

Diplomarbeit

**Untersuchung prognostischer Faktoren beim
follikulären Lymphom**

eingereicht von

Jan Luca Hagenah

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für Hämatologie

unter der Anleitung von

ao.Univ.-Prof. Dr.med.univ. Peter Neumeister

und

Drⁱⁿ. med. univ. Barbara Uhl

Graz, 30.01.2020

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 30.01.2020

Jan Luca Hagenah eh

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Drⁱⁿ. med. univ. Barbara Uhl und Prof. Dr. Peter Neumeister für die Bereitstellung des Themas sowie die Betreuung und Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit bedanken. Diese Arbeit hat mir nicht nur die Möglichkeit gegeben meine Grundlagen der wissenschaftlichen Arbeit noch einmal aufzufrischen, sondern auch einen interessanten Einblick in ein Fach gegeben, was sonst vielleicht zu wenig Beachtung von mir bekommen hätte.

Ein Dank geht auch raus an die wunderbare, wenn auch wechselnde, WG-Besetzung aus der S23, die über die Jahre wunderbar demonstriert hat, was das Gegenteil von einer Zweck-WG ist. Maßgeblich beteiligt waren daran auch Julika und Jesi, ohne deren unterstützende Vorbildfunktion ich wahrscheinlich niemals in Graz gelandet wäre. Danke!

Für besonderes außer-universitäres Engagement möchte ich mich bei den Jungs bedanken, die immer und immer wieder bewiesen haben, dass „halbwild“ nicht nur Auslegungssache, sondern auch ein Lebensmotto ist!

Ganz besonders möchte ich mich auch bei meiner Familie bedanken, die mir dieses Studium überhaupt erst ermöglicht und mich dabei immer unterstützt und ermutigt hat. Für die finanzielle, fachliche, emotionale – und all die Unterstützung, die man gar nicht in Worte fassen kann!

Danke!

Zusammenfassung

Einleitung: Das folliculäre Lymphom ist das häufigste indolente Non-Hodgkin Lymphom in Westeuropa und den USA. Mit seinem sehr heterogenen Krankheitsverlauf ist es schwierig zum Diagnosezeitpunkt eine Aussage über die Prognose für die PatientInnen zu treffen, weshalb zur Risikoabschätzung verschiedene klinische Scores wie der FLIPI-Score entwickelt wurden. Zuletzt wurden für die Klassifikation und Prognostik auch vermehrt molekulargenetische Marker einbezogen. Ziel dieser Arbeit war es, die routinemäßig erhobenen Parameter aus dem PatientInnenkollektiv des LKH Graz auf ihre prognostische Relevanz hinsichtlich des Outcome zu untersuchen.

Material und Methoden: Die molekulargenetischen und klinischen Daten von 238 PatientInnen des LKH Graz wurden in eine Datenbank überführt und mittels Excel und SPSS in einer retrospektiven Analyse ausgewertet. Die Assoziation mit POD24 wurde mit Hilfe von Kreuztabellen und dem Chi-Quadrat-Test untersucht. Das Gesamtüberleben sowie das progressionsfreie Überleben wurden mittels Kaplan-Meier-Kurven und anschließendem Log-rank-Test sowie einer univariaten Cox-Regression überprüft.

Ergebnisse: Es konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem negativen Expressionsgrad für CD3 und einem positiven POD24-Wert gefunden werden ($p=0,044$). In den Kaplan-Meier-Kurven zeigte sich ein signifikant besseres Gesamtüberleben (OS) für einen hohen Expressionsgrad von CD3 ($p<0,001$) und CD5 ($p=0,029$) sowie für hohe und mittlere Expressionsgrade von CD10 ($p<0,001$). Ein signifikant niedrigeres OS war bei positiven MUM-1 Expressionsgrad ($p=0,006$) sowie bei negativen CD23 ($p=0,034$) und CD8 ($p=0,003$) Expressionsgraden zu beobachten. Ein signifikant längeres progressionsfreies Überleben (PFS) zeigte sich für einen stark positiven Expressionsgrad von CD3 ($p<0,001$) und CD79a ($p=0,034$). Ein positiver Expressionsgrad von MUM1 war mit einem signifikant kürzeren PFS assoziiert ($p=0,012$). In der univariaten Cox-Regression konnten die Ergebnisse für das OS bei CD3 ($p<0,001$), CD10 ($p=0,014$; $p<0,001$), CD23 ($p=0,026$) und MUM-1 ($p=0,008$) bestätigt werden. Für das PFS bestätigten sich die Ergebnisse von CD3 ($p<0,001$), MUM-1 ($p=0,009$) und CD79a ($p=0,049$).

Diskussion: Bei der Evaluierung der erhobenen molekulargenetischen Daten konnten verschiedenen Marker identifiziert werden, deren Expressionsgrade eine Assoziation mit dem Outcome der PatientInnen aufwiesen. Im Kontext der Risikoabschätzung und

prognostischen Relevanz erwies sich MUM-1 als vielversprechendster der untersuchten Marker und damit als Kandidat für die die potenzielle Einbeziehung in zukünftige Scores zur Risikoabschätzung.

Abstract

Introduction: Follicular lymphoma is the most common indolent lymphoma in Europe and the United States. With its heterogenous disease progress it is difficult to make a prediction for patients prognosis at the time of diagnosis. Therefore several clinical scores like the FLIPI-score have been developed in the past. Recently there has been an increased use of molecular genetic markers for classification and prognosis of the disease. Aim of this study was to evaluate the routinely acquired parameters of the patient population of LKH Graz regarding their prognostic relevance for the patient outcome.

