

HLA-haploidentische Stammzelltransplantation: Posttransplantations-Cyclophosphamid

Alessia Fraccaroli, Johanna Tischer



Komplikationen sowie aufwendige Herstellungsverfahren limitierten die Anwendung der HLA-haploidentischen (HLA: humanes Leukozytenantigen) Stammzelltransplantation bisher. Dieser Beitrag zeigt, wie durch die Anwendung von Posttransplantations-Cyclophosphamid zur Prophylaxe der Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (GvHD) dieses Transplantationsverfahren gut verträglich modifiziert werden kann.

Allogene hämatopoetische Stammzelltransplantation

Das Konzept der Allo-HSZT (hämatopoetische Stammzelltransplantation) besteht in der Übertragung von hämatopoetischen Stammzellen von einem genetisch differierenden (allogenen) Spender auf den Empfänger. Dazu ist eine intensive, auch immunsuppressiv wirkende Vorbehandlung mit Chemotherapie und bzw. oder Strahlentherapie, die sogenannte „Konditionierung“, erforderlich (► **Abb. 1**). Die Intensität der Konditionierung kann in myeloablativ (MAC) bzw. nicht myeloablativ (NMA) oder reduziert (RIC) unterschieden werden. Eine Posttransplantationsimmunsuppression zur Verhinderung der Transplantatabstoßung und anderer alloreaktiver Reaktionen wie die der GvHD ist notwendig; bei Erreichen einer Toleranz kann diese ausgeschlichen werden und muss nicht wie bei anderen Organtransplantationen zwingend lebenslang erfolgen. Für die Pionierarbeiten zum Verfahren der allogenen Blutstammzelltransplantation, die anfänglich nur als Knochenmarktransplantation realisiert werden konnte, erhielten im Jahre 1990 J.E. Murray und E. Donnall Thomas den Nobelpreis für Physiologie und Medizin.

Merke

Als Stammzellquelle für eine Allo-HSZT stehen Knochenmark und G-CSF-mobilisierte periphere Blutstammzellen zur Verfügung.

Behandlungsziele

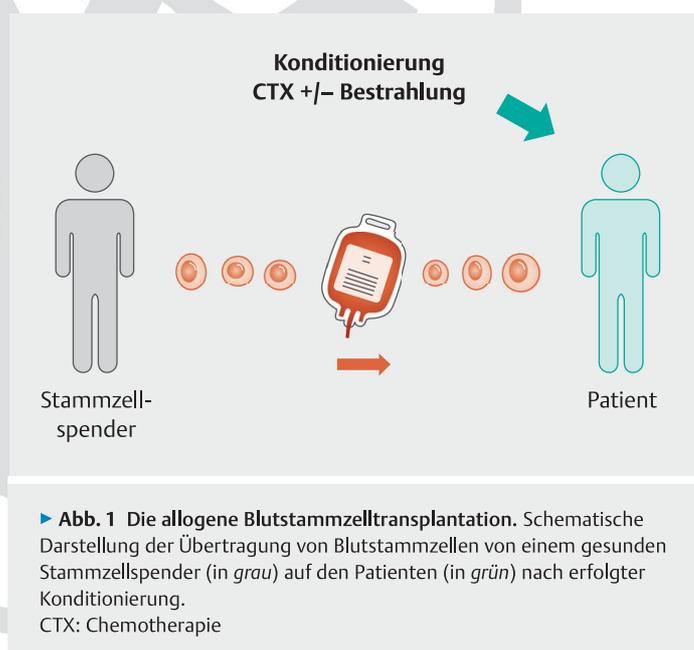
Die Behandlungsziele der Allo-HSZT umfassen:

- Rekonstitution einer intakten Hämatopoese
- Etablierung eines kompletten Chimärismus der Blutzellen
- Induktion einer Toleranzreaktion ohne Abstoßungsreaktion/GvHD

- Behandlung der Grunderkrankung durch:
 - Intensive Vorbehandlung mit Chemotherapie/ Strahlentherapie
 - Induktion einer GvL-Reaktion (GvL: Transplantat-gegen-Leukämie), wobei diese durch Spenderlymphozyten (DLI) verstärkt werden kann

Komplikationen

Die Hauptkomplikationen der Allo-HSZT folgen aus der toxischen Intensität der Konditionierung sowie der Aktivität zweier Immunsysteme (bidirektionale Alloreaktivität). So können alloreaktive Immunzellen des Spenders Zelloberflächenantigene des Empfängers erkennen und eine akute und chronische entzündliche „Angriffsreaktion“ auf verschiedene Organe des Patienten, wie Haut, Leber



► **Abb. 1** Die allogene Blutstammzelltransplantation. Schematische Darstellung der Übertragung von Blutstammzellen von einem gesunden Stammzellspender (in grau) auf den Patienten (in grün) nach erfolgter Konditionierung. CTX: Chemotherapie

INFOBOX 1**Spenderauswahl haploidentischer Spender**

Auswahlkriterien:

- Alter
 - jüngere Spender favorisieren
- Geschlechtskonstellation
 - männliche Spender bevorzugen (vor allem bei männlichen Empfängern)
- Anzahl von HLA-Mismatches
 - HLA-haploidentischen Spender mit der größten Anzahl von HLA-Mismatches mit dem Empfänger auf dem nicht gemeinsamen Haplotypen wählen
- HLA-Antikörpersuchtest
 - negativer Antikörpersuchtest (keine donorspezifischen HLA-Antikörper)
 - negatives serologisches Crossmatch
- CMV-Konstellation
 - CMV-positiven Spender für CMV-positiven Patienten bevorzugen
 - CMV-negativen Spender für CMV-negativen Patienten bevorzugen
- Blutgruppe
 - den in der Blutgruppe übereinstimmenden Spender, vor allem bei einer Knochenmarkspende (keine Erythrozytendepletion/Plasmareduktion mit Gefahr des Zellzahlverlusts des Stammzelltransplantats erforderlich), wählen
- NK-Zell-Alloreaktivität:
 - Bei Einsatz von PTCY zur GvHD-Prophylaxe spielt diese wahrscheinlich keine Rolle.

