

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Interdisziplinäre Klinik und Poliklinik für Stammzelltransplantation,
Onkologisches Zentrum

Direktor: Prof. Dr. Nicolaus Kröger

Dosis-Findung und immunmodulatorische Effekte von Lenalidomid als Erhaltungstherapie bei Patienten mit Multiplem Myelom nach einer allogenen Stammzelltransplantation

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin an der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg
vorgelegt von: Christine Wolschke aus Hamburg
Hamburg 2011

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: ^{12.07.}~~09.06.~~2011

Veröffentlicht mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg'

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. N. Kröger

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: Prof. Dr. A. R. Zander

Prüfungsausschuss, 3. Gutachter/in: PD Dr. W. Fiedler

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----------|
| 1. ZIELSETZUNG | 5 |
| 2. EINLEITUNG | 6 |
| 2.1. DEFINITION MULTIPLES MYELOM..... | 6 |
| 2.2. PATHOGENESE..... | 7 |
| 2.3. KLINISCHE MERKMALE..... | 8 |
| 2.4. DIAGNOSTIK..... | 9 |
| 2.4.1. Diagnostische Kriterien..... | 9 |
| 2.4.2. Laboruntersuchungen..... | 11 |
| 2.5. STADIENEINTEILUNG..... | 12 |
| 2.5.1. Stadieneinteilung nach Durie und Salmon..... | 12 |
| 2.5.2. Stadieneinteilung nach ISS..... | 13 |
| 2.6. PROGNOSE UND PROGNOSEFAKTOREN..... | 14 |
| 2.7. RESPONSEKRITERIEN..... | 15 |
| 2.7.1. Response-Kriterien..... | 15 |
| 2.7.2. Responsedefinitionen..... | 16 |
| 2.8. THERAPIEMÖGLICHKEITEN..... | 17 |
| 2.8.1. Zytostatische Therapie..... | 17 |
| 2.8.2. Optionen für die initiale Therapie der Patienten, welche für eine autologe Stammzelltransplantation geeignet sind..... | 19 |
| 2.8.3. Optionen für die initiale Therapie der Patienten, bei denen eine autologe Stammzelltransplantation nicht indiziert ist..... | 21 |
| 2.8.4. Hochdosischemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation (ASCT)..... | 21 |
| 2.8.5. Allogene Stammzelltransplantation..... | 23 |
| 2.8.5.1. Myeloablative Konditionierung..... | 24 |
| 2.8.5.2. Dosisreduzierte Konditionierung (reduced intensity conditioning (RIC)), nicht-myeloablative Konditionierung..... | 25 |
| 2.8.5.3. Einsatz von Spenderlymphozyten (DLI) nach allogener Stammzelltransplantation..... | 26 |
| 2.8.5.4. Einsatz von NK-Zellen..... | 27 |
| 2.8.5.5. Einsatz von Bortezomib nach allogener Stammzelltransplantation..... | 27 |
| 2.8.5.6. Einsatz immunmodulatorischer Substanzen..... | 27 |

| | |
|--|-----------|
| 3. MATERIAL UND METHODEN | 29 |
| 3.1. STUDIENDESIGN..... | 29 |
| 3.2. PATIENTENKOLLEKTIV..... | 30 |
| 3.2.1. <i>Einschlusskriterien</i> | 30 |
| 3.2.2. <i>Ausschlusskriterien</i> | 31 |
| 3.2.3. <i>Ende der Behandlung/Patientenausschluss von der Studie</i> | 31 |
| 3.2.4. <i>Nachbeobachtung</i> | 32 |
| 3.3. STUDIENMEDIKAMENT..... | 32 |
| 3.3.1. <i>Wirkungsweise</i> | 32 |
| 3.3.2. <i>Pharmakokinetische Eigenschaften</i> | 33 |
| 3.3.2.1. <i>Absorption</i> | 33 |
| 3.3.2.2. <i>Verteilung</i> | 33 |
| 3.3.2.3. <i>Metabolismus und Ausscheidung</i> | 33 |
| 3.4. BEGRIFFS – DEFINITIONEN..... | 34 |
| 3.4.1. <i>Schweres unerwünschtes Ereignis (SUE)/ Serious Adverse Event (SAE)</i> | 34 |
| 3.4.2. <i>Dosis - limitierende Toxizität (DLT)</i> | 34 |
| 3.4.3. <i>Unerwünschtes Ereignis (UE)/ Adverse Event (AE)</i> | 34 |
| 4. STATISTISCHE ANALYSE | 35 |
| 5. MONITORING DER T-ZELLSUBPOPULATIONEN UND DER NK-ZELL- AKTIVITÄT NACH LENALIDOMIDTHERAPIE | 36 |
| 5.1. ZELLKULTUR UND NK-ZELL-ISOLATION..... | 36 |
| 5.2. DURCHFLUSSZYTOMETRIE UND INTRAZELLULÄRE ANFÄRBUNG..... | 37 |
| 5.3. FUNKTIONALES NK-ZELL-ASSAY..... | 37 |
| 5.4. STATISTISCHE ANALYSE | 38 |
| 6. ERGEBNISSE | 39 |
| 6.1. PATIENTEN..... | 39 |
| 6.2. SCHWERE UNERWÜNSCHTE EREIGNISSE..... | 41 |
| 6.3. HÄMATOLOGISCHE TOXIZITÄTEN (CTCAE GRAD 3 BIS 4 ODER NEUTROPENIE)..... | 41 |
| 6.4. NICHTHÄMATOLOGISCHE TOXIZITÄTEN (CTCAE GRAD 3 ODER HÖHER)..... | 42 |
| 6.5. AUFTRETEN VON INFEKTIONEN..... | 43 |
| 6.6. AUFTRETEN EINER GRAFT VERSUS HOST REAKTION..... | 43 |

| | |
|--|-----------|
| 6.7. REMISSIONSKONTROLLE..... | 44 |
| 6.8. EINFLUSS VON LENALIDOMID AUF NK- UND T-ZELLEN..... | 45 |
| 6.8.1. Einfluss auf NK-Zellen..... | 45 |
| 6.8.2. Einfluss von Lenalidomid auf T-Zellen und pro-inflammatorische T-Zell-Subsets..... | 46 |
| 7. DISKUSSION | 48 |
| 8. ZUSAMMENFASSUNG | 55 |
| 9. TABELLEN UND ABBILDUNGEN | 57 |
| 10. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS | 68 |
| 11. LITERATURVERZEICHNIS | 71 |
| 12. DANKSAGUNG..... | 81 |
| 13. LEBENSLAUF..... | 82 |
| 14. EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG..... | 83 |

1. Zielsetzung

Die allogene Stammzelltransplantation für Patienten mit Multiplen Myelom ist eine potentiell kurative Therapie. Durch den Einsatz der dosisreduzierten Konditionierung konnte im Vergleich zur myeloablativen Konditionierungsschemotherapie die therapieassoziierte Mortalität reduziert werden. Allerdings treten nach der dosisreduzierten Konditionierung häufiger Rezidive auf (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11). Um die Rezidivrate nach dosisreduzierter Konditionierung zu reduzieren und die Remissionsrate zu steigern sind Posttransplantationsstrategien notwendig. Lenalidomid (Revlimid®) ist ein effektives Medikament in der Therapie des Multiplen Myeloms. Seine Effektivität und seine immunmodulatorischen Eigenschaften machen Lenalidomid interessant für den Einsatz als Erhaltungstherapie nach allogener Stammzelltransplantation, um den Remissionsstatus zu verbessern bzw. eine länger andauernde Remission zu erreichen (12, 13, 14).

Ziel dieser Arbeit ist die maximal tolerable Dosierung von Lenalidomid für Patienten mit Multiplen Myelom 100 bis 180 Tage nach einer allogenen Stammzelltransplantation im Rahmen einer Phase I/II-Studie zu ermitteln. Sekundäre Endpunkte sind die Bestimmung des Remissionstatus der Patienten nach der Behandlung mit Lenalidomid, der Effekt auf die T- und NK-Zellen und die Beurteilung des Auftretens von Graft versus Host Reaktionen.

2. Einleitung

2.1. Definition Multiples Myelom

Das Multiple Myelom ist eine B-Zell-Neoplasie, charakterisiert durch eine aberrante Vermehrung von Plasmazellen überwiegend im Knochenmark, seltener extramedullär. Das Multiple Myelom macht 10 - 15% der hämatologischen Neoplasien und 20% der tumorbedingten Todesfälle aus. Es erkranken mehr Männer als Frauen. Die Inzidenz ist altersabhängig, im 6. und 7. Lebensjahrzehnt ist sie ansteigend auf 6 - 8/100000 (15, 16, 17).

Der britische Arzt Henry Bence Jones charakterisierte im späten 18. Jahrhundert ein abnormales Urin-Protein bei Patienten mit Multiplen Myelom (109). Plasmazellen wurden später als zugrunde liegende maligne Zellpopulation des Multiplen Myeloms beschrieben (110).

Über ein Jahrhundert später zeigte Gerald Edelman (Nobelpreisträger in Chemie) und sein Student Joseph Gally die chemische Ähnlichkeit der Urin Bence Jones Proteine und der Serum Leichtketten bei Patienten mit Multiplem Myelom (16).

Die Entwicklung der Elektrophorese als diagnostische Möglichkeit ermöglicht die Proteinseparation und die Identifikation des M-Gradienten. Somit kann die polyklonale von der monoklonalen Gammopathie unterschieden werden (18).

2.2. Pathogenese

Dem Multiplem Myelom geht üblicherweise eine asymptomatische Monoklonalität unklarer Signifikanz voraus (111). Zytogenetische Veränderungen (Deletionen, Translokationen oder andere Mutationen) in den Plasmazellen führen zur Dysregulation von Genen, welche den Zellzyklus kontrollieren. Dies führt zu einer unkontrollierten Proliferation und zu einer Progression bis zu einem Multiplen Myelom. Es erfolgt eine gestörte Zytokinproduktion sowohl der Myelomzellen als auch des Mikroenviroments: zum Beispiel Interleukin (IL)-10, angiogenetische Faktoren/ vascular endothelial growth factor (VEGF) und transforming growth factor-beta sind überexprimiert bei MM-Zellen, der Fas ligand (CD95) ist herunterreguliert (19, 20). Zusätzlich zur Tumorpheriferation und der Überproduktion von Zytokinen interagieren MM-Zellen mit den Stromazellen direkt oder indirekt durch Zytokine (VEGF, IL-6) (21).

Nach heutiger Auffassung findet die initiale maligne Transformation des Myelomklons in einer unreifen B-Zelle statt. In der Zirkulation findet sich eine Gruppe von ständig proliferierenden monoklonalen B-Zellen, die sich durch zusätzlicher Expression bestimmter Adhäsionsmoleküle (CD 45, LAM-1) von normalen aktivierten B-Zellen unterscheiden und diese als einen invasiven Zelltyp kennzeichnen. Diese Zelle invadiert das Knochenmark und entwickelt sich hier analog zur normalen Plasmazelle. Der maligne, monoklonale Immunglobulin produzierender, Tumorzellkon siedelt sich im Knochenmark und/ oder extramedullär an. Maligne Plasmazellen und ihre Vorläufer sind von Stromazellen produzierten Wachstumsfaktoren, insbesondere IL-6 abhängig, wobei die Tumorzellen eines MM-Patienten auch selbst IL-6 produzieren können. Der Mechanismus der gegenseitigen Beeinflussung von Tumorzellen und Knochenmarkstroma ist noch nicht endgültig geklärt. Er führt aber zu der kennzeichnenden Osteoklastenaktivierung mit progressiver Knochendestruktion und pathologischen Frakturen und einer Hemmung der Osteoblasten (112, 113). Weiterhin kommt es beim Multiplem Myelom zu einem sekundären Antikörpermangel (22).

2.3. Klinische Merkmale

Die klinischen Manifestationen des Multiplen Myeloms schließen Knochenveränderungen, Osteolysen, die Hyperkalzämie, die Anämie, die Nierenschädigung, rezidivierende Infektionen und periphere Neuropathien ein (16).

Osteolysen werden bei 80% aller Patienten mit Multiplem Myelom bei der Erstdiagnose festgestellt. Diese können sich manifestieren als Knochenläsionen, Wirbelkörperkompressionsfrakturen oder als Osteopenie/Osteoporosis. Die Läsionen gehen nur teilweise mit Schmerzen einher (20).

Die Hyperkalzämie ist eine häufige metabolische Abnormalität welche mit der Erkrankung assoziiert ist. Diese resultiert hauptsächlich aus der Osteolyse und der Knochenresorption mit Freisetzung von Calcium in den extramedullären Raum. Eine Nierenschädigung und die renale tubuläre Calcium Reabsorption verstärken den Effekt (16).

Hämatologische Abnormalitäten wie Anämie, Leukozytopenie und Thrombozytopenie werden häufig bei Patienten mit Multiplem Myelom beobachtet. 70% aller Patienten präsentieren sich bei Erstdiagnose mit einer Anämie. Allerdings steht die Anämie häufig nicht mit der Knochenmarkinfiltration durch das MM im Verhältnis (20).

Bei 20-30% der Patienten besteht bei der Diagnosestellung eine Niereninsuffizienz, über 50% der Patienten entwickeln eine während des Krankheitsverlaufes (23). Hauptverantwortlich dafür ist eine Akkumulation der Leichtketten in den distalen renalen Tubuli. Eine Hyperkalzämie, Hyperurikämie, Dehydration und der Einsatz nephrotoxischer Substanzen können die Niereninsuffizienz verstärken.

Patienten mit Multiplem Myelom haben ein erhöhtes Risiko für Infektionen. Dies resultiert aus der defekten Immunfunktion. Die Konzentration nicht funktionstüchtiger Immunglobuline, eine durch die Chemotherapie reduzierte Anzahl von Lymphozyten und der therapeutische Einsatz von Corticosteroiden erhöhen das Infektionsrisiko (16).

Eine periphere Polyneuropathie (v.a. sensorisch) betrifft eine große Zahl von Myelompatienten. Zusätzlich verstärkt wird diese durch den Einsatz neurotoxischer Medikamente in der Therapie des Multiplen Myeloms.

2.4. Diagnostik

2.4.1. Diagnostische Kriterien

Die Diagnose eines Multiplen Myeloms gilt als gesichert, wenn 2 der 3 Kriterien erfüllt sind:

- $\geq 10\%$ Plasmazellen im Knochenmark
- Nachweis eines monoklonalen Immunglobulins im Serum und/ oder im Urin
- Nachweis einer oder mehrerer Osteolysen und/ oder generalisierte Osteoporose

Das Multiple Myelom sollte unterschieden werden von der monoklonalen Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS) und dem smouldering MM.

Diagnosekriterien

| Erkrankung | Kriterien |
|---|---|
| Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz (MGUS) | Paraproteinlevel im Serum < 3 g/dl und < 10% Plasmazellen im Knochenmark Keine Osteolysen, Anämie, Hyperkalzämie oder Niereninsuffizienz |
| Smouldering Multiples Myelom | Serum Paraprotein \geq 3 g/dl und/ oder Plasmazellen \geq 10% im Knochenmark Keine Osteolysen, Anämie, Hyperkalzämie oder Niereninsuffizienz |
| Multiples Myelom | Monoklonale Proteinämie im Serum und/ oder im Urin, Plasmazellvermehrung im Knochenmark, Osteolysen, Anämie, Hyperkalzämie oder Niereninsuffizienz |
| Solitäres Plasmozytom | Solitäre Läsion des Knochen oder extramedulläre Manifestation, bioptische Sicherung klonaler Plasmazellen Keine Plasmazellvermehrung im Knochenmark, keine Osteolysen, Anämie, Hyperkalzämie oder Niereninsuffizienz |

2.4.2. Laboruntersuchungen

Die Laboruntersuchungen bei Verdacht auf das Vorliegen eines Multiplen Myeloms sollten beinhalten,

- eine klinische Chemie (Alkalische Phosphatase, ALT, AST, LDH, GGT, Bilirubin, Kreatinin, Harnsäure, Glukose)
- ein Blutbild,
- ein Differentialblutbild,
- eine Serum-Elektrophorese,
- eine Immunfixation im Serum und Urin,
- eine Proteinbestimmung, Elektrophorese und Immunfixation des 24 h-Urin
- quantitative Immunglobuline,
- freie Leichtketten im Serum
- β_2 -Mikroglobulin
- Knochenmarkzytologie und -biopsie
- zytogenetische Analyse
- radiologische Diagnostik: Knochenstatus des zentralen Skelettes (Schädel, Wirbelsäule, Beckenübersicht, knöcherner Thorax, beide Arme mit Schultergelenken, beide Oberschenkel)
- Computertomographie und Ganzkörper-MRT sind sensitiver und sollten v.a. bei Patienten mit muskuloskelettalen Symptomen angestrebt werden.
- Die Rolle des PET-CT bei der Diagnosestellung und im Rahmen der Verlaufskontrollen wird in Studien überprüft.

2.5. Stadieneinteilung

2.5.1. Stadieneinteilung nach Durie und Salmon

Die international am häufigsten verwendete Stadieneinteilung erfolgt nach Durie und Salmon (1975), welche auf radiologische Befunde und Laborbefunden basiert, die histologische Klassifikation jedoch nicht berücksichtigt.

| Stadium | Kriterien |
|---------|--|
| I | Alle Kriterien müssen erfüllt sein: <ul style="list-style-type: none">- Hb > 10 g/dl- Serumkalzium normal- radiologisch maximal ein nachweisbarer Knochenherd- geringe Paraproteinkonzentration<ul style="list-style-type: none">▪ IgG < 5 g/dl▪ IgA < 3 g/dl- Bences-Jones-Proteinausscheidung im Urin < 4 g/24 h |
| II | Patienten, die weder die Kriterien des Stadium I noch des Stadiums III erfüllen |
| III | Ein oder mehrere Kriterien müssen erfüllt sein: <ul style="list-style-type: none">- Hb < 8,5 g/dl- Serumkalzium > 12 mg/dl- fortgeschrittene radiologisch nachweisbare Knochendestruktionen- hohe Paraproteinkonzentration im Serum<ul style="list-style-type: none">▪ IgG > 7 g/dl▪ IgA > 5 g/dl- Bences Jones Proteinurie > 12 g/ 24 h |

2.5.2. Stadieneinteilung nach ISS

Außerdem erfolgt die Klassifikation mittels des International Staging Systems (ISS)

| Stadium | ISS |
|---------|--|
| I | Beta 2 Mikroglobulin < 3,5 mg/l Albumin \geq 3,5 g/dl |
| II | Nicht Stadium I bzw. III |
| III | Beta 2 Mikroglobulin > 5,5 mg/l |

Ca. 11000 unbehandelte Patienten mit Multiplem Myelom wurden in einer multivariaten Analyse nach dem ISS klassifiziert.

Nach dieser Analyse haben Patienten im Stadium I nach ISS ein medianes Gesamtüberleben von 62 Monaten, im Stadium II von 44 Monaten und im Stadium III ein medianes Überleben von 29 Monaten (24).