Material and Methods: Molecular genetic and clinical data of 238 patients of LKH Graz were transferred into a database and retrospectively analyzed with Excel and SPSS. Cross tabulation and chi-square test were used to analyze the association with POD24. Overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) were analyzed with Kaplan-Meier curves, log-rank test and Cox-regression.

Results: Cross tabulation showed a significant association between missing CD3-expression and positive POD24 ($p=0,044$). A significant difference in Kaplan-Meier-curves for OS was found in favor of strong expression of CD3 ($p<0,001$) and CD5 ($p=0,029$) and also in favor of strong and intermediate expression of CD10 ($p<0,001$). Positive expression of MUM-1 ($p=0,006$), lack of expression of CD23 ($p=0,003$), and missing expression of CD8 ($p=0,003$) were all associated with a lower OS. Kaplan-Meier-curves for PFS showed a favorable outcome for strong Expression of CD3 ($p<0,001$) and CD79a ($p=0,034$). Expression of MUM-1 was associated with a lower PFS ($p=0,012$). Univariate Cox-regression confirmed these findings regarding OS for CD3 ($p<0,001$), CD10 ($p=0,014$; $p<0,001$), CD23 ($p=0,026$) and MUM-1 ($p=0,008$). Regarding PFS the results were confirmed for CD3 ($p<0,001$), MUM-1 ($p=0,009$) and CD79a ($p=0,049$).

Discussion: With the evaluation of the compiled molecular genetic data we could identify several markers with an association between expression and patient outcome. In context of prognostic relevance MUM-1 showed to be the most promising candidate of this study for a potential use in future scores for risk assessment.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|--------|
| Danksagung..... | ii |
| Zusammenfassung..... | iii |
| Abstract..... | v |
| 1. Einleitung..... | - 1 - |
| 1.1. Ziel der Arbeit | - 1 - |
| 1.2. Lymphozyten..... | - 1 - |
| 1.2.1. Reifung von Lymphozyten | - 2 - |
| 1.2.2. B-Lymphozyten..... | - 3 - |
| 1.3. Non-Hodgkin Lymphome | - 4 - |
| 1.3.1. Epidemiologie | - 5 - |
| 1.3.2. Pathophysiologie, Genetik, Histopathologie | - 6 - |
| 1.3.3. Klinik, Staging, Restaging | - 10 - |
| 1.4. Follikuläres Lymphom | - 12 - |
| 1.4.1. Epidemiologie | - 12 - |
| 1.4.2. Ätiologie / Risikofaktoren | - 12 - |
| 1.4.3. Morphologie | - 13 - |
| 1.4.4. Grading | - 13 - |
| 1.4.5. Immunphänotyp..... | - 14 - |
| 1.4.6. Pathophysiologie / Pathogenese..... | - 15 - |
| 1.4.7. Transformation in ein Aggressives Lymphom | - 17 - |
| 1.4.8. Stadieneinteilung..... | - 18 - |
| 1.4.9. Therapie..... | - 19 - |
| 1.4.9.1. Stadium I und II | - 20 - |
| 1.4.9.2. Stadium III und IV | - 21 - |
| 1.4.9.3. Erstlinientherapie..... | - 21 - |
| 1.4.9.4. Rezidiv | - 22 - |
| 1.4.10. Prognostische Faktoren | - 23 - |
| 2. Material und Methoden..... | - 25 - |
| 2.1. Untersuchte Parameter | - 25 - |
| 2.2. Statistische Analyse | - 26 - |
| 3. Ergebnisse | - 27 - |
| 3.1. Deskriptive Analyse..... | - 27 - |
| 3.1.1. Charakterisierung der Studienpopulation..... | - 27 - |

| | | |
|--------|--|--------|
| 3.1.2. | Histologische Subgruppen | - 30 - |
| 3.1.3. | Ann-Arbor-Stadien..... | - 30 - |
| 3.1.4. | FLIPI | - 31 - |
| 3.1.5. | Molekulargenetische/immunhistochemische Marker | - 31 - |
| 3.2. | Kreuztabellen | - 34 - |
| 3.2.1. | Zusammenhang zwischen molekulargenetischen Markern und POD24 | - 34 - |
| 3.3. | Kaplan-Meier-Kurven..... | - 35 - |
| 3.3.1. | Gesamtüberleben | - 35 - |
| 3.3.2. | Progressionsfreies Überleben (PFS) | - 41 - |
| 3.4. | Cox-Regression | - 44 - |
| 3.4.1. | Gesamtüberleben (OS) | - 44 - |
| 3.4.2. | Progressionsfreies Überleben (PFS) | - 46 - |
| 4. | Diskussion..... | - 48 - |
| 5. | Literaturverzeichnis..... | - 56 - |