CMV: Zytomegalievirus, GvHD: Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion, HLA: humanes Leukozytenantigen, NK-Zellen: natürliche Killerzellen, PTCY: Posttransplantations-Cyclophosphamid

und Darm, auslösen (GvH-Richtung). Eine oft lang andauernde und intensive immunsuppressive Behandlung mit eingeschränkter Immunrestitution ist dann unvermeidbar. Ebenso können alloreaktive Empfängerzellen gegen Spenderzellen agieren (HVG-Richtung) und zur Transplantatabstoßung führen.

Die Hauptkomplikationen der Allo-HSZT sind infolgedessen:

- Organtoxizitäten, z. B. Nierenversagen durch Immunsuppressiva
- Transplantatabstoßung
- akute und chronische GvHD (Infobox 1)
- Infektionen aller Art, insbesondere opportunistische Infektionen

FALLBEISPIEL**Unklare Leukozytose**

Eine 42-jährige Patientin wurde vor 4 Wochen mit Fieber, Petechien, Blässe von Haut und Schleimhäuten sowie Gingivahyperplasie stationär aufgenommen. Das Blutbild zeigte eine Leukozytose (55000 µg/l) sowie Anämie (9,0 g/dl) und Thrombozytopenie (20000 µg/l), im Differenzialblutbild waren 15 % Myeloblasten auffällig, die LDH war mit 450 U/l erhöht. Mittels einer Knochenmarkuntersuchung (Aspiration) konnte zytomorphologisch die Diagnose einer akuten myeloischen Leukämie (AML), M5 nach FAB-Klassifikation, gesichert werden. Zytogenetisch zeigte sich ein komplex aberranter Karyotyp ohne molekulargenetische Aberrationen, sodass bereits initial ein hohes Risikoprofil nach ELN-Klassifikation vorlag. Umgehend wurde eine intensive Induktionstherapie bestehend aus hoch dosiertem Cytarabin in Kombination mit einem Anthrazyklin eingeleitet, wobei dadurch bei dieser Patientin keine Remission der AML erreicht werden konnte. Bei Hochrisikokonstellation und primär refraktärer AML ergab sich somit frühzeitig die dringliche Behandlungsindikation zur allogenen Blutstammzelltransplantation, um die Patientin in kurativer Intention zu behandeln.

HLA-System und seine Vererbung

Die Gewebeerträglichkeit (Histokompatibilität) von Patient und Spender wird durch das HLA-System bestimmt. Eine Vielzahl von Genen, die auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 lokalisiert sind, codieren für den Histokompatibilitätskomplex (MHC), der beim Menschen als HLA-System bezeichnet wird. Dieser MHC gilt als zentrales Element bei der Vermittlung der Transplantatabstoßungsreaktion sowie der GvHD. Die für die allogene Stammzelltransplantation wichtigen MHC-Gene sind in 2 Regionen unterteilt, die für 2 Klassen von HLA-Molekülen codieren: HLA-Klasse I mit den Loci HLA-A, HLA-B und HLA-C und HLA-Klasse II mit den Loci HLA-DR, HLA-DQ und HLA-DP (► **Abb. 2**). Die Genprodukte der HLA-Gene der Klasse I sind auf der Zellmembran verankerte Glykoproteine, die auf fast allen Zelloberflächen zu finden sind. Die Genprodukte der HLA-Gene der Klasse II bestehen aus 2 in der Zellmembran verankerten Glykopeptidketten. Die HLA-Klasse-II-Moleküle sind auf antigenpräsentierenden Zellen wie B-Lymphozyten, Makrophagen, dendritischen Zellen und aktivierten T-Lymphozyten nachweisbar.

Bei jedem Individuum werden 2 Allele jedes HLA-Genorts exprimiert. Die Gesamtheit der Allelausstattung der HLA-Genorte auf einem Chromosom wird als HLA-Haplotyp

bezeichnet. Dieser wird normalerweise als Einheit gekoppelt vererbt. Nach den Mendel'schen Regeln erbt jedes Kind jeweils einen Haplotypen vom Vater und einen von der Mutter. Eltern und Kinder sind daher grundsätzlich als HLA-haploidentisch zu betrachten. Für Geschwister beträgt die Wahrscheinlichkeit für einen gemeinsamen Haplotyp 50%. Zu je 25% können Geschwister HLA-identisch oder HLA-different sein (► **Abb. 3**).

Allogene Blutstammzellspender

HLA-Typisierung

Zur Identifikation eines Blutstammzellspenders und somit Bestimmung der „Histokompatibilität“ werden Patient und potenzielle Spender HLA-typisiert. Die HLA-Typisierung des Patienten sollte möglichst bei der Diagnosestellung einer akuten Leukämie erfolgen. Dafür werden jeweils 10 ml EDTA- oder CPDA-Blut (EDTA: Ethylen-diamintetraacetat, CPDA: Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin), ggf. auch ein Mundschleimhautabstrich, benötigt. Initial werden die HLA-Loci HLA-A, HLA-B, HLA-C sowie HLA-DRB1 und HLA-DQB1 typisiert. Folgende HLA-Typisierungsmethoden können eingesetzt werden:

- serologisch

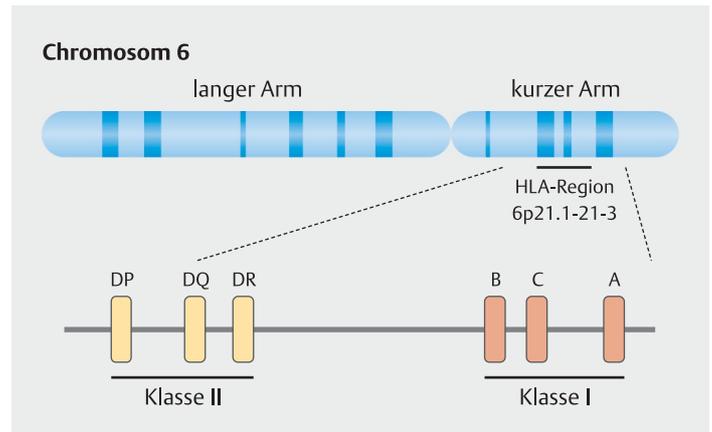
Die HLA-Antigene werden durch Zugabe spezifischer Antikörper und Messung der durch die Komplementaktivierung entstandenen Zytolyse nachgewiesen. Diese „niedrigauflösende“ Typisierung ist inzwischen nur noch als „Ersttypisierung“ in der Geschwistertypisierung sinnvoll.
- molekulargenetisch

Die DNA-Sequenz des MHC auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 wird bestimmt. Diese „hochauflösende“ Typisierung ist aktuell die Methode der Wahl. Diese ist immer als „Bestätigungstypisierung“ und zur Einleitung einer Suche nach einem unverwandten Blutstammzellspender erforderlich.

