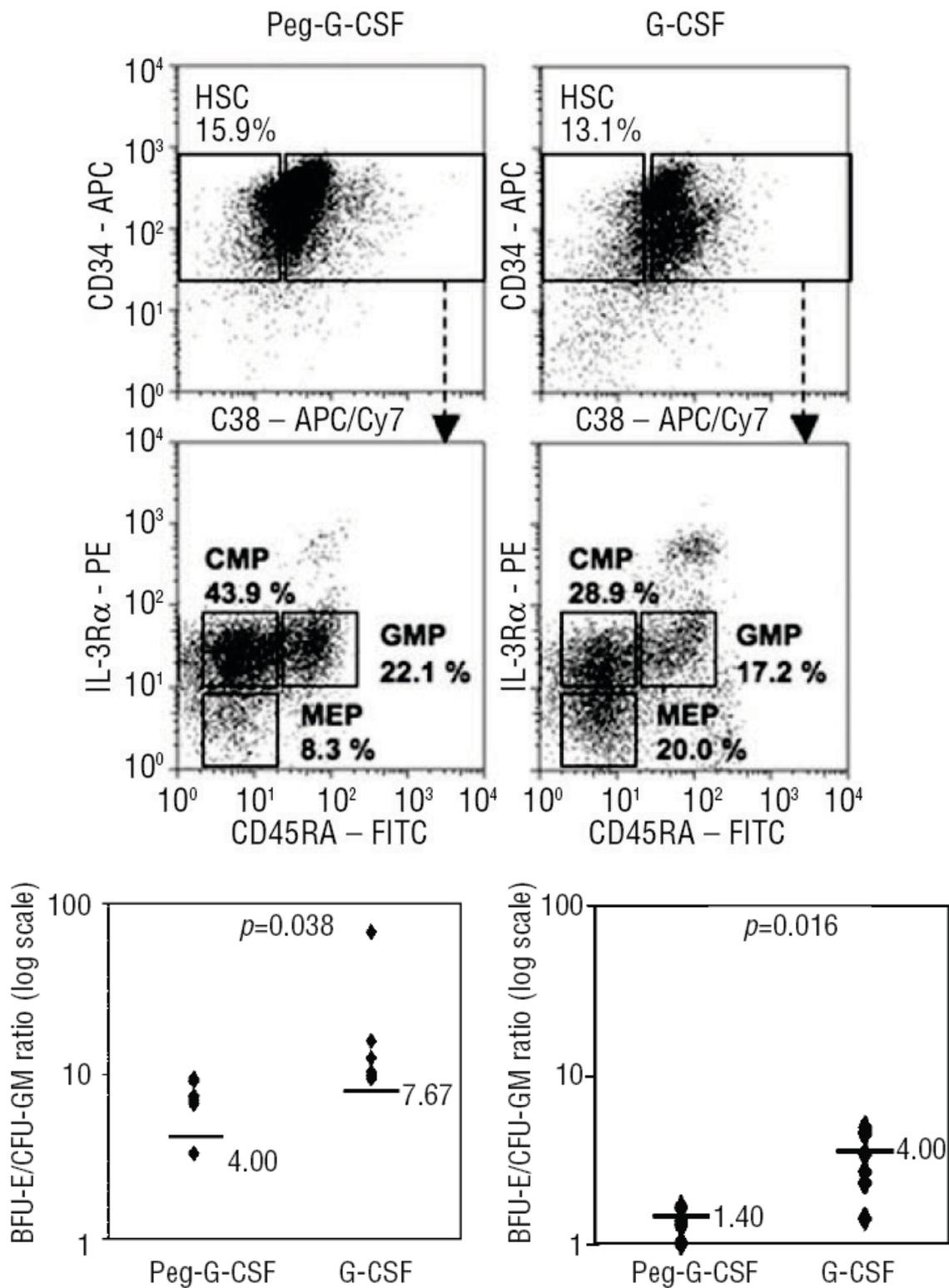


Abbildung 2: Immunphänotypisierung zur Analyse der hämatopoetischen Stamm- und Progenitoruntergruppen (Oben) sowie Koloniezahlen nach 2 Wochen Kultur von CD34+ selektierten Zellen (Unten)

Der erhöhte Anteil an frühen Vorläuferzellen nach Mobilisation mit Pegfilgrastim wirkt sich möglicherweise auf die Transplantation aus, da diese Zellen eine höhere Kapazität zur hämatopoetischen Langzeit-Repopulation besitzen. Wir, wie auch andere³⁷, zeigten, dass die Leukozytenzahlen bei den mit Pegfilgrastim behandelten Patienten am Tag 100 *post transplantationem* signifikant höher lagen als bei den Patienten, die mit konventionellen G-CSF behandelt wurden.

Insgesamt unterscheidet sich das Genexpressionsmuster von Schlüsselgenen der Hämatopoese, obwohl Pegfilgrastim und unkonjugiertes G-CSF dieselbe aktive Substanz besitzen. Welchen Einfluss dies auf die Ergebnisse der HDT und autologen PBSZT haben wird, muss Ziel weiterer Untersuchungen an großen Patientenkollektiven sein.

Randomisierte Studie zur Intensivierung der Hochdosistherapie mit Blutstammzelltransplantation

Bei der HDT ist eine Konditionierung mit Melphalan 200 mg/m² als Monotherapie einer Kombinationstherapie aus Melphalan und Ganzkörperbestrahlung überlegen³⁸ und stellt heutzutage den Standard der Konditionierung zur HDT dar. Dennoch erleiden alle Patienten ein Rezidiv der Erkrankung. Daher untersuchten unterschiedliche Gruppen unter der Annahme einer positiven Dosis-Wirkungsbeziehung, inwieweit eine weitere Intensivierung der HDT einen zusätzlichen Nutzen bringen würde. Dabei wurden zwei Wege zur Dosissteigerung eingeschlagen. Einerseits wurde durch eine so genannte Tandem-HDT, eine zweimalige HDT im Abstand von 3 bis 6 Monaten, die Therapie intensiviert^{39,40}, andererseits wurde die Konditionierungstherapie vor HDT weiter gesteigert⁴¹⁻⁴⁴. Idarubicin als Bestandteil von Konditionierungsregimen führte bei Patienten mit akuten Leukämien zu einem längeren Überleben⁴⁵ und besitzt darüber hinaus Wirksamkeit bei der Behandlung von Patienten mit MM^{46,47}. Daher wurde in einer Düsseldorfer Pilotstudie⁴² Idarubicin mit den zwei in der Behandlung des MM etablierten Substanzen Melphalan und Cyclophosphamid kombiniert. Acht Patienten wurden mit einer intensivierten HDT-Konditionierung bestehend aus Idarubicin 60 mg/m², Melphalan 200 mg/m² und Cyclophosphamid 120 mg/kg (HD-IMC)

behandelt. Sieben von den acht Patienten erreichten eine komplette Remission (CR), ohne dass dabei inakzeptable Nebenwirkungen beobachtet werden konnten. Aufgrund dieser Daten wurde von der Westdeutschen Myelomstudiengruppe unter Düsseldorfer Leitung eine prospektive, randomisierte, multizentrische Studie initiiert, die eine intensivierte Konditionierung mit HD-IMC gegenüber einer Standardkonditionierung bestehend aus Melphalan 200 mg/m² (HD-M) hinsichtlich des Zielkriteriums „Ereignisfreies Überleben“ vergleichen sollte (Abbildung 3, **Referenz D**).

Protokoll der Westdeutschen Myelomstudiengruppe zur Primärtherapie des Multiplen Myeloms (1997)

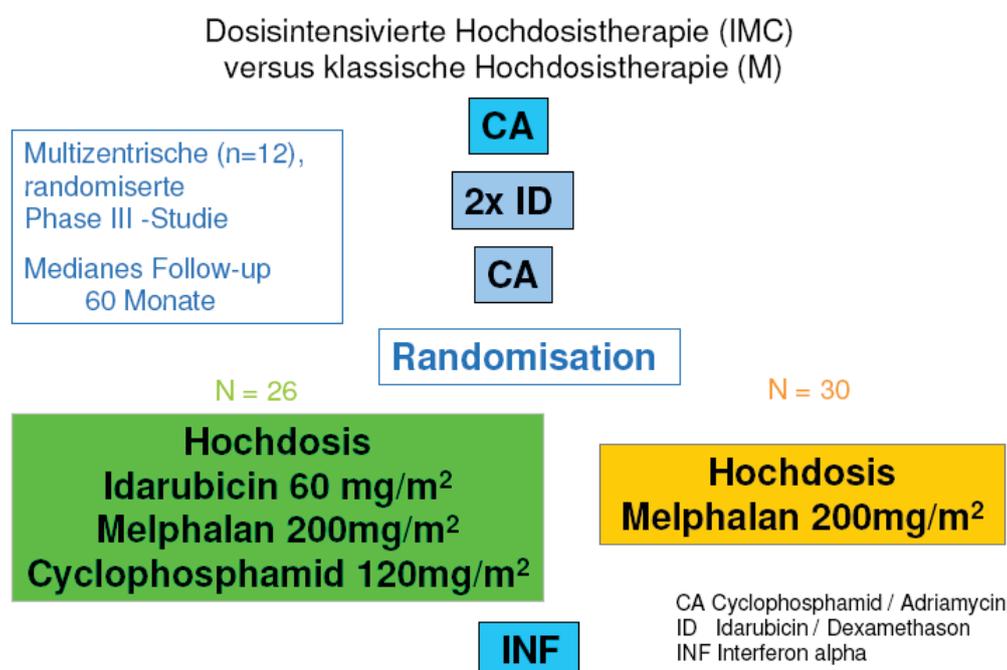


Abbildung 3: Studienplan Westdeutsche Myelomstudiengruppe 1997 - Studienprotokoll

In diese Studie wurden von Januar 1997 bis Dezember 1999 insgesamt 116 Patienten im Alter von 18 bis 66 Jahre und einem behandlungsbedürftigen und bisher unbehandelten MM oder mit einem Rezidiv nach konventioneller Chemotherapie inkludiert. Eine Interimsanalyse 12 Monate nach Beginn der Studie zeigte im intensivierten Therapiearm eine erhöhte Therapie-assoziierte Mortalität (TRM) in Verbindung mit einer erhöhten Rate an schweren Mukosiden Grad 3 und 4 nach WHO sowie an supraventrikulären Arrhythmien. Daher wurde die Idarubicin-Dosis auf 20 mg/m² reduziert, die Bolusgabe auf eine kontinuierliche Gabe über

24 Stunden umgestellt und Patienten über 60 Jahre von der Studie ausgeschlossen. Im Dezember 1999 wurde die Studie frühzeitig beendet, da im experimentellen Therapiearm der fünfte Todesfall beobachtet wurde, während im Standardtherapiearm kein einziger Todesfall aufgetreten war. Zu diesem Zeitpunkt waren von 116 Patienten 56 randomisiert worden und diese Patienten wurden ausgewertet (Abbildung 4).

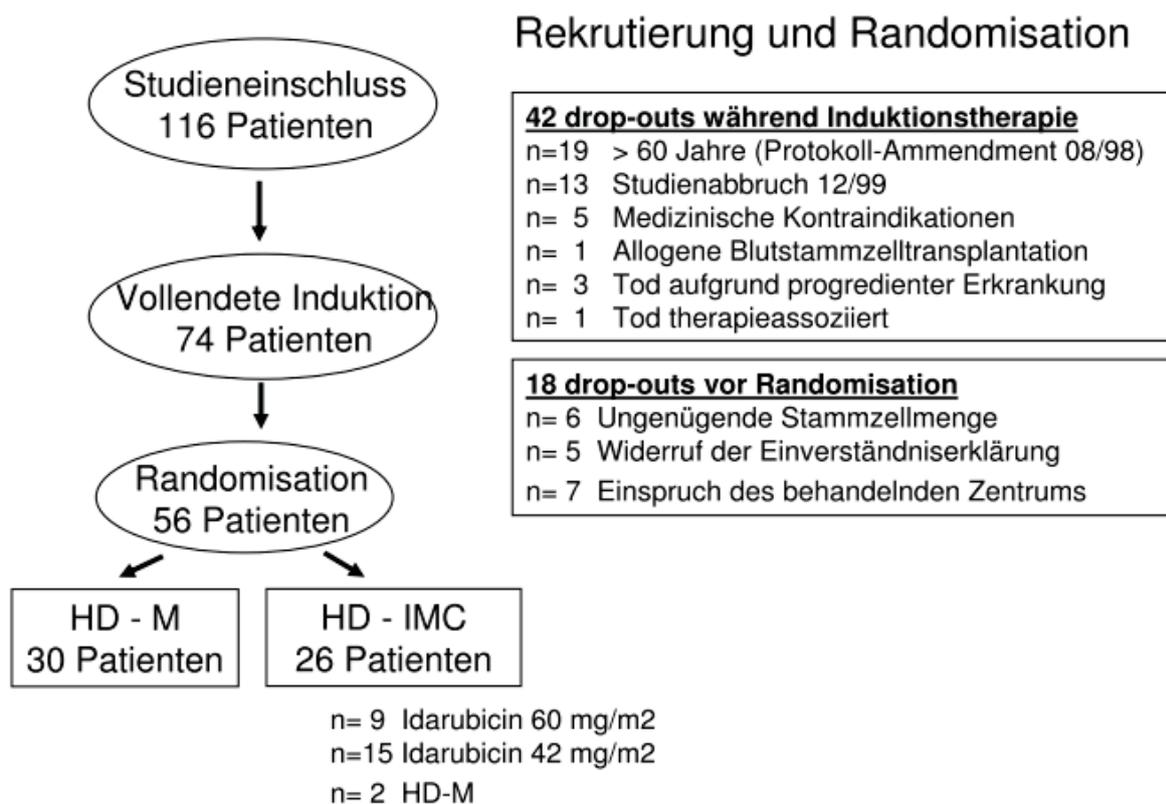


Abbildung 4: Westdeutsche Myelomstudiengruppe 1997 - Rekrutierung

Die TRM war bei den Patienten im HD-IMC Therapiearm mit 20 % versus 0 % unverhältnismäßig hoch (Tabelle 2). Ursächlich dafür war eine signifikant verlängerte Neutropenie- (14 versus 7 Tage, $p < 0,001$) und Thrombopeniedauer (21 versus 12 Tage, $p < 0,001$) im HD-IMC Arm in Verbindung mit einer höheren Rate an schweren WHO Grad 3 und 4 Mukositiden (80% versus 27%, $p < 0,001$). Die Kombination aus langandauernder Aplasie und großflächiger Eintrittspforte für Erreger führte zu einer signifikant höheren Anzahl an Tagen mit Fieber sowie Tagen mit intravenösen Antibiotikagaben im experimentellen Therapiearm.

Ergebnisse: Nebenwirkungen (100 Tage nach HDT)

Toxizität	M	IMC	* p < 0.01
Tage Leuko < 1000/ μ l	7	14	*
Tage Thrombo < 50/nl	12	21	*
Mukositis ^\circ II/IV (%)	27	80	*
CRP maximal (mg/dl)	7	20	*
Tage Fieber	3	11	*
Tage iv Antibiotika	4	13	*
EK-Transfusionen	2	6	*
TK-Transfusionen	4	16	*
Blutungen ^\circ II/IV (%)	4	28	0.07
TRM (%)	0	20	*

Tabelle 2: Westdeutsche Myelomstudiengruppe 1997 - Nebenwirkungen

Trotz der intensivierten Therapie mit höheren Nebenwirkungen zeigte sich jedoch kein erhöhtes Ansprechen auf die Therapie mit HD-IMC. Die Rate der CR war im HD-IMC Arm zwar mit 50% (95% CI: 26-74 %) gegenüber dem HD-M Arm mit 33 % (95% CI: 17-55 %) erhöht, erreichte aber keine Signifikanz ($p = 0,3$). Die Gesamtansprechraten bestehend aus CR + partieller Remission (PR) waren in den beiden Therapiearmen mit 85 % bzw. 83 % ($p = 1,0$) gleich. Dies übertrug sich auf die Ergebnisse des ereignisfreien und des Gesamtüberlebens. Nach einem medianen „Follow-up“ von 50 Monaten betrug das ereignisfreie Überleben in der HD-IMC Gruppe und der HD-M Gruppe 20 bzw. 16 ($p = 0.8$) Monate und das Gesamtüberleben 46 bzw. 66 ($p = 0.2$) Monate (Abbildung 5). Auch in der Subgruppenanalyse der Patienten, die an Tag 100 *post transplantationem* noch lebten und daher nicht von der hohen TRM betroffen waren, zeigte sich kein Vorteil der intensivierten Therapie.

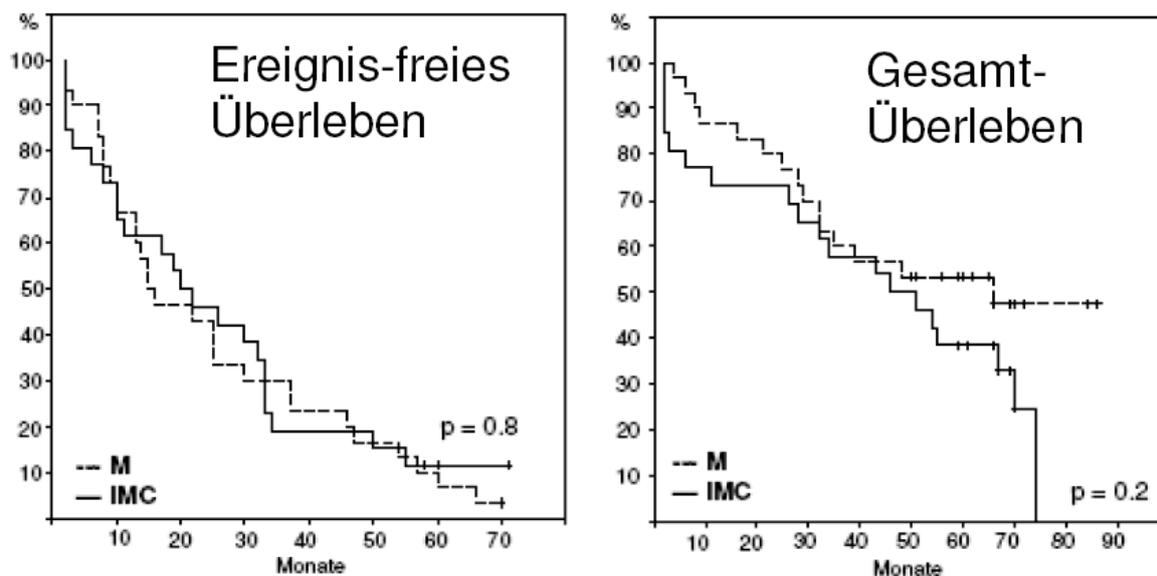


Abbildung 5: Westdeutsche Myelomstudiengruppe - Ergebnisse

Die wichtigste Erkenntnis aus dieser Studie war, dass eine Intensivierung der Konditionierung mit Idarubicin und Cyclophosphamid zu einer nicht akzeptablen Toxizität führte. Ähnliche Ergebnisse wurden von anderen Gruppen veröffentlicht, die intensivierten Konditionierungen geprüft haben und dabei eine TRM von 12-30 % beobachten mussten^{43;44}. Als Konsequenz daraus sollte das Prinzip der Dosissteigerung der einzelnen HDT in Zukunft nicht weiter verfolgt werden. Dies gilt insbesondere nach Betrachtung der Subgruppenanalyse der Patienten, die an Tag 100 nach Therapie noch am Leben waren. Selbst diese Gruppe zeigte im weiteren Verlauf keinen Vorteil hinsichtlich einer verlängerten Remissionsdauer oder gar eines verlängerten Überlebens. Insgesamt stellen die von uns gemachten Beobachtungen das Prinzip der chemotherapeutischen Intensivierung der Konditionierung der einzelnen HDT generell in Frage. Erfolgreicher war der zeitgleich von der „*Intergroupe francophone de myelome*“³⁹ verfolgte Ansatz durch eine Tandem-HDT eine Therapieintensivierung zu erreichen, aber die Nebenwirkungen aufgrund der zeitlichen Trennung der Behandlung nicht zu erhöhen. Bei diesem Ansatz zeigte sich ein signifikanter Überlebensvorteil für die zweimal transplantierten Patienten mit einem im Median um 10 Monate verlängerten Gesamtüberleben. Dies galt jedoch nur für die Subgruppe der Patienten, die nicht mindestens eine sehr gute partielle Remission nach der ersten Hochdosistherapie erreicht hatten. In Zukunft wird durch die Verfügbarkeit der „Neuen Substanzen“ und möglicher Synergieeffekte zwischen Chemotherapie und Immunmodulation, Anti-Angiogenese

und Proteasomen-Inhibition das Thema der Intensivierung der HDT erneut diskutiert werden. Eigene preliminäre Daten bei Patienten, die im Rezidiv eine zweite HDT erhalten hatten, zeigen, dass eine Konditionierung mit Melphalan und Bortezomib gut verträglich ist. Die Patientenzahl ist jedoch noch zu gering und das „Follow-up“ zu kurz, um Aussagen über das Ansprechen zum jetzigen Zeitpunkt zuzulassen.