Abkürzungen

| | |
|-----------|--|
| AID | Activation-induced cytidine deaminase; Aktivierungsinduzierte Cytidin-Desaminase |
| ALK | Anaplastic lymphoma kinase; Anaplastische Lymphomkinase |
| BAK | Bcl-2 homologous antagonist/killer |
| BAX | Bcl-2-associated X protein |
| BCL | B-cell lymphoma |
| BIM | Bcl-2 interacting mediator of cell death |
| CD | Cluster of Differentiation |
| CHOP | Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin, Predniso(lo)n |
| CREB | cAMP response element-binding protein |
| CREBBP | CREB-Binding Protein; CREB-Bindeprotein |
| CVP | Cyclophosphamid, Vincristin, Predniso(lo)n |
| CXCR4 | CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4 |
| DGHO | Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie |
| DLBCL | Diffuse large B-cell lymphoma; diffus großzelliges B-Zell-Lymphom |
| DNA | Deoxyribonucleic acid, Desoxyribonukleinsäure |
| EBV | Epstein-Barr Virus |
| EP300 | E1A-associated protein p300 |
| EPHA7 | Ephrin type-A receptor 7 |
| EZH2 | Enhancer of Zeste Homolog 2 |
| FDG | Fluorodeoxyglukose |
| FFTF | Freedom from treatment failure; Freiheit von Therapieversagen |
| FL | Follikuläres Lymphom |
| FLIPI | Follicular Lymphome Prognostic Index |
| GCET1 | germinal center B cell-expressed transcript-1 |
| HIV | Human Immunodeficiency Virus |
| HLA | Human Leukocyte Antigen |
| HPF | High Power Field; Hauptgesichtsfeld |
| Ig | Immunglobulin |
| IL | Interleukin |
| IPI | International Prognostic Index |
| JAK | Janus Kinase |
| KMT2D | Histone-lysine N-methyltransferase 2D |
| LDH | Laktatdehydrogenase |
| LK | Lymphknoten |
| LMO2 | LIM Domain Only Protein 2 |
| mAb | Monoclonal Antibody; monoklonaler Antikörper |
| MALT | Mucosa associated lymphoid tissue |
| MUM1 | Multiple Myeloma 1; multiples-Myelom Onkogen 1 |
| NHL | Non Hodgkin Lymphom |
| NK-Zellen | Natürliche Killerzellen |
| Obi | Obinutuzumab |
| OEGHO | Österreichische Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie |
| OS | Overall Survival; Gesamtüberleben |
| PET-CT | Positronen Emissions-Tomographie Computertomographie |
| PFS | Progression Free Survival; Progressionsfreies Überleben |
| POD24 | Progression of Disease within 2 years; Krankheitsprogression innerhalb 2 Jahren |
| PRDM1 | PR Domain 1 |
| PRIMA-PI | PRIMA-Prognostic-Index |
| PUMA | p53 upregulated modulator of apoptosis |
| R | Rituximab |
| RNA | Ribonucleic Acid; Ribonucleinsäure |
| SGH+SSH | Schweizerischen Gesellschaft für Hämatologie |
| STAT | Signal Transducers and Activators of Transcription |
| TNFRSF14 | Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Member 14 |
| TP53 | Tumor Protein 53 |
| TZR | T-Zell-Rezeptor, T-Zell-Rezeptor |
| WHO | World Health Organization; Weltgesundheitsorganisation |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|---|--------|
| Abbildung 1 Erstlinientherapie des folliculären Lymphoms (21) | - 20 - |
| Abbildung 2 Risikoprognose nach PRIMA-PI (77) | - 25 - |
| Abbildung 3 Geschlechterverteilung der Studienpopulation | - 27 - |
| Abbildung 4 Altersverteilung zum Diagnosezeitpunkt | - 28 - |
| Abbildung 5 Beobachtungszeitraum der Kohorte | - 29 - |
| Abbildung 6 POD24 in der Studienpopulation..... | - 30 - |
| Abbildung 7 Erhobene molekulargenetische Marker. Anzahl erhobener Werte für die jeweiligen Expressionsgrade (1*positiv; 2*positiv; 3*positiv; negativ) | - 32 - |
| Abbildung 8 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD3 ($n_{\text{gesamt}}=227$; $n_0=4$; $n_1=6$; $n_3=217$)..... | - 36 - |
| Abbildung 9 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD5 ($n_{\text{gesamt}}=196$; $n_0=5$; $n_1=5$; $n_3=186$)..... | - 37 - |
| Abbildung 10 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD10 ($n_{\text{gesamt}}=223$; $n_0=17$; $n_1=21$; $n_2=3$; $n_3=182$) | - 38 - |
| Abbildung 11 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD23 ($n_{\text{gesamt}}=185$; $n_0=5$; $n_1=10$; $n_3=185$) | - 39 - |
| Abbildung 12 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von MUM-1 ($n_{\text{gesamt}}=58$; $n_0=46$; $n_1=7$; $n_3=5$) | - 40 - |
| Abbildung 13 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD8 ($n_{\text{gesamt}}=14$; $n_0=1$; $n_1=3$; $n_2=1$; $n_3=9$) | - 41 - |
| Abbildung 14 Progressionsfreies Überleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD3 ($n_{\text{gesamt}}=227$; $n_0=4$; $n_1=6$; $n_3=217$) | - 42 - |
| Abbildung 15 Progressionsfreies Überleben bei verschiedenen Expressionsgraden von MUM-1 ($n_{\text{gesamt}}=58$; $n_0=46$; $n_1=7$; $n_3=5$)..... | - 43 - |
| Abbildung 16 Progressionsfreies Überleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD79a ($n_{\text{gesamt}}=39$; $n_1=3$; $n_3=36$) | - 44 - |