2.6. Prognose und Prognosefaktoren

Wie bei vielen Tumoren im höheren Lebensalter ist auch beim Multiplen Myelom das Lebensalter selbst ein wichtiger Prognosefaktor.

Mit dem Einsatz konventioneller Chemotherapie ist das mediane Überleben für Patienten älter als 65 Jahre mit Multiplem Myelom zwischen 2 und 3 Jahren und bei jüngeren Patienten 5 bis 6 Jahren (105).

Ein guter Allgemeinzustand des Patienten und ein jüngeres Alter sind gute Prognosefaktoren (25).

Viele Jahre lang waren das β 2-Mikroglobulin, die Messung der Tumormasse und die Nierenfunktion die wichtigsten prognostischen Faktoren.

Weitere prognostische Faktoren wurden später beschrieben: das Hämoglobin, die Hyperkalzämie, eine eingeschränkte Nierenfunktion, ein niedriger Albuminspiegel im Serum, zirkulierende Plasmazellen, eine erhöhte Proliferation gemessen durch die Flowzytometrie und eine plasmoblastische Morphologie.

Eine Vielzahl prognostischer Stagingssysteme wurde in den letzten 35 Jahren entwickelt. Diese Prognosesysteme entstanden durch multivariate Regressionsmodelle.

Die International Myeloma Working Group entwickelte das sogenannte International Staging-System (ISS), basierend auf zwei einfach ermittelbare Parameter, dem β 2-Mikroglobulin und dem Albumin (24).

Obwohl das Durie-Salmon-System als auch das ISS prognostische Informationen geben können, sind beide Scoringsysteme nicht aussagekräftig im Hinblick auf die Therapieentscheidung (26).

Eine Risikostratifizierung anhand einer Reihe zytogenetischer und molekulargenetischer Marker ist sinnvoll für die Therapieentscheidung (27).

Das Ansprechen auf die Therapie gilt als wesentlicher Prognosefaktor bei Patienten mit Multiplem Myelom. Patienten, welche nach einer Hochdosischemotherapie eine Immunfixations-Negativität erreichen, haben ein längeres krankheitsfreies Überleben und Gesamtüberleben als Patienten welche nur eine partielle Remission erreichen (28, 29, 30).

Das Erreichen einer Negativität der MRD (minimal residual disease) gemessen mittels Multiparameter Flowzytometrie oder mittels molekularer Untersuchungen ist ausschlaggebend für die Remissionsdauer und das Langzeitüberleben (31).

2.7. Responsekriterien

2.7.1. Responsekriterien

Die Ansprechkriterien für Multiple Myelom Patienten wurde zuerst durch die Chronic Leukemia Myeloma Task Force 1968 eingeführt (114).

Der wichtigste Response Parameter war die 50% Reduktion des M-Proteins. 1972 definierte die Southwest Oncology Group (SWOG) eine partielle Remission als ein Abfall des M-Proteins um 75% im Serum oder die Reduktion der Ausscheidung von Bence Jones Proteinen im Urin um 90% (32). Eine komplette Remission konnte unter einer konventionellen Chemotherapie selten erreicht werden. Deswegen wurde von diesen beiden Organisationen eine komplette Remission nicht definiert.

Die European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) entwickelte neue Kriterien für die Definition einer kompletten Remission (CR), partieller Remission (PR), minimal response (MR) und Kriterien zur Definition des Rezidives (115).

Die International Myeloma Working Group weitete die Definitionen aus und fügten weitere Kategorien hinzu (106).

2.7.2. Responseudefinitionen

Responsekriterien der International Myeloma Working Group (IMWG) (106)

| | |
|---|--|
| Stringente komplette Remission (sCR) | Komplette Remission plus immunhistochemisch kein Nachweis einer klonalen Plasmazellvermehrung plus normale Ratio der freien Leichtketten im Serum, keine Plasmazellvermehrung im Knochenmark |
| Komplette Remission | Negative Immunfixation im Serum und im Urin, keine Plasmazellvermehrung im Knochenmark ($\leq 5\%$), kein Plasmozytomnachweis |
| Sehr gute partielle Remission (vgPR) | Immunfixation positiv, $\geq 90\%$ Reduktion des M-Proteins im Serum plus Urin-M-Protein Level unter 100 mg/ 24h |
| Partielle Remission (PR) | $\geq 50\%$ ige Reduktion des Serum Paraproteins $\geq 90\%$ ige Reduktion des Paraproteins im Urin oder Reduktion < 200 mg/ 24h $\geq 50\%$ iger Zurückgehen von Myelombefall |
| Stabile Erkrankung (SD, stable disease) | Kriterien für CR, vgPR oder PR oder Progress treffen nicht zu |
| Progress (PD) | 25% Zunahme des Paraproteins, 25% Zunahme der Anzahl der Plasmazellen im Knochenmark oder neuer Plasmozytomnachweis |

2.8. Therapiemöglichkeiten

2.8.1. Zytostatische Therapie

Die Einführung von Melphalan und Prednisolon (MP) im Jahre 1969 durch Alexanian et al (33) war der Meilenstein der konventionellen Chemotherapie des Multiplen Myeloms. Melphalan allein oder in Kombination mit Prednisolon induziert eine Remissionsrate von etwa 50 – 60% und verlängert das Leben der Patienten im Median um etwa 3 Jahre. Komplette Remissionen durch diese Therapie sind selten (< 5%). Um eine maximale Remission zu erreichen, muss mehrere Monate mit Melphalan und Prednison behandelt werden. Die Mehrzahl der Patienten erreicht ein Plateau, welches durch eine konstante monoklonale Proteinkonzentration für mindestens drei Monate, keine Transfusionsnotwendigkeit und minimale Symptome des MM gekennzeichnet ist. Eine Weiterführung der Therapie mit MP nach Erreichen des Plateau erbringt keine Vorteile im Vergleich zu einer Therapiepause (34). Aufgrund seiner Toxizität auf die hämatopoetische Stammzelle, sollte Melphalan vor einer geplanten Stammzellapherese nicht angewandt werden.

Das weniger myelotoxisch wirksame Cyclophosphamid induziert ähnliche Ansprechraten wie Melphalan und kann aus diesem Grund bei Patienten mit Leuko- bzw. Thrombozytopenie angewandt werden, bzw. findet den Einsatz vor einer geplanten Stammzellsammlung.

Eine Kombination von Vincristin, Adriamycin und Dexamethason kann Remissionsraten von 60 bis 80% erreichen (35). Diese hohen Remissionsraten können bereits bei einem Großteil der Patienten nach dem zweiten Therapiezyklus erzielt werden. Die Remissionsdauer ist im Vergleich zur Kombination Melphalan/ Prednison von kürzerer Dauer. VAD reduziert den Pool der hämatopoetischen Stammzellen nicht, so dass sich diese Kombination sehr gut zur Induktionstherapie vor Stammzellsammlung eignet (35).

Eine alleinige Therapie mit hochdosierten Corticosteroiden ist bei Patienten mit Panzytopenie indiziert oder zur Begleittherapie bei notwendiger Strahlentherapie.

Die Therapie von Patienten mit Multiplem Myelom hat sich in der letzten Dekade durch den Einsatz neuer Medikamenten, wie dem Thalidomid, dem Lenalidomid und dem Bortezomib verändert, das Gesamtüberleben verbesserte sich signifikant (36).

Bortezomib (Velcade®) ist ein Proteasomen-Inhibitor. Der Mechanismus von Thalidomid und Lenalidomid ist noch nicht vollständig geklärt. Beide Medikamente besitzen jedoch immunmodulatorische Eigenschaften (37). Der Mechanismus der immunmodulatorischen Medikamente ist komplex und schließt eine Inhibition der Angiogenese ein (38). Der Tumornekrosefaktor- α wird herunterreguliert, die Cyclooxygenase -2 wird inhibiert (39). Es erfolgt eine gesteigerte Aktivierung von CD8+-T-Zellen mit erhöhter Produktion von Interleukin - 2 und eine Stimulation von NK-Zellen und dendritischer Zellen (40, 41, 42, 43, 44).

Die Therapieentscheidung bei der Erstdiagnose ist abhängig davon,

- ob ein Patient geeignet für eine Hochdosischemotherapie oder für eine allogene Stammzelltransplantation ist bzw.
- ob der Patient, nicht geeignet ist für eine Hochdosischemotherapie bzw. eine allogene Stammzelltransplantation.

2.8.2 Optionen für die initiale Therapie der Patienten, welche für eine autologe Stammzelltransplantation geeignet sind

Die Patienten sollten vor der geplanten Apherese der Stammzellen mit zwei bis vier Zyklen einer Induktionstherapie behandelt werden (45).

Als Induktionstherapie wurde lange Zeit die Kombination von Vincristin, Doxorubicin und Dexamethason (VAD) eingesetzt (28). Zur weiteren Verbesserung der Remissionsraten und somit zur Verbesserung des progressionsfreien Überlebens wurden vor der autologen Stammzelltransplantation die neuen Medikamente, d.h. Bortezomib, Thalidomid und Lenalidomid in die Induktionstherapie einbezogen (46, 47). Thalidomid in Kombination mit Dexamethason (TD) bzw. TD in Kombination mit Doxorubicin (TAD) wurde mit einer Induktion nach VAD verglichen. Die durchgeführten Studien zeigten einen Vorteil der thalidomidhaltigen Therapie im Gesamtansprechen und der Raten an sehr guten partiellem Ansprechen (48, 49, 50) Eine weitere Kombination stellt die mit Thalidomid, Cyclophosphamid und Dexamethason dar. Eine große randomisierte englische Studie konnte eine höhere Rate an kompletten Remissionen vor und nach der autologen Stammzelltransplantation mit diesem Regime dokumentieren (51).

Der Proteasomeninhibitor Bortezomib wurde in verschiedenen Kombinationen überprüft. Die französische Gruppe verglich in einer großen klinischen Studie die Kombination Bortezomib/ Dexamethason und VAD (Vincristin, Adriamycin und Dexamethason) gefolgt von einer Konsolidierung mit DCEP (Dexamethason, Cyclophosphamid, Etoposid und Cisplatin) bzw. einer autologen Stammzelltransplantation. In der untersuchten Patientenkohorte von 482 neu diagnostizierten Multiplen Myelom Patienten zeigte sich ein deutlicher Vorteil für das Ansprechen nach der Induktion mit Bortezomib/ Dexamethason versus VAD (50). Die Ansprechrate verbesserte sich nicht signifikant durch die Konsolidierung mittels DCEP. Ebenso hatten die Patienten, welche die Induktion mit Bortezomib und Dexamethason erhielten, ein besseres Ansprechen nach der anschließenden autologen Stammzelltransplantation. Ein

weiterer Unterschied zeigte sich im progressionsfreien Überleben mit 36 Monaten nach einer Induktion mit Bortezomib/ Dexamethason versus 30 Monate nach einer Induktion mit VAD. Als wesentliche Komplikation trat nach Bortezomib eine periphere Polyneuropathie, Grad 3 bis 4 bei 9,2%, auf (50).

Kleinere Studien überprüften die Zugabe eines dritten Medikaments, wie Thalidomid (VTD) (52) Doxorubicin (PAD) (53), Lenalidomid (RVD) (108) und Cyclophosphamid (54) zu Bortezomib/ Dexamethason. Alle Studien zeigten ein gutes Ansprechen, ein besseres Ergebnis durch ein schnelleres Ansprechen und einer höhere Rate an Remission (50). Im Vergleich zu Thalidomid/ Dexamethason und Bortezomib/ Dexamethason zeigte die Kombination Thalidomid/ Bortezomib/ Dexamethason die besten Ansprechraten (55, 56, 57). Allerdings muss nach einer Induktion mit Thalidomid und Bortezomib in Kombination mit Dexamethason eine hohe Rate (10%) an schweren peripheren Polyneuropathien (Grad 3 bis 4) beobachtet werden (50). Durch eine Dosisreduktion des Bortezomib und des Thalidomid konnte bei gleichbleibender Effektivität eine deutlich reduzierte Neurotoxizität beobachtet werden (57, 58).

Bortezomib, Lenalidomid und Dexamethason (VRd) erreichen ebenso eine hohe Rate an kompletten Remissionen (53).

Die Kombination von Cylophosphamid, Bortezomib und Dexamethason ist eine kostengünstigere Option verglichen zu VTD oder VRD und zeigt eine ebenso gute Effektivität bei neu diagnostizierten Multiplen Myelomen.

Auch die Kombination Lenalidomid und Dexamethason ist ebenso wirksam bei neu diagnostizierten Multiplen Myelomen (59, 60).

SV Rajkumar und Kollegen konnte durch eine Vergleichsstudie beobachten, dass die Reduktion der Dexamethasongabe auf 1 x 40 mg pro Woche die Toxizität senkte und das Gesamtüberleben verbesserte (61).

Eine Kombinationstherapie mit Lenalidomid und Dexamethason geht mit einem erhöhtem Thromboserisiko einher. Aus diesem Grund sollten Patienten mit hohem Thromboserisiko eine Thromboseprophylaxe mit Aspirin, niedermolekularem Heparin oder Vitamin-K-Antagonisten erhalten.

Eine weitere Möglichkeit einer Kombinationstherapie wäre ebenso VDT - PACE (Bortezomib, Dexamethason, Thalidomid, Cisplatin, Doxorubicin,

Cyclophosphamid und Etoposid). Diese Kombination ist v.a. bei sehr aggressiven Krankheitsverläufen, wie z.B. der Plasmazellleukämie oder dem extramedullärem MM anwendbar.

2.8.3 Optionen für die initiale Therapie der Patienten, bei denen eine autologe Stammzelltransplantation nicht indiziert ist

Für Patienten mit neu diagnostiziertem Multiplem Myelom, die aufgrund des Alters oder bestehender Komorbiditäten für eine autologe Stammzelltransplantation nicht in Frage kommen, besteht die Option der Durchführung Melphalan-haltiger Therapien.

Melphalan-basierte Chemotherapien sollten für eine Dauer von 9 bis 18 Monaten durchgeführt werden. Danach erfolgt eine Beobachtung der Patienten.

Melphalan/ Prednison/ Thalidomid

Vier randomisierte Studien zeigten, dass die Kombination im Vergleich zu Melphalan und Prednison die Ansprechrate erhöhte. Es zeigte sich eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens.

Ebenso können z.B. die Kombinationen Bortezomib/ Dexamethason, Thalidomid/ Dexamethason und Revlimid/ Dexamethason bei älteren Patienten eingesetzt werden.

2.8.4. Hochdosischemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation (ASCT)

Das Multiple Myelom ist eine der Erkrankungen, bei denen der Einfluss einer hochdosierten Chemotherapie gezeigt werden konnte. Die Intergroupe Francophone du Myelome (IFM) war die erste, die 1996 den Vorteil der Hochdosischemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation verglichen mit der konventionellen Chemotherapie für Patienten mit Multiplem Myelom zeigte

(62). Nach der Veröffentlichung der Studienergebnisse erhöhte sich die Zahl der durchgeführten Hochdosischemotherapien mit ASCT in der Erstlinientherapie jüngerer Patienten. Auch die nachfolgenden Studien konnten zeigen, dass das mediane EFS länger und das Erreichen kompletter Remission häufiger war im Arm der autologen Stammzelltransplantation im Vergleich zur konventionellen Chemotherapie. In den durchgeführten Studien lag die TRM (therapieinduzierte Mortalität) unter 5% und somit nicht höher als bei der Durchführung einer konventionellen Chemotherapie (62, 63, 64, 65, 66). Aus diesen Ergebnissen ergab sich, dass die Hochdosischemotherapie mit autologem Stammzellsupport in die Standardtherapie Multipler Myelom Patienten < 65 Jahre Einzug fand.

Tandem Hochdosischemotherapie mit autologer Stammzelltransplantation

Das Erreichen einer sehr guten partiellen Remission (> 90%ige Reduktion des M-Proteins) korreliert mit einem längeren Gesamtüberleben. So sollte bei Patienten mit Multiplem Myelom, in Anlehnung an das Therapieziel anderer hämatologischer Erkrankungen, das Ziel der Therapie das Erreichen der kompletten Remission sein. Ein Weg dazu ist, die Therapie zu intensivieren. Die Gruppe um Barlogie nutzte dazu die Strategie der Tandemtransplantation und erhöhte damit das Erreichen einer kompletten Remission auf ca. 40%. Bei Patienten mit neu diagnostizierten Multiplem Myelom konnte eine bessere Tumorreduktion das EFS verbessern und das Gesamtüberleben von 43 auf 68 Monate verlängern (67).

Die französische Gruppe verglich in einer randomisierten Studie (IFM94) die Single mit der Tandem Transplantation. In dieser Studie wurden 399 unbehandelte Patienten mit neu diagnostiziertem Multiplem Myelom und einem Alter unter 60 Jahren randomisiert. Die Gruppe der Single Transplantation erhielt eine Konditionierung mit Melphalan 140 mg/m² + TBI und die Patienten im Arm der Tandem Transplantation zunächst 140 mg/m² Melphalan und die zweite mit 140 mg/m² Melphalan plus TBI. Im Arm der Tandem Transplantation konnte die Anzahl der kompletten Remissionen und der sehr guten partiellen

Remission (42% vs 50%), das 7Jahre erkrankungsfreie Überleben (10% vs 20%) und das 7Jahre Gesamtüberleben (21% vs 42%) verbessert werden (68). Prognostische Parameter beeinflussen das Ansprechen auf eine konventionelle Chemotherapie, wie z.B. zytogenetische Veränderungen, ein erhöhtes β 2-Mikroglobulin oder auch eine erhöhte LDH. Die gleichen prognostischen Parameter können auch hinzugenommen werden, um das Ansprechen der Patienten nach Tandemstammzelltransplantation zu zeigen. Und auch hier zeigt sich, dass Patienten mit hohem β 2-Mikroglobulin und zytogenetischen Veränderungen (im speziellen Hypodiploidie und/ oder Chromosom 13 Deletionen) auch nach Tandem Stammzelltransplantation ein schlechte Prognose haben.

Melphalan 200 mg/m^2 setzte sich als Konditionierungskemotherapie vor der autologen Stammzelltransplantation durch und wird als Konditionierung in den meisten Studien eingesetzt.

Die autologe Stammzelltransplantation kann als Single-Therapie oder als Tandemtransplantation durchgeführt werden (68).

2.8.5. Allogene Stammzelltransplantation

Die ersten Versuche die allogene Transplantation in der Therapie Multipler Myelom Patienten zu nutzen, begann in den frühen 80er Jahren (69, 70, 71). Studien der European Group for Blood and Marrow Transplantation nutzten die myeloablative Konditionierungskemotherapie. Dies war initial erfolgreich mit der Aussicht, dass das Multiple Myelom kurabel sei (1). Es zeigte sich bald, dass die allogene Transplantation nach einer myeloablativen Chemotherapie mit einer hohen transplantinduzierten Sterblichkeit einhergeht, insbesondere ausgelöst durch schwere Infektionen assoziiert mit schweren Graft versus host Reaktionen (2). Im Verlauf zeigte sich, dass durch eine bessere supportive Therapie und eine bessere Patientenselektion die Sterblichkeitsrate reduziert werden konnte.