Verringerung der Toxizität nach Hochdosistherapie und autologer Blutstammzelltransplantation durch den Einsatz von pegyliertem G-CSF (Pegfilgrastim) und Keratinozyten-Wachstumsfaktor (Palifermin)

Aufgrund unserer Erfahrungen aus der Studie zur Dosisintensivierung der HDT (**Referenz D**) setzten wir uns zum Ziel, die Toxizität der HDT in Zukunft zu reduzieren. Eine verlängerte Zeit der Neutropenie sowie eine hochgradige Mukositis im intensivierten Therapiearm konnten als Hauptursachen für schwere infektiöse Komplikationen und die erhöhte TRM ausgemacht werden. Der Einsatz von Wachstumsfaktoren als supportive Maßnahmen zur Verbesserung der Nebenwirkungen lag daher nahe.

Auch ohne den Einsatz von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren finden sich erhöhte G-CSF Spiegel bei Patienten während der frühen Phase der Knochenmarkaplasie nach HDT und autologer PBSZT ⁴⁸. Während der späteren Phase der hämatologischen Rekonstitution kann der Einsatz von G-CSF die Zeit bis zum Neutrophilenanstieg beschleunigen und auf diesem Wege die TRM verringern ^{49;50}. Bei heterogenen Patientenkollektiven mit unterschiedlichen hämatologischen Neoplasien konnte gezeigt werden, dass mit Pegfilgrastim eine vergleichbare Wirkung erreicht werden konnte ^{37;51;52}. Pharmakokinetische Daten beim Menschen waren jedoch in dieser Situation nicht bekannt. Darüber hinaus waren krankheitsspezifische Unterschiede nicht auszuschließen, da Patienten mit MM niedrigere endogene G-CSF Spiegel während der Neutropenie aufweisen als andere Patienten ⁵³. Wir wollten daher den Einsatz von Pegfilgrastim in einem homogenen Kollektiv von Patienten mit MM untersuchen und gleichzeitig Pegfilgrastimspiegel im Plasma messen (**Referenz E**).

Wir applizierten daher bei 21 Patienten am Tag +1 nach HDT und autologer PBSZT 6 mg Pegfilgrastim und führten tägliche Messungen des Blutbildes sowie der Pegfilgrastimspiegel durch (Abbildung 6).

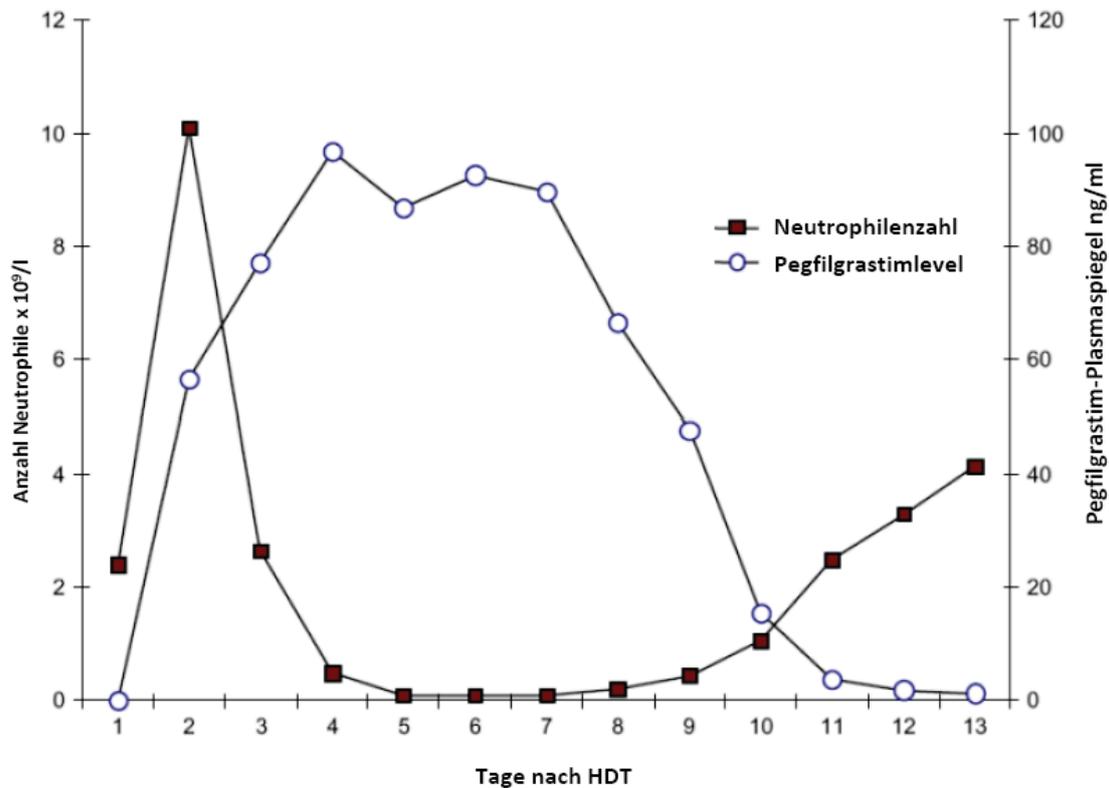


Abbildung 6: Pegfilgrastimspiegel und Neutrophilenzahlen nach HDT

Die Pegfilgrastimspiegel stiegen am Tag nach Applikation prompt an und erreichten im Median Werte von 94 ng/ml (Spanne: 37-205). Die gemessenen Pegfilgrastimspiegel wurden durch die Zahl der Neutrophilen selbst reguliert. Einerseits korrelierten die maximal erreichten Pegfilgrastimspiegel streng invers ($r = -0,7$, $p < 0,001$) mit der Anzahl der direkt nach Pegfilgrastimgabe stimulierten Neutrophilenzahl. Andererseits zeigten sich bei allen Patienten unverändert hohe Pegfilgrastimspiegel, die erst zum Zeitpunkt der beginnenden Neutrophilenrekonstitution abfielen. Bei allen Patienten mit Neutrophilenzahlen von mehr als $0,5 \times 10^9/l$ fand sich ein Pegfilgrastimspiegel von weniger als 20 pg/ml. Diese Beobachtung ist von besonderer Bedeutung, da bei einer Patientin am Tag der Neutrophilenregeneration eine Milzruptur bei normaler Milzgröße eintrat (**Referenz F**). Es handelte sich dabei um eine seltene Nebenwirkung, die beim Einsatz von myeloischen Wachstumsfaktoren beschrieben ist⁵⁴. Ein besonderes Risiko durch

den Einsatz von Pegfilgrastim erscheint aufgrund der zum Zeitpunkt der Milzruptur niedrigen Pegfilgrastimspiegel eher unwahrscheinlich.

Klinisch verglichen wir unsere Kohorte von 21 Patienten mit einer historischen Kontrollgruppe von Patienten mit MM, die nach HDT keine Wachstumsfaktoren erhalten hatten und sich hinsichtlich Alter, Vortherapien und erhaltener CD 34+ Zellzahlen nicht unterschieden (**Referenz E**). Es zeigte sich, dass die Patienten in der Pegfilgrastimgruppe eine signifikant ($p < 0,0001$) kürzere mediane Neutropeniedauer von 6 Tagen (Spanne: 5-11) im Vergleich zu 11 Tagen (Spanne: 8-26) aufwiesen (Abbildung 7).

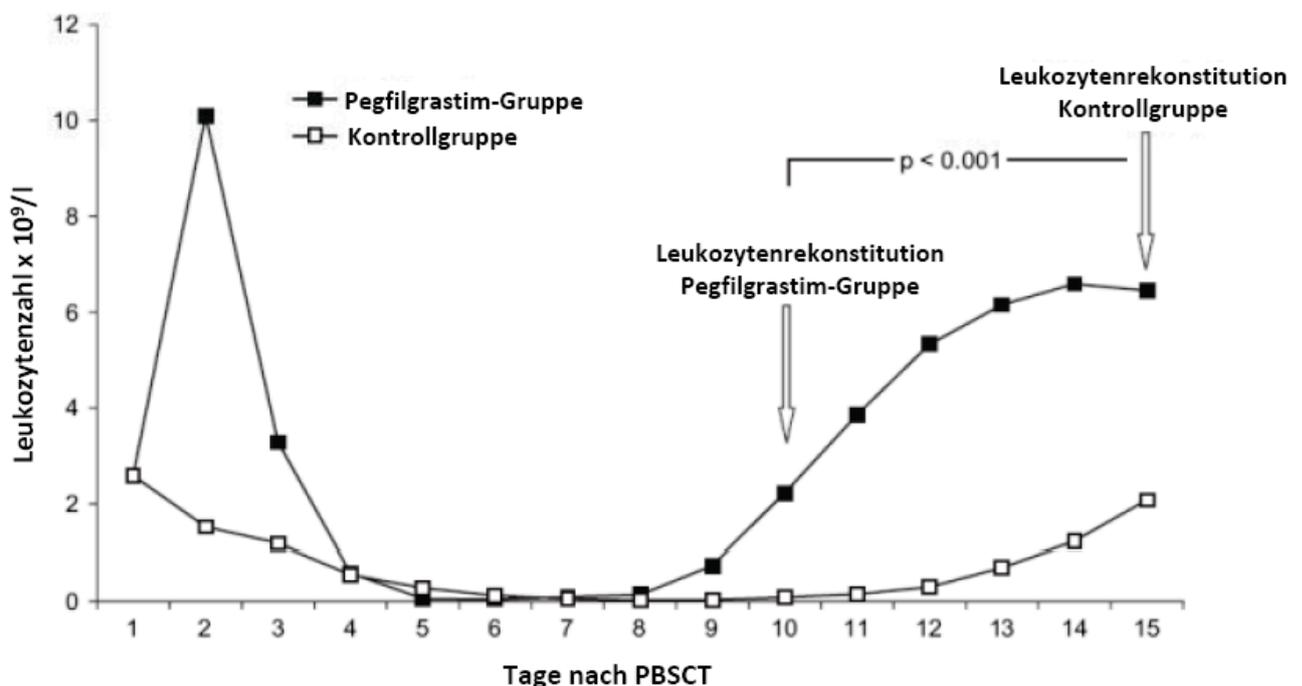


Abbildung 7: Neutrophilenrekonstitution der Pegfilgrastimgruppe im Vergleich zu einer historischen Kontrollgruppe ohne G-CSF Unterstützung

Interessanterweise führte die um im Median fünf Tage verkürzte Neutropeniedauer jedoch nicht zu einer Verbesserung von klinischen Parametern wie Tage mit Fieber, Tage mit intravenösen Antibiotika, Tage mit Analgetika, Tage mit parenteraler Ernährung oder Tage im Krankenhaus (Tabelle 2). Dies lag daran, dass die meisten Patienten trotz früher Neutrophilenrekonstitution weiterhin an Mukositis litten und daher im Krankenhaus bleiben mussten. In einer zweiten Kohorte von 21 Patienten gaben wir daher neben Pegfilgrastim an Tag +1 den humanen Keratinozyten-Wachstumsfaktor Palifermin an Tag -6 bis -4, der die Dauer und Schwere der

Mukositis nach HDT bei Patienten mit hämatologischen Neoplasien verringern kann⁵⁵. Durch diese kombinierte Behandlung benötigten die Patienten signifikant weniger Antibiotika, Morphin und parenterale Ernährung und konnten im Median um 5 Tage früher entlassen werden als Patienten, die keine Wachstumsfaktoren erhielten.

	Kontrolle	Pegfilgrastim	Pegfilgrastim + Palifermin
Patientenzahl	21	21	45
Diagnosen / Therapie	MM / HD-M	MM / HD-M	MM / HD-M
Alter	53 (42-64)	55 (39-69)	60 (45-74)
CD34⁺/kg	3,9(2,0-13,0)	4,5(2,0-12,0)	3,5(1,9-18,8)
Tage bis WBC>1x10⁹/l	15 (11-29)	10 (9-14)	11 (9-23)
Tage bis PLT>20x10⁹/l	13 (9-49)	12 (8-20)	12 (0-18)
Thrombozytenkonzentrate	2 (0-11)	2 (0-11)	2 (0-6)
Erythrozytenkonzentrate	2 (0-6)	2 (0-14)	1 (0-6)*
Tage mit Fieber	1 (0-5)	0 (0-5)	0 (0-13)
Tage mit i.v. Antibiotika	6 (0-23)	4 (0-21)	0 (0-29)
Tage mit parent. Ernährung	6 (0-16)	6 (0-16)	0 (0-29)
Tage mit i.v. Morphintherapie	8 (0-21)	4 (0-21)	0 (0-12)*
Tage stationärer Aufenthalt	22 (15-29)	21 (15-34)	17 (13-49)*
Maximale Mukositis (WHO)			1(0-4)
Tage mit Mukositis			1(0-43)

Tabelle 2: Klinische Parameter der drei Kohorten

Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass durch den einmaligen Einsatz von Pegfilgrastim nach HDT um den Faktor 100 höhere Spiegel im Blut erreicht wurden, als physiologisch in der Neutropenie zu beobachten sind⁴⁸ und um den Faktor 10 höhere Spiegel, als durch repetitive G-CSF Gaben erreicht werden können⁵⁶. Es wurden dabei hohe Spiegel bis zum Zeitpunkt der Neutrophilenrekonstitution aufrecht erhalten und dann sicher abgebaut. Damit unterschied sich die Kinetik von dem bekannten pharmakokinetischen Profil bei Rhesusaffen, bei denen nach Pegfilgrastimapplikation ein kontinuierlich fallender Wirkspiegel nach HDT beschrieben wurde⁵⁷. Die alleinige Gabe von Pegfilgrastim führte zu einer schnelleren Neutrophilenregeneration, war aber nicht ausreichend, um klinische Nebenwirkungen signifikant zu reduzieren. Dies gelang erst mit der kombinierten Behandlung mit Pegfilgrastim und Palifermin. Diese Kombination bewirkte eine im Median nur sechs Tage andauernde Aplasiaphase begleitet von einer nur gering ausgeprägten Mukositis, die eine normale Nahrungsaufnahme bei den meisten

Patienten erlaubte. Zukünftige Untersuchungen zielen auf eine Verminderung der Therapie-assoziierten Nausea und den Transfusionsbedarf an Erythrozytenkonzentraten ab.

Themenkomplex 2:

Verbesserung der Rezidivtherapie durch Thalidomid und Bortezomib

Entwicklung einer Risiko-adaptierten Therapie mit Thalidomid als Mono- oder Kombinationstherapie bei Patienten mit rezidivierter Erkrankung

Seit 1999²⁰ ist bekannt, dass eine Thalidomid Monotherapie bei Patienten mit rezidiviertem oder refraktärem MM bei einem Drittel der Fälle Remissionen induzieren kann und damit eine wirksame Substanz in der Therapie des MM darstellt. Die optimale Dosierung und Dauer der Therapie ist jedoch bis heute nicht bekannt. Eine Kombination mit Steroiden führte zu einer Verdoppelung der Ansprech-raten^{58;59}. Daher führten wir eine einarmige, multizentrische Phase II Studie zur Kombinationstherapie aus Thalidomid, Dexamethason und hyperfraktioniertem Cyclophosphamid (Hyper-CDT) durch (**Referenz G**), mit dem Ziel die Remissionsraten durch eine Kombination mit konventioneller Chemotherapie weiter zu steigern. Von Juli 2000 bis Dezember 2001 wurden insgesamt 60 Patienten mit rezidiviertem oder refraktärem MM und im Median zwei vorherigen Therapielinien (Spanne: 1-6) in diese Studie inkludiert und gemäß dem in Abbildung 8 dargestellten Therapieschema behandelt.

In der Studie erreichten 84 % (4 % CR, 68 % PR, 12 % MR) der Patienten eine Remission, die im Median 11 Monaten anhielt. Das mediane Gesamtüberleben lag bei 19 Monaten. Dies entsprach Ergebnissen, die andere Gruppen zeitgleich erhoben und publiziert hatten^{60;61}. Besonders hervorzuheben ist, dass Patienten mit schlechten Prognoseparametern wie refraktärer Erkrankung, hohem β 2-Mikroglobulin oder zytogenetischen Aberrationen, in dieser Untersuchung kein schlechteres Ansprechen oder Überleben aufwiesen als Patienten mit günstigen Prognosefaktoren. Die hohen Ansprech- und Überlebensraten waren jedoch von einer erhöhten Toxizität begleitet. So traten folgende schwere Grad 3+4 Toxizitäten auf: 88 % Neutropenie, 26 % Infektionen, 30 % Thrombozytopenie, 16 % Neuro-pathie, 9 % Lebertoxizität, 6 % Nierentoxizität, 8 % kardiale Toxizität und 14 % thromboembolische Ereignisse. Wir hatten damit ein hoch wirksames

200 mg (Spanne: 100-400 mg) Thalidomid pro Tag bis zum Progress der Erkrankung ein.

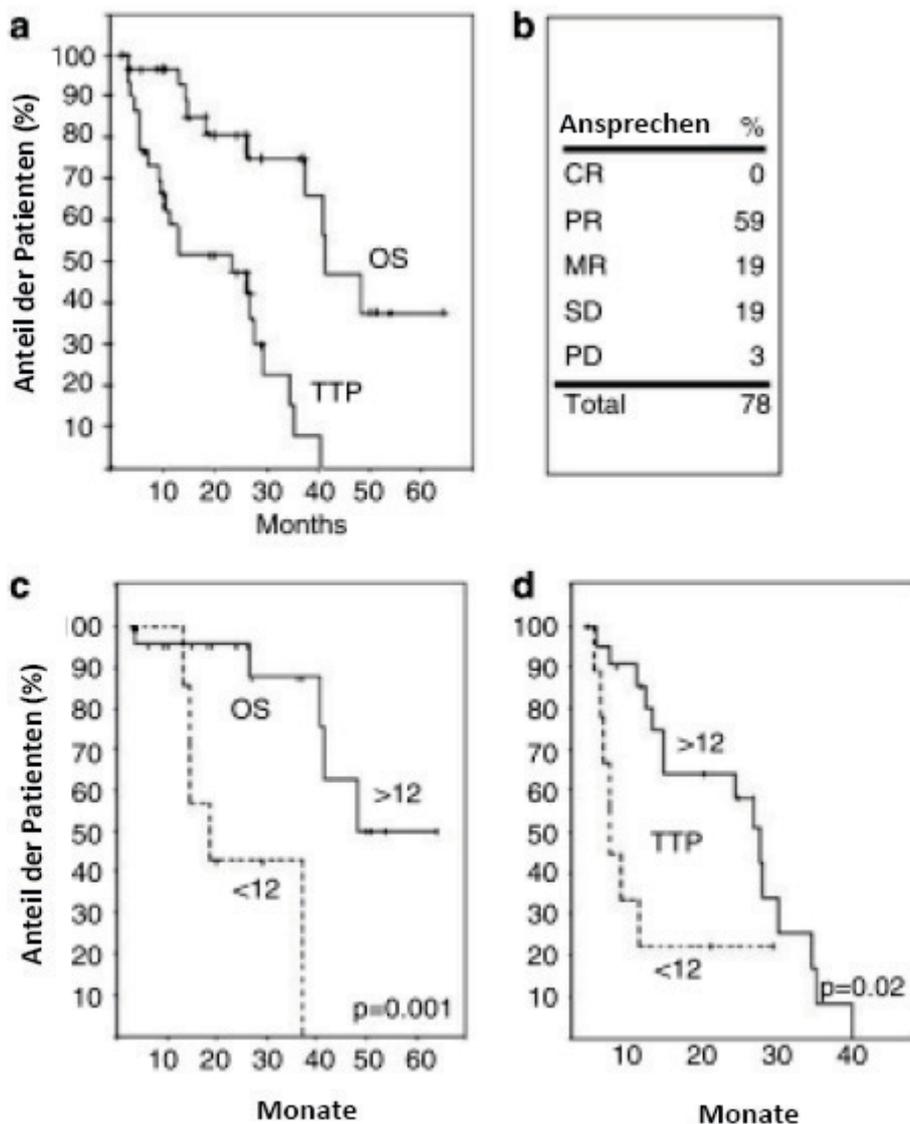


Abbildung 9: Thalidomid-Monotherapie im ersten Rezidiv nach HDT.