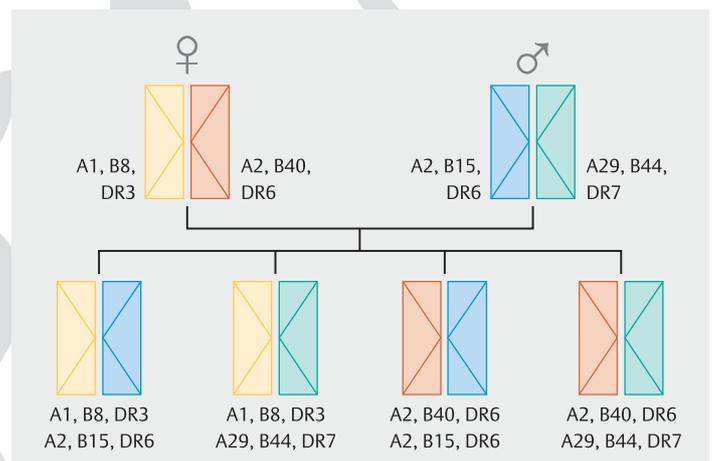
HLA-Matching

Bei Übereinstimmung (Match) der HLA-Typisierung von Patient und Blutstammzellspender in allen genannten Loci wird bei Familien von einem HLA-identischen, verwandten Spender (MRD) bzw. HLA-identischen Geschwisterspender (SIB) gesprochen. Im Fremdspenderbereich wird dieser als HLA-gematchter unverwandter Spender bzw. Fremdspender (MUD) bezeichnet.

Historisch waren die besten Ergebnisse zu erzielen, wenn die Blutstammzellen von einem HLA-identischen Geschwister gespendet wurden. Inzwischen können gleichwertige Transplantationsergebnisse auch mit einem HLA-kompatiblen MUD erreicht werden. Diese „ideale“ Übereinstimmung im HLA-Muster wird allerdings nur bei 25–30% der Patienten mit einem Geschwisterspender und bei 50–70% der Patienten kaukasischen Ursprungs mit einem Fremdspender gefunden [1].



► **Abb. 2** Der HLA-Komplex. Exemplarische Darstellung der Gene, die für die Klasse I (orange) und Klasse II (gelb) des HLA-Komplexes codieren mit entsprechender Lokalisation auf dem kurzen Arm von Chromosom 6. HLA: humanes Leukozytenantigen



► **Abb. 3** Vererbung der HLA-Haplotypen. Die Vererbung der HLA-Gene erfolgt als festes Set (Haplotyp; dargestellt in Farbblöcken). Ein väterliches und ein mütterliches Allel wird ererbt und kodominant exprimiert. Entsprechend sind Kinder und Eltern immer als HLA-haploidentisch anzusehen; Geschwister haben eine Wahrscheinlichkeit von 50% dafür. HLA: humanes Leukozytenantigen

HLA-Mismatch: alternative Blutstammzellspender und Transplantationsverfahren

Wenn keine Aussichten auf einen HLA-gematchten Blutstammzellspender bestehen, gibt es folgende Alternativen:

- Transplantation von Blutstammzellen eines unverwandten Spenders mit HLA-Mismatch (MMUD-T)
- Transplantation von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut (CBT)
- Transplantation von Blutstammzellen von einem HLA-haploidentischen Familienspender (Haplo-HSZT)

► **Tab. 1** Alternative Spender.

Alternative	Vorteil	Nachteil
Fremdspender-Mismatch- Transplantation	<ul style="list-style-type: none"> gute Verfügbarkeit, ca. 70–80% 	<ul style="list-style-type: none"> höhere GvHD-Raten (vor allem akut) bis zu 70%
Nabelschnurbluttransplantation	<ul style="list-style-type: none"> relativ gute Verfügbarkeit, ca. 50% verminderte Alloreaktivität der T-Lymphozyten Akzeptanz von 2 HLA-Mismatches bei moderaten GvHD-Raten möglich 	<ul style="list-style-type: none"> verzögertes Engraftment verzögerte Immunrekonstitution, viele virale Komplikationen hohe Abstoßungsgefahr vor allem bei nicht malignen hämatologischen Erkrankungen (ca. 50%) keine DLI, kein „Stammzell-Boost“ möglich
HLA-haploidentische Transplantation	<ul style="list-style-type: none"> sehr gute, kurzfristige Verfügbarkeit, ca. 90% Besserer GvL-Effekt? DLI, „Stammzell-Boost“ und Retransplantation vom gleichen Spender möglich 	<ul style="list-style-type: none"> Transplantatabstoßung GvHD verzögerte Immunrekonstitution und gehäuftes Auftreten von Infektionen, vor allem bei Einsatz von In-vitro-T-Zell-Depletionsverfahren

DLI: adoptive Immuntherapie, GvHD: Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion, GvL: Transplantat-gegen-Leukämie

Eine erfolgreiche Transplantation über die HLA-Barriere hinweg ist mit allen 3 genannten alternativen „Stammzellspenderquellen“ möglich. Vor- und Nachteile dieser Verfahren zeigt ► **Tab. 1**.

Bisher wurde bei Fehlen eines HLA-kompatiblen Spenders die MMUD-T gegenüber der CBT und Haplo-HSZT bevorzugt ausgewählt. Gründe hierfür waren die begrenzten Erfahrungen bei der Umsetzung der einzelnen alternativen Verfahren (vor allem bei der Haplo-HSZT) und ihre spezifischen Komplikationen.