Wegen der weiterhin hohen therapieinduzierten Mortalität und Morbidität wurden weniger intensive Konditionierungstherapien durchgeführt. Eine

retrospektive Studie verglich die myeloablative mit der nicht-myeloablative Konditionierung. In dieser Studie war die transplantationsinduzierte Sterblichkeit signifikant niedriger nach einer dosisreduzierten Konditionierungsschemotherapie, allerdings einhergehend mit einer höheren Rezidiv- und Progressionsrate. Es zeigte sich dadurch keine Verbesserung im Gesamtüberleben (11).

2.8.5.1. Myeloablative Konditionierung

Die Grundidee der myeloablative Konditionierungsschemotherapie bei Patienten mit Multiplem Myelom ist, wie auch bei anderen malignen Erkrankungen, die Eradikation der malignen Zellen. Dies erreicht man mit dem Einsatz einer hochdosierten myeloablative Chemotherapie und/ oder mit einer Ganzkörperbestrahlung (TBI). Ein zweiter wichtiger Punkt ist die Reduktion immunkompetenter Empfängerzellen, damit ein Anwachsen der transplantierten Zellen ermöglicht wird. Das Engraftment der Spenderzellen ist ausschlaggebend. Ein weiterer wichtiger Sachverhalt ist, dass immunkompetente Spenderzellen helfen, Myelomzellen zu eradizieren. Dieser Effekt ist bekannt als Graft versus myeloma Effekt (72, 73).

Ursprünglich nutzte man als myeloablative Konditionierungsschemotherapie eine Kombination aus Cyclophosphamid und einer Ganzkörperbestrahlung (10 - 12 Gy) (1). Später entwickelten sich andere Therapieprotokolle; z.B. TBI + Fludarabin, Cyclophosphamid/ Fludarabin, Melphalan/ Fludarabin, Busulfan/ Fludarabin. Die ersten Ergebnisse zeigten, dass die Rate an Rezidiven niedriger war als nach einer autologen Transplantation, aber die transplantationsinduzierte Sterblichkeit (TRM) höher ist (74). Die transplantationsinduzierte Sterblichkeit lag zwischen 30 - 40%. Die häufigsten Gründe für das Versterben nach einer myeloablative Chemotherapie waren schwere Infektionen meist in Kombination mit einer schweren GvHD. Neue bessere supportive Therapiemöglichkeiten durch z.B. einer großen Auswahl von Antibiotika, als auch wesentlich effektivere antimykotische Medikamente und eine bessere GvHD-Prophylaxe verbesserten die Ergebnisse bezogen auf

die therapieabhängige Sterblichkeit deutlich. Die TRM konnte signifikant reduziert und das mediane Gesamtüberleben auf 50 Monate gesteigert werden (75).

Weitere Studien zeigten, dass eine molekulare Remission nach einer myeloablativen Chemotherapie häufiger erreicht wird als durch eine autologe Transplantation. Eine molekulare Remission geht mit einem längeren rezidivfreien Überleben einher (74). Die Studien beantworteten aber nicht die Frage, ob die molekulare Remission durch die myeloablative Chemotherapie oder durch den Graft versus myeloma Effekt erreicht wird.

Erkenntnisse dieser Studien waren, dass die Reduktion der TRM, der Graft versus myeloma Effekt und das Erreichen einer molekularen Remission ausschlaggebend für den Erfolg der allogenen Stammzelltransplantation ist.

Wie schon erwähnt, konnte die TRM durch eine bessere supportive Therapie reduziert werden. So zeigte Kröger et al an einer Zahl von 18 Patienten, welche eine myeloablative Konditionierungsschemotherapie mit Ganzkörperbestrahlung, Busulfan, Cyclophosphamid und ATG erhielten eine TRM von 17%. Die Rate an kompletten Remissionen betrug 53% und das 12 Jahres Überleben lag bei 50%. Bei Patienten, die eine komplette Remission erreichten, lag das 12 Jahre progressionsfreie Überleben bei 60% (4).

2.8.5.2. Dosisreduzierte Konditionierung (reduced intensity conditioning (RIC)), nicht-myeloablative Konditionierung

Das ursprüngliche dosisreduzierte Konditionierungsregime wurde durch die Arbeitsgruppe vom Fred Hutchinson Cancer Center in Seattle entwickelt. Es konnte gezeigt werden, dass eine 200 cGy Bestrahlung die zuverlässigste niedrig-dosierte Konditionierung vor allogener Transplantation war. Es folgte eine Immunsuppression mit Mycophenolatmofetil und Ciclosporin A. In diesem Setting wurden 18 Patienten mit fortgeschrittenem Multiplem Myelom behandelt. Zwei der ersten vier Patienten entwickelten ein Graft Failure. Dies war der Grund, dass in den folgenden Studien Fludarabin ergänzt wurde. Komplette Remission konnten nur bei zwei Patienten erreicht werden, drei

hatten eine partielle Remission. Dies zeigte, dass auch bei einer dosisreduzierten Konditionierungschemotherapie der Graft versus myeloma Effekt auftritt. Allerdings ist er nach einer dosisreduzierten Konditionierungschemotherapie geringer ausgeprägt und somit bei Patienten mit fortgeschrittener Erkrankung nicht ausreichend. Somit haben Patienten, die vor einer dosisreduzierten Konditionierung keine effektive tumorreduktive Therapie erhalten, eine sehr geringe kurative Chance.

Andere Kombinationen dosisreduzierter Konditionierungen wurden in folgenden Studien überprüft, so z.B. Fludarabin plus Busulfan, Fludarabin plus Melphalan, Cyclophosphamid plus Fludarabin und weitere (76, 107).

In den meisten Studien erfolgten eine Induktionschemotherapie und eine autologe Transplantation zur Tumorreduktion vor der allogenen Stammzelltransplantation. Die am häufigsten eingesetzte Induktionschemotherapie ist das VAD-Regime (Vincristin, Adriamycin, Dexamethason). In den letzten Jahren kamen neue Medikamente, wie Bortezomib, Lenalidomid und das Thalidomid in verschiedenen Kombinationen zum Einsatz.

In der autolog-allogenen Kombinationstherapie erfolgt zunächst eine autologe Transplantation mit einer Konditionierung mit 200 mg/m² Melphalan, der drei bis fünf Monate später die allogene Stammzelltransplantation nach einer dosisreduzierten Konditionierungschemotherapie folgt.

2.8.5.3. Einsatz von Spenderlymphozytentransfusionen (DLI) nach allogener Stammzelltransplantation

Nach einer durchgeführten allogenen Stammzelltransplantation besteht die Möglichkeit, den Graft versus myeloma Effekt durch den Einsatz von Spenderlymphozytentransfusionen auszulösen bzw. zu verstärken. Im Vergleich mit anderen hämatologischen Erkrankungen ist das Multiple Myelom eine Erkrankung, welche auf diese Therapieform besonders gut anspricht. In 20 bis 50% der behandelten Patienten reagierte die Erkrankung auf die Gabe von Spenderlymphozyten. Allerdings ist das Ansprechen der Patienten nicht

beständig und der wesentlichste Faktor für ein Ansprechen auf DLI ist das Auftreten einer Graft versus host Reaktion (77, 78). Bei Vorhandensein einer molekularen Resterkrankung (MRD) zeigte sich der Einsatz von Spenderlymphozyteninfusion am erfolgreichsten (79). In Kombination mit den neuen Medikamenten, z.B. Thalidomid konnte das Ansprechen von Multiplen Myelom Patienten nach durchgeführter allogener Stammzelltransplantation weiter verbessert werden (80).

2.8.5.4. Einsatz von NK-Zellen

Ein Anti-Myelom-Effekt durch den Einsatz von NK-Zellen konnte durch Alici und seiner Gruppe gezeigt werden (81). Die Therapie mit NK-Zellen in Kombination mit IL2 zeigte in vitro einen Effekt gegen menschliche Myelomzellen.

2.8.5.5. Einsatz von Bortezomib nach allogener Stammzelltransplantation

Der Einsatz von Bortezomib nach einer durchgeführten allogenen Stammzelltransplantation zeigte eine Reduktion des Risikos einer Graft versus host Reaktion bei beibehaltenden Graft versus myeloma Effekt (82, 83). Da der Einsatz von Bortezomib, v.a. nach allogener Stammzelltransplantation zu höheren Nebenwirkungsraten, besonders einer hohen Rate an Neurotoxizität führt, findet es als Erhaltungstherapie nach Transplantation keinen Stellenwert.

2.8.5.6. Einsatz immunmodulatorischer Substanzen

Thalidomid als auch sein Derivat Lenalidomid wurden nach Transplantation bei Patienten mit Multiplen Myelom eingesetzt. Thalidomid wurde bei 31 Patienten mit Rezidiv des MM nach allogener Stammzelltransplantation angewandt. Neun Patienten zeigten ein Ansprechen auf die Therapie. Fünf Patienten entwickelten eine GvHD, eingeschlossen der drei Patienten mit sehr gutem Ansprechen.

Dieses wurde als Verstärkung des Graft versus Myeloma Effektes durch das Thalidomid interpretiert (84, 80). Lenalidomid fand allein bzw. in Kombination mit Dexamethason bei Patienten mit rezidiviertem fortgeschrittenen Multiplen Myelom nach allogener Stammzelltransplantation einen Einsatz. Bei 87,5% der Patienten konnte ein Ansprechen nachgewiesen werden, bei drei von sechzehn eine komplette Remission. Drei Patienten entwickelten eine akute GvHD, zwei Patienten eine chronische GvHD (85).

Mit der Fragestellung des vermehrten Auftretens einer Graft versus host Reaktion während des Einsatzes der immunmodulatorischen Substanzen nach allogener Stammzelltransplantation untersuchte Lioznov et al die T-Zellen während der Therapie. Bei 24 allogenen transplantierten Patienten mit Multiplem Myelom zeigte sich unter dem Einsatz von Lenalidomid ein signifikanter Anstieg der aktivierten NK-Zellen und der aktivierten T-Zellen und verzögert auch der regulatorischen T-Zellen (12).

3. Material und Methoden

3.1. Studiendesign

Es handelt sich um eine prospektive, nicht-randomisierte, bizenrische (Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf; Universitätsklinikum Heidelberg) Phase I/II - Dosiseskaltungsstudie für Lenalidomid bei Patienten mit Multiplem Myelom nach erfolgter allogener Stammzelltransplantation. Die Lenalidomidbehandlung startet zwischen Tag 100 und Tag 180 nach allogener Stammzelltransplantation (HSCT). Drei Dosis – Stufen werden untersucht.

- Dosis – Level -1: 5 mg/d jeden zweiten Tag, Tag 1 bis 21
- Dosis – Level 0: 5 mg/d, Tag 1 bis 21
- Dosis – Level 1: 10 mg/d, Tag 1 bis 21
- Dosis – Level 2: 15 mg/d, Tag 1 bis 21

Drei Patienten werden in der jeweiligen Dosis-Stufe über vier Zyklen behandelt. Insgesamt 25 Patienten sollen in die Studie eingeschlossen werden.

Einem modifiziertem Fibonacci Design wird gefolgt.

Die Anfangsdosierung von Lenalidomid beträgt 5 mg/d. Es werden mindestens drei Patienten in dieser Dosisstufe behandelt. Tritt keine dosislimitierende Toxizität ein, kann nach Abschluss von zwei vollständigen Zyklen (jeweils insgesamt 28 Tage) beim dritten Patienten der aktuellen Dosisstufe der erste Patient der nächst höheren Stufe, entspricht 10 mg/d Lenalidomid eingeschlossen werden. Tritt eine nichthämatologische Toxizität von Grad 3 oder 4 bei einem Patienten auf, so wird die Patientenkohorte auf 6 Patienten erweitert. Bei dem Auftreten einer hämatologischen Toxizität wird die Kohorte erst erweitert, wenn trotz Verabreichung hämatopoetischer Wachstumsfaktoren eine Toxizität von Grad 4 fortbesteht. Tritt bei einem weiteren Patienten dieser Kohorte eine Toxizität von Grad 3 oder 4 auf, ist die maximal tolerable Dosis (MTD) erreicht. Tritt keine Toxizität von Grad 3 oder 4 auf, kann nach Abschluss von zwei vollständigen Zyklen bei Patient 6 in die nächst höhere Dosisstufe eskaliert werden.

3.2. Patientenkollektiv

3.2.1. Einschlusskriterien

- Unterschriebene und datierte Einwilligungserklärung des Patienten,
- Alter ≥ 18 Jahre zum Zeitpunkt der Einwilligung
- Die Bereitschaft und Fähigkeit des Patienten die planmäßigen Kontrollen, den Behandlungsplan, die Laboruntersuchungen und weitere Untersuchungen im Rahmen der Studie einzuhalten
- Multiple Myelom Patienten nach allogener Stammzelltransplantation (100 bis 180 Tage nach HSCT)
- Keine aktive akute Graft versus host Reaktion (GvHD) (Grad II bis IV)
- Keine aktive infektiösen Komplikationen
- ECOG Performance Status ≤ 2 bei Studieneintritt
- Laborergebnisse in den vorgegebenen Bereichen:
 - Leukozyten absolut $\geq 3,0 \times 10^9/l$
 - Thrombozyten $\geq 80 \times 10^9/l$
 - Serumkreatinin $\leq 1,5$ mg/dl
 - Bilirubin gesamt $\leq 1,5$ mg/dl
 - AST (SGOT) und ALT (SGPT) ≤ 3 x oberer Normalbereich
- Gebärfähige Frauen müssen zwei Formen der Kontrazeption zugleich durchführen oder komplett abstinent von heterosexuellen Geschlechtsverkehr sein: 1) seit 28 Tagen vor Beginn der Studie; 2) während des Ablaufes der Studie; 3) für 28 Tage nach Abschluss der Studie. Zwei Methoden einer sicheren Verhütung eingeschlossen einer hoch effektiven Methode (Intrauterinpeessar, hormonell (Pille, Injektionen oder Implantate), Eileiterligaturen, Vasektomie des Partners) und eine zusätzliche effektive Methode (z.B. Nutzung eines Kondoms, Diaphragma, cervical cap) müssen durchgeführt werden.
- Männliche Patienten müssen ein Kondom während des Sexualkontaktes mit gebärfähigen Frauen benutzen (während der Studiendurchführung)

bis 28 Tage nach Abschluss der Studie), oder sie sich einer erfolgreichen Vasektomie unterzogen haben.

- Keine anderen malignen Erkrankungen in den letzten 5 Jahren mit Ausnahme von derzeit therapierten Basalzellkarzinom, Plattenepithelkarzinom der Haut oder Carcinoma „in situ“ der Zervix oder der Brust.

3.2.2. Ausschlusskriterien

- Andere schwerwiegende Erkrankungen, Laborveränderungen oder psychiatrische Erkrankungen
- Schwangere oder stillende Frauen.
- Einnahme anderer experimenteller Medikamente oder Therapien innerhalb 28 Tage seit Screening
- bekannte Thalidomid-Unverträglichkeit
- gleichzeitige Durchführung anderer antitumoröser Therapien
- HIV-Infektion oder infektiöse Hepatitis A, B oder C

3.2.3. Ende der Behandlung/ Patientenausschluss von der Studie

Die Behandlung wird nach Abschluss der vorgesehenen vier Zyklen abgeschlossen.

Eine vorzeitige Beendigung oder der Patientenausschluss erfolgt bei Auftreten folgender Ereignisse:

- Progression der Erkrankung
- Schweres unerwünschte Ereignis, welches im Ermessen des Investigators, zu schwerwiegenden oder bleibenden Schäden führen kann
- Schwerwiegende Nichteinhaltung des Studienprotokolls

- Widerruf der Einverständniserklärung
- „keine Nachbeobachtung möglich“
- Tod
- Schwangerschaftsverdacht
- Keine ausreichende Kontrazeption

3.2.4. Nachbeobachtung

Alle Patienten, auch die, welche die Studie abbrechen, werden über zwei Jahre nachbeobachtet.

3.3. Studienmedikament

Lenalidomid (Revlimid®), ein Thalidomid-Analogum, wirkt antineoplastisch, erythropoeseestimulierend und immunmodulatorisch. Der chemische Name ist 3-(4-amino-1-oxo-1,3-dihydro-2H-isoindol-2-yl)piperidine-2,6-dione.

3.3.1. Wirkungsweise

Im Speziellen hemmt Lenalidomid die Proliferation bestimmter hämatopoetischer Tumorzellen (einschließlich Multiple Myelomzellen). Es fördert die T-Zell-vermittelte und NK (Natur-Killer-) Zell-vermittelte Immunität und erhöht die Anzahl von NKT-Zellen. Es hemmt die Angiogenese durch Blockade der Migration und Adhäsion von Endothelzellen sowie die Bildung von Mikrogefäßen, es steigert die fetale Hämoglobinproduktion und es hemmt die Produktion proinflammatorischer Zytokinen (z.B. TNF- α und IL-6) durch Monozyten.

Revlimid® (Lenalidomid) ist erhältlich als 5 und 10 mg Kapseln zur oralen Einnahme.

Lenalidomid inhibiert die Expression von Cyclooxygenase-2 (Cox-2), aber nicht von COX-1 in vitro.

3.3.2. Pharmakokinetische Eigenschaften

3.3.2.1. Absorption

Lenalidomid wird bei gesunden Probanden nach oraler Gabe schnell resorbiert mit einer maximalen Plasmakonzentration zwischen 0,625 und 1,5 Stunden nach der Einnahme. Die Maximalkonzentration (C_{max}) und die Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve (AUC) steigen proportional zur Dosis an.

Bei Myelom Patienten wird 0,5 bis 4 Stunden nach der Einnahme von Lenalidomid die maximale Plasmakonzentration erreicht.

Die Aufnahme (AUC) ist bei Patienten mit Multiplen Myelom 57% höher als bei gesunden Probanden.

3.3.2.2. Verteilung

In vitro war die Bindung von (^{14}C -)Lenalidomid an Plasmaproteine gering, mit mittleren Werten von 22,7% bei Myelompatienten bzw. 29% bei gesunden Probanden.

3.3.2.3. Metabolismus und Ausscheidung

Die größte Menge an Lenalidomid wird unverändert über die Nieren ausgeschieden. Bei Personen mit normaler Nierenfunktion lag der Anteil der renalen Exkretion an der Gesamt-Clearance bei 65 bis 85%.

Pharmakokinetische Analysen bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion weisen darauf hin, dass mit abnehmender Nierenfunktion (< 50 ml/min) proportional die gesamte Wirkstoff - Clearance sinkt, welches zu einem Anstieg der AUC führt. Dadurch verlängert sich die Halbwertszeit von etwa 3,5 Stunden auf mehr als 9 Stunden bei niereninsuffizienten Patienten.