A Zeit bis zur Progression (TTP) und Gesamtüberleben (OS)

B Ansprechraten

C Gesamtüberleben nach vorangegangener Remissionsdauer

D Zeit bis zur Progression nach vorangegangener Remissionsdauer

Durch diese Behandlung konnte bei 78 % (59 % PR, 19 % MR) der Patienten ein Ansprechen beobachtet werden. Das ereignisfreie und das Gesamtüberleben betragen im Median 23 und 41 Monate (Abbildung 9). Unsere Daten zeigten ein deutlich höheres und längeres Ansprechen einer Thalidomid-Monotherapie als es in der Literatur für schwer vortherapierte Patienten vorbeschrieben war^{20,61,64}. Darüber

hinaus war die Verträglichkeit der Therapie gut und der Anteil der schweren Grad 3 und 4 Nebenwirkungen betrug nur 15 %. Einen Anhalt für eine Dosiswirkungsbeziehung, wie sie von einigen anderen Autoren beschrieben wurde^{20;62-66}, konnten wir bei unseren Patienten nicht finden. Es zeigte sich in den univariaten Subgruppenanalysen, dass Patienten mit zytogenetischen Veränderungen, CRP-Wert von mehr als 6 mg/l oder einem Frührezidiv nach weniger als 12 Monaten nach HDT ein schlechteres Ansprechen aufwiesen als Patienten ohne diese Veränderungen. In der Multivariat-Analyse erwies sich der Faktor Frührezidiv als der stabilste Parameter sowohl für das ereignisfreie als auch für das Gesamtüberleben.

Zusammenfassend konnten wir durch einen frühen Einsatz von Thalidomid im ersten Progress nach Hochdosistherapie etwa zwei Drittel aller Patienten mit einer gut verträglichen Thalidomid-Monotherapie behandeln und lange anhaltende Remissionen erreichen. Dennoch zeigen die Ergebnisse, dass eine Risiko-adaptierte Therapieentscheidung getroffen werden sollte. Patienten mit Frührezidiv und einer vorangegangenen Remissionsdauer von weniger als 12 Monaten sollten nicht mit dieser Therapie behandelt werden. Für diese Patienten stellt das auch bei Patienten mit schlechten Prognosefaktoren effektive Hyper-CDT Protokoll eine gute Behandlungsalternative dar, wobei eine höhere Nebenwirkungsrate in Kauf genommen werden muss.

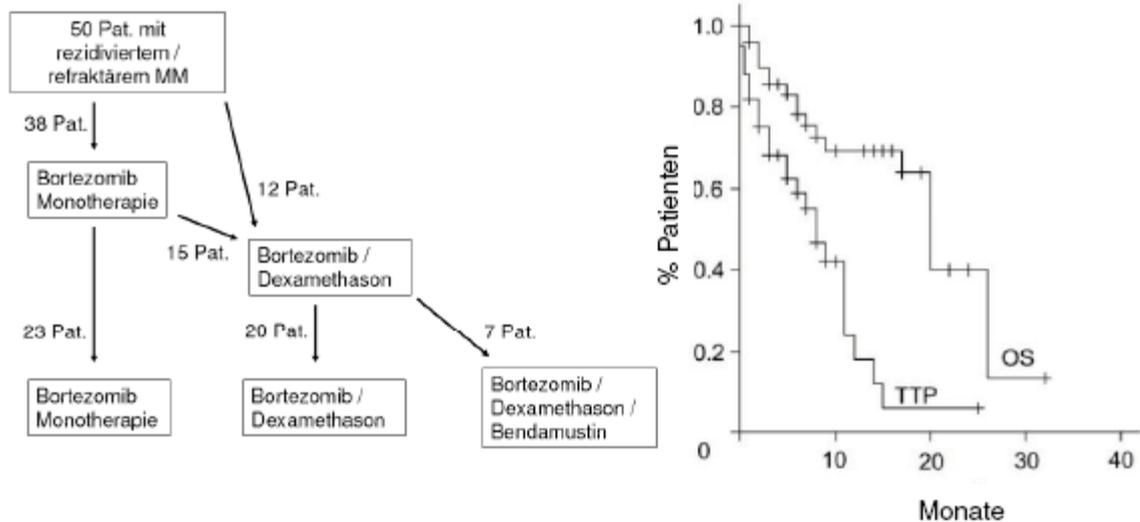
Entwicklung eines Eskalationsalgorithmus mit Bortezomib als Mono- oder Kombinationstherapie bei Patienten mit rezidivierter Erkrankung

Nach einem erneuten Rezidiv während einer Thalidomid Mono- oder Kombinationstherapie stellt eine Therapie mit Bortezomib eine mögliche Behandlungsalternative dar. Die Monotherapie mit Bortezomib ist eine etablierte Therapie für Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung^{24;67}, die sogar bei Patienten mit ungünstigen Prognosefaktoren wie zytogenetischen Aberrationen in gleicher Weise hinsichtlich Ansprechraten und Remissionsdauer wirksam ist, wie bei Patienten mit günstigen Risikofaktoren⁶⁸. Dennoch kann mit einer Bortezomib-Monotherapie nur bei weniger als der Hälfte der vortherapierten Patienten eine Remission erreicht werden. Damit bestand, wie bereits beim Thalidomid beschrieben,

die Notwendigkeit nach einer Kombinationstherapie zu suchen, die höhere Ansprechraten erreichen konnte. Als möglichen Kombinationspartner bot sich Bendamustin an, dessen Wirksamkeit bei Patienten mit MM bisher in zwei Studien belegt wurde^{69,70}. Bendamustin ist ein bifunktionales alkylierendes Agens, das eine extrem gute Verträglichkeit hat⁷¹ und kaum Kreuzresistenzen zu anderen alkylierenden Substanzen oder Anthrazyklinen aufweist⁷². Aus diesem Grunde ist es besonders für Patienten mit mehrfachen Vortherapien geeignet.

Da eine Kombinationstherapie in der Regel der Fälle mit erhöhten Nebenwirkungen einhergeht, wählten wir in diesem Fall ein sequentielles Vorgehen mit einem an das Ansprechen angepassten Therapieeskalationsalgorithmus (**Referenz I**). Dieser sah vor, dass alle Patienten einen Zyklus einer Bortezomib-Monotherapie erhalten sollten. Danach sollte die Behandlung fortgeführt werden, wenn zumindest eine MR nach diesem Zyklus erreicht werden konnte. Andernfalls sollte eine Eskalation der Therapie mit Dexamethason erfolgen. Die Kombination Bortezomib und Dexamethason sollte erneut einen Zyklus lang verabreicht werden und an dessen Ende war eine Evaluation des Therapieansprechens vorgesehen. Bei Erreichen von mindestens einer MR sollte die Behandlung fortgeführt werden, anderenfalls sollte eine erneute Therapieeskalation mit Bendamustin im Sinne einer Dreifachkombination erfolgen (Abbildung 10).

In dieser Studie wurden 50 Patienten mit MM behandelt, die im Median 3 (Spanne: 1-7) vorherige Therapielinien inklusive HDT (92 %) und Thalidomid (80 %) bekommen hatten. Nur bei 38 Patienten (78 %) konnte wie geplant mit einer Bortezomib-Monotherapie begonnen werden. Bei 12 Patienten (24 %) wurde aufgrund von schweren Komplikationen wie Hyperkalziämie, Nierenversagen oder extramedullärer Manifestation mit einer Kombinationstherapie aus Bortezomib und Dexamethason begonnen. Bei 23 Patienten (46 %) war keine Eskalation notwendig, 20 Patienten (40 %) wurden mit einer Zweifachkombination und 7 Patienten (14 %) mit einer Dreifachkombination behandelt. Die beobachteten Nebenwirkungen waren für die Monotherapie gering und stiegen mit den Eskalationsstufen an. Sie waren jedoch auch bei den Patienten in der letzten Eskalationsstufe moderat. Von allen Patienten mussten lediglich 14 % aufgrund von Nebenwirkungen im Verlauf der Behandlung stationär aufgenommen werden.



Ansprechraten:

	B, n = 23	B + Dex, n = 20	B + Dex + Bend, n = 7
nCR	4 (18%)	0 (0%)	0 (0%)
PR	14 (60%)	9 (45%)	4 (57%)
MR	4 (18%)	5 (25%)	2 (29%)
SD/PD	1 (4%)	6 (30%)	1 (14%)

B Bortezomib, Dex Dexamethason, Bend Bendamustin
 nCR „near complete remission“, PR partielle Remission, MR „minor response“,
 SD „stable disease“, PD „progressive disease“

Abbildung 10: Flussschema, Zeit bis zur Progression und Gesamtüberleben aller Patienten, Ansprechraten nach Dosiseskulationsstufe

Das Gesamtansprechen lag bei allen Patienten bei 84 % und war unabhängig von der notwendigen Eskalationsstufe. Bei Patienten, die im Median seit 59 Monaten mit der Diagnose Multiples Myelom behandelt wurden, konnte eine mediane Remissionsdauer von 8 Monaten und ein Gesamtüberleben von 20 Monaten erzielt werden. Dies stellte bei den untersuchten Patienten mit weit fortgeschrittener Erkrankung ein gutes Ergebnis dar. Andere Arbeitsgruppen erzielten mit Dreifachkombinationen unter Verwendung von Bortezomib ähnliche Ergebnisse⁷³⁻⁷⁵, wobei in diesen Untersuchungen jedoch stets alle Patienten eine Dreifachkombination erhielten. Wieder konnten wir eine Patientengruppe identifizieren, die nicht für dieses Vorgehen geeignet war. Patienten, die aufgrund von klinischen Problemen von Beginn an mit der Kombination Bortezomib und Dexamethason behandelt wurden, zeigten ein deutlich schlechteres Ansprechen. Für

diese Patienten müssen noch aggressivere Kombinationstherapien empfohlen werden.

Insgesamt zeigen unsere Daten, dass eine Behandlung mit unserem Ansprechen-adaptierter Behandlungsalgorithmus möglich ist. Es ist nicht notwendig alle Patienten initial mit einer Dreifachkombination zu behandeln. Vielmehr bietet sich an, entsprechend dem Therapieansprechen die Behandlung zu eskalieren. Dadurch lassen sich Nebenwirkungen vermeiden, was insbesondere bei Patienten mit vielen Vortherapien von Bedeutung ist. Ferner lässt sich so eine bessere Lebensqualität erhalten.

Themenkomplex 3: Verbesserung der Diagnostik

Vorhersage einer Krankheitsprogression durch den molekularen Nachweis von minimaler Resterkrankung

Aufgrund der höheren Ansprechraten, die durch Kombinationstherapien mit den „Neuen Substanzen“ erreicht werden, ist es notwendig sensitivere Nachweismethoden zur Bestimmung der Krankheitsaktivität zu entwickeln. Die Methode der „Polymerase chain reaction“ (PCR) ist eine sensitive Methode, mit der kleinste Mengen an residualen Tumorzellen nachgewiesen werden können. Der quantitative molekulare Nachweis der MRD wird heutzutage bereits im klinischen Alltag für die Therapiekontrolle bei Patienten mit akuter lymphatischer Leukämie und chronisch myeloischer Leukämie (CML) eingesetzt und Therapieentscheidungen hängen von diesen Kontrollen ab ⁷⁶.

Wir haben bei Patienten mit follikulärem Lymphom (**Referenz J**) und bei Patienten mit CML (**Referenz K**) die „real-time“ quantitative (RQ) – PCR erfolgreich zur Bestimmung der Krankheitsaktivität eingesetzt. Patienten mit follikulärem Lymphom weisen in 80 % der Fälle eine t(14;18)-Translokation auf, die mit der RQ-PCR nachgewiesen werden kann. Wir zeigten an Proben aus dem peripheren Blut und aus dem Knochenmark von 52 Patienten, dass während einer Remission um den Faktor 10 niedrigere Werte als während einer aktiver Erkrankung zu messen waren. Darüber hinaus fand sich ein signifikanter Unterschied in der Höhe der MRD zwischen Patienten mit unterschiedlichem Remissionsstatus.

Bei Patienten mit CML kann die MRD anhand der t(9;22) - Translokation bestimmt werden. Wir konnten bei 33 mit dem Thyrosinkinase-Inhibitor Imatinib behandelten Patienten zeigen, dass mit Hilfe dieser Methode eine individuelle, patientenorientierte Therapiesteuerung durch das molekulare Monitoring möglich war. Eine molekulare Remission erreichten 66 % der Patienten, während bei 33 % eine Dosissteigerung des Imatinib notwendig war. Diese war in 54 % der Fälle erfolgreich, während in 45 % der Fälle eine Therapieumstellung auf Nilotinib erfolgen musste (Abbildung 12).

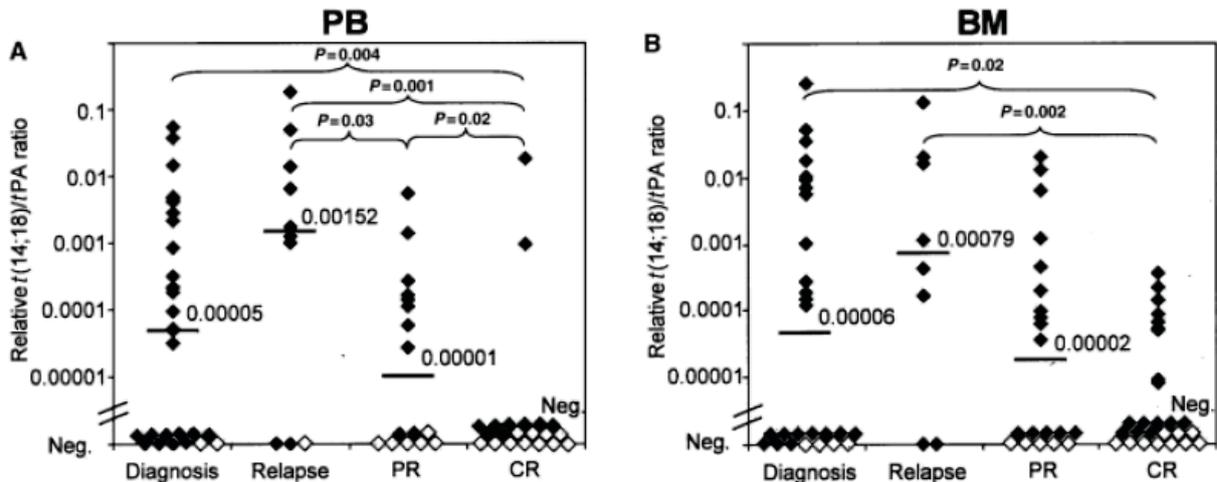


Abbildung 11: MRD Monitoring mit Hilfe der RQ-t(14;18)-PCR im peripheren Blut und Knochenmark von Patienten mit follikulärem Lymphom

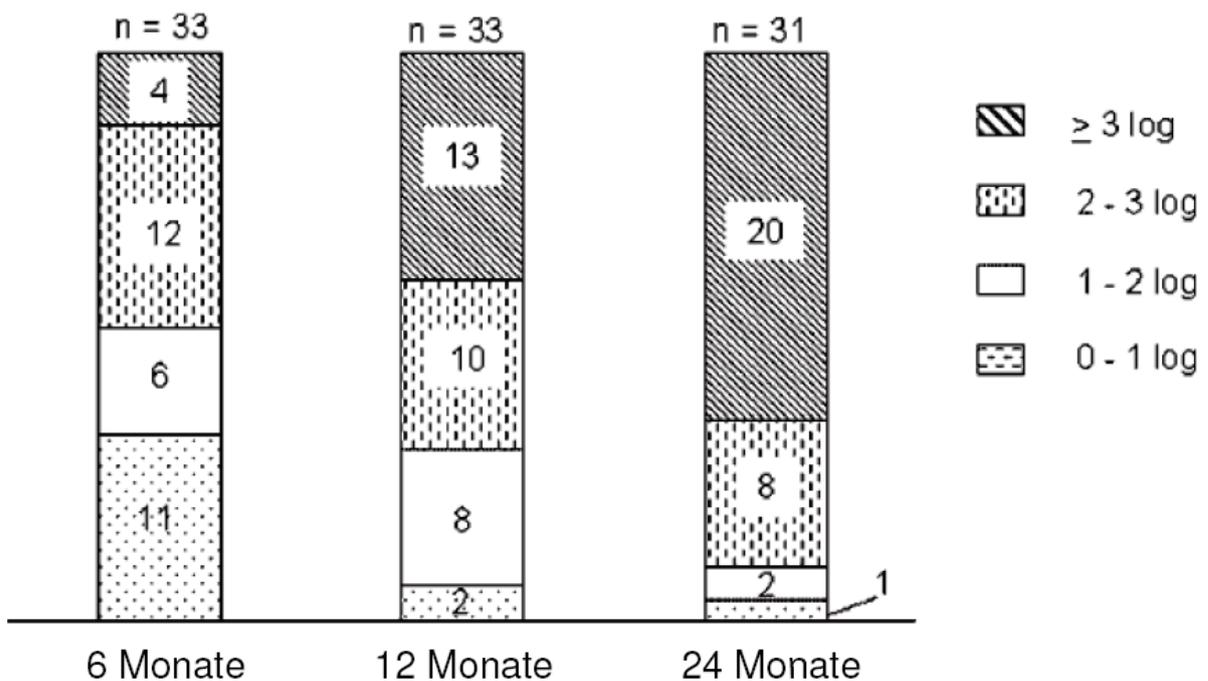


Abbildung 12: MRD Monitoring mit Hilfe der RQ-bcr/abl-PCR bei Patienten mit chronisch myeloischer Leukämie

Bei Patienten mit B-Zellerkrankungen stellt der patientenspezifische Immunglobulin-Schwerkettenloкус (IgH) einen möglichen molekularen Marker dar (*reviewed by Fenk et al.*⁷⁷). Durch die Verwendung von Allel-spezifischen Oligonukleotid-Primern (ASO), die komplementär zu der individuellen IgH Gensequenz sind, kann mit der quantitativen PCR die Anzahl der residualen Tumorzellen bestimmt werden. Bei

Patienten mit MM wurde diese Methode bisher verwendet, um die Effektivität von „Purging“-Verfahren von Leukaphereseprodukten zu bestimmen⁷⁸⁻⁸¹ oder die MRD nach HDT und autologer PBSZT⁸²⁻⁸⁵ nachzuweisen. Dabei wurden von den verschiedenen Arbeitsgruppen unterschiedliche Methoden verwendet, wie die „limiting dilution“-Methode⁸⁶ und RQ-PCR⁸⁷⁻⁹⁰ Verfahren. Die Bedeutung der MRD und ihres Verlaufes während der Erkrankung ist jedoch zur Zeit bei Patienten mit MM nicht geklärt.

Wir etablierten eine IgH-RQ-PCR unter der Verwendung von ASO-Tagman Sonden auf dem LightCycler System, das folgenden Qualitätsmerkmalen entsprach: Sensitivität von mindestens 10^{-4} , Linearität von mindestens $r = 0.98$ über sechs Log-Stufen und Spezifität mit ausschließlich negativen Werten bei Verwendung anderer Patientenproben (**Referenz L**) (Abbildung 13). Damit führten wir Messungen an DNA aus Patientenproben aus dem peripheren Blut und aus dem Knochenmark durch. Eine Normalisierung der Werte gelang durch das „house-keeping“ Gen β -Aktin und eine Quantifizierung wurde durch den Quotienten 1 IgH / 2 β -Aktin durchgeführt, der als „Ratio“ in Prozent angegeben wurde.