HLA-haploidentische Transplantation

Spenderverfügbarkeit

Der große Vorteil der Haplo-HSZT ist die nahezu universelle und zeitnahe Verfügbarkeit eines Blutstammzellspenders aus der Familie. Wenn Geschwister und bzw. oder Eltern bzw. Kinder vorhanden sind, ist die Wahrscheinlichkeit, einen HLA-haploidentischen Spender zu finden, größer als 90%, wobei zumeist noch der „beste“ Stammzellspender in der Kernfamilie ausgesucht werden kann. Eine zeitaufwendige und ggf. wenig erfolgversprechende Suche nach einem unverwandten Spender kann entfallen. Dies ist besonders für Patienten von Vorteil, bei denen bei aggressiver Erkrankung eine dringliche Indikation zur Allo-HSZT besteht. Der aus einer Familie stammende Spender steht in der Regel wiederholt für eine Spende von Blutstammzellen bzw. Lymphozyten zur Verfügung. Damit wird die Option zur adoptiven Immuntherapie gewährleistet (Infobox 2).

Starke bidirektionale Alloreaktivität

Die empfängereigenen HLA-Moleküle erscheinen dem Spenderimmunsystem als fremd und können eine Immunreaktion auslösen. Sie sind damit eine zentrale Determinante der bidirektionalen Alloreaktivität (GvHD und Transplantatabstoßung).

FALLBEISPIEL

Diagnostik: erste Schritte

Bereits bei Diagnosestellung war eine Typisierung der Gewebemerkmale (HLA-Typisierung) der Patientin und der Kernfamilie (Eltern und leibliche Geschwister) erfolgt. So wurden der 47-jährige Bruder sowie die 45-jährige Schwester der Patientin HLA-typisiert. Die Schwester war HLA-different, während der Bruder sich in einem HLA-Haplotypen identisch und im dem anderen different (HLA-haploidentisch) zur Patientin zeigte. Die Suche in internationalen Registern nach einem freiwilligen HLA-kompatiblen Blutstammzellspender (Fremdspendersuche) blieb erfolglos. Somit war die HLA-haploidentische Transplantation mit Stammzellspende des Bruders die einzige, rasch verfügbare Therapiealternative zur Behandlung in kurativer Intention. Zur Vorbereitung wurden Voruntersuchungen bei der Patientin und dem potenziellen Spender veranlasst: Das Vorliegen von donorspezifischen HLA-Antikörpern wurde ausgeschlossen, die lymphozytäre Kreuzprobe, d. h. das zytotoxische Serum-Crossmatch von Empfänger und Spender, fiel negativ aus. Blutgruppe und CMV-Serostatus wurden bestimmt sowie eine HLA-Retypisierung (Bestätigungstypisierung) durchgeführt. Der Spender wurde über die Spende von Blutstammzellen aus Knochenmark, mittels mehrfacher Punktion des Beckenkamms mit Aspiration von Knochenmark, sowie die Intubationsnarkose unterrichtet. Die Empfängerin wurde über die HLA-haploidentische Transplantation inklusive der Risiken wie Transplantatabstoßung, GvHD und Infektionen aufgeklärt.

FALLBEISPIEL

Behandlung

Zur Allo-HSZT wurde die Patientin stationär aufgenommen. Bei aktiver Leukämieerkrankung zum Zeitpunkt der Transplantation leiteten wir eine sequenzielle Therapie zur HLA-haploidentischen Transplantation ein. Die Zytoreduktion mit FLAMSA (Fludarabin, Amsacrin, Cytarabin) wurde von der Patientin gut vertragen, sodass die Konditionierung inklusive 4-Gy-Ganzkörperbestrahlung planmäßig weitergeführt werden konnte. Die Transplantation verlief bei blutgruppenidentischer Knochenmarkspende komplikationslos. Einen Tag nach Transplantation entwickelte die Patientin Fieber in Neutropenie. Wir leiteten eine kalkulierte antibiotische Therapie ein. Bei Fieberpersistenz wurde an Tag + 2 eine CT der Lunge (HR-CT Thorax) veranlasst, die keinen Hinweis auf Infiltrate erbrachte. Mit der Applikation von PTCY an Tag + 3 und + 4 nach Haplo-HSZT entfieberte die Patientin, entwickelte aber Diarrhöen, die bis Tag + 12 fortbestanden. Die Regeneration der Leukozyten erfolgte nach 21 Tagen. Parallel dazu entwickelte die Patientin ein makulopapulöses Exanthem im Bereich der oberen Extremitäten (< 50% der Körperoberfläche). Mittels Hautbiopsie konnte histologisch eine akute GvHD Grad I gesichert werden. Neben der bereits seit Tag + 5 initiierten Immunsuppression mit Tacrolimus und Mycophenolat-Mofetil wurde eine topische Steroidtherapie begonnen.

Diese ist in der HLA-haploidentischen Transplantationssituation besonders ausgeprägt: Die HLA-Moleküle des von Patient und Spender „nicht geteilten“ Haplotyps können zu einer starken Aktivierung des Immunsystems führen. Durch diese intensive immunologische Reaktion wurde der Einsatz dieses alternativen Transplantationsverfahrens über einen langen Zeitraum hinweg limitiert.

Verfahren

Prinzipiell wird die unmanipulierte, d.h. T-Zell-haltige, Haplo-HSZT von der manipulierten Haplo-HSZT, bei welcher die T-Zellen durch eine In-vitro-Manipulation aus dem Blutstammzellpräparat entfernt werden, unterschieden. In der Vergangenheit war die unmanipulierte Haplo-HSZT, bei der somit die T-Zellen im Transplantat verblieben, mit einer hohen Rate von Transplantatabstoßung und GvHD assoziiert. Frühe Transplantationsversuche mit dieser Form der Haplo-HSZT hatten eine hohe transplantationsassoziierte Mortalität (TRM > 50%) zur Folge und nur wenige Patienten (< 10%) überlebten dauerhaft [2].

INFOBOX 2

Klinik der Haplo-HSZT (adaptiert nach [15])

Fieber und Schüttelfrost treten häufig zwischen Tag 0 und + 5 nach Haplo-HSZT auf.