3.4. Begriffs – Definition

3.4.1. Schweres unerwünschtes Ereignis (SUE)/ Serious Adverse Event (SAE)

Ein schwerwiegendes unerwünschtes Ereignis ist jedes unerwünschtes Ereignis, das dosisunabhängig:

- den Tod des Patienten zur Folge hat
- unmittelbar lebensbedrohend ist
- einen unvorhergesehenen Krankenhausaufenthalt erforderlich macht oder einen bestehenden verlängert
- eine kongenitale Anomalie oder einen Geburtsfehler nach sich zieht
- eine bleibende oder schwerwiegende Behinderung oder Invalidität zur Folge hat
- ein anderes, nach medizinischer Einschätzung klinisch relevantes Ereignis ist

3.4.2. Dosis – limitierende Toxizität (DLT)

Die dosis-limitierende Toxizität ist definiert als nicht-hämatologische Medikamenten-induzierte Toxizität CTCAE Grad 3 oder höher oder/ und hämatologische Toxizität CTCAE Grad 4 oder Neutropenie Grad 3 mit Fieber.

3.4.3. Unerwünschtes Ereignis (UE)/ Adverse Event (AE)

Als AE (adverse event) wird jedes unerwünschte klinische Ereignis verstanden, welches einen Patienten während der klinischen Studie betrifft, ungeachtet der Kausalität zu der Behandlung. Die Toxizität wird durch CTCAE Version 3.0 angegeben.

4. Statistische Analyse

Die Daten werden evaluiert durch standardisierte deskriptive Methoden. Die Nebenwirkungen und Toxizitäten wurden entsprechend der National Cancer Institute (NCI) common toxicity criteria (CTC) version 3.0 (NCI, Bethesda, MD) eingestuft. Alle Daten wurden in die Analyse einbezogen.

5. Monitoring der – Zell-Subpopulationen und der NK-Zell-Aktivität nach Lenalidomid - Therapie

NK-Zellen, als Teil des angeborenen Immunsystems, können Tumorzellen, wie zum Beispiel Myelomzellen, erkennen. Im Gegensatz zum erworbenen Immunsystem können die NK-Zellen die malignen Zellen ohne vorherigen AG-Kontakt erkennen. Während der Therapie mit Lenalidomid wird der aktivierte NK-Zell-Rezeptor NKpp44 vermehrt exprimiert.

Wir analysierten die NK-Zellen bezüglich ihres Rezeptorexpressionstatus während der Therapie mit Lenalidomid. Außerdem analysierten wir ihre Zytotoxizität gegen Myelomzell-Linien während der Therapie.

5.1. Zellkultur und NK-Zell-Isolation

Wir nutzen die Myelom Zelllinie MOLP-8 (DSMZ, Braunschweig, Germany). Die Zellen wurden in RPMI 1640 mit 1% Penicillin/ Streptomycin und 20% FCS (Gibco, Germany) gehalten.

Für die Analyse der NK-Zell-Zytotoxizität während der Therapie mit Lenalidomid untersuchten wir das Blut der Patienten im monatlichen Intervall. Die mononuklären Zellen wurden mittels Ficoll-Gradient isoliert. Die weitere NK-Zell-Isolierung erfolgte durch den Gebrauch des NK Isolation Kit (Milteny, Bergisch Gladbach, Germany) entsprechend den Herstellungsrichtlinien. Nach der Zellanreicherung (> 92% der Zellen waren positiv für CD16/CD56) wurden diese durchflusszytometrisch gemessen. Die frisch isolierten NK-Zellen wurden für zusätzliche Funktionsanalysen benutzt.

5.2. Durchflusszytometrie und intrazelluläre Anfärbung

Alle Blutproben der Patienten wurden angefärbt mit folgenden Antikörpern:

Für die Markierung der T-Zellen: CD3, CD4, CD8, CD25, CD127, HLA-DR. Alle Antikörper wurden von BD Bioscience (BD Bioscience, Germany) genutzt.

Für die Markierung der NK-Zellen: CD56, CD16, CD3, CD158a, CD158b, CD158e, NKG2A, CD226, NKp30, NKp44 and NKp46. Alle Antikörper stammen aus der Herstellung von BD Bioscience.

Für die intrazelluläre Markierung: die mononukleären Zellen wurden isoliert und über Nacht in RPMI Medium, angereichert durch FCS, Antibiotika and 90 U/ml IL2 (Proleukine, Chiron, Rattigen, Germany) kultiviert. Am folgenden Tag wurden die Zellen mit PMA and Jonomyzin (Sigma, Germany) für eine Stunde stimuliert. Danach erhielten sie eine zusätzliche Behandlung mit Berveldin A (Sigma, Germany). Die Zellen wurden gesammelt und mit den Oberflächenmarker CD4 und CD8 markiert, fixiert und permeabilisiert mit fix und perm kit von BD Bioscience, gemäß den Herstellungsrichtlinien. Danach erfolgte die intrazelluläre Anfärbung mittels anti INF γ Antikörper (eBioscience). Die Durchflußsszytometrie wurde mittels FACS Canto II (BD Bioscience) und der FlowJo Software (Tristar, LaJolla, USA) durchgeführt.

5.3. Funktionales NK-Zell Assay

Die angereicherten NK-Zellen wurden mit MOLP8 Myelomzellen als Targetzelllinie für zusätzliche vier Stunden kultiviert. Der Zelltod wurde mittels LDH Assay gemessen (Promega, Mannheim, Germany). Nach der co-Kultivierung wurden die NK-Zellen, die Myelomzellen und der Überstand zusammen mit den fluoreszierenden Zellen zusammen für weitere 30 Minuten inkubiert. Die Intensität der Färbung wurde am ELISA reader bei 488 nm gemessen. Die Kalkulation der Zytolyse wurde nach den Herstellungsrichtlinien durchgeführt.

5.4. Statistische Analyse

Die Daten der Flowzytometrie und des funktionellen NK-Zell Assays wurden analysiert durch den GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, LaJolla, USA). Der student's t- test wurde zur Kalkulation der Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Bedingungen eingesetzt. Die Differenzen waren signifikant wenn $p < 0.05$.

6. Ergebnisse

6.1. Patienten

Es handelt sich um eine bizenrische Studie. Teilnehmende Zentren waren die Klinik und Poliklinik für Stammzelltransplantation des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf und die Sektion Stammzelltransplantation in der Abteilung Innere Medizin V des Universitätsklinikums Heidelberg.

Es wurden insgesamt 24 Patienten mit Multiplem Myelom nach erfolgter Stammzelltransplantation innerhalb der Studie behandelt. Der erste Patient wurde im April 2009 in die Studie eingeschlossen, der letzte Patient im Dezember 2010.

Die Klinik für Stammzelltransplantation des UKE schloss insgesamt 17 Patienten ein, die Sektion Stammzelltransplantation der Universitätsklinik Heidelberg 7 Patienten.

Das Alter der Patienten lag zwischen 32 und 66 Jahren, im Median 53 Jahre. Die Geschlechterverteilung war 7 weibliche Patienten und 17 männliche Patienten. Der Therapiestart lag zwischen Tag 98 und Tag 198 (Median 140 Tage nach erfolgter Stammzelltransplantation).

Bei insgesamt siebzehn Patienten bestand die Diagnose eines Multiplen Myeloms vom Typ IgG, bei zwei vom Typ eines IgA und bei fünf Patienten lag ein Leichtkettenmyelom vor. Die Verteilung des Leichtkettentyps war 14 Patienten mit kappa und 10 Patienten mit lambda.

Innerhalb der Studie wurde nach Veränderungen vor allem am Chromosom 13, am Chromosom 17 und nach einer Translokation t(4;14) gesucht. Bei zwölf der untersuchten Patienten fand sich eine Deletion 13. Vier Patienten zeigten eine Translokation t(4;14). Bei zwei Patienten konnte eine Deletion 17 p nachgewiesen werden. Sieben Patienten wiesen zusätzlich noch andere genetische Veränderungen auf. Bei sechs Patienten war der Karyotyp unbekannt. (Siehe auch Tabelle 2)

Verschiedene Vortherapien zur Behandlung des Multiplen Myeloms wurden durchgeführt. Alle 24 Patienten erhielten eine Hochdosischemotherapie mit anschließender autologer Stammzellretransfusion. Insgesamt 20 Patienten

wurden mit Bortezomib vorbehandelt, sechs mit Thalidomid, 14 Patienten mit Lenalidomid und 19 Patienten erhielten weitere Vortherapien vor der allogenen Stammzelltransplantation.

Acht Patienten erhielten von einem HLA-identischen Familienspender die peripheren Stammzellen. Bei zwölf Patienten wurde die Transplantation mit Zellen eines HLA-identischen Fremdspenders durchgeführt und bei vier Patienten mit peripheren Stammzellen eines HLA-nichtidentischen Fremdspenders.

15 Patienten erhielten eine myeloablative Konditionierungschemotherapie, 7 eine dosis-reduzierte Konditionierungschemotherapie, bei zwei Patienten war die Art der Konditionierung zum Zeitpunkt der Auswertung noch unbekannt.

In der Gruppe der Patienten mit dosisreduzierter Konditionierung erhielten:

- drei Patienten eine Konditionierung mit Fludarabin 3 x 30 mg/m², Melphalan 140 mg/m² und ATG
- vier Patienten eine Konditionierung mit Fludarabin 3 x 30 mg/m², TBI 2 Gy und ATG.

In der Gruppe der Patienten mit myeloablativer Konditionierungschemotherapie wurden:

- vierzehn Patienten mit 14 mg/kgKG Busulfan, Cyclophosphamid 2 x 60 mg/kgKG und ATG behandelt
- ein Patient erhielt TBI 12 Gy, Cyclophosphamid 2 x 60 mg/kgKG und ATG.

Der bei Studieneintritt vorliegende Remissionsstatus teilt sich wie folgt auf:

- bei sechs Patienten konnte nach durchgeführter allogener Transplantation eine komplette Remission (Immunfixation negativ) nachgewiesen werden
- vierzehn Patienten erreichten eine partielle Remission
- bei zwei Patienten lag ein Status idem vor
- und bei zwei Patienten musste bei Studieneintritt ein Progress des Multiplen Myeloms festgestellt werden.

(Siehe Tabelle 1)

6.2. Schwere unerwünschte Ereignisse

Insgesamt wurden elf schwere unerwünschte Ereignisse gemeldet.

In der Patientengruppe, welche mit der Dosisstufe 5 mg Lenalidomid behandelt wurden, trat bei einem Patienten eine virale Meningitis, einmal eine Pneumonie und bei vier Patienten Zeichen einer Graft versus Host Reaktion auf, dreimal mit gastrointestinaler Beteiligung und einmal mit GvHD der Leber.

In der Kohorte, welche mit 10 mg Lenalidomid behandelt wurden, trat bei einem Patienten eine akute Pankreatitis auf, eine Pneumonie, bei einem weiteren wurde ein Anstieg des Kreatinins und bei einem Patienten eine Erhöhung der Leberenzyme (passend zu einer Graft versus Host Reaktion) beobachtet. (Siehe Tabelle 3)

6.3. Hämatologische Toxizität (CTCAE Grad 3 bis 4 oder Neutropenie)

Die beobachteten hämatologischen Toxizitäten:

Dosis – Level 0 = 5 mg

- Leukozytopenie 2 x Grad 3
- Anämie 1 x Grad 3
- Thrombozytopenie 1 x Grad 3;
1 x Grad 4

Dosis – Level 1 = 10 mg

- Leukozytopenie 1 x Grad 3

(Siehe Tabelle 4)

6.4. Nichthämatologische Toxizität (CTCAE Grad 3 oder höher)

Dosis – Level 0 = 5 mg

In der ersten Patientengruppe (3 Patienten) mit Dosisstufe 0 = 5 mg Lenalidomid trat bei einem Patienten eine virale Meningitis Grad 3 auf.

Bei Auftreten von dosislimitierenden Toxizitäten im Dosis-Level 1 wurde dann wieder auf die nächst niedrigere Dosisstufe reduziert, somit auf 5 mg Lenalidomid. In dieser Kohorte beobachteten wir bei einem Patienten eine Erhöhung der ALT (5,6%), bei einem Patienten eine Hypokaliämie (5,6%) jeweils CTC Grad 3. Drei Patienten (16,7%) entwickelten Durchfälle Grad 3 bis 5, welche als GvHD gewertet wurden. Ebenfalls als GvHD gewertet wurden bei einem Patienten (6,7%) in dieser Dosisstufe die erhöhten Leberwerte Grad 3.

Dosis – Level 1 = 10 mg

Im Dosis Level 1 = 10 mg Lenalidomid beobachteten wir bei einem Patienten (16,7%) eine Erhöhung der GGT (CTC Grad 3). Ein Patient (16,7%) entwickelte unter dieser Dosierung ein erhöhtes Kreatinin Grad 3, welches als dosislimitierende Toxizität gewertet wurde (siehe SAE). Ein Patient (16,7%) entwickelte eine Pankreatitis Grad 3.

(Siehe Tabelle 5)

6.5. Auftreten von Infektionen

Dosis – Level 0 = 5 mg

In der Gruppe der Patienten (5,6%) behandelt in der Dosisstufe 0 = 5 mg kam es bei einem Patienten zu einer viralen Meningitis.

Dosis – Level 1 = 10 mg

Bei den in dieser Dosisstufe behandelten sechs Patienten entwickelte ein Patient (16,7%) eine akute Pankreatitis, siehe auch SAE.

(Siehe Tabelle 6)

6.6. Auftreten einer Graft versus host Reaktion

Dosis – Level 0 = 5mg

Bei den insgesamt 18 in dieser Dosisstufe behandelten Patienten musste bei zwei Patienten (11,1%) eine GvHD der Leber und bei vier Patienten (22,2%) eine GvHD des Gastrointestinaltraktes diagnostiziert werden. Eine GvHD in dieser Dosisstufe trat somit bei insgesamt 6 Patienten (33,3%) auf. Ein Patient verstarb an der GvHD des Gastrointestinaltraktes.

Dosis – Level 1 = 10 mg

In dieser Dosisstufe entwickelten zwei Patienten (33,3%) erhöhte Leberwerte, welche klinisch als Graft versus host Reaktion der Leber gewertet wurden. Ein Patient (16,7%) zeigte eine gastrointestinale GvHD.

In der Gesamtpopulation sahen wir bei 9 Patienten (37,5%) eine Graft versus Host Reaktion. Die Graft versus Host Reaktion trat am Tag 1 bis 39 (Median Tag 22) nach Start der Lenalidomidtherapie auf.

(Siehe Tabelle 7)

6.7. Remissionskontrolle

Zusätzlich zu den Toxizitätsdaten und der Dosisfindung von Lenalidomid nach durchgeführter allogener Stammzelltransplantation bei Patienten mit Multiplen Myelom war auch das Ansprechen bzw. die Verbesserung des Remissionstatus durch die Erhaltungstherapie Ziel der Auswertung.

Nach Studienende konnten bei zehn Patienten eine komplette Remission (Immunfixation negativ) festgestellt werden. Sieben Patienten befanden sich in der partiellen Remission, zwei Patienten im Stadium der stabilen Erkrankung. Bei fünf Patienten lag nach Studienabschluss ein Progress vor.

Insgesamt konnten bei sechs Patienten (25%) eine Verbesserung des Remissionstatus erreicht werden. Fünf Patienten (20,8%) zeigten eine Verbesserung der partiellen Remission in eine komplette Remission, ein Patient (4,2%) von stabiler Erkrankung in eine partielle Remission. Von diesen Patienten erhielten zwei Patienten 10 mg Lenalidomid und vier Patienten die Dosierung von 5 mg Lenalidomid/d. Zwei Patienten dieser Patientengruppe entwickelten während der Lenalidomidtherapie eine Graft versus Host Reaktion. (Siehe Tabellen 8 und 9)

6.8. Einfluss von Lenalidomid auf NK-Zellen und T-Zellen

6.8.1. Einfluss auf NK-Zellen

Durch die Analyse der NK-Zellen von 12 Patienten bezüglich ihres Rezeptorexpressionsstatus während der Therapie mit Lenalidomid sahen wir, wie in Abbildung c dargestellt, keinen Einfluss des Lenalidomids auf die relative oder absolute Zahl der NK-Zellen, markiert durch die CD56 oder CD16 Expression (Abb.a, b). Als nächstes fragten wir uns, wenn die Therapie mit Lenalidomid die NK-Zell-Aktivität verändert, ob sich Unterschiede bei den aktivierten Rezeptoren der NKp Familie zeigen.

Zwei der untersuchten Rezeptoren zeigten eine signifikante Hochregulierung im ersten Monat nach der Lenalidomidtherapie und zwar NKp30 (81% vs 93% Expression nach einem Monat Therapie, $p < 0.05$, Abb. c) und NKp44 (1% vs. 4,4% Expression nach einem Monat Therapie, $p < 0.01$, Abb. d). Im Gegensatz dazu zeigte der Rezeptor NKp46 keine Änderung während der gesamten Beobachtungszeit. (89% vs 91%) (Abb. e).

Die Zytotoxizität der NK-Zellen (Patientenzahl = 12) wird durch die quantitative Expression aktivierender Rezeptoren in Relation zu seinen inhibierenden Gegenspielern reguliert. Wir analysierten aus diesem Grund die Expression der inhibitorischen Rezeptoren, wie NKG2A und die KIR Familie. In Abb. f und g wird gezeigt, dass weder der NKG2A Rezeptor noch der KIR Rezeptor eine signifikante Änderung im Expressionslevel während des gesamten Beobachtungszeitraumes zeigte.

Alle KIR Rezeptoren wurden separat analysiert.

Da die Therapie mit Lenalidomid eine Aktivierung der NK – Zell – Rezeptoren bewirkt, untersuchten wir die Zytotoxizität gegen eine Myelomzell - Linie (MOLP8). Wir untersuchten das Patientenblut in einem Intervall von einem Monat. Die NK-Zellen wurden isoliert und danach mit einer Myelom-Target-Zell-Linie kultiviert.

In Übereinstimmung mit der Expression aktivierter NK – Zell – Rezeptoren, zeigten die NK-Zellen eine signifikant höhere lytische Kapazität gegen die Myelomzellen. (Abb h: 47% Zell-Lyse bevor vs. 57% nach einem Monat Therapie und 60% nach zwei Monaten Therapie; $p < 0,01$ and $p < 0,001$). Zusammengefasst ändert die Therapie mit Lenalidomid nicht die Zahl der NK-Zellen bei Patienten mit Multiplem Myelom nach allogener Stammzelltransplantation, aber deren Aktivierungsstatus und die Zytotoxizität gegen Myelomzellen werden verstärkt.

6.8.2. Einfluss von Lenalidomid auf die T-Zellen und pro-inflammatorischer T-Zell-Subsets

Da unter der Therapie mit Lenalidomid deutlich höhere Raten für das Auftreten einer GvHD beobachtet wurden, fragten wir uns, ob wir dieses Phänomen erklären können. Aus diesem Grund monitorierten wir die T-Zellen und die T-Zell-Subsets von 5 Patienten nach Einleitung der Lenalidomidtherapie.