Düsseldorfer Myelomstudie 2001 – Wissenschaftliches Begleitprogramm

„Real-time“-quantitative (RQ)-IgH-PCR zur Quantifizierung der „minimalen Resterkrankung“

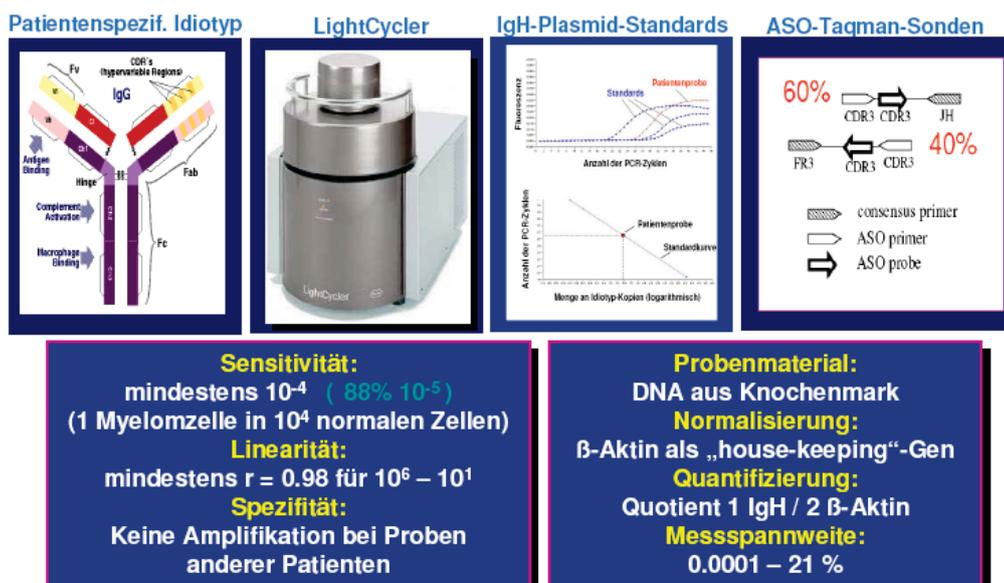


Abbildung 13: MRD Monitoring mit Hilfe der Methode der RQ-IgH-PCR für Patienten mit MM

Wir generierten damit negative Messwerte sowie Messwerte von 0,0001 % bis 21 % IgH / 2 β -Aktin. Die hohe Genauigkeit der Methode wurde durch eine „intra-assay“ und eine „inter-assay“ Variabilität mit einem Korrelationskoeffizienten von jeweils $r = 0.99$ nachgewiesen. Die Methode wurde darüber hinaus durch „spiking“-Experimente mit Tumorzellen in gesunden Zellen validiert.

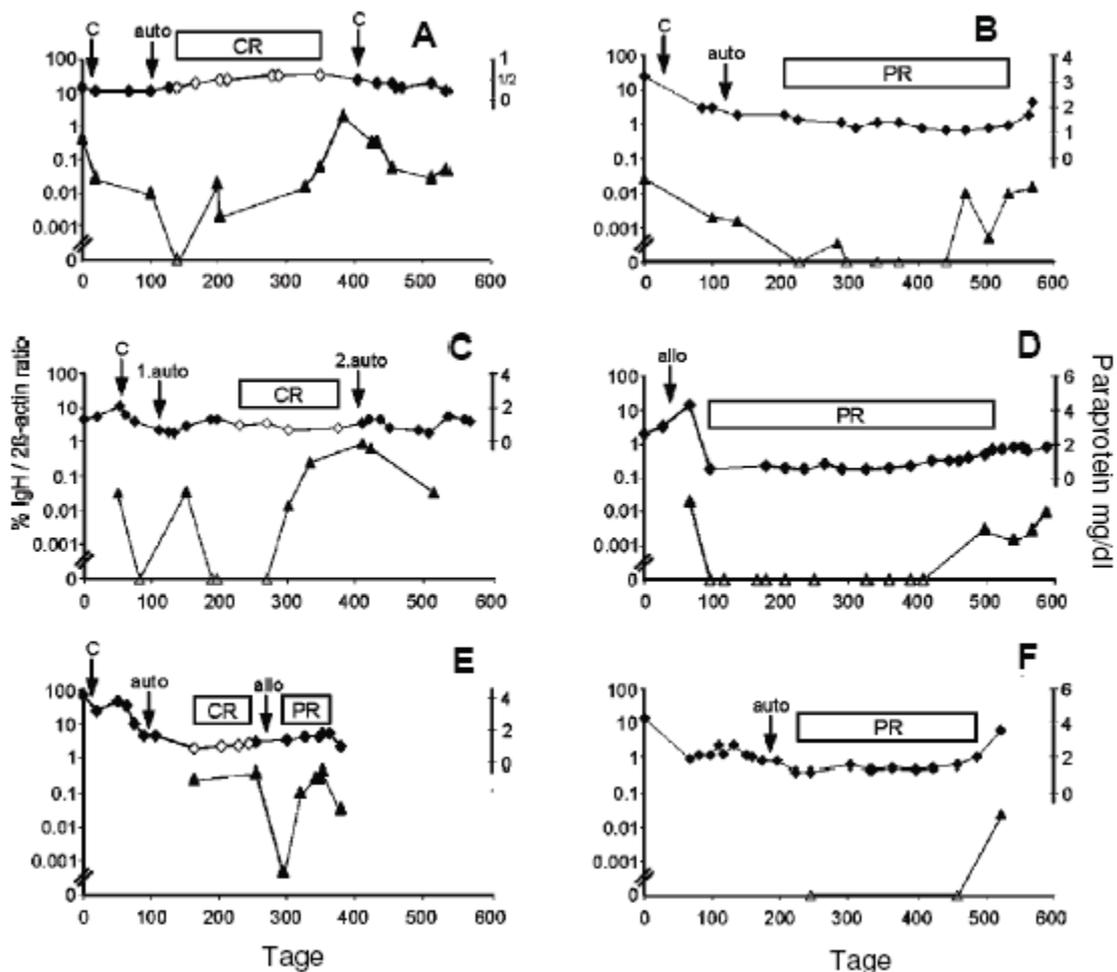


Abbildung 14: MRD mit Hilfe der RQ-IgH-PCR im peripheren Blut von Patienten mit MM

In einer ersten Untersuchung wurden 163 Proben von 11 Patienten untersucht, die im Rahmen der Primärtherapie eine HDT mit autologer PBSZT erhielten. Die Proben aus dem Knochenmark und peripheren Blut unterschieden sich signifikant um einen Faktor von 2 bis 650. Ferner fiel die IgH Ratio im Knochenmark von im Median 13% vor Therapie auf im Median 0,09 % nach Therapie signifikant ab ($p = 0.003$). In gleicher Weise konnte im peripheren Blut ein Abfall von im Median 0,03 % auf 0 % beobachtet werden. Zum Zeitpunkt eines Progresses fand sich ein erneuter Anstieg auf 2 % im Knochenmark und 0,4 % im peripheren Blut.

Das sequentielle Monitoring von Proben, die in monatlichen Abständen aus dem peripheren Blut gewonnen wurden, zeigte bei fünf Patienten mit anhaltender Remission konstant negative oder gleichbleibend niedrige (Median 0,0003%) MRD Werte. Bei sechs Patienten, die ein Rezidiv erlitten hatten, konnte im Median 3 (Spanne: 0,5 – 6) Monate vor dem klinischen Progress der Erkrankung ein Anstieg der IgH / 2 β -Aktin Ratio über eine Zehnerpotenz hinweg beobachtet werden. Bei zwei Patienten war dieser Anstieg zeitgleich mit dem klinischen Rezidiv zu beobachten (Abbildung 14).

Das wichtigste Ergebnis dieser Studie war jedoch, dass die MRD Menge im Knochenmark zum Zeitpunkt vor HDT und autologer PBSZT von besonderer prognostischer Bedeutung war. Dieser Zeitpunkt wurde in allen bisherigen Arbeiten vernachlässigt, da eine MRD Bestimmung stets nach Abschluss der Therapie erfolgte. Bei unseren 11 Patienten hatte bei 6 Patienten bereits eine Krankheitsprogression nach Therapie eingesetzt und alle wiesen im Knochenmark MRD Werte über 0,03 % IgH / 2 β -Aktin auf. Währenddessen war bei allen 5 Patienten, die weiterhin in Remission waren, niedrigere MRD Werte zu messen. Aufgrund dieser Beobachtung definierten wir einen Grenzwert von 0,03 % IgH / 2 β -Aktin mit prognostischer Bedeutung für das ereignisfreie Überleben (Abbildung 15).

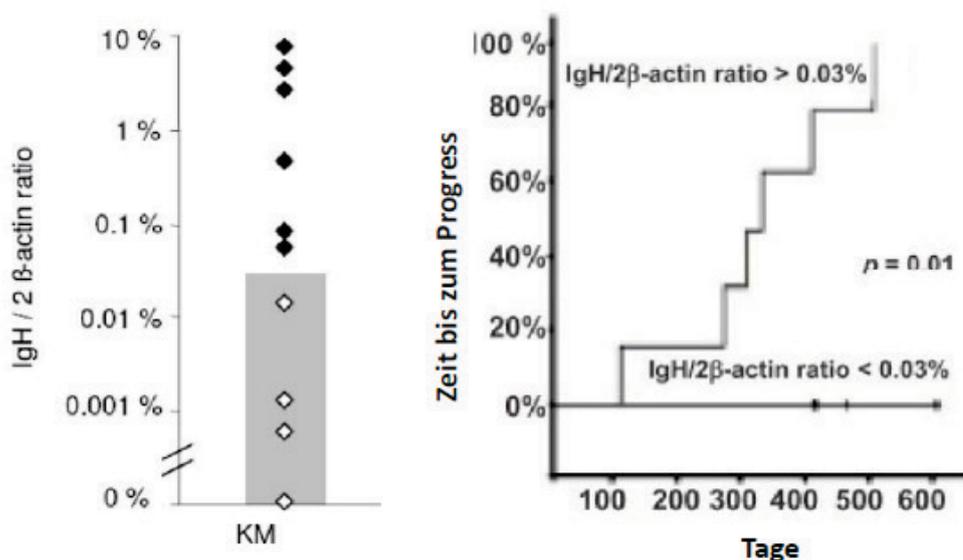


Abbildung 15: MRD im Knochenmark vor HDT, Links: Werte bei Patienten mit Rezidiv (◆) und mit anhaltender Remission (◇), Rechts: Progressionsfreies Überleben bei Gruppierung nach einem MRD-Grenzwert von 0,03% IgH / 2 β -Aktin

Weitere Messungen wurden bei den Patienten durchgeführt, die in der aktuellen Düsseldorfer Myelomstudie zur Primärtherapie behandelt wurden (**Referenz M**). Diese randomisiert nach einer konventionellen Induktion, Mobilisation und nach erfolgter HDT alle Patienten für eine normale Erhaltungstherapie mit Interferon versus eine intensivierete Erhaltungstherapie mit Thalidomid. Von 122 Patienten in der Studie besaßen 80 Patienten einen IgG oder IgA Subtyp, bei dem die Untersuchung durchführbar ist. Bei 71 Patienten konnten Proben gesammelt werden und bei 53 Patienten konnte eine Patienten-spezifische RQ-IgH-PCR nach den oben genannten Kriterien etabliert werden.

MRD-Grenzwert von 0.03% vor Hochdosistherapie ist ein unabhängiger Prognoseparameter

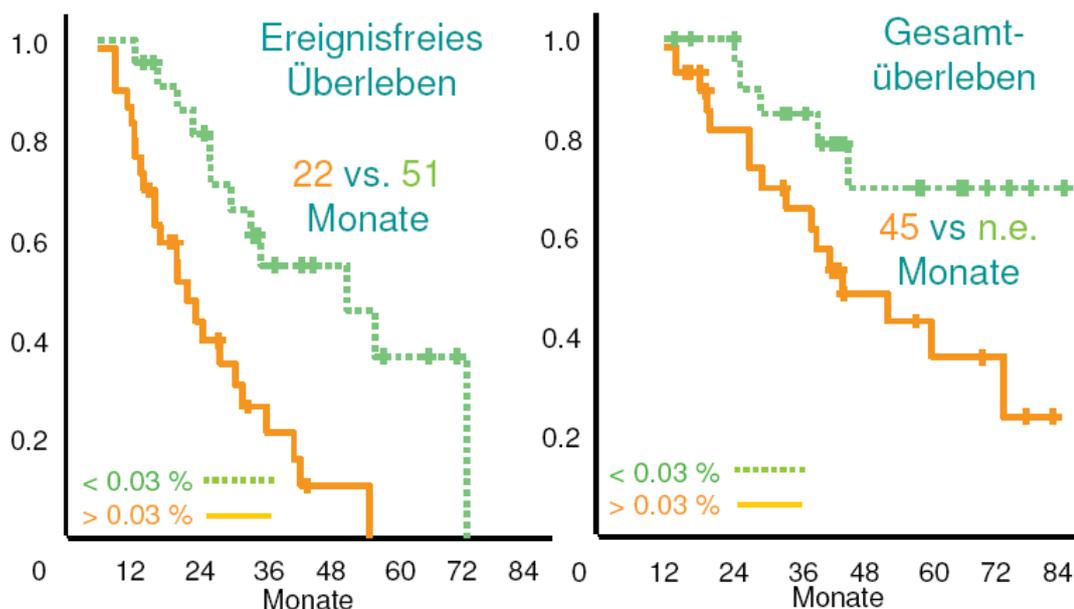


Abbildung 16: Ereignisfreies- und Gesamtüberleben nach HDT nach Gruppierung entsprechend einem Grenzwert von 0,03% IgH / 2 β -Aktin im Knochenmark vor HDT

Die Messung der Knochenmarksproben zum Zeitpunkt vor HDT konnte dabei den zuvor definierten Grenzwert von 0,03 % IgH / 2 β -Aktin eindrucksvoll bestätigen. Die 53 Patienten konnten in eine Niedrig-MRD Gruppe (n=23) und eine Hoch-MRD Gruppe (n=30) eingeteilt werden, die sich hinsichtlich bekannter Prognosefaktoren und Remissionsstatus nicht signifikant unterschieden. Das ereignisfreie Überleben

war in der Niedrig-MRD Gruppe mit 51 gegenüber 22 Monaten signifikant ($p < 0,001$) verlängert. Auch für das Gesamtüberleben zeigte sich eine signifikante Verlängerung in der Niedrig-MRD Gruppe, die bei einem „Follow-up“ von 61 Monaten den Median nicht erreicht hatte im Vergleich zu 41 Monaten in der Hoch-MRD Gruppe ($p=0,01$).

In der Multivariat-Analyse erwies sich der Grenzwert von 0,03 % als Prognosefaktor, der unabhängig war von bekannten Prognosefaktoren wie der Zytogenetik oder dem Stadium nach dem „International Staging System“. Er war ebenfalls unabhängig von der nach HDT durchgeführten Erhaltungstherapie.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die beschriebene RQ-IgH-PCR robust und valide auf molekularer Ebene residuale Tumorzellen entdecken und quantifizieren kann. Die einfachere Durchführbarkeit empfiehlt sie dabei vor der älteren „limiting dilution“ - Methode ⁸⁶. Die Beobachtung, dass bereits Monate vor dem eigentlichen klinischen Rezidiv der Erkrankung ein Anstieg der MRD im peripheren Blut gemessen werden konnte, ermöglicht in der Zukunft eine frühere therapeutische Intervention. Zur Zeit verhindern jedoch zwei Probleme den breiten Einsatz der Methode. Zum einen können Patienten mit einem reinen Leichtkettentyp nicht erfasst werden, zum anderen gelingt nur in 78 % der Fälle mit Schwerekettenkrankung die Entschlüsselung der IgH-Sequenz. Daher ist eine Etablierung einer RQ-Leichtketten-PCR geplant sowie eine Anreicherung der Tumorzellen mit Hilfe von CD138+ „magnetic beads“ in der Initialprobe, die zur Sequenzbestimmung verwendet wird. Mit Hilfe dieser Maßnahmen sollte es möglich werden bei über 80% aller Patienten mit MM ein molekulares Monitoring durchzuführen und so eine individualisierte Therapieanpassung nach molekularen MRD Befunden zu ermöglichen.

Unsere Arbeiten zeigten ferner, dass neben dem sequentiellen, molekularen Monitoring im Blut der Bestimmung der MRD im Knochenmark vor HDT eine wichtige Rolle zukommt. Der von uns definierte Grenzwert von 0,03 % IgH / 2 β -Aktin hat sich als unabhängiger prognostischer Marker erwiesen. Die Einstufung als Risikopatient bedingt die Notwendigkeit, eine intensiviertere Therapie durchzuführen. Es ist daher geplant, innerhalb des nächsten Düsseldorfer Studienkonzeptes MRD-Untersuchungen nach Abschluss der Induktionsbehandlung durchzuführen. Patienten mit MRD Werten kleiner als 0,03 % erhalten anschließend eine HDT während Patienten mit höheren MRD Werten zuvor mit Bortezomib im Sinne einer

intensivierten Induktionstherapie behandelt werden. MRD Untersuchungen werden zeigen, ob sich durch diese Maßnahmen der MRD Level weiter senken lässt und ob eine solche Verminderung auch mit einer besseren Prognose einhergeht.

Verbesserter Nachweis von Osteolysen und extramedullären Manifestationen durch die „low dose“ Computertomographie

Neben der Entwicklung molekularer Nachweismethoden führten wir zusammen mit dem Institut für Diagnostische Radiologie der Universität Düsseldorf eine Studie durch mit dem Ziel, die radiologische Bildgebung bei Patienten mit MM zu verbessern (**Referenz N**). Klassischerweise wird heutzutage bei Erstdiagnose, im Verlauf sowie bei jedem Krankheitsprogress ein konventionelles radiologisches Staging nach dem Pariser Schema durchgeführt. Häufig treten dabei falsch-negative Befunde auf ⁹¹. Aus diesem Grunde führten wir bei 29 Patienten parallel eine Skelettuntersuchung mit konventionellem Röntgen nach dem Pariser Schema und ein Ganzkörper niedrigdosiertes Multidetektor CT mit einem „64-detector row scanner“ durch.

Anzahl, Größe und diagnostische Verlässlichkeit bei konventionellem Röntgen und CT

Aufnahmeregion	Gesamtskelett		Wirbelkörper		Becken		Knöch. Thorax		Extremitäten		
	CR	CT	CR	CT	CR	CT	CR	CT	CR	CT	MPR
Anzahl der osteolytischen Läsionen in diesem Bereich											
Keine Läsion	402	257	72	15	92	51	145	102	69	66	61
Singuläre Läsion	25	57	5	11	5	12	4	20	9	11	12
Mehrere Läsionen (<5)	32	70	4	15	5	12	11	14	12	23	24
Multiple Läsionen (>5)	63	120	6	43	14	37	14	26	26	12	19
Größe											
Kleine Läsion (<3mm)	8	33	0	12	4	6	0	7	3	7	7
Mittlere Läsion (<10mm)	65	79	7	20	9	11	23	24	22	16	18
Große Läsion (>10mm)	47	135	8	37	11	44	6	29	22	23	30
Diagnostische Verlässlichkeit											
Sichere Osteolyse (S1)	50	150	4	47	10	46	11	31	23	18	30
Fragliche Osteolyse (S2)	46	59	5	15	9	11	12	13	18	17	21
Unsicherer Befund (S3)	49	26	14	3	18	2	12	9	4	11	1
Fragl. keine Osteolyse (S4)	163	92	35	4	40	6	54	15	22	66	6
Sicher keine Osteolyse (S5)	214	177	29	15	39	47	85	100	49	0	58

CR: konventionelle Radiologie; CT: MDCT, axial 2mm-Schnitte; MPR:primäre coronar und sagittal multi-planare Rekonstruktion

Tabelle 3: Anzahl, Größe und diagnostische Verlässlichkeit der erhobenen Ergebnisse mit konventionellem Röntgen und CT

Das CT erwies sich dabei als das bessere Verfahren bei annähernd gleicher Strahlendosis. Die Erkennung von Osteolysen war für die Wirbelsäule, das Becken und den Rippenthorax signifikant erhöht ($p < 0,001$) und erreichte beispielsweise für die Wirbelsäule um das siebenfache erhöhte Detektionsraten (Tabelle 3). Bei 18 Patienten fanden sich insgesamt 97 Osteolysen, die nur mit der CT erkannt wurden. Bei 18 % der Patienten, die mit Verdacht auf eine Krankheitsprogression untersucht wurden, änderte sich das therapeutische Vorgehen nur aufgrund der CT-Untersuchung, da Osteolysen oder extramedulläre Raumforderungen zu einer Strahlenindikation führten.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass eine low-dose Ganzkörper-CT-Untersuchung dem bisherigen konventionellen Standard überlegen war. Dies führte innerhalb der Universität Düsseldorf zur Einführung eines neuen Standards in der bildgebenden Diagnostik bei Patienten mit MM. Nachteil der Methode ist, dass nur bereits durch die Erkrankung entstandene Organschäden nachgewiesen werden können. Eine Aktivitätsbestimmung der Erkrankung ist nicht möglich. Die Magnetresonanztomographie (MRT) hingegen ist in der Lage auch Aktivität im Knochenmark nachzuweisen und so zusätzliche prognostische Informationen zu liefern⁹². Daher ist eine begleitende Untersuchung zur neuen Düsseldorfer Myelomstudie zur Primärtherapie geplant, in der Ganzkörper-MRT Untersuchungen parallel mit CT-Untersuchungen vor und nach Therapie vorgesehen sind. So könnte das MRT in der Zukunft auch zur Bestimmung des Ansprechens herangeführt werden. Zukünftige Behandlungsalgorithmen könnten beispielsweise vorsehen, Patienten solange zu behandeln, wie noch eine Aktivität der Erkrankung im MRT nachweisbar ist.