- Warum?
 - Zytokin-Release-Syndrom im Rahmen der Alloreaktivität
- Was tun?
 - keine Immunsuppression starten
 - symptomatische Therapie einleiten
 - kalkulierte antimikrobielle Therapie bei neutropenischem Fieber

Den Beginn einer immunsuppressiven Therapie zwischen Haplo-HSZT und der Gabe von PTCY vermeiden, um eine Abschwächung der Wirkung von PTCY zu vermeiden; d. h.:

- kein Dexamethason als Antiemese
- kein Hydrokortison bei Fieber (meist im Rahmen der Alloreaktivität)

Bei Infektionen beachten:

- vergleichbares Infektionsrisiko zur konventionellen Fremdspender- oder Geschwisterspendertransplantation
- PTLD-Risiko ist sehr gering; kein routinemäßiges EBV-Reaktivierungsmonitoring notwendig
- BK-induzierte hämorrhagische Zystitis ist häufig, vor allem nach myeloablativer Konditionierung:
 - Therapie: Blasenspülkatheter bei Koageln, Schmerztherapie, antiviraler Behandlungsversuch mit Cidofovir

BK: humanes Polyomavirus 1, EBV: Epstein-Barr-Virus, HSZT: hämatopoetische Stammzelltransplantation, PTLD: Posttransplantationslymphom, PTCY: Posttransplantations-Cyclophosphamid

Zur besseren Überwindung der HLA-Barriere und Verringerung von Transplantatabstoßung und GvHD wurden – in dem Bewusstsein, dass die T-Zellen die Hauptverursacher der bidirektionalen Alloreaktivität sind – verschiedene Konzepte mit dem Ziel verfolgt, die T-Zellen aus dem Transplantat und bzw. oder dem Patientenorganismus zu entfernen. So wurden weltweit verschiedene Verfahren zur In-vitro- und In-vivo-T-Zell-Depletion entwickelt, die auch in Kombination angewandt wurden.

In-vitro-T-Zell-Depletion

Verfahren zur In-vitro-T-Zell-Depletion (technische Manipulation des Stammzelltransplantats) sind:

- CD34+-Selektion in Kombination mit MAC und einem Mega-Dose-Konzept = Inhalt von $> 10 \times 10^6$ CD34+-Zellen/kg Körpergewicht im Transplantat (Perugia)
- CD3+/CD19+-Depletion mit Depletion von B- und T-Zellen (Memphis, Tübingen)
- TCR- α/β - und CD19+-Depletion mit Erhalt von γ/δ -T-Zellen im Transplantat und B-Zell-Depletion (Miami, Tübingen)
- CD6+-Depletion mit Erhalt von NK/T-Zellen im Transplantat (Boston, München)

Merke

Für eine In-vitro-Manipulation (T-Zell-Depletion) des Transplantats sind nur G-CSF-mobilisierte periphere Blutstammzellen geeignet.

In-vivo-T-Zell-Depletion

Verfahren zur In-vivo-T-Zell-Depletion (medikamentöse Manipulation des Patienten) sind:

- Antithymozytenglobulin (ATG, breite und relativ unspezifische Lymphopenisierung)
- OKT 3 (Anti-CD3+-Antikörper; intensive T-Zell-Depletion; nicht mehr im Handel für diese Indikation verfügbar)
- Alemtuzumab (Anti-CD52+-Antikörper; B- und T-Zell-Depletion)
- Cyclophosphamid, selektive Depletion von alloreaktiven T-Zellen

Modifikationen

Anfänglich waren bei In-vitro-Manipulation des Transplantats (z. B. CD34+-Selektion) mit einer im Folgenden mangelhaften Immunrestitution viele, vor allem atypische, schwere Infektionen und eine hohe Rezidivrate zu beobachten [3,4]. Dann konnte eine Verbesserung der Immunrestitution durch eine selektivere T-Zell-Depletion des Transplantats erreicht werden (z. B. TCR- α/β -Depletion), allerdings war die Krankheitskontrolle bei aktiver Erkrankung in der Pädiatrie auch hier wiederum begrenzt [5,6]. Die notwendigen Herstellungsverfahren für die In-vitro-Depletionen des Stammzellpräparats nach dem Arzneimittelgesetz bzw. GMP (gute Herstellungspraxis) sind mit hohem zeitlichem und finanziellem Aufwand verbunden. Sie sind deshalb spezialisierten Zentren vorbehalten und dadurch eingeschränkt verfügbar.

Um die Haplo-HSZT mit In-vitro-Manipulation des Stammzellpräparats sicherer zu gestalten, wurden verschiedene Verfahren zur adoptiven Immuntherapie (DLI) entwickelt:

- Applikation von regulatorischen T-Zellen zur Verringerung von GvHD
- T-Zellen mit Integration eines sogenannten Suizidgens zum Abschalten bei Auftreten von GvHD
- DLI mit Fotodepletion alloreaktiver T-Zellen zur Verringerung von GvHD und Verbesserung der Immunrestitution
- Applikation von virusspezifischen T-Zellen zur Behandlung von schweren Virusinfektionen mit Zytomegalie-, Epstein-Barr- bzw. Adenovirus und eines Posttransplantationslymphoms (PTLD)

FALLBEISPIEL**Ergebnisse**

Im Verlauf bildete sich das Exanthem zurück. Die hämatopoetische Regeneration war vollständig. Die durchgeführte Knochenmarkuntersuchung ergab keinen Hinweis auf die vorbestehende Leukämie bei vollständigem Chimärismus. Die Patientin konnte 8 Wochen nach Aufnahme ohne GvHD- und Infektzeichen in gutem Allgemeinzustand entlassen werden.