Pan-T-Zellen, markiert durch die CD3 Expression, zeigten keine Änderung während des ersten Therapiemonates mit Lenalidomid (Abb.i). Die CD8 Zellen zeigten einen signifikanten Anstieg nach zwei Wochen Therapie (44% vs. 72% nach zwei Wochen $p < 0.005$ (Abb.k)). Im Gegensatz dazu sahen wir keinen frühen Anstieg der CD4-Zellen (Abb. j). Die CD4 Zellen zeigten einen späteren Anstieg, frühestens einen Monat nach Therapieeinleitung. Der Anstieg war signifikant nach drei Monaten der Therapie (Abb. j: 7,6% vs. 18% und 21%, p nicht signifikant und $p < 0,05$).

Weiterhin untersuchten wir die Expression der HLA-DR Moleküle der T-Zellen als Aktivierungsmarker. Drei Wochen nach der Therapie mit Lenalidomid beobachteten wir einen signifikanten Anstieg der CD3+/HLADR+ Zellen (18% vs. 45%, $p < 0,05$ (Abb. l)). Dieser Effekt geht mit einer hohen Expression von HLA-DR der CD8 Zellen einher (Abb. k und l). Die CD4 Zellen zeigten im Gegensatz dazu während der gesamten Beobachtungszeit keinen wesentlichen Anstieg.

Wir beobachteten eine höhere Expression von HLA-DR als Marker für eine generelle Aktivierung der T-Zellen.

Ist die höhere Rate an Graft versus host Reaktionen durch den Anstieg proinflammatorischer CD4-Zellen ausgelöst worden? Wir untersuchten die Patientenproben bezüglich proinflammatorischer CD4 Zellen als auch auf CD8+/INFg+ Effektorzellen. Wir sahen einen Anstieg der CD4+/ INFg+ (TH1) Zellen in der ersten Woche (2% vs. 8%; $p < 0,05$), überraschenderweise war der Peak der TH1 Zellen nicht detektierbar nach zwei Wochen. Entsprechend sahen wir eine Erhöhung der CD8+/INFg+ Zellen in der ersten Woche, aber im Unterschied zu den TH1 Zellen zeigten die CD8+/INFg+ Zellen einen zweiten Peak nach vier Wochen, welcher dann signifikant war (3% vs. 8%; $p < 0,05$).

In einer Arbeit von Lioznov wird beschrieben, dass Lenalidomid die Zahl der regulatorischen T-Zellen (Treg), erkennbar durch den Phänotyp CD4+/ CD25+/ CD127(-) erhöht (12). Da wir eine Vermehrung der proinflammatorischen T Zellen im ersten Monat der Lenalidomidtherapie beobachteten, untersuchten wir auch die Entwicklung der Tregs während der Lenalidomidtherapie. Zusätzlich zu den festgelegten Zeitpunkten innerhalb des ersten Monats analysierten wir die Patientenproben während eines Zeitraumes von drei Monaten. Parallel zum Anstieg der proinflammatorischen T-Zellen, sahen wir einen signifikanten Abfall der Tregs (im ersten Monat (2,6% vs. 0,5%, $p < 0,05$). Aber über den gesamten Beobachtungszeitraum gesehen, beobachteten wir einen Anstieg der Tregs im zweiten Monat und einen signifikanten Anstieg im dritten Monat (2,6% vs. 4% and 7%; $p = ns$, $p < 0,005$). Dies legt nahe, dass die beobachtete Hochregulierung der Tregs ein Effekt der Autoregulation nach einem proinflammatorischen Stimulus ist.

7. Diskussion

Lenalidomid ist ein Thalidomid – Analogum. Die vollständige Wirkungsweise des Medikaments auf Multiple Myelom Zellen ist noch nicht komplett entschlüsselt. Nachgewiesen sind der immunmodulatorische Effekt, die Inhibition der Angiogenese, die Induktion von Apoptose und Verhinderung der Anbindung Multipler Myelom Zellen an die Knochenmarkstromazellen, ebenso die Zytokinaktivierung und die Modulation im Knochenmark (14, 38, 86, 87, 88).

Durch viele klinische Studien konnte der Effekt von Lenalidomid in der Therapie Multipler Myelom Patienten nachgewiesen werden. So konnten z.B. zwei Phase-1-Studien mit Lenalidomid eine Aktivität bei vorbehandelten Patienten mit rezidiviertem Multiplen Myelom zeigen. In diesen Studien war die Myelosuppression die am meisten beobachtete Nebenwirkung (89, 90). Rakumar konnte 2005 an einer Gruppe von 34 Patienten mit neu diagnostiziertem Multiplem Myelom zeigen, dass die Kombinationstherapie mit Lenalidomid 25 mg/d und Dexamethason ein sehr gut wirksames Regime mit beherrschbaren Nebenwirkungen ist (91). In diesen Studien konnte beobachtet werden, dass die Therapie mit Lenalidomid seltener mit dem Auftreten einer peripheren Polyneuropathie assoziiert als die Therapie mit Thalidomid (92). Die Neutropenie war die am meisten aufgetretene Myelosuppression in diesen Studien. Das Risiko für das Auftreten eines veno-thromboembolischen Ereignisses ist während einer Monotherapie mit Lenalidomid niedrig, aber deutlich erhöht in der Kombination mit Corticosteroiden (93). Diese Beobachtung wurde in der alleinigen Therapie mit Lenalidomid nicht gemacht. Die Teratogenität von Lenalidomid ist bei menschlichen Zellen noch unbekannt. Da Lenalidomid aber ein Analogum des Thalidomids ist, werden weiterhin strenge Vorgaben bezüglich der Empfängnisverhütung gestellt. Celgene beschreibt durch Lenalidomid verursachte Fehlbildungen beim Affen, welche vergleichbar mit denen von Thalidomid sind. Somit muss von einem teratogenen Effekt ausgegangen werden.

Die Frage, ob Lenalidomid auch als Erhaltungstherapie einsetzbar und sinnvoll ist, überprüfte u.a. die CALGB 100104 Phase III Studie. Eine Erhaltungstherapie mit Lenalidomid 10 bis 15 mg/d 100 bis 110 Tage nach autologer Stammzelltransplantation wurde durchgeführt. Bei 389 mit Lenalidomid behandelten Patienten wurde eine Hämatotoxizität Grad 3 bei 32% und Grad 4 bei 13% beobachtet (94). Die französische Gruppe um Attal sah in ihrer Studie, in der eine Erhaltungstherapie mit Lenalidomid nach autologer Stammzelltransplantation durchgeführt wurde, keine wesentlichen Nebeneffekte (95).

Patienten mit Hochrisikofaktoren, z.B. genetischen Veränderungen wie die Deletion 13 oder die Translokation 4;14 und vor allem junge Patienten sollten einer intensiven Therapie zugeführt werden, z.B. der allogenen Stammzelltransplantation (96). Eine myeloablative Konditionierungschemotherapie ist zwar mit einem guten Ansprechen, aber auch mit einer hohen Toxizität und einer hohen therapieassoziierten Morbidität und Mortalität verbunden. Die transplantationsassoziierte Mortalität beträgt bei Patienten mit Multiplem Myelom zwischen 30 und 50% bei einer hohen Rezidivrate nach Transplantation (1, 2, 3). Durch die Einführung der dosisreduzierten Konditionierung konnten die therapieassoziierten Komplikationen deutlich (10 - 38%) reduziert werden (76, 97, 98). Allerdings kommt es bei Patienten, welche eine dosisreduzierte Konditionierungschemotherapie vor allogener Stammzelltransplantation erhalten, im Vergleich zu der myeloablativen Therapie gehäuft zu Rezidiven (11). Um die Zahl der Rezidive zu reduzieren und das Ansprechen der Patienten mit Multiplem Myelom weiter zu verbessern, ist es sinnvoll, eine Strategie nach der Transplantation zu entwickeln.

Da Lenalidomid ein gut wirksames Medikament in der Therapie des Multiplen Myeloms ist und vor allem über immunmodulatorische Eigenschaften verfügt, ist gerade diese Substanz im Einsatz als Erhaltungstherapie nach allogener Stammzelltransplantation interessant.

Lenalidomid wurde nach durchgeführter allogener Stammzelltransplantation zunächst bei Patienten mit Progress der Grunderkrankung nach ASCT eingesetzt. So zeigte Lioznov die Effektivität von Lenalidomid bei 24 Patienten

im Progress nach allogener Transplantation. Das Ansprechen lag bei 66%. Diese Patienten wurden im Rezidiv mit einer Dosis zwischen 15 mg und 25 mg Lenalidomid täglich behandelt. Wesentlicher Nebeneffekt war eine Leukozytopenie (Grad 4 bei 4%, Grad 3 bei 21%) und eine Thrombozytopenie (Grad 3 bei 17%) (12).

In der HOVON 76 Phase II Studie wurde der Effekt von Lenalidomid nach einer autolog-allogenen Stammzelltransplantation geprüft. Die Erhaltungstherapie wurde mit 10 mg Lenalidomid täglich für 21 Tage und 1 Woche Pause durchgeführt und startete zwischen ein und sechs Monate nach der allogenen Transplantation. Auch in dieser Studie wurden zahlreiche Nebenwirkung, im Speziellen myelosuppressive Toxizitäten beobachtet. Insgesamt wurden bei 35 Patienten (bis Oktober 2009 eingeschlossen) bei 53% eine Toxizität Grad 3 und bei 23% eine Toxizität Grad 4 beobachtet. Der Hauptanteil der Nebenwirkungen waren myelotoxische mit 27% Grad 3 und 17% Grad 4 (99).

Ziel unserer Arbeit ist die Effektivität von Lenalidomid in einer frühen Phase nach allogener Stammzelltransplantation bei Patienten mit Multiplem Myelom zu zeigen. Bei bekannten myelosuppressiven Eigenschaften des Lenalidomid war der wesentliche Untersuchungsinhalt, welche Dosierung von Revlimid ist sehr früh nach allogener Stammzelltransplantation einsetzbar. Ab welcher Dosierungsstufe tritt als begrenzende Nebenwirkung eine Leukozytopenie bzw. eine Thrombozytopenie auf.

Im Vergleich zu den beschriebenen Arbeiten zeigen unsere Daten deutlich weniger das Auftreten dosislimitierender myelotoxischer Nebenwirkungen unter einer Dosierung von 5 bis 10 mg Lenalidomid/d. Bei 20% trat eine Myelosuppression Grad 3 und bei 4% eine Myelosuppression Grad 4 auf (Leukozytopenie Grad 3 bei 8%; Thrombozytopenie Grad 3 bei 4%, Grad 4 bei 4%, Anämie Grad 3 bei 4%).

Als wesentliche Nebenwirkungen des Lenalidomid früh nach allogener Stammzelltransplantation war das Auftreten einer Graft versus host Reaktion, wir beobachteten diese bei neun Patienten (38%).

In der HOVON 76 Studie entwickelten 63% der Patienten während der Lenalidomidtherapie eine akute Graft versus host Reaktion, meistens im 1.

Zyklus. Wegen des Auftretens einer Graft versus Host Reaktion musste eine Vielzahl an Patienten die Therapie frühzeitig abbrechen. Aus diesem Grund schlussfolgerte die Gruppe, dass eine frühe Erhaltungstherapie (in diesem Fall Start im median 12 Wochen nach allogener Transplantation) nicht durchführbar ist (99).

Auch in unserer Patientenpopulation traten gehäuft Graft versus Host Reaktionen auf. In der 10 mg Dosisstufe entwickelten zwei Patienten (33%) eine GvHD der Leber und ein Patient (17%) eine GvHD des Gastrointestinaltraktes. In der Dosisstufe 5 mg beobachteten wir bei zwei Patienten (11%) eine GvHD der Leber und bei vier Patienten (22%) eine Spender gegen Wirt Reaktion des Gastrointestinaltraktes. Im Gesamtkollektiv traten somit bei 9 von 24 Patienten (38%) eine GvHD auf. Somit konnten auch wir unter der Therapie mit Lenalidomid ein gehäuftes Auftreten von Graft versus Host Reaktionen beobachten. Im Vergleich zu der HOVON 76 Studie bei der das Auftreten einer akuten Graft versus Host Reaktion bei 63% auftrat, sahen wir diese nur bei 38% der Patienten. In der HOVON 76 Studie wurde die Erhaltungstherapie mit Lenalidomid im Median 12 Wochen (4 - 27 Wochen) nach erfolgter allogener Stammzelltransplantation eingeleitet. Die GvHD trat gehäuft im ersten Zyklus (im Median 18 Tage nach Therapieeinleitung) auf (99). Ursache dafür kann zum einen der unterschiedliche Beginn der Erhaltungstherapie sein. Die niederländische Gruppe startet frühestens 4 Wochen nach Transplantation, in unserer Patientengruppe erfolgte der Beginn frühestens in Woche 14 nach Stammzelltransplantation. Ein weiterer Unterschied könnte in der immunsuppressiven Therapie gefunden werden. Die von uns untersuchten Patienten erhielten während der Erhaltungstherapie weiterhin eine immunsuppressive Therapie und bei Ausbleiben einer GvHD wurde diese schrittweise reduziert. Ob in der Patientengruppe, welche von Minnema untersucht wurde, eine immunsuppressive Therapie weitergeführt wurde, geht aus der Literatur nicht hervor.

Um das höhere GvH-Risiko zu untersuchen, analysierten wir die T-Zell-Populationen zunächst alle vier Wochen und in einer Subpopulation von 5 Patienten wöchentlich. Schon Lioznov beschrieb, dass Lenalidomid die Zahl der

aktivierten T-Zellen (HLA-DR+) und die regulatorischen T-Zellen (Treg) erhöht (12). Mittels Durchflusszytometrie konnten wir zeigen, dass die Aktivität der NK-Zellen und die Zytotoxizität unter der Therapie mit Lenalidomid deutlich gesteigert ist. In der gemessenen Subpopulation von fünf Patienten, welche wir wöchentlich monitorierten, konnten wir diese Aktivitätssteigerung schon früh nach Einleitung der Therapie beobachten. Die Aufarbeitung der T-Zellen und Subpopulation zeigte einen signifikanten Anstieg der CD 8 Zellen in der frühen Phase der Therapie. Außerdem erfassten wir eine höhere Expression von HLA-DR als Marker für eine generelle Aktivierung der T-Zellen. Parallel zum Anstieg der pro-inflammatorischen T-Zellen, sahen wir einen signifikanten Abfall der Tregs. Die untersuchten CD4+/INFg+ Zellen als auch die CD8+/INFg+Zellen zeigten vor allem in der ersten Woche nach Therapieeinleitung einen Anstieg. Die CD8+/INFg+ Zellen zeigten im Unterschied zu den TH1-Zellen einen weiteren Anstieg nach vier Wochen der Therapie. Diese Beobachtungen werten wir als Erklärung für das zügige Auftreten von Zeichen der GvHD unter der frühen Therapie mit Lenalidomid nach allogener Stammzelltransplantation.

Mittels dieser Dosis-Findungsstudie konnten wir zeigen, dass früh nach allogener Stammzelltransplantation bei einer Dosierung von 10 mg Lenalidomid/d dosislimitierende Toxizitäten auftraten. Wesentlich war das Auftreten einer Graft versus host Reaktion und weniger die Myelosuppression unter dieser Dosierung. Somit definierten wir die maximal tolerable Dosis mit 5 mg Lenalidomid täglich. Allerdings erfassten wir auch unter der Dosierung von 5 mg Lenalidomid Graft versus Host Reaktionen.

Frage der Studie war außerdem die Effektivität der Erhaltungstherapie bzw. der konsolidierenden Therapie. Wir beurteilten das Ansprechen nach 4 Zyklen der Therapie mit Lenalidomid. In der Patientengruppe konnten fünf Patienten, welche nach der allogenen Stammzelltransplantation und zum Zeitpunkt des Studieneintrittes eine komplette Remission erreichten diese halten. Fünf Patienten, bei denen nach der Transplantation eine partielle Remission festgestellt wurde, konnten durch die Gabe von Lenalidomid eine komplette Remission erreichen. Sechs Patienten blieben in der partiellen Remission. In unserem Patientenkollektiv führten wir keine molekularen Remissionskontrollen

durch. In der Gruppe der Patienten, welche eine Verbesserung des Remissionstatus zeigten, d.h. die partielle Remission in eine komplette Remission verbesserten, traten bei zwei während der Therapie eine Graft versus Host Reaktion auf.

Bei den meisten malignen hämatologischen Erkrankungen besteht ein Zusammenhang zwischen dem Erreichen einer bestmöglichen Remission mit dem Überleben der Patienten. Bei Patienten mit Multiplen Myelom kann mittels einer konventionellen Chemotherapie selten eine komplette Remission erreicht werden (100, 101). Der Überlebensvorteil für Multiple Myelom Patienten, welche eine komplette Remission erreichen, konnte in einer Studie der Eastern Cooperative Oncology Group gezeigt werden (102). Verglichen mit einer konventionellen Chemotherapie konnten Patienten nach einer Hochdosistherapie mit anschließender autologer Stammzelltransplantation eine höhere Rate an kompletten Remissionen erreichen als auch ein längeres progressionsfreies Überleben zeigen (62, 67).

Ziel ist es also, nicht nur eine komplette Remission, z.B. durch eine allogene Stammzelltransplantation zu erreichen, sondern diese auch zu erhalten. Dies kann durch eine weitere Reduktion der Tumorzellen, eingeschlossen dieser, die kein M-Protein bilden, erreicht werden (103). Zukünftig werden tiefere komplette Remissionen mittels Immunphänotypisierung oder mit molekularen Methoden beobachtet werden. Das Monitoring dieser Remissionen kann helfen weitere therapeutische Strategien zu definieren, z.B. den Einsatz einer Konsolidierung oder wie in unserer Studien einer Erhaltungstherapie (50). In den zukünftigen Studien wird aus diesem Grund auch die Tiefe der Remission untersucht werden, um zu zeigen, dass eine weiterführende Therapie diese verbessern und somit auch das progressionsfreie Überleben verlängern kann.

In den durchgeführten Studien, z.B. CALBG oder IFM, wurde unter einer Erhaltungstherapie mit Lenalidomid ein gehäuftes Vorkommen von Zweitneoplasien beobachtet, insbesondere von hämatologischen im Vergleich zu den Kontrollgruppen (94, 95, 99). In unserer Patientengruppe während einer kurzen Therapiedauer mit Lenalidomid sahen wir keine Zweitneoplasien. Dies wird unter anderem Schwerpunkt großer laufender und zukünftiger Studien

sein, zu evaluieren, ob eine länger dauernde Therapie mit Lenalidomid zu Tumorerkrankungen führt.

Durch unsere Arbeit konnten wir die maximal tolerable Dosis von Lenalidomid im frühen Einsatz nach allogener Stammzelltransplantation mit 5 mg/d Lenalidomid bestimmen. Ziel der Arbeit war die Beobachtung über vier Zyklen.

Die Vielzahl der Untersuchungen einer Erhaltungs- bzw. einer Konsolidierungstherapie wurde bei Patienten nach einer autologen Stammzelltransplantation durchgeführt. Die Therapie erfolgt dann bis zum Progress der Erkrankungen (94, 95).

Frage weiterer Untersuchungen wird sein, ist eine Erhaltungstherapie mit Lenalidomid bei Patienten mit Multiplen Myelom nach allogener Stammzelltransplantation bis zum Progress der Erkrankung notwendig oder ist eine konsolidierende Therapie, z.B. bis zum Erreichen einer molekularen Remission, ausreichend.