Tabellenverzeichnis

| | |
|---|--------|
| Tabelle 1 Immunglobulinklassen | - 4 - |
| Tabelle 2 WHO-Klassifikation von Non-Hodgkin Lymphom Subtypen (4,16)..... | - 6 - |
| Tabelle 3 Deauville Score: Punkte in Abhängigkeit der FDG-Aufnahme im PET-CT als Maß für das Ansprechen der PatientInnen auf die Therapie (20)..... | - 12 - |
| Tabelle 4 Stadieneinteilung nach Ann-Arbor-Klassifikation (21,52)..... | - 18 - |
| Tabelle 5 Risikoabschätzung anhand des FLIPI-Scores (21)..... | - 24 - |
| Tabelle 6 Erhobene molekulargenetische/immunhistochemische Marker..... | - 33 - |
| Tabelle 7 Verarbeitete Fälle der POD24 Kreuztabellen | - 33 - |
| Tabelle 8 Kreuztabelle CD3 und POD24..... | - 34 - |
| Tabelle 9 Monte-Carlo-Test zur Kreuztabelle CD3 und POD24 | - 35 - |
| Tabelle 10 Univariate Cox-Analyse der Auswirkungen der Expressionsgrade der molekulargenetischerer Marker auf das OS. Signifikante Werte sind fett gedruckt. (HR = Hazard-Ratio; CI = 95%-Konfidenzintervall der Hazard-Ratio) | - 44 - |
| Tabelle 11 Univariate Cox-Analyse der Auswirkungen der Expressionsgrade der molekulargenetischen Marker auf das PFS. Signifikante Werte sind fett gedruckt. (HR = Hazard-Ratio; CI = 95%-Konfidenzintervall der Hazard-Ratio) | - 46 - |

1. Einleitung

1.1. Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist die Evaluierung von molekulargenetischen Markern, welche standardmäßig bei Diagnosestellung des folliculären Lymphom erhoben werden, hinsichtlich ihres prognostischen Werts im Hinblick auf den Verlauf der Erkrankung. Da zur Risikoabschätzung zum Zeitpunkt der Diagnose in erster Linie der FLIPI-Score (siehe Kapitel 1.4.10) verwendet wird, welcher auf klinischen Parametern beruht, stellt sich die Frage, ob sich Scores dieser Art durch das Einbringen molekulargenetischer Marker verbessern lassen. Dies soll anhand der PatientInnenkohorte der klinischen Abteilung für Hämatologie geschehen, deren histopathologischen Daten aus dem Kliniksystem (MEDOCS) erhoben und in einer Datenbank zur Auswertung abgespeichert werden. Dabei sollen molekulargenetische Marker identifiziert werden, welche einen Einfluss auf das Outcome (Gesamtüberleben, progressionsfreies Überleben, POD24) der PatientInnen haben und sich potenziell in Scores überführen lassen könnten. Sollte sich langfristig so die Risikoerkennung bei PatientInnen mit folliculärem Lymphom verbessern lassen, könnten diese PatientInnen gegebenenfalls von einer angepassten Therapie profitieren können.

1.2. Lymphozyten

Als Bestandteil des adaptiven oder erworbenen Immunsystems machen Lymphozyten bei einem erwachsenen Menschen mit einer Konzentration von 1000-4800 Zellen pro μl etwa 25-45% der Leukozyten im Blut aus (1). Bei Kindern liegt der Anteil bei über 50 % (2). Histologisch weisen sie einen kugelförmigen Zellkern mit einem dünnen Zytoplasmaraum auf. Ihr Durchmesser liegt bei etwa 7-11 μm . Die Reifung der Lymphozyten findet im primären lymphatischen Gewebe statt. B-Lymphozyten machen etwa 15% der Lymphozyten im Blut aus (2). Sie reifen im Knochenmark, während die Reifung von T-Lymphozyten, im Thymus stattfindet (1). Im Blut machen diese wiederum einen Anteil von etwas 70-80% der Lymphozyten aus (2). Nach der Reifung aggregieren Lymphozyten in den sekundären lymphatischen Geweben wie Lymphknoten, Milz, Tonsillen, Peyer Plaques und Appendix (1).

1.2.1. Reifung von Lymphozyten

Alle Lymphozyten entstammen der hämatopoetischen Stammzellreihe, welche sich aus den pluripotenten Stammzellen im Knochenmark ableitet. Die Reifung der Lymphozyten hängt von Interleukinen ab (1).

Bei der T-Zell-Reifung spielen insbesondere IL-1, IL-2, IL-4, IL-6 und IL-7 eine Rolle (1). Die verschiedenen Stadien der Zellen lassen sich über zelluläre Oberflächenmerkmale (CD; „Cluster of Differentiation“) unterscheiden (2). Aus T-Vorläuferzellen, die weder einen T-Zell-Rezeptor (TZR) noch CD4 oder CD8 exprimieren, entstehen in der subkapsulären Region des Thymus doppelt positive Thymozyten. Diese mit einem TZR ausgestatteten Zellen weisen dann sowohl CD4 als auch CD8 an ihrer Oberfläche auf. In der Rindenregion des Thymus unterlaufen diese dann eine positive Selektion, bei der eine fehlende Erkennung des eigenen MHC zur Apoptose führt. Dort verlieren die Zellen auch jeweils eines der beiden CD-Merkmale und werden damit zu einfach positiven Thymozyten. Die so differenzierten CD4⁺-Thymozyten und CD8⁺-Thymozyten werden dann einer negativen Selektion zugeführt, bei der alle Thymozyten, welche körpereigene Antigene erkennen, zur Apoptose gebracht werden. Die so doppelt selektionierten Thymozyten reifen weiter und wandern über efferente Lymphgefäße in die sekundären lymphatischen Organe, wo sie als naive T-Lymphozyten auf ihre Aktivierung warten. Im Rahmen der spezifischen Immunabwehr erkennen diese naiven T-Lymphozyten dann mit ihrem TZR die von MHC-Molekülen präsentierten Antigene und werden dadurch aktiviert. Es folgt eine klonale Expansion und Differenzierung in T-Helferzellen und zytotoxische T-Killerzellen (1).