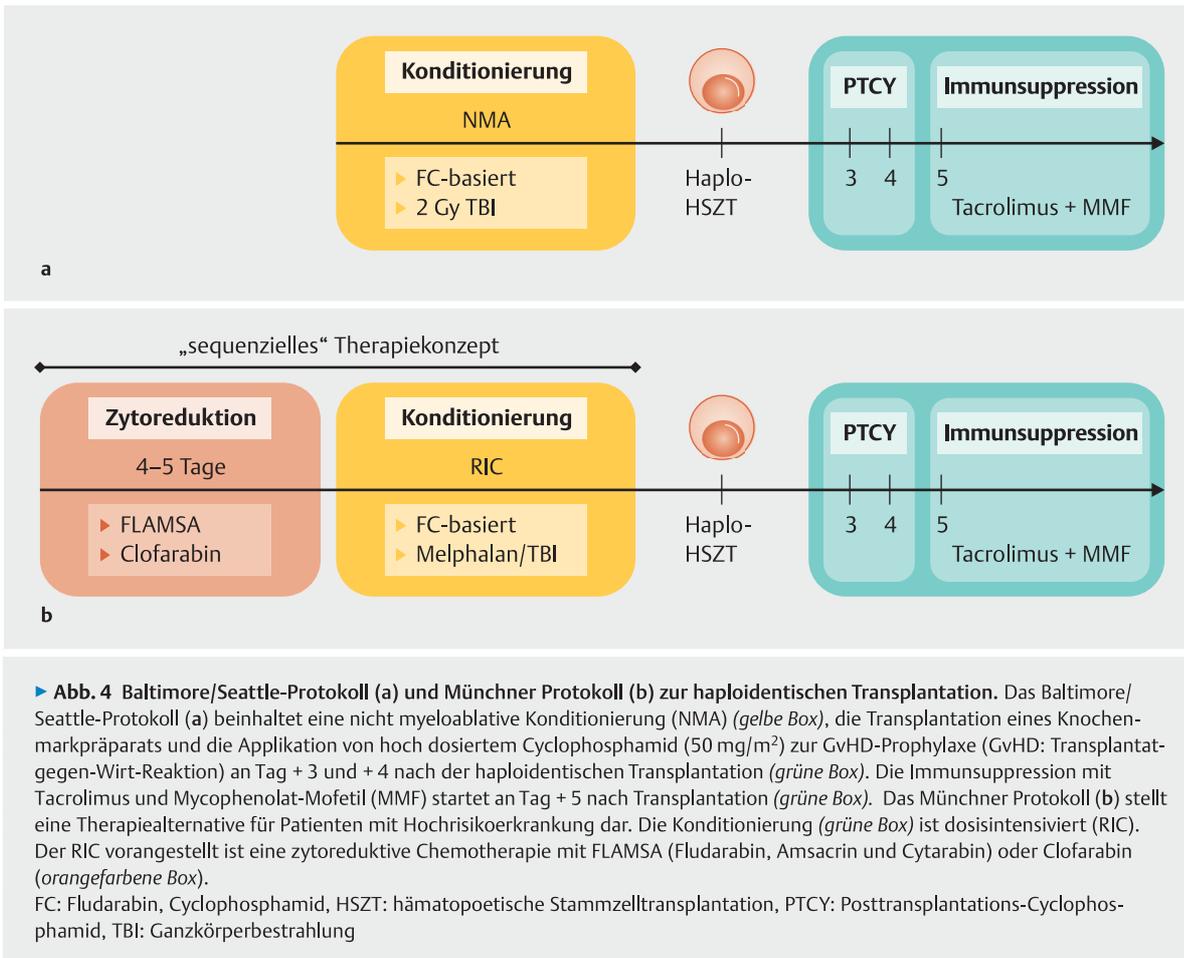
Unmanipulierte Haplo-HSZT mit Posttransplantations-Cyclophosphamid

Ein neueres und simples Verfahren in der Haplo-HSZT nutzt nun die immunsuppressive und antiproliferative Eigenschaft von Cyclophosphamid (CY), das kurz nach der Transplantation eines T-Zell-haltigen Stammzellpräparats gegeben wird (PTCY) (► **Abb. 4a**). Es führt zu einer selektiven In-vivo-T-Zell-Depletion von proliferierenden alloreaktiven Zellen, während ruhende Zellen geschont werden. Eine Schlüsselrolle scheint hierbei dem Enzym der Aldehyddehydrogenase (ALDH) zuzukommen, das eine CY-Resistenz vermittelt. Hämatopoetische Stammzellen und regulatorische T-Zellen, die in hohem Maß dieses Enzym intrazytoplasmatisch exprimieren, können das Aldehyd CY entgiften. Andere Zellen ohne ALDH, wie naive T-Zellen, unterliegen dem zytotoxischen Effekt [7]. Dadurch konnte in mehreren Studien ein geringes Auftreten von GvHD und Infektionen bei einer zugleich robusten hämatologischen und immunologischen Reconstitution beobachtet werden [8,9], die aus dem ruhenden Pool der Zellen erfolgen kann. Vergleichsweise schlechter zeigte sich die Immunrestitution bei anderen Haplo-HSZT-Verfahren mit In-vitro-T-Zell-depletierten Stammzellpräparaten (z. B. CD34+-Selektion, CD6+-Depletion) [10,11].

In der Pilotstudie aus Baltimore/Seattle aus dem Jahr 2008 wurden 68 Patienten mit verschiedenen hämatologischen Erkrankungen behandelt [8]. Nach nicht myeloablativer Konditionierung waren in 13% Transplantat-abstoßungen zu beobachten und die Inzidenz der schweren akuten GvHD (Grad III–IV) und schweren chronischen GvHD war bemerkenswert niedrig (jeweils <10%). Die TRM nach 1 Jahr war niedrig (15%) (Infobox 3).

Merke

Mit PTCY ist eine wirkungsvolle GvHD-Prophylaxe in der unmanipulierten Haplo-HSZT möglich.



Vergleich zu anderen Verfahren

Die unmanipulierte Haplo-HSZT mit PTCY zur GvHD-Prophylaxe wird seit dem Jahr 2009 zunehmend auch in Europa angewandt. Die Rate der Transplantatabstoßung war niedriger als bei einer CBT oder Haplo-HSZT mit In-vitro-T-Zell-Depletion [10, 12, 13] und die Inzidenz der GvHD zeigt sich vergleichbar der Allo-HSZT von einem MUD [13]. Ein weiterer Vorteil scheint die verbesserte Immunrestitution und eine damit verbundene geringere Infektionsrate zu sein, insbesondere im Vergleich zur CBT und der In-vitro-manipulierten Haplo-HSZT [10, 11]. Bei niedriger TRM zeigen sich die Behandlungsergebnisse ähnlich derer einer MUD-T- [15] oder SIB-Transplantation [16]. Insbesondere dann, wenn vor der unmanipulierten Haplo-HSZT mit PTCY eine Remission der Grunderkrankung erreicht werden konnte. Im Vergleich zu anderen alternativen Spenderquellen lassen sich somit – aufgrund der guten Verträglichkeit sowie auch der simplen Umsetzung ohne die Notwendigkeit eines aufwendigen technischen Verfahrens – die stark ansteigenden Transplantationszahlen für die Haplo-HSZT mit PTCY erklären [17].

Merke

Die unmanipulierte Haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY zur GvHD-Prophylaxe stellt ein vergleichsweise sehr einfaches und sicheres Verfahren zur Überwindung der HLA-Barriere dar.