Schwerpunkt zukünftiger Studien wird unter anderem sein, wie man das deutlich erhöhte Risiko für das Auftreten einer Graft versus Host Reaktion während einer frühen nach allogener Stammzelltransplantation eingeleiteten Therapie mit Lenalidomid vermeiden oder reduzieren kann. Kann durch eine spätere Einleitung einer Konsolidierungs- bzw. Erhaltungstherapie das Risiko reduziert werden?

Frage wird außerdem sein, ob man durch den gleichzeitigen Einsatz anderer myelomspezifischer Therapien das GvHD-Risiko reduzieren kann, z.B. durch die Gabe von Bortezomib oder Dexamethason. So hat Gandhi in einer Arbeit gezeigt, dass Lenalidomid als Monotherapie eine Erhöhung der T-Zell-Produktion von IL-2 als auch zu einer Steigerung der NK-Zell-Produktion Interferon γ führt. Dexamethason antagonisierte diesen immunstimulierenden Effekt von Lenalidomid. Er schlussfolgerte, dass der kombinierte Einsatz von Lenalidomid und niedrig dosiertem Dexamethason den antiproliferativen Effekt bei weniger immunmodulatorischer Aktivität erhält (104).

Außerdem ist zu klären, welche Patienten nach einer durchgeführten allogenen Stammzelltransplantation von einer Erhaltungs- bzw. Konsolidierungstherapie profitieren.

8. Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war die maximal tolerable Dosierung von Lenalidomid für Patienten mit Multiplen Myelom 100 bis 180 Tage nach einer allogenen Stammzelltransplantation zu ermitteln. Sekundäre Endpunkte waren die Bestimmung des Remissionstatus nach der Behandlung mit Lenalidomid, der Effekt auf die T- und NK-Zellen und die Beurteilung des Auftretens Graft versus Host Reaktionen.

Die Arbeit konnte eine maximal tolerable Dosis Lenalidomid für Multiple Myelom Patienten 100 bis 180 Tage nach einer durchgeführten allogenen Stammzelltransplantation bestimmen. 5 mg Lenalidomid täglich, Tag 1 - 21, 1 Woche Pause ist tolerabel. Die Myelosuppression war keine wesentliche dosislimitierende Toxizität, wie sie in anderen Studien beobachtet wurde, sondern das Auftreten einer Graft versus Host Reaktion. Auch unter der maximal tolerablen Dosierung von 5 mg Lenalidomid beobachteten wir das Auftreten einer GvHD bei 33,3% der in dieser Dosierung behandelten Patienten.

Die Aktivität der NK-Zellen und die Zytotoxizität unter der Therapie mit Lenalidomid waren in den untersuchten Patientenblutproben schon früh nach Therapieeinleitung deutlich gesteigert. Es konnte ein signifikanter Anstieg der CD 8 Zellen in der frühen Phase der Therapie und eine höhere Expression von HLA-DR als Marker für eine generelle Aktivierung der T-Zellen beobachtet werden. Parallel zum Anstieg der pro-inflammatorischen T-Zellen, sahen wir einen signifikanten Abfall der Tregs. Die untersuchten CD4+/INFg+ Zellen als auch die CD8+/INFg+Zellen zeigten vor allem in der ersten Woche nach Therapieeinleitung einen Anstieg. Die CD8+/INFg+ Zellen zeigten im Unterschied zu den TH1-Zellen einen weiteren Anstieg nach vier Wochen der Therapie. Diese Beobachtungen werten wir als Erklärung für das zügige Auftreten von Zeichen der GvHD unter der frühen Therapie mit Lenalidomid nach allogener Stammzelltransplantation

Durch die konsolidierende Therapie mit Lenalidomid über vier Zyklen konnte bei 13 von 26 Patienten (54%) die komplette Remission erhalten bzw. eine partielle Remission in eine komplette Remission erhöht werden.

Die Schlussfolgerung ist, dass für Patienten mit Multiplen Myelom früh nach einer allogenen Stammzelltransplantation die Therapie mit 5 mg Lenalidomid möglich ist und diese zu einer Verbesserung der Ansprechraten führt.

9. Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1: Patientencharakteristika

| | |
|-----------------------------|----------------------|
| <i>Anzahl der Patienten</i> | n = 24 |
| <i>Mittleres Alter</i> | 53 (range 32 – 66) |
| <i>Patientengeschlecht</i> | |
| männlich | n = 17 |
| weiblich | n = 7 |
| <i>Myelom Subtyp</i> | |
| Ig G | n = 17 |
| Ig A | n = 2 |
| Leichtkettenmyelom | n = 5 |
| <i>Leichtketten Subtyp</i> | |
| kappa | n = 14 |
| lambda | n = 10 |
| <i>Zytogenetik</i> | |
| 13 q | n = 12 |
| t(4;14) | n = 4 |
| 17 p | n = 2 |
| andere | n = 7 |
| unbekannt | n = 6 |
| normal | n = 2 |

| | |
|---|--------|
| <i>Transplantation</i> | |
| Matched related donor (MRD) | n = 8 |
| Matched unrelated donor (MUD) | n = 12 |
| Mismatch unrelated donor (MMUD) | n = 4 |
| <i>Konditionierung</i> | |
| Myeloablative | n = 15 |
| Busulfan/ Cyclophosphamid/ ATG | n = 14 |
| Cyclophosphamid /TBI 12 Gy/ ATG | n = 1 |
| Dosisreduziert | n = 7 |
| Fludarabin/ Melphalan/ ATG | n = 3 |
| Fludarabin/ TBI 2 Gy | n = 4 |
| unbekannt | n = 2 |
| <i>Akute GvHD nach Transplantation</i> | |
| nein | n = 12 |
| ja | n = 8 |
| unbekannt | n = 4 |
| <i>Remission Status bei Studieneintritt</i> | |
| Komplette Remission | n = 6 |
| Partielle Remission | n = 14 |
| Stabile Erkrankung | n = 2 |
| Progress | n = 2 |

| <i>Vorrangegangene Therapie vor allogener Stammzelltransplantation</i> | |
|--|--------|
| Autologe Stammzelltransplantation | n = 24 |
| Bortezomib | n = 20 |
| Thalidomid | n = 6 |
| Lenalidomid | n = 14 |
| andere | n = 19 |

Tabelle 2: Zytogenetische Veränderungen

| | Anzahl |
|------------------------------------|---------------|
| Veränderung an 13 q | 12 |
| t(4;14) | 4 |
| 17p | 2 |
| Andere Veränderungen des Karyotyps | 6 |
| Normaler Karyotyp | 2 |
| unbekannt | 6 |

Tabelle 3: Schwere unerwünschte Ereignisse (Serious adverse events)

| Dosis Level | Unerwünschtes Ereignis | CTC Grad |
|--------------------|---------------------------------|-----------------|
| 1 = 10 mg | Pankreatitis | 3 |
| 1 = 10 mg | Erhöhung von GGT and AP (aGvHD) | 3 |
| 1 = 10 mg | erhöhtes Kreatinin | 3 |
| 1 = 10 mg | Pneumonie | 2 |
| 0 = 5 mg | Thrombozytopenie | 4 |
| 0 = 5 mg | virale Meningitis | 3 |
| 0 = 5 mg | Pneumonie | 2 |
| 0 = 5 mg | Erhöhte GOT, GPT, GGT (aGvHD) | 3 |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe (a GvHD) | 5 |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe (a GvHD) | 3 |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe (a GvHD) | 3 |

Tabelle 4: Anzahl von Patienten mit hämatologischen unerwünschten Ereignissen CTC Grad 3 oder 4

| Dosis Stufe | Unerwünschtes Ereignis | CTC Grad |
|--------------------|-------------------------------|-----------------|
| 1 = 10 mg | Leukozytopenie | 3 |
| 0 = 5 mg | Thrombozytopenie | 3 |
| 0 = 5 mg | Anämie | 3 |
| 0 = 5 mg | Thrombozytopenie | 4 |
| 0 = 5 mg | Leukozytopenie | 3 |

Tabelle 5: Nichthämatologische Toxizitäten Grad 3 bis 5

| Dosis Stufe | Unerwünschtes Ereignis | CTC Grad |
|--------------------|---------------------------------|-----------------|
| 0 = 5 mg | Meningitis | 3 |
| 1 = 10 mg | Pankreatitis | 3 |
| 1 = 10 mg | GGT und AP erhöht (GvHD) | 3 |
| 1 = 10 mg | erhöhtes Kreatinin | 3 |
| 0 = 5 mg | erhöhte ALT | 3 |
| 0 = 5 mg | erhöhte GOT, GPT, GGT (GvHD) | 3 |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe (GvHD) | 5 |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe (GvHD) | 3 |
| 0 = 5 mg | Hypokalämie | 3 |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe (GvHD) | 3 |

Tabelle 6: Anzahl von Patienten mit infektbedingten Komplikationen (CTC Grad 3 bis 4)

| Dosis Stufe | Unerwünschtes Ereignis | CTC Grad |
|--------------------|-------------------------------|-----------------|
| 0 = 5 mg | Meningitis | 4 |
| 1 = 10 mg | Pankreatitis | 4 |

Tabelle 7: Patienten mit GvHD

| Dosisstufe | Unerwünschtes Ereignis | CTC Grad | GvHD/ overall |
|-------------------|-------------------------------|-----------------|--------------------------------|
| 1 = 10 mg | ALT erhöht | 3 | Leber/ extensive |
| | AST erhöht | 2 | |
| | GGT erhöht | 2 | |
| 1 = 10 mg | AST erhöht | 2 | Leber/ extensive |
| | ALT erhöht | 3 | |
| 1 = 10 mg | Diarrhoe | 3 | Gastrointestinal/ limited |
| 0 = 5 mg | AST erhöht | 3 | Leber/ extensive |
| | ALT erhöht | 3 | |
| 0 = 5 mg | Bilirubinämie | 2 | Leber/ extensive |
| | AST erhöht | 3 | |
| | ALT erhöht | 3 | |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe | 5 | Gastrointestinal/ extensive |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe | 3 | Gastrointestinal/ extensive |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe | 3 | Gastrointestinal/ extensive |
| 0 = 5 mg | Diarrhoe | 4 | Gastrointestinal/extensive |

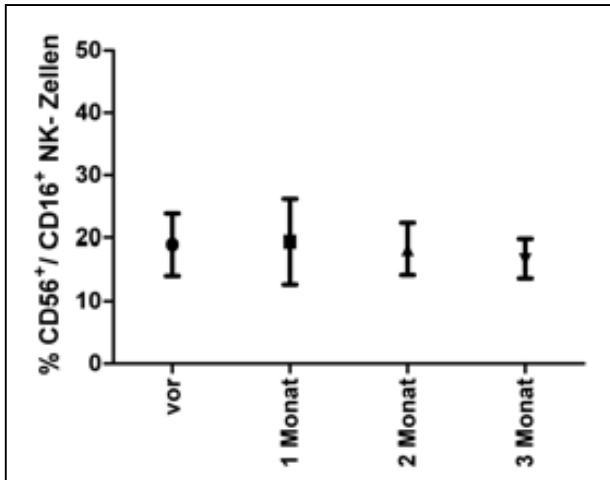
Tabelle 8: Remissionstatus bei Studieneinschluss und nach vier Zyklen Lenalidomid

| Remissionstatus | Bei Studieneinschluss, Anzahl | Nach vier Zyklen Lenalidomid, Anzahl |
|------------------------|--------------------------------------|---|
| Komplette Remission | n = 5 (20,8%) | n = 10 (41,7%) |
| Partielle Remission | n = 15 (62,5%) | n = 7 (29,2%) |
| Stabile Erkrankung | n = 2 (8,3%) | n = 2 (8,3%) |
| Progress | n = 2 (8,3%) | n = 5 (20,8%) |

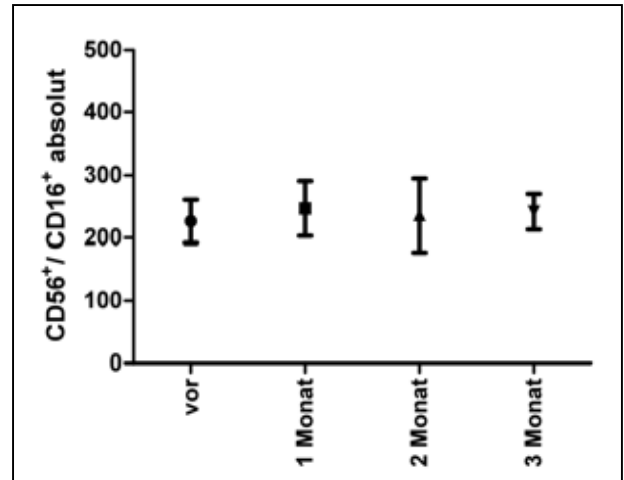
Tabelle 9: Remission bei Screening – und Studienende

| Patient | Verbesserung der Remission nach 4 Zyklen Erhaltungstherapie |
|----------------|--|
| n = 5 (20,8%) | Partielle Remission => Komplette Remission |
| n = 1 (4,2%) | Stabile Erkrankung => Partielle Remission |

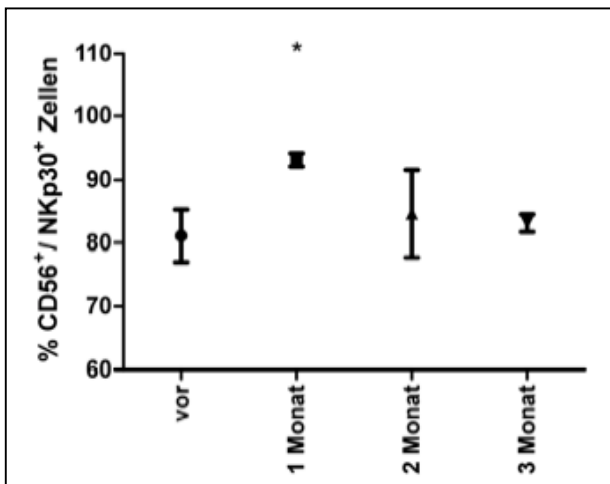
Abbildungen:



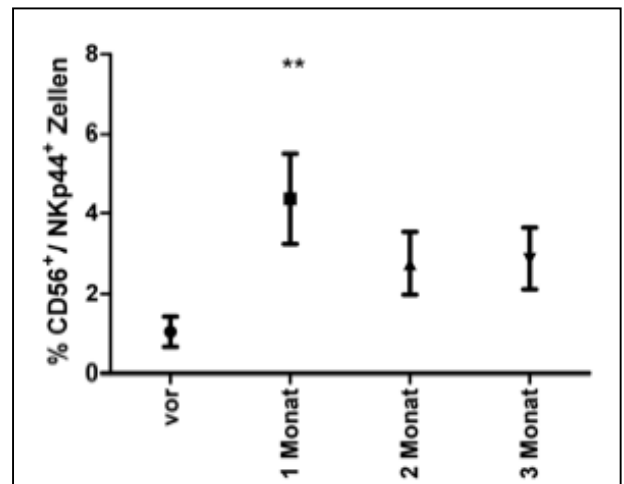
a) Prozentuale Zahl NK-Zellen, n = 12



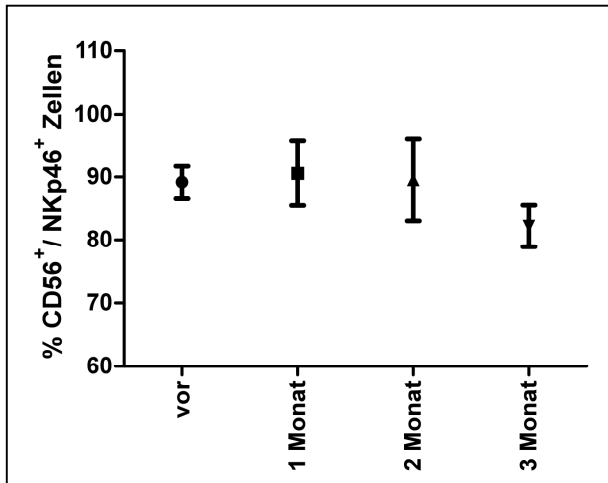
b) Absolute Zahl NK-Zellen, n = 12



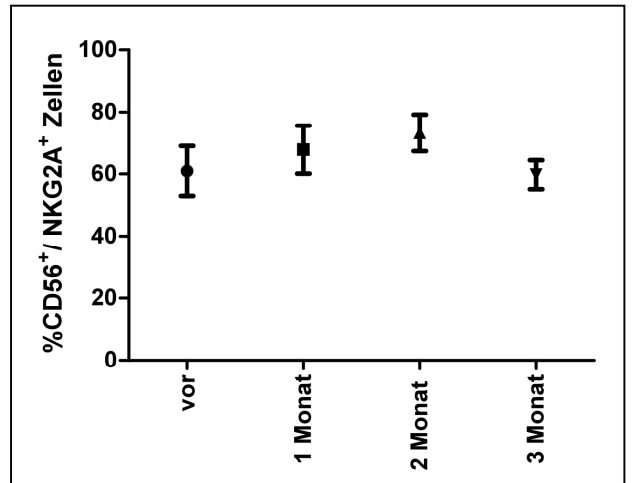
c) Prozentuale Darstellung der NK - Zellen die gleichzeitig den aktivierenden NKP30 Rezeptor exprimieren, n =12, Der Unterschied zwischen vor und nach 1 Monat ist signifikant $p < 0,05$ students t test.



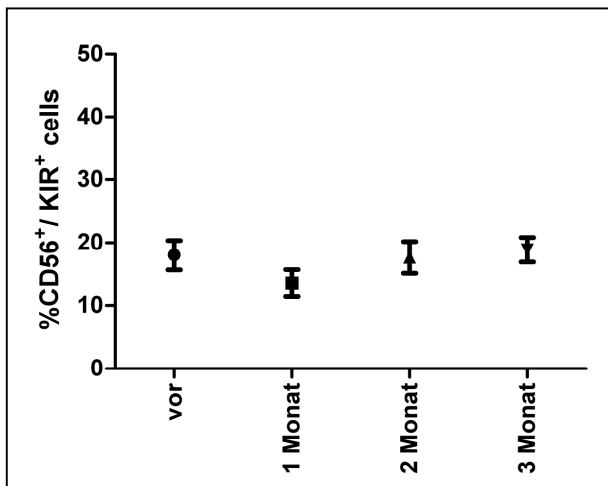
d) Prozentuale Darstellung der NK- Zellen die gleichzeitig den aktivierenden NKP44 Rezeptor exprimieren, n=12. Der Unterschied zwischen vor und nach 1 Monat ist signifikant $p < 0,01$ students t test.