Themenkomplex 4:

Verbesserung der Therapie durch Zelltherapie

Nutzung der allogenen „graft-versus-myeloma“-Reaktion

Trotz Verbesserungen in der Diagnostik und den therapeutischen Möglichkeiten ist das MM weiterhin eine unheilbare Erkrankung. Daher ist es notwendig, kontinuierlich nach neuen Wegen zu suchen, die Erkrankung weiter zu behandeln. Die Transplantation von allogenen Stammzellen eines gesunden Spenders ermöglicht es, dass immunologische Effektorzellen des Spenders in Form einer „graft-versus-myeloma“⁹³⁻⁹⁵ Reaktion Tumorzellen zerstören. Durch den Einsatz der allogenen Transplantation mit myeloablativer Konditionierung konnten bei Patienten mit MM molekulare Remissionen erreicht werden, die viele Jahre anhielten⁹⁶⁻⁹⁹. Eine hohe therapieassoziierte Mortalität mit 30-50%^{100;101} aufgrund einer „graft-versus-host disease“ (GvHD) oder durch Infektionen führte jedoch dazu, dass die allogene Transplantation bei Patienten mit MM kaum mehr eingesetzt wird.

Um die lebensbedrohlichen Folgen der GvHD zu mildern und andererseits opportunistischen Infekten vorzubeugen, führten wir bei 33 Patienten mit hämatologischen Erkrankungen eine myeloablativ allogene PBSZT mit CD34+ selektionierten und damit T-Zell depletierten Transplantaten durch und gaben an Tag 25, 50 und 100 geringe T-Zell Mengen zurück (**Referenz O**). Durch die Aufreinigung der Stammzellen können einerseits die für die GvHD ursächlichen T-Zellen vermindert werden, andererseits wird dadurch aber auch eine schwere Immunsuppression erzeugt. Eine frühe Rückgabe von wenigen T-Zellen kann helfen diese Immunsuppression aufzuheben und dennoch eine verminderte Rate an GvHD zu erzielen¹⁰²⁻¹⁰⁴. In unserem Kollektiv zeigte sich, dass bei Patienten mit myeloischen, hämatologischen Erkrankungen dieses Konzept aufging, während bei den Patienten mit lymphatischen Neoplasien inklusive der Patienten mit MM das Einjahresüberleben signifikant verkürzt war (30 % versus 74 %, $p < 0.05$). Die allogene Transplantation mit selektionierten CD34+ Zellen und T-Zell „add back“ ist daher für Patienten mit MM nicht zu empfehlen.

Eine andere Weiterentwicklung des Konzeptes der allogenen PSZT stellt die allogene PSZT mit dosisreduzierter Konditionierung dar. Die Frühletalität nach Transplantation konnte mit diesem Konditionierungsregime im Vergleich zur allogenen PSZT mit myeloablativer Konditionierung erniedrigt werden, aber die therapieassoziierte Mortalität ein Jahr *post transplantationem* betrug weiterhin 30 %, wenn Patienten mit vielen Vortherapien behandelt wurden ¹⁰⁵⁻¹⁰⁷. Wir behandelten 34 Patienten mit fortgeschrittenen, hämatologischen Erkrankungen mit einer reduzierten Konditionierung bestehend aus Fludarabin und Ganzkörperbestrahlung und nachfolgender allogenen PBSZT. Ein Ansprechen der Erkrankung erzielten 60 % der Patienten und nach 325 Tagen waren noch 65 % der Patienten am Leben (**Referenz P**). Zwei Patienten (6 %) verstarben an TRM und 10 Patienten (29 %) verstarben an einer progredienten Erkrankung. Die Inzidenz der akuten und chronischen GvHD betrug 50 % und 45 % (Tabelle 4).

Transplantationsergebnisse bei Patienten mit lymphatischen Neoplasien

	Diagnose	Status vor TX	Rekonstitution	Akute GvHD	Chronische GvHD	Ansprechen	Status aktuell
10	MM	AD	yes	II	extensive	PR (a)	alive PD (+570)
12	MM	ED	yes	III-IV	—	PD	dead PD
19	MM	AD	yes	III	limited	PR (a)	alive PR (+387)
20	MM	ED	yes	III-IV	extensive	PR (m)	alive PR (+325)
21	MM	ED	yes	—	—	CR (m)	alive CR (+324)
22	MM	ED	yes	I-II	limited	CR (a)	alive CR (+308)
23	MM	AD	yes	II	limited	PR (a)	alive PD (+234)
26	MM	ED	yes	I	limited	CR (a)	alive CR (+185)
31	MM	ED	yes	—	—	PR (m)	alive PR (+122)
33	MM	AD	yes	—	—	PR (m)	alive PR (+119)
14	HD	AD	yes	—	—	CR (m)	alive CR (+507)
1	NHL	AD	yes	II	—	CR (a)	alive CR (+844)
7	NHL	AD	yes	III	—	PD	dead PD
9	NHL	AD	yes	IV	—	PD	dead PD
15	NHL	AD	yes	II	limited	CR (m)	alive CR (+505)
24	NHL	AD	yes	—	—	PR (a)	dead TRD
25	NHL	ED	yes	—	—	CR (m)	dead PD
27	NHL	AD	yes	II	—	PD	dead PD
28	NHL	AD	yes	III-IV	extensive	CR (a)	alive CR (+137)
29	NHL	AD	yes	—	—	CR (a)	alive CR (+129)
32	NHL	AD	yes	II	—	CR (a)	alive CR (+120)

MM Multiples Myelom HD M. Hodgkin NHL Non-Hodgkin Lymphom AD vorgeschrittene Erkrankung ED frühe Erkrankung
CR komplette Remission PR partielle Remission a erreicht m erhalten

Tabelle 4: Allogene Transplantationsergebnisse nach dosisreduzierter Konditionierung bei Patienten mit lymphatischen Erkrankungen

Zusammenfassend zeigte sich durch diese Arbeit, dass die Durchführung einer allogenen PBSZT mit dosisreduzierter Konditionierung auch bei Patienten mit MM mit einem geringeren Risiko für eine TRM im Vergleich zu einer allogenen myeloablativen PBSZT verbunden ist. Ob dadurch insgesamt einer Verbesserung

des Überlebens der Patienten erreicht werden kann, müssen größere Studien zeigen. Einige Studien geben Hinweise, dass ein sequentielles Vorgehen im Sinne einer HDT und autologen PBSCT und einer anschließenden konsolidierenden allogenen PBSCZT mit dosisreduzierter Konditionierung einer alleinigen HDT mit autologer PBSZT überlegen ist ^{108;109}. Dieser Frage geht auch ein Seitenarm der aktuellen Düsseldorfer Myelomstudie zur Primärtherapie nach, der bei Patienten mit einem HLA-identen Geschwisterspender eine autologe gefolgt von einer allogenen PBSZT mit dosisreduzierter Konditionierung vorsieht. In einer Zwischenauswertung zeigen sich bisher keine Unterschiede zwischen dem allogenen Arm und dem Arm mit einer intensivierten Thalidomid-Erhaltungstherapie. Ein längeres „Follow-up“ und weitere Studien müssen hier abgewartet werden, um die Frage nach einer Verbesserung des Gesamtüberlebens endgültig beantworten zu können.

Eine weitere Alternative zur Verbesserung der Ergebnisse der allogenen Transplantation stellt die Verwendung einer alternativen Stammzellquelle dar. Wir konnten zeigen, dass nach einer Transplantation von allogenen Nabelschnurblutzellen bei einer Patientin mit MM eine 57 Monate anhaltende Remission erzielt werden konnte (**Referenz Q**). Dies weist auf einen möglichen „graft-versus-myeloma“ Effekt dieser Stammzellquelle hin ^{110;111}. Sollte sich in einem größeren Kollektiv eine Wirksamkeit dieser Therapie zeigen, hätte dies gewaltige Auswirkungen auf die Behandlungsmöglichkeiten. Bei Verwendung von Nabelschnurblut könnte für alle Patienten in 99 % der Fälle ein Spender gefunden werden, während aktuell lediglich eine 20 % Wahrscheinlichkeit für einen passenden Geschwisterspender besteht ¹¹².

Dendritische Zellen für klinische Vakzinierungsbehandlungen

Eine alternative Zelltherapie stellen Vakzinierungsansätze mit autologen dendritischen Zellen dar mit dem Ziel eine patienteneigene Anti-Tumorantwort aufzubauen. Dendritische Zellen (DC) können *in vitro* aus Monozyten durch die Verwendung von Interleukin 4 (IL-4), Tumornekrosefaktor alpha (TNF) und „granulocyte-macrophage colony-stimulating factor“ (GM-CSF) hergestellt werden ^{113;114}. Der Vorteil dieser Therapie ist, insbesondere im Vergleich zur

allogenen PBSZT, dass abgesehen von lokalen Reaktionen an der Einstichstelle keine nennenswerten Nebenwirkungen auftreten. Der Nachteil der Therapie ist, dass trotz einer Vielzahl an klinischen Studien bei Patienten mit hämatologischen Neoplasien nur in seltenen Fällen therapeutische Effekte beobachtet wurden ^{115,116}. Insbesondere bei Patienten mit MM konnten aufgrund eines krankheitsbedingten Immundefektes bisher kaum Erfolge erzielt werden ¹¹⁶. Hieraus erwächst die Notwendigkeit, neue Protokolle zur Herstellung von DC zu generieren, um die Krankheits-assoziierten Mechanismen zu umgehen, die die Auslösung einer Anti-Tumor-Immunantwort behindern.

Eine alternative Herstellungsmethode zum klassischen Weg mit IL-4 / TNF alpha / GM-CSF (IL-4 DC) besteht in der Kombination INF alpha und GM-CSF (INF-DC) ¹¹⁷⁻¹²². Da Interferon bei Patienten mit MM im Rahmen der Erhaltungstherapie eine wirksame Substanz ist ¹²³, stellten wir die Hypothese auf, dass INF-DC für einen Einsatz bei Patienten mit MM besonders geeignet sein könnten.

Zelluläre Therapie des Multiplen Myeloms

Herstellung von dendritischen Zellen mit Interferon- α mit serumfreien Medium und Bedingungen

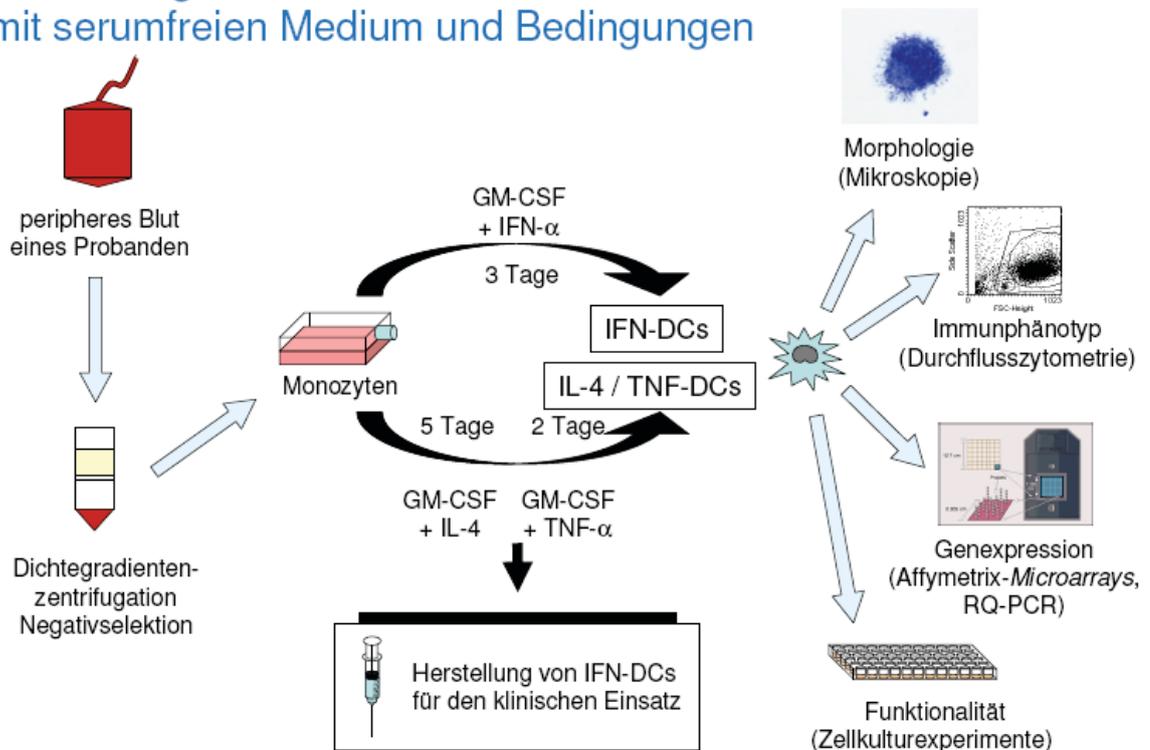


Abbildung 17: Herstellungsprozess der INF-DC

Aus diesem Grund führten wir insgesamt 34 DC-Präparationen durch, wobei wir Monozyten aus „buffy coats“ mit Hilfe einer Negativselektion gewannen und diese in Kultur in INF-DC bzw. IL-4 DC überführten. Anschließend wandten wir unterschiedliche Testmethoden zur näheren Charakterisierung der beiden Zellpopulationen an (**Referenz R**) (Abbildung 17).

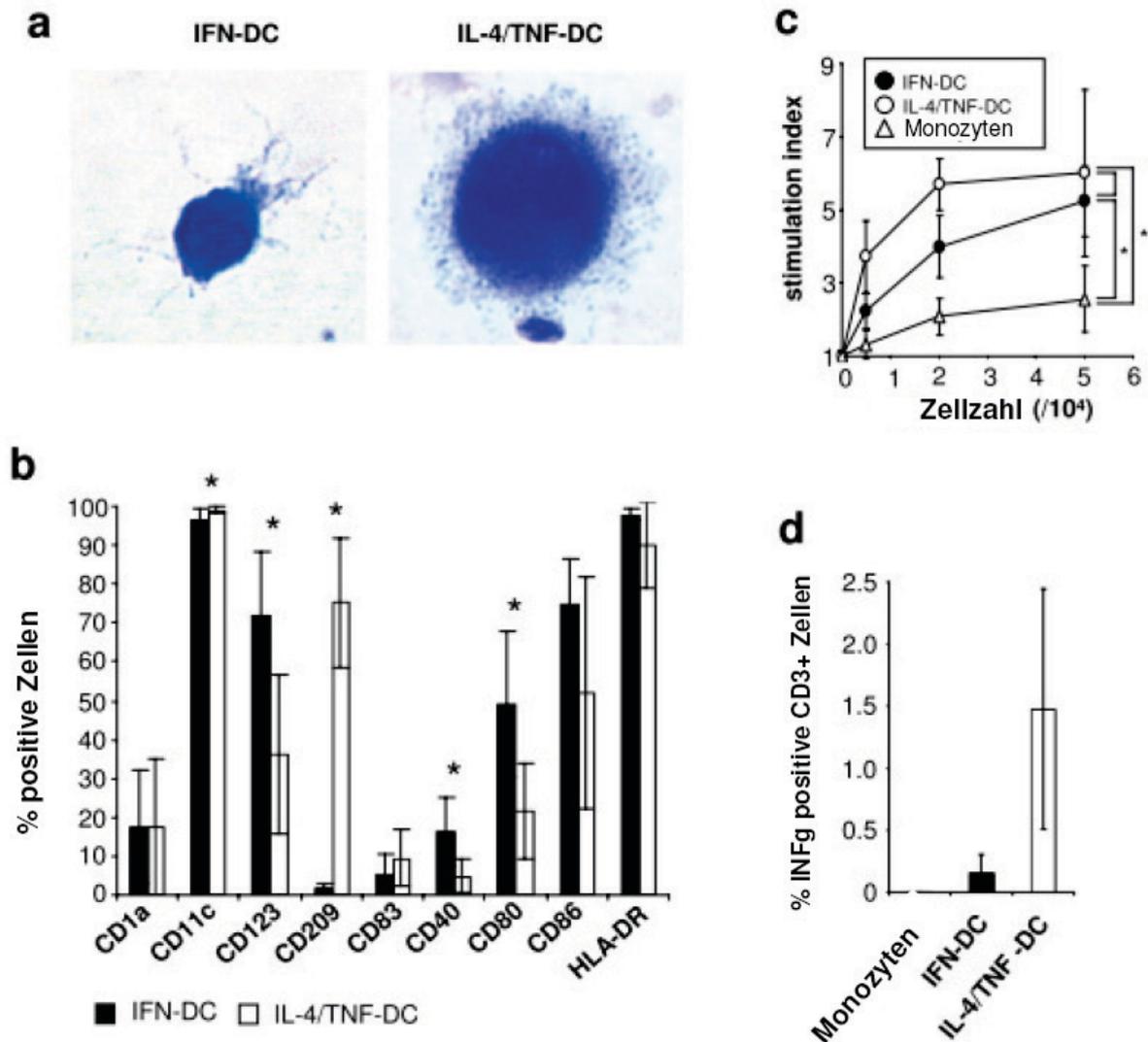


Abbildung 18: Herstellung von DC mit INF und IL-4/TNF. A) Morphologie, B) Immunophänotyp, C) T-Zell Proliferation, D) T-Zell Stimulation zur IFN gamma Produktion

Als Erstes untersuchten wir die typischen Eigenschaften von DC: Morphologie, Immunophänotyp und allostimulatorische Kapazität. Morphologisch handelte es sich bei beiden Zellpopulationen um DC, wenn gleich die INF-DC kleiner und weniger granuliert erschienen und eine stärkere Polarisierung der zytoplasmatischen Ausläufer aufwies. Immunophänotypisch zeigten beide Zellpopulationen ein

charakteristisches Markerprofil aus CD11c, CD86 und HLA-DR. Unterschiedlich war die Expression von CD123 einem Marker für plasmazytoide DC, der auf INF-DC signifikant häufiger zu finden war (72% versus 36%, $p = 0.003$). Der Marker CD209 war ausschließlich auf IL-4 DC zu finden. In der „mixed leucocyte reaction“ zeigten beide DC Populationen, dass sie im Vergleich zu Monozyten eine signifikant bessere allogene T-Zell Proliferation stimulieren konnten. Darüber hinaus konnten beide DC in allogenen T-Zellen intrazytoplasmatisch INF-gamma stimulieren (Abbildung 18).

Zusammenfassend handelt es sich bei beiden Populationen um DC, wobei sich bereits hier kleine Unterschiede zeigten. Um diesen Unterschieden weiter auf den Grund zu gehen, führten wir Genexpressionsanalysen mit Hilfe von Affimetrix Microarrays durch. Es zeigte sich, dass von 8793 Genen insgesamt 689 Gene bei einem q-Wert $< 0,05$ und einer „fold change“ > 2 differentiell exprimiert waren. Diese differentielle Expression wurde mit Hilfe von real-time PCR anhand von Stichproben mit relevanten Genen bestätigt. In der hierarchischen „Cluster“-Analyse zeigte sich eine strikte Trennung der beiden unterschiedlichen DC Populationen (Abbildung 19).