Krankheitskontrolle

Trotz guter Kontrolle der bidirektionalen Alloreaktivität deutete sich allerdings das Hauptproblem der unmanipulierten Haplo-HSZT nach NMA-Konditionierung bereits in der Pilotstudie aus Baltimore/Seattle an. Die Erkrankungskontrolle, besonders bei Patienten mit Hoch- und Höchstisikoerkrankung nach Disease-Risk-Index war unbefriedigend. Mehr als 50% der Patienten erlitt nach 1 Jahr ein Rezidiv [8, 18]. Zur Verbesserung der Erkrankungskontrolle in der unmanipulierten Haplo-HSZT mit PTCY wurden weltweit verschiedene Konzepte verfolgt:

- Intensivierung der Konditionierung: myeloablative (Genua)
- Intensivierung der Konditionierung (myeloablative) und Einsatz von peripheren Blutstammzellen (Atlanta)
- Intensivierung der Konditionierung und Einsatz eines sequenziellen Therapiekonzepts (München)

INFOBOX 3**Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion**

Bei der GvHD handelt es sich um eine immunologische Reaktion nach Allo-HSZT, bei welcher die im Stammzelltransplantat enthaltenen immunkompetenten Zellen des Spenders (vor allem T-Lymphozyten) den Organismus des Empfängers als fremd erkennen und angreifen. Eine entzündliche Reaktion, die potenziell alle Spenderorgane betreffen kann, ist die Folge. Gleichzeitig können dadurch jedoch ebenfalls die Leukämiezellen selbst angegriffen werden; der erwünschte Effekt der GvL-Reaktion wird somit induziert. Es werden 2 Formen der GvHD unterschieden: die akute und die chronische Form.

Akute GvHD

Manifestation: akut entzündliche Prozesse häufig an:

- Haut: Exanthem
- Darm: Diarrhö
- Leber: Bilirubinerhöhung

Chronische GvHD

Manifestation: Chronisch entzündliche, fibrosierende Prozesse aller Organe sind möglich. Häufig sind:

- sklerodermieforme Hautveränderungen
- Sicca-Symptomatik
- cholestatische Leberwerterhöhung

selten ist:

- Bronchiolitis obliterans

Das Risiko, dass eine GvHD auftritt, ist in erster Linie von der HLA-Disparität zwischen Spender und Empfänger abhängig. Auch andere patienten- und transplantationspezifische Faktoren wie Alter, Konditionierungsintensität, Art der GvHD-Prophylaxe und der Art der Stammzellquelle (Knochenmark oder G-CSF-mobilisierte periphere Blutstammzellen) sind von Relevanz. Insgesamt liegt dabei das Risiko für die Manifestation einer GvHD bei ca. 30–70%. Kortison ist das Hauptmedikament zur Behandlung der GvHD.

G-CSF: Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor, HLA: humanes Leukozytenantigen, GvHD: Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion, GvL: Transplantat-gegen-Leukämie, HSZT: hämatopoetische Stammzelltransplantation

Sequenzielles Behandlungskonzept bei Hochrisikoerkrankung

Seit Jahren wurde zur Verbesserung der Erkrankungskontrolle in der HLA-gematchten Transplantationssituation bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) und myelodysplastischem Syndrom (MDS) mit Hochrisiko und rezidivierter bzw. refraktärer Erkrankung das Konzept der sequenziellen Therapie erfolgreich angewandt [19]. Dabei wird kurz vor Beginn der Konditionierung eine intensive Chemotherapie durchgeführt. Die Konditionierung erfolgt dann in reduzierter Intensität (RIC) zur Verringerung der Toxizität (► **Abb. 4b**). Mit der sequenziellen Therapie wird eine verstärkte Reduktion der Tumormasse erzielt. Damit wird mehr Zeit für den beabsichtigten GvL-Effekt nach der Transplantation gewonnen. Verstärkt werden kann der GvL-Effekt zudem durch eine adoptive Immuntherapie mit Spenderlymphozyten bei Patienten ohne GvHD. Mit diesem Behandlungskonzept konnte bei Patienten mit Hochrisiko-AML und MDS nach HLA-gematchter Transplantation ein vergleichsweise sehr gutes leukämiefreies Überleben von 40% nach 2 Jahren erzielt werden [19].

Aufgrund der sehr guten Verträglichkeit der unmanipulierten Haplo-HSZT mit PTCY zur GvHD-Prophylaxe war die Integration der sequenziellen Therapie in das Behandlungskonzept bei Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung ohne HLA-gematchten Spender problemlos möglich [20] (► **Abb. 4b**). Die Behandlungsergebnisse zeigten sich denen in einer HLA-gematchten Transplantationssituation ähnlich.

So ist die unmanipulierte Haplo-HSZT mit PTCY zur GvHD-Prophylaxe als wertvolle Therapiealternative für Patienten ohne konventionellen, HLA-kompatiblen Stammzellspender, aber auch mit dringlicher Transplantationsindikation bei aggressiv verlaufender Erkrankung zu betrachten. Bei sehr guter Verträglichkeit und einfacher Durchführbarkeit treten andere, alternative Transplantationsverfahren, wie die der MMUD-T, der manipulierten Haplo-HSZT oder CBT, in den Hintergrund.

Merke

Durch die sequenzielle Therapiestrategie in der Haplo-HSZT mit PTCY sind bei Hochrisikoerkrankungen ähnliche Behandlungserfolge wie bei einer HLA-gematchten Transplantation zu erreichen.