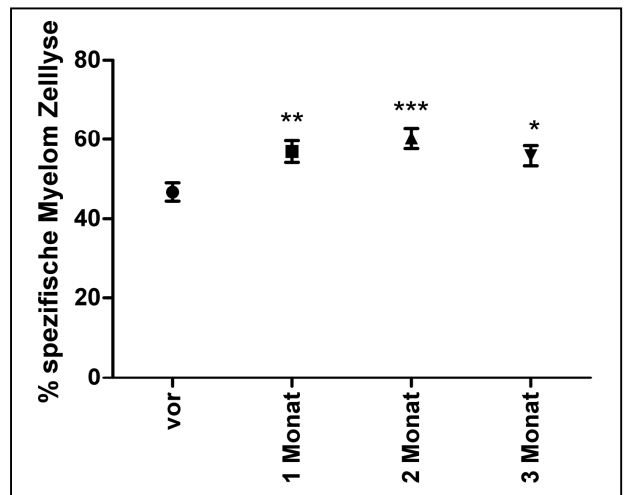
e) Prozentuale Darstellung der NK-Zellen die gleichzeitig den aktivierenden NKP46 Rezeptor exprimieren, n = 12, Der Unterschied ist nicht signifikant.



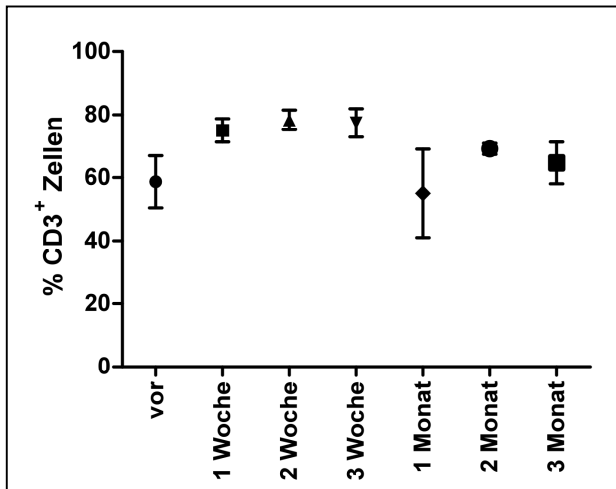
f) Prozentuale Darstellung der NK-Zellen die gleichzeitig den hemmenden NKG2A Rezeptor exprimieren, n = 12, Der Unterschied ist nicht signifikant



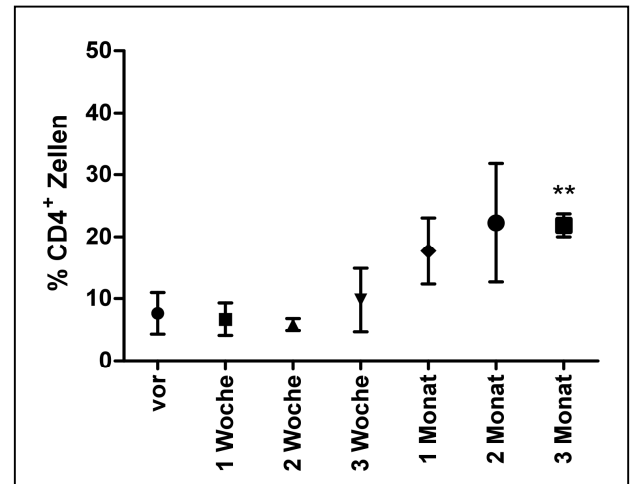
g) Prozentuale Darstellung der NK-Zellen die gleichzeitig den hemmenden KIR Rezeptor exprimieren, n=12, Der Unterschied ist nicht signifikant.



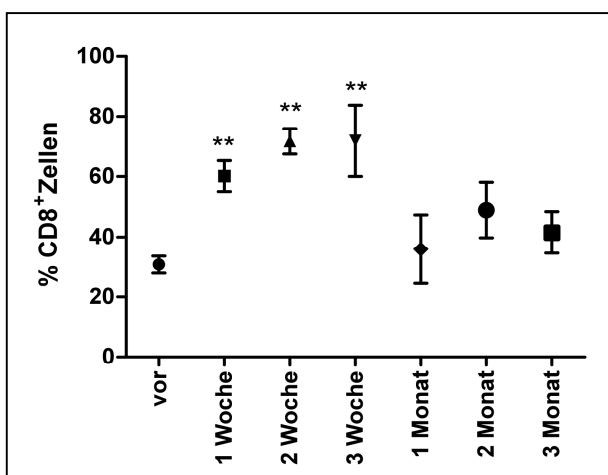
h) Prozentuale Darstellung der NK-Zelltoxizität gegenüber der Myelom Zelllinie MOLP8 Der Test basiert auf der LDH-Freisetzung nachdem NK-Zellen und Myelom Zellen 4h zusammen kultiviert wurden. Unterschiede sind signifikant $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ Students T Test; n = 12



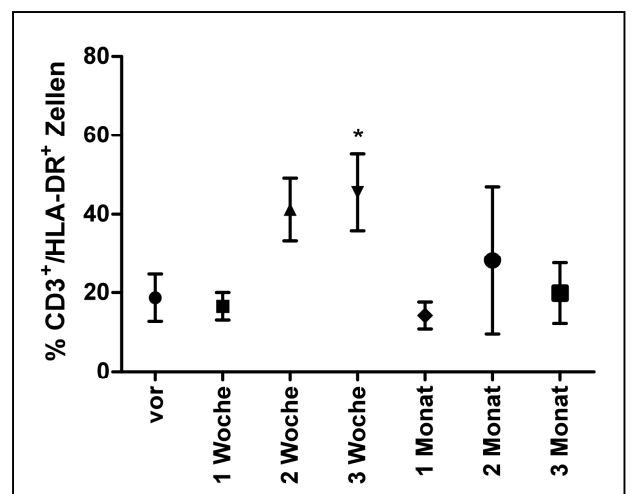
i) Prozentuale T-Zellen für n = 5 Patienten CD3 hier als Pan T Zellmarker



j) Prozentuale Darstellung der CD4- Helfer Zellen .
Der Unterschied vor Start Lenalidomid und nach 3 Monaten ist signifikant, n = 5 P < 0,01 Student T Test.



k) Prozentuale Darstellung der zytotoxischen CD8 Zellen.
Der Unterschied zwischen vor Start Lenalidomid und nach 1 Woche, bzw. 2 und 3 Woche ist signifikant mit p < 0,01 im Students T Test, n = 5



l) Prozentuale Darstellung der aktivierten CD3 Zellen; n = 5 Pat HLA-DR hier als Marker für Langzeit Aktivierung (> 72h).

10. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------------------|--|
| AG | Antigen |
| ALT | Alanin-Aminotransferase |
| AP | Alkalische Phosphatase |
| ASCT | Autologe Stammzelltransplantation |
| AST | Aspartat-Aminotransferase |
| ATG | Antithymozytenglobulin |
| AUC | Area under the Curve |
| B – Zellen | B-Lymphozyten |
| β2 – Mikroglobulin | Beta-2- Mikroglobulin |
| CD | Cluster of Differentiation |
| Cox | Cyclooxygenase |
| CR | Komplette Remission |
| CTCAE | Common Terminology Criteria for Adverse Events |
| DLI | Donor Lymphocyte Infusion |
| DLT | Dosis limitierende Toxizität |
| EBMT | European Bone Marrow Transplantation |
| EFS | Event free survival |
| GGT | Gamma-Glutamyl-Transferase |
| GOT | Glutamat-Oxalacetat-Transaminase |
| GPT | Glutamat-Pyruvat-Transaminase |
| GvHD | Graft versus host disease |
| Gy | Gray |
| Hb | Hämoglobin |
| HLA | Human Leucocyte Antigen |
| HSCT | Human Stem Cell Transplantation |
| IL – 6 | Interleukin 6 |

| | |
|--------------|--|
| IL - 10 | Interleukin 10 |
| ISS | Internationale Scoring System |
| LAM-1 | Leukocyte adhesion molecule 1 |
| LDH | Laktatdehydrogenase |
| MRD | Minimal residual disease |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| MGUS | Monoklonale Gammopathie unklarer Signifikanz |
| MM | Multiples Myelom |
| MMUD | Mismatch unrelated donor |
| MRD | Match related donor |
| MUD | Match unrelated donor |
| MTD | Maximal tolerable Dosis |
| NCI | National Cancer Institute |
| NK-Zellen | Nature killer - Zellen |
| PD | Progressive disease/ Progressive Erkrankung |
| PET-CT | Positronen-Emissions-Tomographie |
| PR | Partielle Remission |
| RIC | Reduced intensity conditioning |
| SD | Stabile Erkrankung |
| TBI | Total Body Irradiation |
| TRM | Therapy related Mortality |
| TNF α | Tumornekrosefaktor alpha |
| Treg | Regulatorische T-Zellen |
| T-Zellen | T-Lymphozyten |
| VAD | Vincristin/ Adriamycin/ Dexamethason |
| VEGF | Vascular Endothelial Growth Factor |
| vgPR | very good partial Remission |
| VRD | Vincristin/ Revlimid/ Dexamethason |

VTD

Vincristin/ Thalidomid/ Dexamethason

11. Literaturverzeichnis

1. Gahrton G, Tura S, Ljungman P, et al (1991). Allogeneic bone marrow transplantation in multiple myeloma. European Group for Bone Marrow Transplantation. *New England Journal of Medicine* (325), 1267-73.
2. Gahrton G, Tura S, Ljungman P, et al (1995). Prognostic factors in allogeneic bone marrow transplantation for multiple myeloma. *J Clin Oncol* (13), 1312-22.
3. Durie BG, G. J. (1995). Allogeneic transplants for multiple myeloma: An IBMTR analysis. *Proc Am Soc Clin Oncol* (15), 405, abstr. 1358.
4. Kröger N, Einsele H, Wolff D, Casper J, Freund M, et al (2003). Myeloablative intensified conditioning regimen with in vivo T-cell-depletion (ATG) followed by allografting in patients with advanced multiple myeloma. A phase I/II study of the German Study-group Multiple Myeloma (DSMM). *Bone Marrow Transplantation* (31(11)), 973-979.
5. Maloney DG, Molina AJ, Sahebi F, Stockerl-Goldstein KE, et al. (2003). Allografting with nonmyeloablative conditioning following cytoreductive autografts for the treatment of patients with multiple myeloma. *Blood* (102(9)), 3447-54.
6. Kröger N, Schwerdtfeger R, Kiehl M, Sayer HG, et al. (2002). Autologous stem cell transplantation followed by a dose-reduced allograft induces high complete remission rate in multiple myeloma. *Blood* (100(3)), 755-60.
7. Kröger N, Sayer HG, Schwerdtfeger R, Kiehl M, Nagler A, et al. (2002). 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* (100(12)), 3919-24.
8. Mothy M, B. J. (2004). Graft-versus-myeloma effect following antithymocyte globulin-based reduced intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplantation* (34(1)), 77-84.
9. Bruno B, Rotta M, Patriarca F, Mordini N, et al. (2007). A comparison of allografting with autografting for newly diagnosed myeloma. *New England Journal of Medicine* (356 (11)), 1110-20.
10. Garban F, Attal M, Michallet M, Huli C, et al. (2006). 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* (107(9)), 3474-80.
11. Crawley C, Iacobelli S, Björkstrand B, Apperley JF, et al. (2007). Reduced-intensity conditioning for myeloma: lower nonrelapse mortality but higher relapse rates compared with myeloablative conditioning. *Blood* (109), 3588-94

12. Lioznov M, El-Cheikh J Jr, Hoffmann F, et al. (2010). Lenalidomide as salvage therapy after allo-SCT for multiple myeloma is effective and leads to an increase of activated NK (NKp44(+)) and T(HLA-DR(+)) cells. *Bone Marrow Transplantation* (45), 349-353.
13. Hayashi T, Hideshima T, Akiyama M, et al. (2005). Molecular mechanisms whereby immunomodulatory drugs activate natural killer cells: clinical application. *British Journal of Haematology* (128), 192-203.
14. Davies FE, Raje N, Hideshima T, Lentzsch S, et al. (2001). Thalidomide and immunomodulatory derivatives augment natural killer cell cytotoxicity in multiple myeloma. *Blood* (98), 210-216.
15. Mollee, P. (2009). Current trends in the diagnosis, therapy and monitoring of the monoclonal gammopathies. *Clin Biochem Rev* (30), 93-103.
16. Laubach J, Richardson P, Anderson K. (2011). Multiple myeloma. *Annu Rev Med* (62), 249-64.
17. Blade J, Kyle RA, Greipp PR. (1996). Presenting features and prognosis in 72 patients with multiple myeloma who were younger than 40 years. *Br J Haematology* (93), 345-351.
18. Longsworth LG, Shedlovsky T, Macinnes DA. (1939). Electrophoretic patterns of normal and pathological human blood serum and plasma. *J Exp Med* (70), 399-413.
19. Rajkumar SV, Kyle RA. (2005). Multiple Myeloma: diagnosis and treatment. *Mayo Clinic Proc* (80), 1371-1382.
20. Kyle RA, Gertz MA, Witzig TE, Lust JA, Lacy MQ, et al. (2003). Review of 1027 patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* (78), 21-33.
21. Lust JA, Donovan KA. (1998). Biology to transition of monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) to multiple myeloma. *Cancer Contr* (5), 209-217.
22. Mahindra A, Hideshima T, Cirtsea D, Bandi M, et al. (2010). Multiple myeloma: biology of the disease. *Blood Rev* (24 Suppl 1), S5-11.
23. Knudsen LM, Hippe E, Hjorth M, Holmberg E, Westin J (1994). Renal function in newly diagnosed multiple myeloma - a demographic study of 1353 patients. The Nordic Myeloma Study Group. *Eur J Haemat* (53), 207-12.
24. Greipp PR, San Miguel J, Durie BG, Crowley JJ, Barlogie B, et al. (2005). International staging system for multiple myeloma. *J Clin Onc* (23), 3412-20.
25. Blade J, Cibeira MT, Fernandez de Larrea C, Rosinol L. (2010). Multiple myeloma. *Annals of Oncology* (suppl. 7), 313-319.

26. Rakjumar, SV. (2010). Multiple Myeloma: 2011 update on diagnosis, risk stratification, and management. *American Journal of Hematology* (86), 57-65.
27. Fonseca R, Bergsagel PL, Drach J, et al. (2009). International Myeloma Working Group molecular classification of multiple myeloma: spotlight review. *Leukemia* (23), 2210-2221.
28. Moreau P, Avet-Loiseau H, Harousseau JL, Attal M. (2011). Current Trends in autologous stem-cell transplantation for myeloma in the era of novel therapies. *J Clin Oncol* (29), 1898-906.
29. Blade J, Esteve J, Rives S, Martinez C, et al. (2000). High-dose chemotherapy autotransplantation/intensification vs. continued standard chemotherapy in multiple myeloma in first remission. Results of a non-randomized study from a single institution. *Bone Marrow Transplant*. (26), 845-849.
30. Alexanian R, Weber D, Giralt S, Dimopoulos M, et al. (2001). Impact of complete remission with intensive therapy in patients with responsive multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* (27), 1037-1043.
31. Paiva B, Vidriales MB, Cervero J, Mateo G, Perez JJ. (2008). Multiparameter flow cytometric remission is the most relevant prognostic factor for multiple myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation. *Blood* (112), 4017-4023.
32. Alexanian R, Bonnet J, Gehan E, Haut A, et al. (1972). Combination chemotherapy for multiple myeloma. *Cancer* (30), 382-389.
33. Alexanian R, Dreicer R. (1984). Chemotherapy for multiple myeloma. *Cancer* (53), 583-588.
34. Goldschmidt H, Cremer FW, Möhler TM, Ho AD. (2003). Multiples Myelom, Diagnostik und Therapie. *Der Internist* (44), 599-618.
35. Barlogie B, Smith L, Alexanian R. (1984). Effective treatment of advanced multiple myeloma resistant to alkylating agent. *N Engl J Med* (310), 1353-1356.
36. Kumar SK, Rakjumar SV, Disenzieri A, Lacy MQ, et al. (2008). Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood* (111), 2516-2520.
37. Quach H, Ritchie D, Stewart AK, Neeson P, et al. (2010). Mechanism of action of immunomodulatory drugs (IMiDS) in multiple myeloma. *Leukemia* (24), 22-32.
38. Dredge K, Horsfall R, Robinson SP, Zhang LH, et al. (2005). Orally administered lenalidomide (CC-5013) is anti-angiogenic in vivo and inhibits endothelial cell migration and Akt phosphorylation in vitro. *Microvasc Res* (69), 56-63.

39. Payvandi F, Wu L, Haley M, Schafer PH, Zhang LH, Chen RS, Muller GW, Stirling DI. (2004) Immunomodulatory drugs inhibit expression of cyclooxygenase-2 from TNF-alpha, IL-1beta, and LPS-stimulated human PBMC in a partially IL-10-dependent manner. *Cell Immunol* (230(2)), 81-8.
40. Dredge K, Marriott JB, Macdonald CD, Man HW, et al. (2002) Novel thalidomide analogues display anti-angiogenic activity independently of immunomodulatory effects. *Br J Cancer* (87(10)), 1166-72.
41. Haslett PA, Corral LG, Albert M, Kaplan G. (1998) Thalidomide costimulates primary human T lymphocytes, preferentially inducing proliferation, cytokine production, and cytotoxic responses in the CD8+ subset. *J Exp Med* (187(11)), 1885-92
42. Marriott JB, Clarke IA, Dredge K, Muller G, Stirling D, Dalglish AG. (2002) Thalidomide and its analogues have distinct and opposing effects on TNF-alpha and TNFR2 during co-stimulation of both CD4(+) and CD8(+) T cells. *Clin Exp Immunol* (130(1)), 75-84
43. Reddy N, Hernandez-Ilizaliturri FJ, Deeb G, Roth M, Vaughn M, et al. (2008) Immunomodulatory drugs stimulate natural killer-cell function, alter cytokine production by dendritic cells, and inhibit angiogenesis enhancing the anti-tumour activity of rituximab in vivo. *Br J Haematol* (140(1)), 36-45
44. Wu L, Adams M, Carter T, Chen R, Muller G, Stirling D, Schafer P, Bartlett JB. (2008) lenalidomide enhances natural killer cell and monocyte-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity of rituximab-treated CD20+ tumor cells. *Clin Cancer Res* (14(14)), 4650-7.
45. Kumar S, Giralt S, Stadtmauer EA, Harousseau JL, Palumbo A, et al. (2009). Mobilization in myeloma revisited: IMWG consensus perspectives on stem cell collection following initial therapy with thalidomide-, lenalidomide-, or bortezomib-containing regimens. *Blood* (114), 1729-1735.
46. Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H. (2009) The role of complete response in multiple myeloma. *Blood* (114(15)), 3139-46.
47. Chanan-Khan AA, Giralt S. (2010) Importance of achieving a complete response in multiple myeloma, and the impact of novel agents. *J Clin Oncol* (28(15)), 2612-24.
48. Cavo M, Zamagni E, Tosi P, Tacchetti P, Cellini C, et al. (2005) Superiority of thalidomide and dexamethasone over vincristine-doxorubicin-dexamethasone (VAD) as primary therapy in preparation for autologous transplantation for multiple myeloma. *Blood* (106(1)), 35-9.
49. Lokhorst HM, Schmidt-Wolf I, Sonneveld P, van der Holt B, Martin H, et al. (2008) Thalidomide in induction treatment increases the very good partial response rate before and after high-dose therapy in previously untreated multiple myeloma. *Haematologica* (93(1)), 124-7.

50. Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H, Marit G, et al. (2010). Bortezomib plus dexamethasone is superior to vincristine plus doxorubicin plus dexamethasone as induction treatment prior to autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: Results of the IFM 2005-01 Phase III Trial. *J Clin Oncol* (28), 4621-4629.
51. Gareth J. Morgan, Faith E. Davies, Roger G. Owen, Andrew C. Rawstron, et al. (2007) Thalidomide Combinations Improve Response Rates; Results from the MRC IX Study. *Blood* (110), abstr. 3593.
52. Wang M, Giralt S, Delasalle K, Handy B, Alexanian R. (2007) Bortezomib in combination with thalidomide-dexamethasone for previously untreated multiple myeloma. *Haematology* (12(3)), 235-9.
53. Popat R, Oakervee HE, Hallam S, Curry N, Odeh L, et al. (2008) Bortezomib, doxorubicin and dexamethasone (PAD) front-line treatment of multiple myeloma: updated results after long-term follow-up. *Br J Haematol* (141(4)), 512-6.
54. Reeder CB, Reece DE, Kukreti V, Chen C, Trudel S, et al. (2009) Cyclophosphamide, bortezomib and dexamethasone induction for newly diagnosed multiple myeloma: high response rates in a phase II clinical trial. *Leukemia* (23(7)), 1337-41.
55. Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, Petrucci MT, Pantani L, Galli M, et al. (2010) Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomised phase 3 study. *Lancet* (376(9758)), 2075-85.
56. Rosiñol L, Cibeira MT, Martinez J, Mateos MV, et al. (2009) Thalidomide/ Dexamethasone (TD) vs. Bortezomib (Velcade)/Thalidomide / Dexamethasone (VTD) Vs. VBMCP/VBAD/Velcade as Induction Regimens Prior Autologous Stem Cell Transplantation (ASCT) in Multiple Myeloma (MM): Results of a Phase III PETHEMA/GEM Trial. *Blood* (114), abstr 130.
57. Moreau P, Facon T, Attal M. (2010). Comparison of reduced-dose bortezomib plus thalidomide plus dexamethasone (vTD) to bortezomib plus dexamethasone (VD) as induction treatment prior to ASCT in the novo multiple myeloma (MM): Results of IFM2007-02 study. *J Clin Oncol* (28 (suppl)), 15s.
58. Mateos MV, Oriol A, Martinez-Lopez J, et al. (2010). Bortezomib, melphalan and prednisone versus bortezomib, thalidomide and prednisone as induction therapy followed by maintenance treatment with bortezomib and thalidomide versus bortezomib and prednisone in elderly untreated patients with multiple myeloma: a randomised trial. *Lancet Oncology* (11), 934-941.
59. Lacy MQ, Gertz MA, Dispenzieri A, Hayman SR, Geyer S, et al. (2007). Long-term results of response to therapy, time to progression and survival with lenalidomide plus dexamethasone in newly diagnosed myeloma. *Mayo Clin Proc* (82), 1179-1184.

60. Zonder JA, Crowley J, Hussein MA, Bolejack , et al. (2010). Lenalidomide and high-dose dexamethasone compared with dexamethasone as initial therapy for multiple myeloma: A randomized Southwest Oncology Group Trial (S0232). *Blood* (116), 5838- 41.
61. Rajkumar SV, Jacobus S, Callander NS, Fonseca R, et al. (2010). Lenalidomide plus high-dose dexamethasone versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma: An open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncology* (11), 29-37.
62. Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM, Sotto JJ, et al. (1996). A prospective randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. *N Engl J Med* (335), 91-7.
63. Femand JP, Ravaut P, Katsahian S. (1999). High dose therapy and autologous blood stem cell transplantation versus conventional treatment in multiple myeloma: results of a randomized trial in 190 patients 55 to 65 years of age. *Blood* (94(suppl1)), 396 a.
64. Blade J, Sureda A, Ribera JM. (2003). High-dose therapy/autotransplantation/intensification versus continued conventional chemotherapy in multiple myeloma patients responding to initial chemotherapy. Definitive results from Pethema after a median follow-up of 66 months. *Blood* (102), 42a.
65. Palumbo A, Bringhen S, Petrucci MT, et al. (2003). A prospective randomized trial of intermediate dose melphalan (100 mg/m²) vs oral melphalan/prednisone. *Blood* (102), 984 a.
66. Barlogie B, Kyle R, Anderson R, et al. (2003). Comperable survival in multiple myeloma with high dose therapy employing Mel 140 mg/m² + TBI 12 Gy autotransplant versus standart dose therapy with VBMCP and no benefit from interferone maintenance: results of Intergroup trial S 9321. *Blood* (102), 42 a.
67. Barlogie B, Jagannath S, Desikan KR, Mattox S, et al. (1999). Total therapy with tandem transplant for newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* (93), 55-65.
68. Attal M, Harousseau JL, Facon T, Guilhot F, Doyen C, et al. (2003). Single versus double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* (349), 2495-502.
69. Highby DB, Brass C, Fritzpatrick J, et al. (1982). Bone marrow transplantation in multiple myeloma: a case report with protein studies. *ASCO proceedings* , c747.
70. Gahrton G, Ringdén O, Lönnqvist B, Lindquist R, Ljungman P. (1986). Bone marrow transplantation in three patients with multiple myeloma. *Acta Med Scand* (219), 523-7.
71. Tura S, Cavo M, Bacarani M, Ricci P, Gobbi M. (1986). Bone marrow transplantation in multiple myeloma. *Scand Journal of Haematology* (36), 176-9.

72. Tricot G, Vesole DH, Jagannath S, Hilton J, Munshi N, Barlogie B. (1996). Graft-versus-myeloma effect: proof of principle. *Blood* (87), 1196-8.
73. Aschan J, Lönnqvist B, Ringdén O, Kumlien G, Gahrton G. (1996). Graft-versus-myeloma-effect. *Lancet* (348), 346.
74. Björkstrand BB, Ljungman P, Svensson H, Hermans J, Alegre A, Apperley J, Bladé J. (1996). Allogeneic bone marrow transplantation versus autologous stem cell transplantation in multiple myeloma: a retrospective case-matched study from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *Blood* (88), 4711-8.
75. Gahrton, G. (2010). Progress in allogeneic transplantation for multiple myeloma. *Eur J Haemat* (85), 279-289.
76. Kröger N, Shimoni A, Schilling G, Schwerdtfeger R, Bornhäuser M, Nagler A, Zander AR, et al. (2010) Unrelated stem cell transplantation after reduced intensity conditioning for patients with multiple myeloma relapsing after autologous transplantation. *Br J Haematol* 148(2), 323-31.
77. van de Donk NW, Kröger N, Hegenbart U, Corradini P, San Miguel JF. (2008). Prognostic factors for donor lymphocyte infusions following non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* (37), 1135-1141.
78. Kröger N, Krüger W, Renges H, Zabelina T, et al. (2001). Donor lymphocyte infusion enhances remission status in patients with persistent disease after allografting for multiple myeloma. *Br J Haematol* 1(12(2)), 421-3.
79. Ayuk F, Shimoni A, Nagler A, Schwerdtfeger R, Kiehl M, et al. (2004). Efficacy and toxicity of low-dose escalating donor lymphocyte infusion given after reduced intensity conditioning allograft for multiple myeloma. *Leukemia* (18(3)), 659-62.
80. Kröger N, Shimoni A, Zagrivnaja M, Ayuk F, Lioznov M, et al. (2004). Low-dose thalidomide and donor lymphocyte infusion as adoptive immunotherapy after allogeneic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Blood* (104(10)), 3135-3136.
81. Alici E, Konstantinidis KV, Sutlu T, Aints A, Gahrton G, Ljunggren HG, Dilber MS. (2007). Anti-myeloma activity of endogenous and adoptively transferred activated natural killer cells in experimental multiple myeloma model. *Exp Hematology* (35), 1839-1846.
82. Kröger N, Zabelina T, Ayuk F, Atanackovic D, Schieder H, Renges H, Zander A. (2006). Bortezomib after dose-reduced allogeneic stem cell transplantation for multiple myeloma to enhance or maintain remission status. *Exp Hematology* (34(6)), 770-775.
83. Blanco B, Pérez-Simón JA, Sánchez-Abarca LI, Carvajal-Vergara X, Mateos J, et al. (2006). Bortezomib induces selective depletion of alloreactive T lymphocytes and decreases the production of Th1 cytokines. *Blood* (107(9)), 3575-3583.

84. Mohty M, Attal M, Marit G, Bulabois CE, Garban F, Gratecos N, et al. (2005). Thalidomide salvage therapy following allogeneic stem cell transplantation for multiple myeloma: a retrospective study from the Intergroupe Francophone du Myélome (IFM) and the Société Française de Greffe de Moelle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC). *Bone Marrow Transplant* (35), 165-169.
85. Kröger N, Badbaran A, Lioznov M, Schwarz S, Zeschke S, Hildebrand Y, et al. (2009). Post-transplant immunotherapy with donor-lymphocyte infusion and novel agents to upgrade partial into complete and molecular remission in allografted patients with multiple myeloma. *Exp Hematol* (37), 791-798.
86. Mitsiades N, Mitsiades CS, Poulaki V, Chauhan D, Richardson PG, Hideshima T, et al. (2002) Apoptotic signaling induced by immunomodulatory thalidomide analogs in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Blood* (99(12)), 4525-30.
87. LeBlanc R, Hideshima T, Catley LP, Shringarpure R, Burger R, Mitsiades N, Mitsiades C, et al. (2004). Immunomodulatory drug costimulates T cells via the B7-CD28 pathway. *Blood* (103), 1787-90.
88. Chang DH, Liu N, Klimek V, Hassoun H, Mazumder A, Nimer SD, et al. (2006). Enhancement of ligand-dependent activation of human natural killer T cells by lenalidomide: therapeutic implications. *Blood* (108), 618-621.
89. Richardson PG, Schlossman RL, Weller E, Hideshima T, Mitsiades C, Davies F, LeBlanc R, et al. (2002). Immunomodulatory drug CC-5013 overcomes drug resistance and is well tolerated in patients with relapsed multiple myeloma. *Blood* (100), 3063-3067.
90. Zangarhi M, Tricot G, Zeldis J, et al. (2001). Results of phase I study of CC-5013 for the treatment of multiple myeloma (mm) patients who relapse after high dose therapy (HDCT). *Blood* (775a), Abstr. 3220.
91. Rajkumar SV, Hayman SR, Lacy MQ, Dispenzieri A, et al. (2005). Combination therapy with lenalidomide plus dexamethasone (Rev/Dex) for newly diagnosed myeloma. *Blood* (106), 4050-4053.
92. Delforge M, Facon T, Bravo ML, Dimopoulos MA. (2009). Lenalidomide plus Dexamethasone Has Similar Tolerability and Efficacy in Treatment of Relapsed/Refractory Multiple Myeloma Patients with or without History of Neuropathy. *Blood* (114), Abstr. 3873.
93. Rajkumar SV, Jacobus S, Callander NS, Fonseca R, Vesole DH, et al. (2010). Lenalidomide plus high-dose dexamethasone versus lenalidomide plus low-dose dexamethasone as initial therapy for newly diagnosed multiple myeloma: an open-label randomised controlled trial. *Lancet Oncology* (11), 29-37.

94. McCarthy PH, Owzar K, Anderson KC, Hofmeister CC, et al. (2010). Phase III Intergroup Study of Lenalidomide Versus Placebo Maintenance Therapy Following Single Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation (AHSCT) for Multiple Myeloma: CALGB 100104. *Blood* (116), abstr 37.
95. Attal M, Lauwers VC, Marit G, Caillot D, et al. (2010). Maintenance Treatment with Lenalidomide After Transplantation for MYELOMA: Final Analysis of the IFM 2005-02. *Blood* (116), abstr 310.
96. Avet-Loiseau H, Attal M, Moreau P, Charbonnel C, Garban F, et al. (2007). Genetic abnormalities and survival in multiple myeloma: the experience of the Intergroupe Francophone du Myélome. *Blood* (109), 3489-3495.
97. van Dorp S, Meijer E, van de Donk NW, Dekker AW, Nieuwenhuis K, Minnema MC, et al. (2007). Single-centre experience with nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma: prolonged remissions induced. *Neth J Med* (65), 178-184.
98. Bruno B, Rotta M, Patriarca F, Mattei D, Allione B, Carnevale-Schianca F, et al. (2009). Nonmyeloablative allografting for newly diagnosed multiple myeloma: the experience of the Gruppo Italiano Trapianti di Midollo. *Blood* (113(14)), 3375-3382.
99. Minnema MC, Kneppers E, van Der Holt R, Kersten MJ, et al. (2010). Lenalidomide Maintenance Following Non Myeloablative Allogeneic Stem Cell Transplantation In Patients with Multiple Myeloma: Results of the HOVON 76 Study. *Blood* (116), abstr 3502.
100. Bladé J, López-Guillermo A, Bosch F, Cervantes F, Reverter JC, Montserrat E, Rozman C. (1994). Impact of response to treatment on survival in multiple myeloma: results in a series of 243 patients. *Br J Haemat* (88(1)), 117-121.
101. Oivanen TM, Kellokumpu-Lehtinen P, Koivisto AM, Koivunen E, Palva I. (1999). Response level and survival after conventional chemotherapy for multiple myeloma: a Finnish Leukaemia Group study. *Eur J Haemat* (62(2)), 109-116.
102. Kyle RA, Leong T, Li S, Oken MM, Kay NE, Van Ness B, Greipp PR. (2006). Complete response in multiple myeloma: clinical trial E9486, an Eastern Cooperative Oncology Group study not involving stem cell transplantation. *Cancer* (106(9)), 1958-1966.
103. Barlogie B, Anaissie E, Haessler J, van Rhee F, Pineda-Roman M, Hollmig K, et al. (2008). Complete remission sustained 3 years from treatment initiation is a powerful surrogate for extended survival in multiple myeloma. *Cancer* (113(2)), 355-359.
104. Gandhi AK, Kang J, Capone L, Parton A, Wu L, Zhang LH, Mendy D, et al. (2010). Dexamethasone synergizes with lenalidomide to inhibit multiple myeloma tumor growth, but reduces lenalidomide-induced immunomodulation of T and NK cell function. *Curr Cancer Drug Targets* (10(2)), 155-167.

105. Ludwig H, Durie BG, Bolejack V, Turesson I, Kyle RA, Blade J, Fonseca R, Dimopoulos M, et al. (2008). Myeloma in patients younger than age 50 years presents with more favorable features and shows better survival: an analysis of 10 549 patients from the International Myeloma Working Group. *Blood* (111(8)), 4039-47.
106. Durie BG, Harrousseau JL, Miguel JS, et al (2006). International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* (20), 1467-1473.
107. de Lavallade H, El-Cheikh J, Faucher C. (2008). Reduced-intensity conditioning allogeneic SCT as salvage treatment for relapsed multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant* (41), 953-960.
108. Richardson PG, Weller E, Lonial S, Jakubowiak AJ, et al. (2010). Lenalidomide, bortezomib and dexamethasone combination therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* (116), 679-686
109. Bence Jones H. (1874). Chemical pathology. *Lancet* (2), 88-92
110. Wright JH. (1900). A case of multiple myeloma. *A Trans Ass Am Phys* (15), 137-147
111. Landgren O, Kyle RA, Pfeiffer RM, et al. (2009). Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood* (113); 5412-17
112. Giuliani N, Bataille R, Mancini C, Lazzaretti M, Barillé S. (2001) Myeloma cells induce imbalance in the osteoprotegerin/osteoprotegerin ligand system in the human bone marrow environment. *Blood* (98), 3527-33
113. Giuliani N, Colla S, Morandi F, Lazzaretti M, Sala R, Bonomini S, et al. (2005) Myeloma cells block RUNX2/CBFA1 activity in human bone marrow osteoblast progenitors and inhibit osteoblast formation and differentiation. *Blood* (106(7)), 2472-83.
114. No authors. (1968) Proposed guidelines for protocol studies. IV. New agents in the treatment of chronic granulocytic leukemia. Prepared by a Committee of the Chronic Leukemia--Myeloma Task Force, National Cancer Institute. *Cancer Chemotherapy Rep* 3 (1), 53-62.
115. Bladé J, Samson D, Reece D, Apperley J, Björkstrand B, Gahrton G, et al (1998) Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. *Br J Haematol* (102(5)), 1115-23.

12. Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei allen bedanken, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben.

Insbesondere geht mein Dank an:

Herrn Prof. Dr. N. Kröger danke ich für die Möglichkeit, die vorliegende Dissertation an der Klinik und Poliklinik für Stammzelltransplantation zu erarbeiten.

Ebenso bedanke ich mich bei ihm für die Bereitstellung des Themas. Er gab mir Gelegenheit und tatkräftige fachliche Unterstützung dieses interessante Thema anzugehen und auf diesem Gebiet neue Erkenntnisse und Ergebnisse unter seiner Verantwortung zu erarbeiten. Ohne die unzähligen Anregungen und die ständige Bereitschaft, mir bei Problemen zur Seite zu stehen, wäre die Dissertation nicht in dieser Form möglich gewesen.

Herrn Prof. A. Zander gilt meinen Dank für die zeitlich lange und unermüdliche Unterstützung.

Herrn Dr. T. Stübiger gilt mein Dank für die exzellente klinische und wissenschaftliche Zusammenarbeit. Er ermöglichte mir das Einbringen der immunologischen Daten und half wesentlich bei dem Verständnis dieser Sachverhalte.

Marion Heinzemann und vielen Kollegen der Klinik für Stammzelltransplantation möchte ich für die immer wieder aufmunternden Worte und der bereitwilligen Hilfe danken.

Dennis, wann und wie immer Du für mich da warst, danke für Deine Unterstützung und für Vieles mehr.

Meinen Eltern gilt der größte Dank. Sie ermöglichten mir den Weg zu meinem Traumberuf und standen mir auf dem langen Weg zur Vollendung dieser Arbeit immer mit aufmunternden Gesten zur Seite.

13. Lebenslauf

Name: Christine Wolschke

Geburtsdatum: 12.01.1973

Geburtsort: Lübben

Schulbildung: 1979 bis 1983 4. Oberschule Lübben
1983 bis 1989 2. Oberschule Cottbus
1989 bis 1991 2. Erweiterte Oberschule
Cottbus, Abitur 1991

Medizinstudium: 1992 bis 2000 an der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg
Approbation am 01.01.2002

Fachliche Weiterbildung: 2000 bis 2004 wissenschaftliche Assistentin in
der Abteilung für Onkologie/ Hämatologie des
UKE Hamburg

Seit 01/2005 wissenschaftliche Assistentin in
der Klinik und Poliklinik für
Stammzelltransplantation, Onkologisches
Zentrum, UKE Hamburg

02/2011 Prüfung zur Fachärztin für Innere
Medizin

14. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Christine Wolschke