Im Knochenmark reifen B-Stammzellen unter dem Einfluss von IL-1, IL-6 und IL-7 zu Prä-B-Zellen heran, die sich dann unter dem Einfluss von weiteren Interleukinen (IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6) weiter zu naiven B-Zellen differenzieren. Diese zeichnen sich durch einen B-Zell-Rezeptor auf der Oberfläche aus, einem membranständigen Antikörper, der sich nur durch eine Aminosäuresequenz am C-terminalen Ende der H-Kette von einem löslichen Antikörper unterscheidet. Auch naive B-Zellen unterlaufen eine negative Selektion, bei der die Präsentation verschiedenster körpereigener Antigene stattfindet. Eine Erkennung durch den B-Zell-Rezeptor führt dabei zur Apoptose. Nicht aussortierte B-Zellen wandern dann als reife naive B-Zellen in die sekundären lymphatischen Organe (1).

1.2.2.B-Lymphozyten

B-Lymphozyten sind 6-8 µm große Zellen des adaptiven Immunsystems. Als naive B-Zellen weisen sie einen runden Zellkern mit einem schmalen Zytoplasmasaum auf. Bei reifen B-Effektorzellen, auch Plasmazellen genannt, hat der Zellkern ein sogenanntes Radspeichenmuster und das Zytoplasma ist stark basophil. Diese Zellen haben als Antikörper-Produzent einen hohen Anteil an Ribosomen. An ihrer Oberfläche exprimieren B-Lymphozyten eine Auswahl an charakteristischen Markern, über deren Kombination sie sich als solche identifizieren lassen. Dazu gehören CD9, CD10, CD19, CD20, CD22, CD79a/b, HLA I und HLA II (3).

Es existieren zwei unterschiedliche Mechanismen der Aktivierung von B-Zellen. Bei der T-Zell unabhängigen B-Zell-Aktivierung erfolgt die Bindung eines Antigens an den B-Zell-Rezeptor, was zur Proliferation der B-Zelle und Differenzierung zur Plasmazelle führt. Diese Plasmazelle produziert dann spezifische Antikörper. Die T-Zell-unabhängige B-Zell-Aktivierung ist die schwächere Form der Immunantwort.

Bei der T-Zell-abhängigen B-Zell-Aktivierung wird ein dem B-Lymphozyten präsentiertes Antigen über den B-Zell-Rezeptor in die Zelle aufgenommen und anschließend auf MHC-II-Molekülen an der Oberfläche der Zelle präsentiert. Sobald die passende T-Helferzelle dieses Antigen erkennt, beginnt sie mit der Produktion von IL-2, wodurch die B-Zelle zur Proliferation und zur Differenzierung zur Plasmazelle angeregt wird. Die Stimulation der B-Lymphozyten durch die T-Helferzellen führt zu einer Reifung der Antikörper, wodurch die Affinität zum spezifischen Antigen steigt. Dabei findet auch ein sogenannter Klassensprung statt. Statt IgM-Antikörpern setzt die Plasmazelle dann vor allem optimierte IgG- und IgE-Antikörper frei. IgG-Antikörper können durch Punktmutationen in den variablen Bereichen modifiziert werden. Auf dieser somatischen Hypermutation basiert die sogenannte Affinitätsreifung. Ein kleiner Teil der Plasmazellen kann als B-Gedächtniszelle viele Jahre im Körper überleben, dadurch kommt es bei einer erneuten Infektion zu einer schnelleren und effektiveren Immunantwort (1).

Alle Antikörper basieren auf einem gleichen Grundaufbau. Sie bestehen aus zwei leichten L-Ketten und zwei schweren H-Ketten, welche untereinander durch Disulfidbrücken verbunden sind. Durch die schweren Ketten wird die Immunglobulinklasse bestimmt (Tabelle 1). Diese schweren Ketten bestehen aus einem langen, konstanten Teil (Fc) und einem hypervariablen Anteil (V_H). Letzterer bildet zusammen mit der hypervariablen

Domäne der L-Kette (V_L) und den C_{H1} - und C_L -Domänen das antigenbindende Fragment (Fab). An dieses können pro Antikörper mindestens 2 Antigene binden, je nach Antikörperkonfiguration aber auch mehr. Die von der Plasmazelle sezernierten Antikörper besitzen bei der Immunabwehr 3 Kernaufgaben. Bei der Neutralisation stellen Antikörper durch Bindung eine Blockade da, welche dadurch pathogene Eigenschaften verhindern kann. Die Opsonisierung ist die Kennzeichnung durch die Anlagerung von Antikörpern, durch die es Leukozyten möglich ist, Pathogene zu erkennen und zu phagozytieren. Des Weiteren können Antikörper das Komplementsystem aktivieren, was zum Beispiel zu einer Lyse von Bakterien führen kann (1).

Tabelle 1 Immunglobulinklassen

| H-Kette | Immunglobulinklasse |
|------------|---------------------|
| α | IgA |
| δ | IgD |
| ϵ | IgE |
| γ | IgG |
| μ | IgM |

1.3. Non-Hodgkin Lymphome

Lymphome werden traditionell in Hodgkin und Non-Hodgkin Lymphome (NHL) eingeteilt. Dabei machen erstere mit nur 10% den weitaus kleineren Anteil aus. Die Gruppe der Non-Hodgkin Lymphome ist eine sehr heterogene Gruppe an Erkrankungen, die jedes Organ des Körpers betreffen können und sich daher mit einer großen Bandbreite an Symptomen präsentieren können. Lymphome entstehen aus Lymphozyten, die sich in verschiedenen Stadien befinden. Daher hängt die Charakteristik des Subtyps von der Zelle ab, aus dem das jeweilige Lymphom entstanden ist (4). Klinisch werden die Lymphome klassisch in „low-grade“ und „high-grade“ Lymphome unterteilt. Dabei sind die „low-grade“ Lymphome relativ indolent, werden entsprechend ihres Erkrankungsstadiums behandelt und sprechen besser auf Chemotherapie an, während high-grade Lymphome aggressiver und dringender behandlungsbedürftig, aber dafür tendenziell eher heilbar sind

als indolente Lymphome (3). Das zunehmende Verständnis der zu Grunde liegenden zellulären Prozesse und die neuen diagnostischen Methoden haben in den letzten Jahren zu einer deutlichen Verbesserung des PatientInnenmanagements geführt (4).