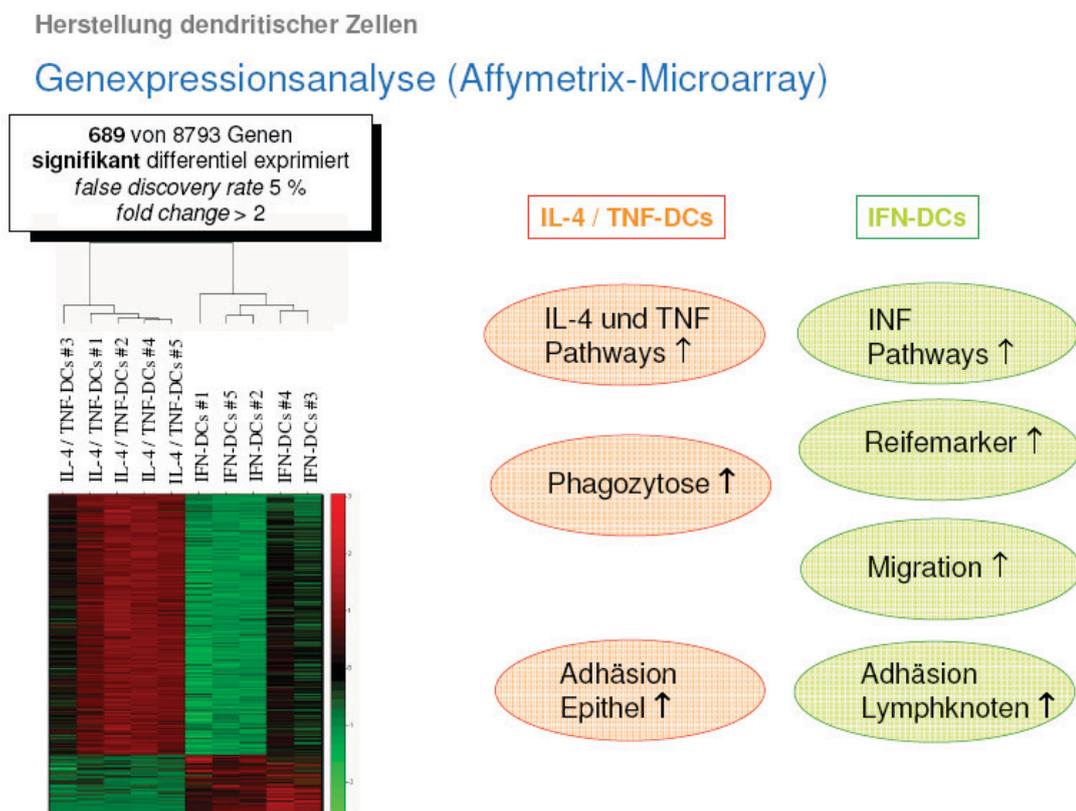


Abbildung 19: Genexpressionsanalyse der IFN-DC und der IL-4 DC

Die nähere Betrachtung der differentiell exprimierten Gene zeigte erwartungsgemäß, dass Gene die bekannterweise durch IL-4, TNF oder INF beeinflusst werden, entsprechend unterschiedlich exprimiert wurden. Darüber hinaus zeigten sich aber auch große Unterschiede im Hinblick auf Gene, die mit wichtigen DC Funktionen assoziiert sind. So fand sich in den IL-4 DC eine Hochregulation von Genen, die mit unreifen DC und Phagozytose assoziiert werden wie beispielsweise Fc oder Komplement-Rezeptoren. Ferner fanden sich solche Gene höher reguliert, die mit Zelladhäsion im inflammatorischen Gewebe in Verbindung gebracht werden wie Vinculin oder die Integrin alphaE Kette. Im Gegensatz dazu fanden sich bei den INF-DC solche Gene höher reguliert, die für Proteine kodieren, die für Reife und Migration (Bcl2A1, CCR 7, Integrin alpha4 Kette) ^{124;125} sowie für Adhäsion im Lymphknoten (Sialoadhesin, Decysin) ^{126;127} stehen.

Aufgrund dieser Untersuchungen kann man zusammenfassen, dass IL-4 DC unreife DC darstellen, die noch mit Phagozytose im entzündeten Gewebe beschäftigt sind, während die INF-DC eine höhere Reife besitzen und sich bereits auf dem Weg zum Lymphknoten befinden, um dort eine spezifische Immunantwort auszulösen.

Neben diesen Ergebnissen machten wir aber auch eine gänzlich unerwartete Entdeckung. Insgesamt 32 Gene, die mit NK Zellen und deren zytotoxischem Potenzial assoziiert werden, waren auf den INF-Dc höher exprimiert als auf den IL-4 DC. Diese Entdeckung ist von besonderer Bedeutung, da erst kürzlich in der Maus ein neuer Zelltypus entdeckt wurde, die sogenannten „interferon-producing killer dendritic cells“(IKDC). Diese IKDC tragen plasmazytoide DC- und NK-Zellmarker auf ihrer Oberfläche, ermöglichen im Lymphknoten eine T-Zell Stimulation und können bei direktem Kontakt mit Tumorzellen diese lysieren ^{128;129}. Wir charakterisierten daher die INF-DC weiter und konnten zeigen, dass die INF-DC nicht nur auf ihrer Oberfläche NK-Marker wie CD 56 zeigen, sondern auch die zytotoxischen Effektormoleküle von NK-Zellen besitzen. So konnten wir im Vergleich mit den IL-4 DC bei den INF-DC einen signifikant höheren Anteil an intrazytoplasmatischem TRAIL (94 % versus 62 %, p = 0,004) und Granzyme B (88 % versus 1 %, p < 0,001) nachweisen. Die INF-DC sahen aber nicht nur NK-Zellen ähnlich und hatten deren zytotoxisches Potenzial, sondern waren auch in der Lage, es anzuwenden. Im Zytotoxizitätstest mit der K562 Zelllinie zeigte sich nach Messung der Propium Jodid Aufnahme, dass INF-DC konzentrationsabhängig in bis zu 26 % der Tumorzellen

eine spezifische Lyse hervorrufen konnten, während IL-4 DC genauso wie Monozyten zu 0 % Tumorzellen lysieren konnten ($p = 0,006$) (Abbildung 20).

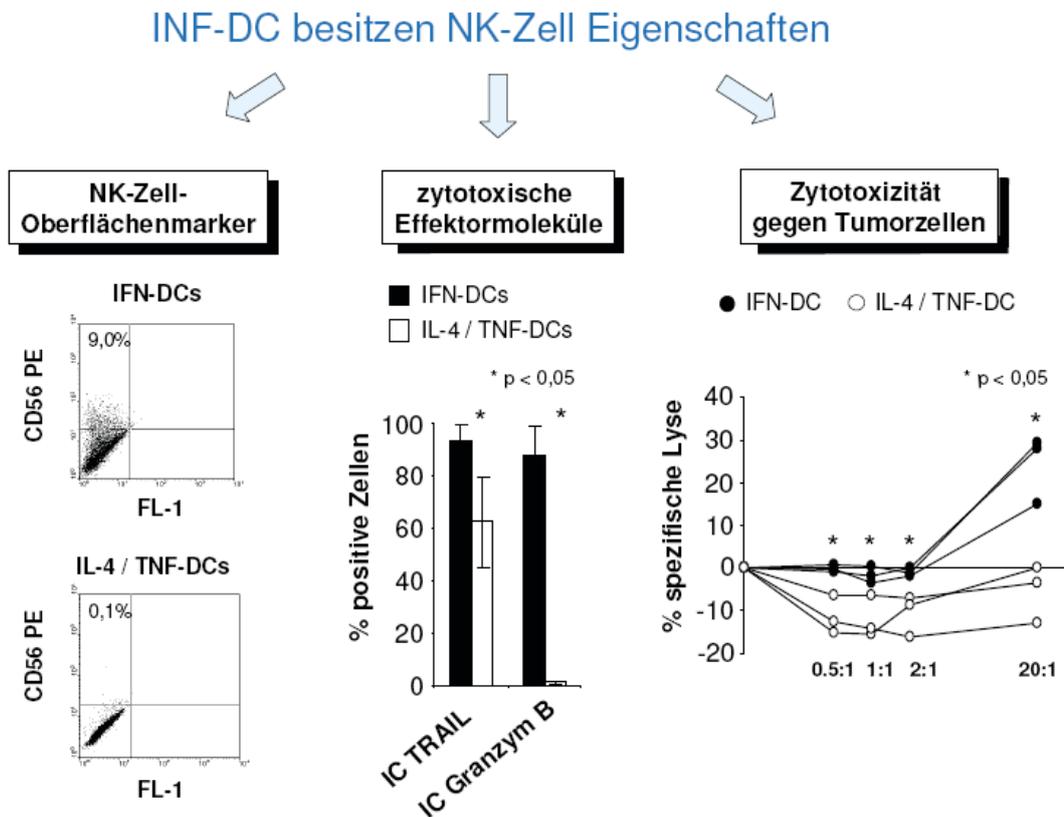


Abbildung 20: INF-DC besitzen Eigenschaften von NK-Zellen und entsprechen daher den murinen „interferon-producing killer dendritic cells“.

Damit scheinen die *in vitro* hergestellten INF-DC das humane Pendant der bei der Maus beschriebenen IKDC zu sein. Aufgrund ihrer höheren Reife und Migrationsfähigkeit in den Lymphknoten scheinen INF DC eine vielversprechende Alternative zu den klassisch hergestellten IL-4 DC zu sein. Die INF DC besitzen neben der Möglichkeit zur Initiierung einer erworbenen Immunantwort durch T-Zellstimulation auch die Möglichkeit eine angeborene Immunantwort zu geben, im Sinne einer eigenen zytotoxischen Tumorelimination. Diese einzigartigen Fähigkeiten prädestinieren diese Zellen für zukünftige klinische Vakzinierungsstudien.

Bei Patienten mit MM bietet sich der IgH als tumorspezifisches Antigen an. Dieses ist jedoch unter Bedingungen der „good manufacturing practice“ nicht einfach herzustellen. Im Gegensatz dazu ist Kalzitronin in Arzneimittelqualität käuflich zu

erwerben und kann beim medullären Schilddrüsenkarzinom als Antigen dienen. Aus diesem Grunde behandelten wir fünf Patienten mit metastasiertem, fortgeschrittenem, medullärem Schilddrüsenkarzinom mit INF-DC, die mit Kalzitinin gepulst wurden (**Referenz S**). Nach einem „Follow-up“ von 37 Monaten waren alle Patienten am Leben und bei zwei Patienten stellte sich eine „stable disease“ ein. Immunhistochemisch konnte bei allen Patienten eine starke Hypersensitivitätsreaktion der Haut mit einer Infiltration von CD8+ Zellen nachgewiesen werden. Die wichtigste Beobachtung aber war, dass die zytotoxische Aktivität der INF-DC nur von den CD56+ DC ausging, die im Vergleich zu CD56- DC auch eine höhere allogene T-Zell Stimulation möglich machten. Die nächsten geplanten Schritte stellen daher eine Anreicherung der DC mit dem NK-Zelloberflächenmarker CD56 dar, um so effektivere DC herstellen zu können.

Schlussfolgerung und Ausblick

Alexanian et al.¹⁴ behandelten im Jahre 1969 Patienten mit Melphalan und Prednisolon und schufen damit erstmals einen allgemein akzeptierten Goldstandard für die Therapie von Patienten mit MM, der über fast 30 Jahre Bestand hatte¹⁵. In den letzten 20 Jahren konnten jedoch Fortschritte erzielt werden, die das 10-Jahres-Überleben der Patienten von 11 % auf 41 % verlängerten.¹³⁰ Zum einen konnte dies durch die HDT mit autologer PBSZT erreicht werden, die bei den Patienten bis 65 Jahre der konventionellen Chemotherapie überlegen ist^{18;19}. Zum anderen haben die „Neuen Substanzen“ Thalidomid¹³¹, Lenalidomid^{22;23} und Bortezomib²⁴ aufgrund von völlig neuen Angriffspunkten geholfen auch bei Chemotherapie-refraktären Patienten Remission erzielen zu können und damit deren Überleben zu verlängern. Die Fortschritte bei der Behandlung des MM waren in den letzten Jahren aber auch von Verbesserungen in der Diagnostik begleitet. Hier ist an erster Stelle die Weiterentwicklung der zytogenetischen Methodik zu nennen, die Ergebnisse liefert, welche als relevante Prognosemarker dienen¹¹. Darüber hinaus sind molekularbiologische Entwicklungen zu nennen, wozu die Genexpressionsanalyse von Myelomzellen zählt. Diese Untersuchungsmethode erlaubt eine prognostische Einteilung von Patientengruppen¹³² und eine Abschätzung hinsichtlich des Ansprechens auf bestimmte Therapien¹³³.

Die Arbeiten unserer Arbeitsgruppe haben zur Weiterentwicklung der therapeutischen und diagnostischen Möglichkeiten in den letzten Jahren einige Beiträge geleistet. So konnten wir zeigen, dass eine Mobilisation von peripheren Blutstammzellen durch den Wachstumsfaktor Pegfilgrastim möglich ist. Dieses Ergebnis wurde später auch von anderen Gruppen mehrfach bestätigt^{31;32} und führte dazu, dass die Mobilisation mit Pegfilgrastim den aktuellen Therapiestandard bei Patienten mit MM an unserer Klinik darstellt. Ein weiteres Einsatzfeld des Pegfilgrastim war neben der Mobilisation von Blutstammzellen die Verkürzung der Therapie-bedingten Neutropeniedauer nach HDT. In der Kombination mit Palifermin konnte Pegfilgrastim die Transplantations-assoziierten Komplikationen verringern und den Krankenhausaufenthalt der Patienten verkürzen. Auch diese Untersuchung führte zu einem neuen Therapiestandard der supportiven Behandlung während einer HDT an unserer Klinik. Darüber hinaus ermöglicht die kombinierte Therapie mit

Pegfilgrastim und Palifermin aufgrund der reduzierten Toxizität der HDT eine größere Anzahl an älteren Patienten mit einer HDT zu behandeln. Bei den jüngeren Patienten ebnet dies kombinierte supportive Therapie den Weg zu einer ambulanten Durchführung einer HDT mit autologer PBSZT, da bei einer medianen Neutropeniedauer von sechs Tagen ein stationärer Aufenthalt bei komplikationslosem klinischen Verlauf medizinisch nicht zwingend erforderlich ist. Nachdem Neutropeniedauer und Mukositis als Nebenwirkungen durch die beschriebene Behandlung in ihrer Bedeutung in den Hintergrund getreten sind, präsentiert sich aktuell die Therapie-induzierte Nausea als wichtigste Nebenwirkung der HDT. Zur Zeit werden daher an unserer Klinik weiterführende Untersuchungen zum kombinierten supportiven Einsatz von Pegfilgrastim, Palifermin und NK1-Rezeptorantagonisten durchgeführt mit dem Ziel, die Komplikationsrate der HDT weiter zu senken. Ein weiterer Schritt hin zu einer „Convenience“-Transplantation ist der Einsatz von erythroiden Wachstumsfaktoren vor der HDT, um den Hämoglobin-Wert vor der HDT auf einen hochnormalen Wert zu heben und so die Transfusionshäufigkeit nach der HDT zu erniedrigen. Auch dazu sind Untersuchungen in der Zukunft geplant.

Neben Untersuchungen zur Reduktion von Nebenwirkungen haben wir auch zur Verbesserung der Therapiewirkung beigetragen. Die Überlegenheit der HDT über die konventionelle Chemotherapie im Hinblick auf das Gesamtüberleben legt eine Dosiswirkungsbeziehung zwischen Chemotherapie und Therapieerfolg nahe^{18;19}. In einer randomisierten Studie zeigten wir jedoch, dass dieser Dosiswirkungsbeziehung Grenzen gesetzt sind. Eine Intensivierung der Konditionierung zur HDT führte zu einer erhöhten Toxizität und Letalität. Die Therapieintensivierung war aber insbesondere nicht geeignet bei den Überlebenden der Behandlung längere Remissionsdauern oder ein verlängertes Gesamtüberleben zu bewirken. Dieses Ergebnis zeigte, dass eine Therapieintensivierung zu einem anderen Zeitpunkt erfolgen musste, wie zum Beispiel im Anschluss an die HDT. Die Düsseldorfer Folgestudie beschäftigt sich daher mit einer Therapieintensivierung zum Zeitpunkt nach Hochdosistherapie und versucht im randomisierten Vergleich zu klären, ob eine Erhaltungstherapie mit Thalidomid einer klassischen Erhaltungstherapie mit Interferon überlegen ist. Dieser Weg ist erfolgversprechend, da andere Arbeitsgruppen zeigen konnten, dass eine Therapieintensivierung mit vertretbarer

Toxizität durch den Einsatz einer zweiten konsolidierenden HDT³⁹ oder durch den Einsatz einer intensivierten Erhaltungstherapie möglich ist^{134;135}. Eine endgültige Auswertung der Daten dieser Düsseldorfer Myelomstudie wird im Jahr 2009 erwartet.

Neben der Verbesserung der Behandlung haben wir aber auch einen Beitrag zu neuen diagnostischen Verfahren geleistet. Wir etablierten mit der RQ-IgH-PCR ein Nachweisverfahren für residuale Tumorzellen auf molekularer Ebene. Dadurch kann im Verlauf der Erkrankung eine Krankheitsprogression früher vorhergesagt werden und es wird damit die Möglichkeit einer rechtzeitigen Intervention eröffnet. Auf diese Weise kann Krankheits-assoziierten Komplikationen vorbeugt werden. Zudem konnten wir zum Zeitpunkt vor der HDT einen Grenzwert an residualen Zellen im Knochenmark definieren, der einen unabhängigen und damit neuen prognostischen Marker darstellt. Daraus lässt sich ableiten, dass die Induktionstherapie vor HDT einer Verbesserung bedarf, wobei begleitende molekulare MRD-Untersuchungen diese Verbesserungen widerspiegeln können. Von den „Neuen Substanzen“ scheint das Bortezomib am besten dafür geeignet zu sein, da es im Vergleich zu Thalidomid nicht nur die Remissionsraten vor, sondern auch nach HDT verbessern kann und damit zu hoffen ist, dass auch die Dauer der Remission verlängert werden kann.

Unsere Arbeiten finden ihren aktuellen Niederschlag im neuen Düsseldorfer Studienprotokoll zur Primärtherapie des MM. Die Studie ist aktuell bei den zuständigen Behörden eingereicht und soll Ende 2008 den ersten Patienten rekrutieren (Abbildung 21). Das Studienprotokoll zeigt, dass die HDT weiterhin den wichtigste Bestandteil der Primärtherapie des Patienten mit MM darstellt und „Neue Substanzen“ sowie verbesserte supportive Maßnahmen das Gesamtbild um die HDT herum vervollständigen.

Aufgrund der Relevanz der MRD vor HDT wird die Induktionstherapie bei den Patienten ohne molekulares Ansprechen um die „Neue Substanz“ Bortezomib erweitert. Der Erfolg dieser Änderung wird durch begleitende MRD-Untersuchungen überprüft. Die Blutstammzellmobilisation wird mit Pegfilgrastim durchgeführt. Die HDT besteht aus einer klassischen, nicht-intensivierten Konditionierung begleitet von der Gabe von Pegfilgrastim, Palifermin und dem NK1-Antagonisten Aprepitant. Aufgrund dieser supportiven Maßnahmen können auch Patienten bis 75 Jahre ohne

Komorbidität eingeschlossen werden. Die Erhaltungstherapie wird durch Lenalidomid intensiviert, da dieses eine höhere *in vitro* Aktivität als Thalidomid besitzt und weniger Nebenwirkungen verursacht^{22;23}. Begleitend werden wir MRT-Untersuchungen bei allen Patienten durchführen um die Krankheitsaktivität im Verlauf der Therapie radiologisch zu überprüfen.