KERNAUSSAGEN

- Für Patienten ohne HLA-kompatiblen Stammzellspender ist die Transplantation von Blutstammzellen aus Nabelschnurblut und eines nur in 1 Haplotyp übereinstimmenden Familienspenders (Haplo-HSZT) eine Alternative.
- Für mehr als 90% der Patienten kann innerhalb der Familie ein HLA-haploidentischer Spender gefunden werden. Die hohe Spenderverfügbarkeit ist ein Hauptvorteil der Haplo-HSZT gegenüber der CBT. Zudem besteht hier die Möglichkeit, nach diversen Kriterien (unter anderem Blutgruppe, CMV-Status, Alter, Geschlecht) den „besten“ Stammzellspender auszusuchen.
- Die Haplo-HSZT bietet im Vergleich zur CBT die Möglichkeit zur adoptiven Immuntherapie.
- Die unmanipulierte Haplo-HSZT mit Einsatz von PTCY zur GvHD-Prophylaxe stellt ein neueres und vergleichsweise einfaches sowie sicheres Verfahren zur Überwindung der HLA-Barriere dar.
- Wenig GvHD und eine geringe Infektionsrate bei guter Immunrestitution kennzeichnen die unmanipulierte Haplo-HSZT, wenn PTCY zur In-vivo-Depletion alloreaktiver T-Zellen angewendet wird. Somit zeigt sich die TRM vergleichsweise gering.
- Die Behandlungsergebnisse der unmanipulierten Haplo-HSZT mit PTCY sind bezüglich GvHD, Infektionen und TRM vergleichbar mit denen der HLA-gematchten Transplantation.
- Durch Anwendung der sequenziellen Therapie (z. B. Münchner Protokoll), bei der eine intensive Chemotherapie kurz vor Start der Konditionierung zur unmanipulierten Haplo-HSZT mit PTCY durchgeführt wird, kann die Krankheitskontrolle von malignen hämatologischen Erkrankungen in der Hochrisikosituation verbessert werden.

Interessenkonflikt

Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Autorinnen / Autoren



Alessia Fraccaroli

Assistenzärztin, Abteilung für hämatopoetische Transplantation, Medizinische Klinik und Poliklinik III, LMU, Klinikum der Universität München.



Dr. med. Johanna Tischer

Oberärztin, Leiterin der Abteilung für hämatopoetische Transplantation inklusive José Carreras Transplantationsstation/M21, Medizinische Klinik und Poliklinik III, LMU, Klinikum der Universität München

Korrespondenzadresse

Dr. med. Johanna Tischer

Medizinische Klinik und Poliklinik III, Klinikum der Universität München, LMU
Marchioninistraße 15
81377 München
Tel.: 0 89 440 07 42 41, Fax: 0 89 440 07 42 42
johanna.tischer@med.uni-muenchen.de

Wissenschaftlich verantwortlich gemäß Zertifizierungsbestimmungen

Wissenschaftlich verantwortlich gemäß Zertifizierungsbestimmungen für diesen Beitrag ist Dr. med. Johanna Tischer, München.

Literatur

- [1] Ottinger H, Grosse-Wilde M, Schmitz A et al. Immunogenetic marrow donor search for 1012 patients: a retrospective analysis of strategies, outcome and costs. *Bone Marrow Transplant* 1994; 14 (Suppl. 4): 34–38
- [2] Anasetti C, Beatty PG, Storb R et al. Effect of HLA incompatibility on graft-versus-host disease, relapse, and survival after marrow transplantation for patients with leukemia or lymphoma. *Hum Immunol* 1990; 29: 79–91
- [3] Aversa F, Tabilio A, Terenzi A et al. Successful engraftment of T-cell-depleted haploidentical “three-loci” incompatible transplants in leukemia patients by addition of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood progenitor cells to bone marrow inoculum. *Blood* 1994; 84: 3948–3955
- [4] Ciceri F, Labopin M, Aversa F et al. A survey of fully haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in adults with high-risk acute leukemia: a risk factor analysis of outcomes for patients in remission at transplantation. *Blood* 2008; 112: 3574–3581
- [5] Godder KT, Henslee-Downey PJ, Mehta J et al. Long term disease-free survival in acute leukemia patients recovering with increased gammadelta T cells after partially mismatched related donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 751–757
- [6] Handgretinger R. New approaches to graft engineering for haploidentical bone marrow transplantation. *Semin Oncol* 2012; 39: 664–673
- [7] Kanakry CG, Ganguly S, Zahurak M et al. Aldehyde dehydrogenase expression drives human regulatory T cell resistance to posttransplantation cyclophosphamide. *Sci Transl Med* 2013; 5: 211ra157
- [8] Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14: 641–650

- [9] Raiola AM, Dominiotto A, Ghiso A et al. Unmanipulated haploidentical bone marrow transplantation and posttransplantation cyclophosphamide for hematologic malignancies after myeloablative conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; 19: 117–122
- [10] Ciurea SO, Mulanovich V, Saliba RM et al. Improved early outcomes using a T cell replete graft compared with T cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 1835–1844
- [11] Tischer J, Engel N, Fritsch S et al. Virus infection in HLA-haploidentical hematopoietic stem cell transplantation: incidence in the context of immune recovery in two different transplantation settings. *Ann Hematol* 2015; 94: 1677–1688
- [12] Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL et al. Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood* 2011; 118: 282–288
- [13] Ruggeri A, Labopin M, Sanz G et al. Comparison of outcomes after unrelated cord blood and unmanipulated haploidentical stem cell transplantation in adults with acute leukemia. *Leukemia* 2015; 29: 1891–1900
- [14] Ciurea SO, Zhang MJ, Bacigalupo AA et al. Haploidentical transplant with posttransplant cyclophosphamide vs. matched unrelated donor transplant for acute myeloid leukemia. *Blood* 2015; 126: 1033–1040
- [15] Bashey A, Zhang X, Sizemore CA et al. T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1310–1316
- [16] Raiola AM, Dominiotto A, di Grazia C et al. Unmanipulated haploidentical transplants compared with other alternative donors and matched sibling grafts. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20: 1573–1579
- [17] Passweg JR, Baldomero H, Bader P et al. Use of haploidentical stem cell transplantation continues to increase: the 2015 European Society for Blood and Marrow Transplant activity survey report. *Bone Marrow Transplant* 2017; 52: 811–817
- [18] McCurdy SR, Kanakry JA, Showel MM et al. Risk-stratified outcomes of nonmyeloablative HLA-haploidentical BMT with high-dose posttransplantation cyclophosphamide. *Blood* 2015; 125: 3024–3031
- [19] Schmid C, Schleuning M, Ledderose G et al. Sequential regimen of chemotherapy, reduced-intensity conditioning for allogeneic stem-cell transplantation, and prophylactic donor lymphocyte transfusion in high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5675–5687
- [20] Tischer J, Stemmler HJ, Engel N et al. Feasibility of clofarabine cytoablation followed by haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in patients with relapsed or refractory advanced acute leukemia. *Ann Hematol* 2013; 92: 1379–1388

Bibliografie

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-113776>
 Transfusionsmedizin 2017; 7: 239–250
 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York
 ISSN 2191-8805