1.3.1.Epidemiologie

Die Anzahl der Non-Hodgkin Lymphome hat sich insbesondere in Europa und Nordamerika bis in die 1990er Jahre deutlich erhöht und dann stabilisiert (4). Mit einer Inzidenz von etwa 17 in 100.000 stellen sie in manchen Ländern die 5. häufige maligne Tumorerkrankung dar (3). In den USA wurden für 2016 etwa 72.580 geschätzt, in Deutschland erwartete man etwa 18.000 neue Fälle (4,5). Insgesamt sind Non-Hodgkin Lymphome überwiegend B-Zell-Lymphome. Die relative Häufigkeit der verschiedenen Subtypen variiert dabei geographisch. So zeigte sich einerseits eine höhere Inzidenz von low-grade B-Zell-Lymphomen in Regionen mit höherem Einkommen als in Regionen mit mittleren und niedrigen Einkommen, andererseits in Regionen mit niedrigen und mittleren Einkommen eine höhere Inzidenz von high-grade B-Zell-Lymphomen (6). Ein weiteres Beispiel ist das NK/T-Zell-Lymphom vom nasalen Typ, welches in Ostasien deutlich häufiger vorkommt, als in anderen Regionen. Obwohl extranodale NK/T-Zell-Lymphome eine starke Assoziation mit einer Epstein-Bar-Virus-Infektion aufweisen, wird hier ein deutlicher Hinweis auf einen Einfluss unterschiedlicher Host-Anfälligkeit gesehen (4). In Japan gleicht sich das Verteilungsmuster der Subtypen langsam dem der USA an (7).

Zu den individuellen Risikofaktoren für das Non-Hodgkin Lymphom werden Medikamente, Infektionen, Lebensstil, Genetik, Abstammung, Familiengeschichte und Beruf gezählt. Für das DLBCL ist Übergewicht als Risikofaktor bekannt (4). Rauchen wurde als Risikofaktor nur für das folliculäre Lymphom berichtet (8). Ein erhöhtes Risiko für NHL weisen auch PatientInnen mit Autoimmunerkrankung wie rheumatoider Arthritis, Sjögren-Syndrom oder systemischem Lupus Erymatoides auf. Dabei ist nicht bekannt, ob die eigentliche Erkrankung oder die jeweilige Therapie für das erhöhte Risiko verantwortlich ist. Ein erhöhtes Risiko wurde ebenfalls bei immunsupprimierten PatientInnen, zum Beispiel nach Organtransplantation oder bei HIV festgestellt (4). Auch einige virale und bakterielle Infektionen sind mit einem Lymphom-Subtyp assoziiert. Die meisten MALT-Lymphome werden von *Helicobacter pylori* ausgelöst, EBV-Infektionen gehen mit einem erhöhten Risiko für Burkitt-Lymphom und NK/T-Zell Lymphom einher, und Hepatitis-C ist mit Marginalzonenlymphom der Milz und DLBCL assoziiert (9–12).

Bei der Entwicklung von Marginalzonenlymphom wird eine Erhöhung des Risikos durch *Borellia burgdorferi* und *Chlamydia psittacosis* vermutet (13,14). *Coxiella burnetii* wird als Risikofaktor mit DLBCL und folliculären Lymphom assoziiert (15).

1.3.2. Pathophysiologie, Genetik, Histopathologie

Die Klassifikation der Non-Hodgkin Lymphome setzt sich aus einem großen Spektrum von Krebsarten des Immunsystems zusammen. Dabei stammen 85-90% der NHL von B-Zellen ab, nur ein kleiner Teil entstammt T-Zellen oder NK-Zellen. Der aktuelle Ansatz der Klassifizierung der NHL ist die WHO-Klassifizierung, welche in Tabelle 2 dargestellt ist. Sie orientiert sich an Informationen aus dem klinischen Bild, Morphologie, Immunotypisierung und der Molekulargenetik.

Tabelle 2 WHO-Klassifikation von Non-Hodgkin Lymphom Subtypen (4,16)

| Reife B-Zell-Neoplasien | Reife T-Zell- und natürliche Killerzell-Neoplasien |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Chronische lymphatische Leukämie und kleinzelliges lymphozytisches Lymphom • Monoklonale B-Zell-Lymphozytose • B-Prolymphozyten-Leukämie • Marginalzonenlymphom der Milz • Haarzellenleukämie • Nicht klassifizierbares B-Zell-Lymphom oder Leukämie der Milz† • Splenisches diffuses kleinzelliges B-Zell-Lymphom der roten Pulpa † • Haarzell-Leukämie-Variante • lymphoplasmozytisches Lymphom • Extranodales MALT-Lymphom • Nodales Marginalzonen-B-Zell- | <ul style="list-style-type: none"> • T-Prolymphozyten-Leukämie • T-Zell-Leukämie mit großen granulären Lymphozyten • Chronische lymphoproliferative Erkrankung der NK-Zellen † • Aggressive NK-Zell Leukämie† • Systemische EBV-positive T-Zell-lymphoproliferative Erkrankung der Kindheit, inklusive kutane chronische aktive EBV-Infektion, Hydroa vacciniiformia-artiges Lymphom, massive Mosquito-Stich Hypersensivität, systemisch chronische aktive EBV Infektion, und Systemisches EBV-positives T-Zell-Lymphom der Kindheit • Adulte T-Zell Leukämie oder |