Düsseldorfer Myelomstudie 2008: „LenaMain – Trial“

Einsatz von Bortezomib, Pegfilgrastim, Palifermin und Lenalidomid

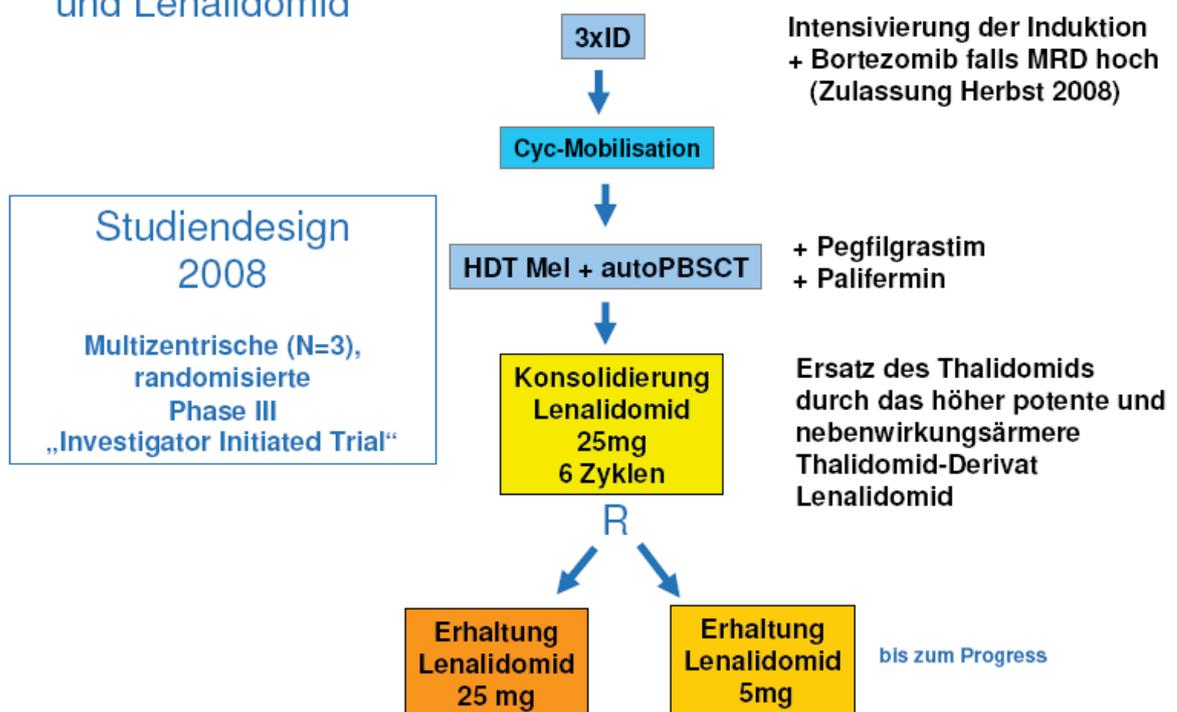


Abbildung 21: Studienkonzept Düsseldorf 2008

Wenngleich die HDT im Mittelpunkt der Therapie der Patienten bis 75 Jahre steht, ist es notwendig an dieser Stelle die allogene PBSCT zu erwähnen. Nur durch eine allogene PBSCT konnte bisher eine Remissionsdauer von 15 Jahren und mehr erreicht werden^{99;136-138}. Die allogene PBSCT ist aber mit schwerwiegenden Nebenwirkungen in Form von GvHD und Infektionen vergesellschaftet. Solange dies der Fall ist, wird die allogene PBSCT für Patienten mit MM ein experimentelles Therapieverfahren bleiben.

Ein weniger toxischer Weg als die allogene PBSCT ist die Weiterentwicklung von Therapie-Protokollen für dendritische Zellen oder NK-Zellen. Interessante

Ansatzpunkt dazu sind CD56 + INF-DC, da sie nicht nur eine Immunantwort initiieren können, sondern selbst Tumorzellen töten können. Jedoch ist der wissenschaftliche Fortschritt hinsichtlich Vakzinierungsbehandlungen mit DC auch nach einer Vielzahl an Phase I/II Studien immer noch gering. Es ist daher noch ein weiter Weg bis zu einer erfolgreichen Phase III Studie bei Patienten mit MM.

Abkürzungsverzeichnis

ASO	Allel spezifische Oligonukleotide
CML	Chronisch myeloische Leukämie
CR	Komplette Remission
CT	Computertomographie
DC	Dendritische Zelle
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender-Faktor
GM-CSF	Granulozyten-Macrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor
GvHD	Graft versus host disease
HD-IMC	Hochdosis- Idarubicin / Melphalan / Cyclophosphamid
HD-M	Hochdosis - Melphalan
HDT	Hochdosistherapie
IgH	Immunglobulin Schwerkettenloкус
IKDC	interferon producing killer dendritic cells
IL-4	Interleukin 4
INF	Interferon
KG	Körpergewicht
MGUS	Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz
MM	Multiplres Myelom
MP	Melphalan Prednisolon
MR	Minimal Response
MRD	Minimal Residual Disease
MRT	Magnetresonanztomographie
PBSZT	Periphere Blutstammzelltransplantation
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PR	Partielle Remission
RQ	Real-time quantitative
TNF	Tumor Nekrosefaktor
TRM	Therapieassoziierte Mortalität

Zusammengefasste Publikationen

- [A] Steidl U, **Fenk R**, Bruns I, Neumann F, Kondakci M, Hoyer B, Graf T, Rohr UP, Bork S, Kronenwett R, Haas R, Kobbe G: Successful transplantation of peripheral blood stem cells mobilized by chemotherapy and a single dose of pegylated G-CSF in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 8-12-2004.
- [B] Bruns I, Steidl U, Kronenwett R, **Fenk R**, Graef T, Rohr UP, Neumann F, Fischer J, Scheid C, Hubel K, Haas R, Kobbe G: A single dose of 6 or 12 mg of pegfilgrastim for peripheral blood progenitor cell mobilization results in similar yields of CD34+ progenitors in patients with multiple myeloma. *Transfusion* 2006;46:180-185.
- [C] Bruns I, Steidl U, Fischer JC, Czibere A, Kobbe G, Raschke S, Singh R, **Fenk R**, Roszkopf M, Pechtel S, von HA, Wernet P, Tenen DG, Haas R, Kronenwett R: Pegylated granulocyte colony-stimulating factor mobilizes CD34+ cells with different stem and progenitor subsets and distinct functional properties in comparison with unconjugated granulocyte colony-stimulating factor. *Haematologica* 2008;93:347-355.
- [D] **Fenk R**, Schneider P, Kropff M, Huenerlituerkoglu AN, Steidl U, Aul C, Hildebrandt B, Haas R, Heyll A, Kobbe G: High-dose idarubicin, cyclophosphamide and melphalan as conditioning for autologous stem cell transplantation increases treatment-related mortality in patients with multiple myeloma: results of a randomised study. *Br J Haematol* 2005;130:588-594.
- [E] **Fenk R**, Hieronimus N, Steidl U, Bruns I, Graef T, Zohren F, Ruf L, Haas R, Kobbe G: Sustained G-CSF plasma levels following administration of pegfilgrastim fasten neutrophil reconstitution after high-dose chemotherapy and autologous blood stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Exp Hematol* 2006;34:1296-1302.
- [F] Kuendgen A, **Fenk R**, Bruns I, Dommach M, Schutte A, Engers R, Hunerliturkoglu A, Haas R, Kobbe G: Splenic rupture following administration of pegfilgrastim in a patient with multiple myeloma undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2006;38:69-70.
- [G] Kropff MH, Lang N, Bisping G, Domine N, Innig G, Hentrich M, Mitterer M, Sudhoff T, **Fenk R**, Straka C, Heinecke A, Koch OM, Ostermann H, Berdel WE, Kienast J: Hyperfractionated cyclophosphamide in combination with pulsed dexamethasone and thalidomide (HyperCDT) in primary refractory or relapsed multiple myeloma. *Br J Haematol* 2003;122:607-616.
- [H] **Fenk R**, Hoyer B, Steidl U, Kondakci M, Graef T, Heuk R, Ruf L, Strupp C, Neumann F, Rohr UP, Hildebrandt B, Haas R, Kobbe G: Single-agent thalidomide for treatment of first relapse following high-dose chemotherapy in patients with multiple myeloma. *Leukemia* 2005;19:156-159.

- [I] **Fenk R**, Michael M, Zohren F, Graef T, Czibere A, Bruns I, Neumann F, Fenk B, Haas R, Kobbe G: Escalation therapy with bortezomib, dexamethasone and bendamustine for patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 2007;48:2345-2351.
- [J] Martin S, Fischer C, Free M, Kurreck B, Stockinger H, **Fenk R**, Arnold C, Kliszewski S, Meckenstock G, Haas R, Kronenwett R: LightCycler-based quantitative real-time PCR monitoring of patients with follicular lymphoma receiving rituximab in combination with conventional or high-dose cytotoxic chemotherapy. *Eur J Haematol* 2005;74:282-292.
- [K] Neumann F, Herold C, Hildebrandt B, Kobbe G, Aivado M, Rong A, Free M, Rossig R, **Fenk R**, Schneider P, Gattermann N, Royer-Pokora B, Haas R, Kronenwett R: Quantitative real-time reverse-transcription polymerase chain reaction for diagnosis of BCR-ABL positive leukemias and molecular monitoring following allogeneic stem cell transplantation. *Eur J Haematol* 2003;70:1-10.
- [L] **Fenk R**, Ak M, Kobbe G, Steidl U, Arnold C, Korthals M, Hunerliturkoglu A, Rohr UP, Kliszewski S, Bernhardt A, Haas R, Kronenwett R: Levels of minimal residual disease detected by quantitative molecular monitoring herald relapse in patients with multiple myeloma. *Haematologica* 2004;89:557-566.
- [M] Korthals M, Sehnke N, Kronenwett R, Bruns I, Czibere A, Zohren F, Haas R, Kobbe G, **Fenk R**. The molecular level of residual malignant cells in the bone marrow before high-dose therapy and autologous stem cell transplantation in an independent prognostic marker in patients with multiple myeloma. submitted
- [N] Kropil P, **Fenk R**, Fritz LB, Blondin D, Kobbe G, Modder U, Cohnen M: Comparison of whole-body 64-slice multidetector computed tomography and conventional radiography in staging of multiple myeloma. *Eur Radiol* 2008;18:51-58.
- [O] Kobbe G, **Fenk R**, Neumann F, Bernhardt A, Steidl U, Kondakci M, Graef T, Aivado M, Vaupel M, Huenerlituerkoglu AN, Kronenwett R, Pape H, Hildebrandt B, Germing U, Haas R: Transplantation of allogeneic CD34+-selected cells followed by early T-cell add-backs: favorable results in acute and chronic myeloid leukemia. *Cytotherapy* 2004;6:533-542.
- [P] Kobbe G, Schneider P, Aivado M, Zohren F, Schubert D, **Fenk R**, Neumann F, Kronenwett R, Pape H, Rong A, Royer-Pokora B, Hildebrandt B, Germing U, Gattermann N, Heyll A, Haas R: Reliable engraftment, low toxicity, and durable remissions following allogeneic blood stem cell transplantation with minimal conditioning. *Exp Hematol* 2002;30:1346-1353.
- [Q] **Fenk R**, Neumann F, Fenk B, Ruf L, Zohren F, Safaian NN, Haas R, Kobbe G: Unrelated umbilical cord blood transplantation as salvage treatment for engraftment failure following autologous stem cell transplantation. *Leuk Res* 2008;32:1157-1159.

- [R] Korthals M, Safaian N, Kronenwett R, Maihofer D, Schott M, Papewalis C, Diaz BE, Winter M, Czibere A, Haas R, Kobbe G, **Fenk R**. Monocyte derived dendritic cells generated by IFN-alpha acquire mature dendritic and natural killer cell properties as shown by gene expression analysis. *J Transl Med* 2007;5:46.
- [S] Papewalis C, Jacobs B, Wuttke M, Ullrich E, Baehring T, **Fenk R**, Willenberg HS, Schinner S, Cohnen M, Seissler J, Zacharowski K, Scherbaum WA, Schott M: IFN-alpha skews monocytes into CD56+-expressing dendritic cells with potent functional activities in vitro and in vivo. *J Immunol* 1-2-2008;180:1462-1470.

Literatur

1. Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *N.Engl.J.Med.* 2004;351:1860-1873.
2. Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *Blood* 2008;111:2962-2972.
3. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV et al. Incidence of multiple myeloma in Olmsted County, Minnesota: Trend over 6 decades. *Cancer* 2004;101:2667-2674.
4. Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium with cases. *27 Med Chir Trans Lond.*, 435-461. 1844.
5. Jones, Henry Bence. On the new substance occurring in the urine of a patient with mollities ossium. *Philos Tans R Soc Lond.* 138, 55-62. 1848.
6. Geschickter, C F and Copeland, M M. Multiple Myeloma. *Arch Surg* 16, 807-863. 1928.
7. Longsworth L G, Shedlovsky T, and MacInnes D A. Electrophoretic patterns of normal and pathological human blood, serum and plasma. *J Exp Med* 70, 399-413. 1939.
8. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, Harvey TC, Drayson MT. Serum test for assessment of patients with Bence Jones myeloma. *Lancet* 2003;361:489-491.
9. Durie BG, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma. Correlation of measured myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment, and survival. *Cancer* 1975;36:842-854.
10. Greipp PR, San MJ, Durie BG et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin.Oncol.* 2005;23:3412-3420.
11. Stewart AK, Fonseca R. Prognostic and therapeutic significance of myeloma genetics and gene expression profiling. *J Clin.Oncol.* 2005;23:6339-6344.

12. Blokin N, Larionov L, Perevodchikova N, Chebotareva L, Merulova N. [Clinical experiences with sarcolysin in neoplastic diseases.]. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1958;68:1128-1132.
13. Maas RE. A comparison of the effect of prednisone and a placebo in the treatment of multiple myeloma. *Cancer Chemother Rep* 16, 257-259. 2008.
14. Alexanian R, Haut A, Khan AU et al. Treatment for multiple myeloma. Combination chemotherapy with different melphalan dose regimens. *JAMA* 1969;208:1680-1685.
15. Myeloma Trialists' Collaborative Group. Combination chemotherapy versus melphalan plus prednisone as treatment for multiple myeloma: an overview of 6,633 patients from 27 randomized trials. *J.Clin.Oncol.* 1998;16:3832-3842.
16. McElwain TJ, Powles RL. High-dose intravenous melphalan for plasma-cell leukaemia and myeloma. *Lancet* 1983;2:822-824.
17. Gratwohl A, Baldomero H, Passweg J et al. Hematopoietic stem cell transplantation for hematological malignancies in Europe. *Leukemia* 2003;17:941-959.
18. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM et al. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Francais du Myelome. *N.Engl.J.Med.* 1996;335:91-97.
19. Child JA, Morgan GJ, Davies FE et al. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N.Engl.J.Med.* 2003;348:1875-1883.
20. Singhal S, Mehta J, Desikan R et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N.Engl.J.Med.* 1999;341:1565-1571.
21. Hideshima T, Richardson P, Anderson KC. Novel therapeutic approaches for multiple myeloma. *Immunol.Rev.* 2003;194:164-176.

22. Dimopoulos M, Spencer A, Attal M et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma. *N.Engl.J Med* 2007;357:2123-2132.
23. Weber DM, Chen C, Niesvizky R et al. Lenalidomide plus dexamethasone for relapsed multiple myeloma in North America. *N.Engl.J Med* 2007;357:2133-2142.
24. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW et al. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N.Engl.J.Med.* 2005;352:2487-2498.
25. Haas R, Witt B, Mohle R et al. Sustained long-term hematopoiesis after myeloablative therapy with peripheral blood progenitor cell support. *Blood* 1995;85:3754-3761.
26. Goldschmidt H, Hegenbart U, Haas R, Hunstein W. Mobilization of peripheral blood progenitor cells with high-dose cyclophosphamide (4 or 7 g/m²) and granulocyte colony-stimulating factor in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 1996;17:691-697.
27. Kobbe G, Sohngen D, Bauser U et al. Factors influencing G-CSF-mediated mobilization of hematopoietic progenitor cells during steady-state hematopoiesis in patients with malignant lymphoma and multiple myeloma. *Ann.Hematol.* 1999;78:456-462.
28. Grigg A, Solal-Celigny P, Hoskin P et al. Open-label, randomized study of pegfilgrastim vs. daily filgrastim as an adjunct to chemotherapy in elderly patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk.Lymphoma* 2003;44:1503-1508.
29. Vose JM, Crump M, Lazarus H et al. Randomized, multicenter, open-label study of pegfilgrastim compared with daily filgrastim after chemotherapy for lymphoma. *J Clin.Oncol.* 2003;21:514-519.

30. George S, Yunus F, Case D et al. Fixed-dose pegfilgrastim is safe and allows neutrophil recovery in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk.Lymphoma* 2003;44:1691-1696.
31. Kroschinsky F, Holig K, Platzbecker U et al. Efficacy of single-dose pegfilgrastim after chemotherapy for the mobilization of autologous peripheral blood stem cells in patients with malignant lymphoma or multiple myeloma. *Transfusion* 2006;46:1417-1423.
32. Nosari A, Cairoli R, Ciapanna D et al. Efficacy of single dose pegfilgrastim in enhancing the mobilization of CD34+ peripheral blood stem cells in aggressive lymphoma patients treated with cisplatin-aracytin-containing regimens. *Bone Marrow Transplant.* 2006;38:413-416.
33. Abramovich C, Pineault N, Ohta H, Humphries RK. Hox genes: from leukemia to hematopoietic stem cell expansion. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 2005;1044:109-116.
34. Azcoitia V, Aracil M, Martinez A, Torres M. The homeodomain protein Meis1 is essential for definitive hematopoiesis and vascular patterning in the mouse embryo. *Dev.Biol.* 2005;280:307-320.
35. Ernst P, Fisher JK, Avery W et al. Definitive hematopoiesis requires the mixed-lineage leukemia gene. *Dev.Cell* 2004;6:437-443.
36. Lawrence HJ, Christensen J, Fong S et al. Loss of expression of the Hoxa-9 homeobox gene impairs the proliferation and repopulating ability of hematopoietic stem cells. *Blood* 2005;106:3988-3994.
37. Vanstraelen G, Frere P, Ngirabacu MC et al. Pegfilgrastim compared with Filgrastim after autologous hematopoietic peripheral blood stem cell transplantation. *Exp.Hematol.* 2006;34:382-388.

38. Goldschmidt H, Hegenbart U, Wallmeier M et al. High-dose therapy with peripheral blood progenitor cell transplantation in multiple myeloma. *Ann.Oncol.* 1997;8:243-246.
39. Attal M, Harousseau JL, Facon T et al. Single versus double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N.Engl.J.Med.* 2003;349:2495-2502.
40. Cavo M, Tosi P, Zamagni E et al. Prospective, Randomized Study of Single Compared With Double Autologous Stem-Cell Transplantation for Multiple Myeloma: Bologna 96 Clinical Study. *J.Clin.Oncol.* 2007
41. Einsele H, Bamberg M, Budach W et al. A new conditioning regimen involving total marrow irradiation, busulfan and cyclophosphamide followed by autologous PBSCT in patients with advanced multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32:593-599.
42. Heyll A, Sohngen D, Kobbe G et al. Idarubicin, melphalan and cyclophosphamide: an intensified high-dose regimen for the treatment of myeloma patients. *Leukemia* 1997;11 Suppl 5:S32-S34.
43. Abraham R, Chen C, Tsang R et al. Intensification of the stem cell transplant induction regimen results in increased treatment-related mortality without improved outcome in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 1999;24:1291-1297.
44. Martinelli G, Agazzi A, Laszlo D et al. Idarubicin containing regimen in multiple myeloma: preliminary results of a pilot study using a modified "TANDEM" transplant program. *Leuk.Lymphoma* 2003;44:299-302.
45. De Witte T, Suci S, Selleslag D et al. Salvage treatment for primary resistant acute myelogenous leukemia consisting of intermediate-dose cytosine arabinoside and interspaced continuous infusions of idarubicin: a phase-II study (no. 06901) of the EORTC Leukemia Cooperative Group. *Ann.Hematol.* 1996;72:119-124.

46. Cook G, Marinaki P, Farrell E et al. Peripheral blood progenitor cell mobilisation in patients with multiple myeloma following oral idarubicin and dexamethasone (Z-Dex) induction therapy. *Leukemia* 1997;11 Suppl 5:S35-S40.
47. Glasmacher A, Haferlach T, Gorschluter M et al. Oral idarubicin, dexamethasone and vincristine (VID) in the treatment of multiple myeloma. *Leukemia* 1997;11 Suppl 5:S22-S26.
48. Haas R, Gericke G, Witt B, Cayeux S, Hunstein W. Increased serum levels of granulocyte colony-stimulating factor after autologous bone marrow or blood stem cell transplantation. *Exp.Hematol.* 1993;21:109-113.
49. Valteau-Couanet D, Faucher C, Auperin A et al. Cost effectiveness of day 5 G-CSF (Lenograstim) administration after PBSC transplantation: results of a SFGM-TC randomised trial. *Bone Marrow Transplant.* 2005;36:547-552.
50. Olivieri A, Scortechini I, Capelli D et al. Combined administration of alpha-erythropoietin and filgrastim can improve the outcome and cost balance of autologous stem cell transplantation in patients with lymphoproliferative disorders. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34:693-702.
51. Staber PB, Holub R, Linkesch W, Schmidt H, Neumeister P. Fixed-dose single administration of Pegfilgrastim vs daily Filgrastim in patients with haematological malignancies undergoing autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35:889-893.
52. Jagasia MH, Greer JP, Morgan DS et al. Pegfilgrastim after high-dose chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transplant: phase II study. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35:1165-1169.