| | |
|---|---|
| <p>Lymphom</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pädiatrisches nodales Marginalzonen-B-Zell-Lymphom † • Follikuläres Lymphom • In-situ follikuläre Neoplasie • Pädiatrisches follikuläres Lymphom • Großzelliges B-Zell-Lymphom mit IRF4-Rearrangement † • Primär kutanes Follikelzentrumslymphom • Mantelzelllymphom • In-situ Mantelzellneoplasie • Diffus großzelliges B-Zell-Lymphom (DLBCL), nicht anderweitig spezifiziert • T-Zell-reiches oder Histozyten-reiches diffuses großzelliges B-Zell-Lymphom • Primäres DLBCL des ZNS • Primär kutanes diffus großzellige B-Zell-Lymphom vom Beintyp • Epstein-Barr virus (EBV)-positives DLBCL, nicht anderweitig spezifiziert • EBV-positives mukokutanes Ulkust † • DLBCL assoziiert mit chronischer | <p>Lymphom</p> <ul style="list-style-type: none"> • NK/T-Zell-Lymphom vom nasalen Typ • Enteropathie-assoziiertes T-Zell-Lymphom • Monomorphes epitheliotropes intestinales T-Zell-Lymphom • Indolente T-Zell-lymphoproliferative Erkrankung des Gastrointestinaltrakts † • Hepatosplenisches T-Zell Lymphom • subkutanes Pannikulitis-ähnliches T-Zell-Lymphom • Mycosis fungoides • Sézary Syndrom • Primär kutane CD30-positive T-Zell-Lymphoproliferation • Lymphomatoide Papulose • Primär kutanes anaplastisches großzelliges Lymphom • Primär kutanes $\gamma\delta$-T-cell-Lymphom • Primär kutanes CD8-positives aggressives epidermotropes zytotoxisches T-cell-Lymphom † • Primär kutanes akrales CD8+ T-Zell-Lymphom † • Primär kutanes CD4-positive kleine oder mittelgroße T-Zell |
|---|---|

| | |
|--|--|
| <p>Entzündung</p> <ul style="list-style-type: none"> • lymphomatoide Granulomatose • Primär mediastinales großzelliges B-Zell-Lymphom • intravaskuläres großzelliges B-Zell-Lymphom • ALK-positives intravaskuläres großzelliges B-Zell-Lymphom • Plasmoblastisches Lymphom • Primäres Effusionslymphom • Humanes Herpesvirus 8-positives DLBCL, nicht anderweitig spezifiziert† • Burkitt Lymphom • Burkitt-like Lymphom mit 11q-Veränderung† • Hochgradiges B-Zell-Lymphom mit Rearrangements von BCL2 und MYC oder BCL6 und MYC† • Hochgradiges B-Zell-Lymphom, nicht anderweitig spezifiziert† • Nicht klassifizierbares B-Zell-Lymphom mit Eigenschaften zwischen DLBCL und klassischem Hodgkin Lymphom | <p>lymphoproliferative Erkrankung†</p> <ul style="list-style-type: none"> • periphäres T-Zell-Lymphom, nicht anderweitig spezifiziert • Angioimmunoblastisches T-Zell-Lymphom • Follikuläres T-Zell-Lymphom† • ALK-positives anaplastisches großzelliges Lymphom • ALK-negatives anaplastisches großzelliges Lymphom • Brustimplantat-assoziiertes anaplastisches großzelliges Lymphom † |
| <p>† Provisorische Subtypen</p> | |

In der aktuellen Überarbeitung aus dem Jahr 2016 wurde auch die Rolle des PatientInnenalters, der anatomischen Lokalisation und der Mutationsprofile beachtet. Damit konnte gegenüber der Vorgängerversion von 2008 eine Verfeinerung der Abgrenzung der einzelnen Entitäten und auch die Erschaffung neuer, teils provisorischer, Subgruppen erreicht werden. Auch die aktuelle Einteilung ist aber nur als ein Zwischenstand zu verstehen, da auf Grund eines zunehmend verbesserten Verständnisses durch klinische Studien und Grundlagenforschung in Zukunft eine genauere Einteilung zu erwarten ist.

Unter den NHL machen DLBCL und follikuläres Lymphom einen Anteil von etwa 65% aus. Die Genexpressionsprofile von fast allen NHL spiegeln die Ursprungszellen von denen die jeweilige Lymphome abstammen wieder, zeigen aber auch Änderungen die aus wiederkehrenden genetischen, epigenetischen und anderen molekularen Veränderungen stammen, wie zum Beispiel Kopienzahlveränderungen. Ein immer wieder vorkommendes Muster bei B-Zell-Non-Hodgkin Lymphomen ist, dass sie auf Translokationen basieren. Dabei führt eine charakteristische Translokation dazu, dass Schlüsselgene unter den Einfluss von spezifischen Promotoren oder Enhancern gelangen, was zu einer deregulierten Genexpression führt (4). Physiologisch wird zum Beispiel in B-Zellen der Immunglobulin Heavy Chain Locus 14q32 aktiv transkribiert, da dies für die Expression der B-Zell-Rezeptoren benötigt wird. Durch die charakteristische Translokation $t(14;18)(q32;q21)$ gelangt nun das BCL2-Gen unter die Kontrolle des IGH-Enhancers, was zu einer konsekutiven Expression des anti-apoptotischen BCL2-Proteins führt und die Apoptose in den Keimzentren stoppt (17). Beim Mantelzell Lymphom führt die Translokation $t(11;14)(q13;32)$ zu einer deregulierten Expression von Cyclin D1, beim Burkitt Lymphom ist die Translokation $t(8;14)(q24;32)$ oder eine Variante Grund für die Überexpression von MYC. Andere Subtypen der Non-Hodgkin Lymphome können wiederum von anderen Translokationen verursacht werden.