53. Morris TC, Magill MK, Drake M et al. The endogenous granulocyte colony-stimulating factor response following autologous peripheral blood stem cell transplantation is impaired in patients with myeloma. *Br.J.Haematol.* 2002;117:646-649.
54. Nuamah NM, Goker H, Kilic YA, Dagmoura H, Cakmak A. Spontaneous splenic rupture in a healthy allogeneic donor of peripheral-blood stem cell following the administration of granulocyte colony-stimulating factor (g-csf). A case report and review of the literature. *Haematologica* 2006;91:ECR08.
55. Spielberger R, Stiff P, Bensinger W et al. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers. *N.Engl.J.Med.* 2004;351:2590-2598.
56. Piccirillo N, Sica S, Laurenti L et al. Optimal timing of G-CSF administration after CD34+ immunoselected peripheral blood progenitor cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 1999;23:1245-1250.
57. Farese AM, Yang BB, Roskos L, Stead RB, MacVittie TJ. Pegfilgrastim, a sustained-duration form of filgrastim, significantly improves neutrophil recovery after autologous marrow transplantation in rhesus macaques. *Bone Marrow Transplant.* 2003;32:399-404.
58. Dimopoulos MA, Anagnostopoulos A, Weber D. Treatment of plasma cell dyscrasias with thalidomide and its derivatives. *J.Clin.Oncol.* 2003;21:4444-4454.
59. Cavenagh JD, Oakervee H. Thalidomide in multiple myeloma: current status and future prospects. *Br.J.Haematol.* 2003;120:18-26.
60. Barlogie B, Tricot G, Anaissie E. Thalidomide in the management of multiple myeloma. *Semin.Oncol.* 2001;28:577-582.
61. Moehler TM, Neben K, Benner A et al. Salvage therapy for multiple myeloma with thalidomide and CED chemotherapy. *Blood* 2001;98:3846-3848.

62. Barlogie B, Desikan R, Eddlemon P et al. Extended survival in advanced and refractory multiple myeloma after single-agent thalidomide: identification of prognostic factors in a phase 2 study of 169 patients. *Blood* 2001;98:492-494.
63. Yakoub-Agha I, Attal M, Dumontet C et al. Thalidomide in patients with advanced multiple myeloma: a study of 83 patients - report of the Intergroupe Francophone du Myelome (IFM). *Hematol.J.* 2002;3:185-192.
64. Neben K, Moehler T, Benner A et al. Dose-dependent effect of thalidomide on overall survival in relapsed multiple myeloma. *Clin.Cancer Res.* 2002;8:3377-3382.
65. Kumar S, Gertz MA, Dispenzieri A et al. Response rate, durability of response, and survival after thalidomide therapy for relapsed multiple myeloma. *Mayo Clin.Proc.* 2003;78:34-39.
66. Mileskin L, Biagi JJ, Mitchell P et al. Multicenter phase 2 trial of thalidomide in relapsed/refractory multiple myeloma: adverse prognostic impact of advanced age. *Blood* 2003;102:69-77.
67. Richardson PG, Barlogie B, Berenson J et al. A phase 2 study of bortezomib in relapsed, refractory myeloma. *N.Engl.J.Med.* 2003;348:2609-2617.
68. Jagannath S, Richardson PG, Sonneveld P et al. Bortezomib appears to overcome the poor prognosis conferred by chromosome 13 deletion in phase 2 and 3 trials. *Leukemia* 2007;21:151-157.
69. Ponisch W, Mitrou PS, Merkle K et al. Treatment of Bendamustine and Prednisone in patients with newly diagnosed multiple myeloma results in superior complete response rate, prolonged time to treatment failure and improved quality of life compared to treatment with Melphalan and Prednisone - a randomized phase III study of the East German Study Group of Hematology and Oncology (OSHO). *J.Cancer Res.Clin.Oncol.* 2006;132:205-212.

70. Knop S, Straka C, Haen M et al. The efficacy and toxicity of bendamustine in recurrent multiple myeloma after high-dose chemotherapy. *Haematologica* 2005;90:1287-1288.
71. Leoni L.M., Bailey B., Reifert J., Niemeyer C., Bendall H., Dauffenbach L., and Kerfoot C. SDX-105 (Bendamustine), a clinically active antineoplastic agent possesses a unique mechanism of action. *Blood* 102(11), 640a. 2003.
72. Strumberg D, Harstrick A, Doll K, Hoffmann B, Seeber S. Bendamustine hydrochloride activity against doxorubicin-resistant human breast carcinoma cell lines. *Anticancer Drugs* 1996;7:415-421.
73. Mateos MV, Hernandez JM, Hernandez MT et al. Bortezomib plus melphalan and prednisone in elderly untreated patients with multiple myeloma: results of a multicenter phase 1/2 study. *Blood* 2006;108:2165-2172.
74. Oakervee HE, Popat R, Curry N et al. PAD combination therapy (PS-341/bortezomib, doxorubicin and dexamethasone) for previously untreated patients with multiple myeloma. *Br.J.Haematol.* 2005;129:755-762.
75. Berenson JR, Yang HH, Sadler K et al. Phase I/II trial assessing bortezomib and melphalan combination therapy for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma. *J.Clin.Oncol.* 2006;24:937-944.
76. Flohr T, Schrauder A, Cazzaniga G et al. Minimal residual disease-directed risk stratification using real-time quantitative PCR analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in the international multicenter trial AIEOP-BFM ALL 2000 for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2008;22:771-782.
77. Fenk R, Haas R, Kronenwett R. Molecular monitoring of minimal residual disease in patients with multiple myeloma. *Hematology.* 2004;9:17-33.

78. Voena C, Locatelli G, Castellino C et al. Qualitative and quantitative polymerase chain reaction detection of the residual myeloma cell contamination after positive selection of CD34+ cells with small- and large-scale Miltenyi cell sorting system. *Br J Haematol* 2002;117:642-645.
79. Zhou P, Zhang Y, Martinez C et al. Melphalan-mobilized blood stem cell components contain minimal clonotypic myeloma cell contamination. *Blood* 2002;12:3674
80. Cremer FW, Kiel K, Wallmeier M et al. Leukapheresis products in multiple myeloma: lower tumor load after mobilization with cyclophosphamide plus granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) compared with G-CSF alone. *Exp.Hematol.* 1998;26:969-975.
81. Ladetto M, Omede P, Sametti S et al. Real-time polymerase chain reaction in multiple myeloma: quantitative analysis of tumor contamination of stem cell harvests. *Exp Hematol* 2002;30:529-536.
82. Cremer FW, Ehrbrecht E, Kiel K et al. Evaluation of the kinetics of the bone marrow tumor load in the course of sequential high-dose therapy assessed by quantitative PCR as a predictive parameter in patients with multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* 2000;26:851-858.
83. Lipinski E, Cremer FW, Ho AD, Goldschmidt H, Moos M. Molecular monitoring of the tumor load predicts progressive disease in patients with multiple myeloma after high-dose therapy with autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001;28:957-962.
84. Cooke F, Bakkus M, Thielemans K et al. Use of quantitative ASO-PCR to predict relapse in multiple myeloma. *Br J Haematol* 1999;105:317-319.

85. Bakkus MHC, Bouko Y, Everaert T, Lipinsky E, Samson D, Apperley JF, Thielemans K, Van Camp B, Benner A, Goldschmidt H, Moos M, and Cremer FW. Quantification of the post-transplantation tumor load in the bone marrow by PCR with allele-specific oligonucleotide primers is a prognostic parameter in multiple myeloma. *The Haematology Journal* [abstract] 4(S1), S179. 2003.
86. Cremer FW, Kiel K, Wallmeier M, Goldschmidt H, Moos M. A quantitative PCR assay for the detection of low amounts of malignant cells in multiple myeloma. *Ann.Oncol.* 1997;8:633-636.
87. Ladetto M, Donovan JW, Harig S et al. Real-Time polymerase chain reaction of immunoglobulin rearrangements for quantitative evaluation of minimal residual disease in multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000;6:241-253.
88. Willems P, Verhagen O, Segeren C et al. Consensus strategy to quantitate malignant cells in myeloma patients is validated in a multicenter study. Belgium-Dutch Hematology-Oncology Group. *Blood* 2000;96:63-70.
89. Rasmussen T, Poulsen TS, Honore L, Johnsen HE. Quantitation of minimal residual disease in multiple myeloma using an allele-specific real-time PCR assay. *Exp Hematol* 2000;28:1039-1045.
90. Gonzalez D, Gonzalez M, Alonso ME et al. Incomplete DJH rearrangements as a novel tumor target for minimal residual disease quantitation in multiple myeloma using real-time PCR. *Leukemia* 2003;17:1051-1057.
91. Mulligan ME. Imaging techniques used in the diagnosis, staging, and follow-up of patients with myeloma. *Acta Radiol.* 2005;46:716-724.
92. Walker R, Barlogie B, Haessler J et al. Magnetic resonance imaging in multiple myeloma: diagnostic and clinical implications. *J Clin.Oncol.* 2007;25:1121-1128.

93. Laterveer L, Verdonck LF, Peeters T et al. Graft versus myeloma may overcome the unfavorable effect of deletion of chromosome 13 in multiple myeloma. *Blood* 2003;101:1201-1202.
94. Tricot G, Vesole DH, Jagannath S et al. Graft-versus-myeloma effect: proof of principle. *Blood* 1996;87:1196-1198.
95. Lokhorst HM, Schattenberg A, Cornelissen JJ et al. Donor lymphocyte infusions for relapsed multiple myeloma after allogeneic stem-cell transplantation: predictive factors for response and long-term outcome. *J.Clin.Oncol.* 2000;18:3031-3037.
96. Corradini P, Voena C, Tarella C et al. Molecular and clinical remissions in multiple myeloma: role of autologous and allogeneic transplantation of hematopoietic cells. *J Clin Oncol* 1999;17:208-215.
97. Martinelli G, Terragna C, Zamagni E et al. Molecular remission after allogeneic or autologous transplantation of hematopoietic stem cells for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2000;18:2273-2281.
98. Martinelli G, Terragna C, Zamagni E et al. Polymerase chain reaction-based detection of minimal residual disease in multiple myeloma patients receiving allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2000;85:930-934.
99. Cavo M, Terragna C, Martinelli G et al. Molecular monitoring of minimal residual disease in patients in long-term complete remission after allogeneic stem cell transplantation for multiple myeloma. *Blood* 2000;96:355-357.
100. Gahrton G, Svensson H, Cavo M et al. Progress in allogeneic bone marrow and peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma: a comparison between transplants performed 1983--93 and 1994--8 at European Group for Blood and Marrow Transplantation centres. *Br.J.Haematol.* 2001;113:209-216.

101. Bjorkstrand B. European Group for Blood and Marrow Transplantation Registry studies in multiple myeloma. *Semin.Hematol.* 2001;38:219-225.
102. Baron F, Beguin Y. Preemptive cellular immunotherapy after T-cell-depleted allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol.Blood Marrow Transplant.* 2002;8:351-359.
103. Kolb HJ, Mittermuller J, Clemm C et al. Donor leukocyte transfusions for treatment of recurrent chronic myelogenous leukemia in marrow transplant patients. *Blood* 1990;76:2462-2465.
104. Porter DL, Collins RH, Jr., Hardy C et al. Treatment of relapsed leukemia after unrelated donor marrow transplantation with unrelated donor leukocyte infusions. *Blood* 2000;95:1214-1221.
105. Badros A, Barlogie B, Siegel E et al. Improved outcome of allogeneic transplantation in high-risk multiple myeloma patients after nonmyeloablative conditioning. *J.Clin.Oncol.* 2002;20:1295-1303.
106. Kroger N, Sayer HG, Schwerdtfeger R et al. Unrelated stem cell transplantation in multiple myeloma after a reduced-intensity conditioning with pretransplantation antithymocyte globulin is highly effective with low transplantation-related mortality. *Blood* 2002;100:3919-3924.
107. Peggs KS, Mackinnon S, Williams CD et al. Reduced-intensity transplantation with in vivo T-cell depletion and adjuvant dose-escalating donor lymphocyte infusions for chemotherapy-sensitive myeloma: Limited efficacy of graft-versus-tumor activity. *Biol.Blood Marrow Transplant.* 2003;9:257-265.

108. Garban F, Attal M, Michallet M et al. Prospective comparison of autologous stem cell transplantation followed by dose-reduced allograft (IFM99-03 trial) with tandem autologous stem cell transplantation (IFM99-04 trial) in high-risk de novo multiple myeloma. *Blood* 2006;107:3474-3480.
109. Bruno B, Rotta M, Patriarca F et al. A comparison of allografting with autografting for newly diagnosed myeloma. *N.Engl.J Med* 2007;356:1110-1120.
110. Ando T, Yujiri T, Tominaga T et al. Autografting followed by a reduced-intensity conditioning unrelated donor cord blood transplantation for a patient with refractory multiple myeloma: successful engraftment with minimal toxicity. *Eur.J Haematol.* 2005;74:175-179.
111. Yamada T, Tomonari A, Takahashi S et al. Unrelated cord blood transplantation with a reduced-intensity conditioning regimen following autologous transplantation for multiple myeloma. *Int.J Hematol.* 2004;80:377-380.
112. Schoemans H, Theunissen K, Maertens J et al. Adult umbilical cord blood transplantation: a comprehensive review. *Bone Marrow Transplant.* 2006;38:83-93.
113. Thurner B, Roder C, Dieckmann D et al. Generation of large numbers of fully mature and stable dendritic cells from leukapheresis products for clinical application. *J Immunol.Methods* 1999;223:1-15.
114. Zhou LJ, Tedder TF. CD14+ blood monocytes can differentiate into functionally mature CD83+ dendritic cells. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1996;93:2588-2592.
115. Nestle FO, Farkas A, Conrad C. Dendritic-cell-based therapeutic vaccination against cancer. *Curr.Opin.Immunol.* 2005;17:163-169.
116. Pratt G, Goodyear O, Moss P. Immunodeficiency and immunotherapy in multiple myeloma. *Br.J Haematol.* 2007;138:563-579.

117. Paquette RL, Hsu NC, Kiertscher SM et al. Interferon-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor differentiate peripheral blood monocytes into potent antigen-presenting cells. *J Leukoc.Biol.* 1998;64:358-367.
118. Santini SM, Lapenta C, Logozzi M et al. Type I interferon as a powerful adjuvant for monocyte-derived dendritic cell development and activity in vitro and in Hu-PBL-SCID mice. *J Exp Med* 2000;191:1777-1788.
119. Parlato S, Santini SM, Lapenta C et al. Expression of CCR-7, MIP-3beta, and Th-1 chemokines in type I IFN-induced monocyte-derived dendritic cells: importance for the rapid acquisition of potent migratory and functional activities. *Blood* 2001;98:3022-3029.
120. Lapenta C, Santini SM, Logozzi M et al. Potent immune response against HIV-1 and protection from virus challenge in hu-PBL-SCID mice immunized with inactivated virus-pulsed dendritic cells generated in the presence of IFN-alpha. *J Exp Med* 2003;198:361-367.
121. Della BS, Nicola S, Riva A et al. Functional repertoire of dendritic cells generated in granulocyte macrophage-colony stimulating factor and interferon-alpha. *J Leukoc.Biol.* 2004;75:106-116.
122. Tosi D, Valenti R, Cova A et al. Role of cross-talk between IFN-alpha-induced monocyte-derived dendritic cells and NK cells in priming CD8+ T cell responses against human tumor antigens. *J Immunol.* 2004;172:5363-5370.
123. Mihelic R, Kaufman JL, Lonial S. Maintenance therapy in multiple myeloma. *Leukemia* 2007;21:1150-1157.
124. Forster R, Schubel A, Breitfeld D et al. CCR7 coordinates the primary immune response by establishing functional microenvironments in secondary lymphoid organs. *Cell* 1999;99:23-33.

125. O'Keeffe M, Grumont RJ, Hochrein H et al. Distinct roles for the NF-kappaB1 and c-Rel transcription factors in the differentiation and survival of plasmacytoid and conventional dendritic cells activated by TLR-9 signals. *Blood* 2005;106:3457-3464.
126. Berney C, Herren S, Power CA et al. A member of the dendritic cell family that enters B cell follicles and stimulates primary antibody responses identified by a mannose receptor fusion protein. *J Exp Med* 1999;190:851-860.
127. Mueller CG, Rissoan MC, Salinas B et al. Polymerase chain reaction selects a novel disintegrin proteinase from CD40-activated germinal center dendritic cells. *J Exp Med* 1997;186:655-663.
128. Chan CW, Crafton E, Fan HN et al. Interferon-producing killer dendritic cells provide a link between innate and adaptive immunity. *Nat.Med* 2006;12:207-213.
129. Taieb J, Chaput N, Menard C et al. A novel dendritic cell subset involved in tumor immunosurveillance. *Nat.Med* 2006;12:214-219.
130. Pineda-Roman M, Barlogie B, Anaissie E et al. High-dose melphalan-based autotransplants for multiple myeloma: the Arkansas experience since 1989 in 3077 patients. *Cancer* 2008;112:1754-1764.
131. Singhal S, Mehta J, Desikan R et al. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N.Engl.J.Med.* 1999;341:1565-1571.
132. Zhan F, Huang Y, Colla S et al. The molecular classification of multiple myeloma. *Blood* 2006;108:2020-2028.
133. Shaughnessy JD, Jr., Zhan F, Burington BE et al. A validated gene expression model of high-risk multiple myeloma is defined by deregulated expression of genes mapping to chromosome 1. *Blood* 2007;109:2276-2284.

134. Attal M, Harousseau JL, Leyvraz S et al. Maintenance therapy with thalidomide improves survival in patients with multiple myeloma. *Blood* 2006;108:3289-3294.
135. Abdelkefi A, Ladeb S, Torjman L et al. Single autologous stem-cell transplantation followed by maintenance therapy with thalidomide is superior to double autologous transplantation in multiple myeloma: results of a multicenter randomized clinical trial. *Blood* 2008;111:1805-1810.
136. Corradini P, Voena C, Tarella C et al. Molecular and clinical remissions in multiple myeloma: role of autologous and allogeneic transplantation of hematopoietic cells. *J Clin Oncol* 1999;17:208-215.
137. Martinelli G, Terragna C, Zamagni E et al. Molecular remission after allogeneic or autologous transplantation of hematopoietic stem cells for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2000;18:2273-2281.
138. Martinelli G, Terragna C, Zamagni E et al. Polymerase chain reaction-based detection of minimal residual disease in multiple myeloma patients receiving allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2000;85:930-934.

Danksagung

Mein Dank gilt an dieser Stelle meinen klinischen und wissenschaftlichen Lehrern, an erster Stelle Herrn Professor Dr. Rainer Haas, Direktor der Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinischer Immunologie der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf. Herr Professor Haas gab mir als jungem Assistenten den Auftrag das Multiple Myelom zu erforschen. Diesen Auftrag befolge ich seitdem mit seiner Hilfe. Durch seine Anregungen und konstruktive Diskussion hat er meine wissenschaftlichen Arbeiten nicht nur möglich gemacht, sondern maßgeblich zu ihrem Gelingen beigetragen.

Mein weiterer Dank gilt meinen beiden klinischen und wissenschaftlichen Mentoren. Herrn PD Dr. Ralf Kronenwett, der mich in die Welt der molekularen Medizin einführte und mir mit Rat und Tat jederzeit zur Hilfe stand und Herrn PD Dr. Guido Kobbe, der sowohl meine klinische Ausbildung entscheidend geprägt hat als auch mit seinen Ideen viele meiner wissenschaftlichen Projekte aus der Taufe hob. Beiden danke ich für Ihre ihre unermüdliche Förderung und ihre freundschaftliche Begleitung meiner wissenschaftlichen und klinischen Laufbahn.

Ferner möchte ich den Kollegen danken, die diese Arbeit durch ihre Mitarbeit, Unterstützung und wissenschaftliche Diskussion überhaupt erst möglich gemacht haben. Dies gilt insbesondere für die Doktoranden Herrn Dr. Mark Korthals, Frau Nina Sehnke, Frau Nadine Hieronymus und Herrn Mark Michael sowie für Herrn PD Dr. Mathias Schott und Frau Dr. Claudia Papewalis. Darüber hinaus möchte ich mich bei den vielen Kollegen für die Zusammenarbeit und Unterstützung bedanken, insbesondere bei Dr. Ulrich Steidl, Dr. Ulrich-Peter Rohr, Dr. Ingmar Bruns, Dr. Fabian Zohren, Dr. Thorsten Graef, Dr. Frank Neumann, Dr. Akos Czibere, Dr. Mustafa Kondakci und Dr. Leilani Ruf. Außerdem möchte ich allen Mitarbeitern und Doktoranden der Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie für die geleitete Mitarbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern, meiner Frau Barbara und meinen Söhnen Max und Luis für ihre bedingungslose Unterstützung und für ihre Opfer, die sie mit endloser Geduld und Verständnis gebracht haben.

Anhang: Sonderdrucke der zusammengefassten Publikationen