Im Rahmen der B-Zell-Reifung findet in den Keimzentren auch rapide B-Zell-Proliferation mit somatischer Hypermutation und Klassensprung statt. Beide Mechanismen benötigen Doppelstrangbrüche und weisen eine erhöhte Fehleranfälligkeit auf. Das Vorkommen von somatisch hypermutierten Immunglobulinen in gesunden und malignen B-Zellen wird als eine Art Fußabdruck des Keimzentrumtransits benutzt um die meisten B-Zell-Non-Hodgkin Lymphome anhand der Differenzierungsstadien, welche sie in den in den Keimzentren durchlaufen, zu charakterisieren. Die hohen Proliferationsraten und die DNA-

Schäden werden in gesunden Keimzentren von einer Reihe von Transkriptionsfaktoren kontrolliert. Dazu gehören insbesondere BCL-6, MYC und PRDM1. Somatisch erworbene genetische Veränderungen an diesen oder andern Transkriptionsfaktoren können direkt zur Entwicklung von Lymphomen führen (4).

Die Klassifizierung peripherer T-Zell Lymphome wird anhand der zu Grunde liegenden Zellen, aus denen die Lymphome hervorgehen vorgenommen. Hier wird zwischen nicht antigenspezifischen NK- und $\gamma\delta$ -Zellen und den antigenspezifischen T-Zellen unterschieden (18). Die komplexe Einteilung der T-Zell-Non-Hodgkin Lymphome wird über relativ spezifische klinische Eigenschaften, morphologische Aspekte und wiederkehrende genetische Alterationen vorgenommen. Wiederkehrende Translokationen sind seltener als in anderen Lymphomtypen. Ein Beispiel für eine solche ist die Translokation t(2;5)(p23;q35) beim ALK-positiven anaplastischen T-Zell Lymphom (4).

In der Pathogenese der Non-Hodgkin Lymphome existieren verschiedene gemeinsame Themen der zu Grunde liegenden Biologie, welche aktuell untersucht werden. Dazu gehören genetische Veränderungen, die Wachstum und Überleben der Zellen fördern, wie zum Beispiel Mutationen von CDKN2A, welche zu einer veränderten Zellzyklus-Kontrolle führen, oder Mutationen die den JAK-STAT-Signalweg betreffen. Ein weiteres Thema ist die konstitutive Hochregulierung von Schlüsselsignalwegen, die zum Beispiel CD79B, MYD88 oder CARD11 betreffen. Die Inhibition der Apoptose ist, was die Hochregulierung von BCL2 durch Translokation oder Kopiezahlveränderung angeht, ein wichtiger Aspekt der Pathogenese. Blockaden der terminalen Differenzierung spielen bei BCL-6-Translokationen und dem Verlust von PRDM eine Rolle, beim Immunescape sind zum Beispiel Translokationen von PDL1 oder CD58-Mutationen involviert. Ein weiterer Aspekt der Pathogenese, welcher erst durch Next-Generation-Sequenzierungsstudien in den Fokus gerückt ist, sind globale Veränderungen in Genen, die in Chromatin-Remodeling und Histonmodifikation involviert sind, wie zum Beispiel EZH2, CREBBP, EP300 und KMTD2 (4).

1.3.3.Klinik, Staging, Restaging

Die meisten PatientInnen mit Non-Hodgkin Lymphom präsentieren sich mit einer indolenten Lymphadenopathie. Typisch ist aber auch die sogenannte B-Symptomatik mit Fieber, Nachtschweiß, Gewichtsverlust, Juckreiz, Müdigkeit und Erschöpfung (4). In 5-10% der PatientInnen ist der Waldeyersche‘ Rachenring betroffen, was zu Beschwerden

wie einem „trocknen Hals“ oder Atemobstruktionen führen kann. Auch können sich bei einer Knochenmarksbeteiligung anämiebedingte Symptome und Infektionen, die durch eine Neutropenie beeinflusst werden, zeigen. Oft sind bei einem NHL auch Leber oder Milz vergrößert (3). Da prinzipiell jedes Organ betroffen sein kann, kann auch eine große Bandbreite anderer Symptome auftreten, die fälschlicherweise auch andere Erkrankungen vermuten lassen. Die endgültige Diagnose sollte auf einer adäquaten Biopsie basieren, die von einem erfahrenen Hämatopathologen ausgewertet wird. Bevorzugt werden für die Diagnose Exzisionsbiopsien eines befallenen Lymphknotens oder eines Tumors in einem anderen Organ untersucht. Oft ist aber auf Grund der Lokalisation nur eine Stanzbiopsie möglich zur Gewinnung von Gewebe möglich. Eine Feinnadelbiopsie sollte vermieden werden, da die Materialmenge einer Exzisionsbiopsie für eine Immunhistochemie und genetische Untersuchung die Wahrscheinlichkeit für eine korrekte Diagnose deutlich erhöht. Die Differenzialdiagnosen für die verschiedenen Subtypen des Non-Hodgkin Lymphoms sind breit gefächert und variieren je nach Subtyp (4).

Nach einer definitiven Diagnose sollte ein Staging zur Feststellung der Krankheitsausdehnung durchgeführt werden. Dazu gehört die ausführliche Erhebung der PatientInnen-geschichte und die klinische Untersuchung. Laboruntersuchungen werden insbesondere im Hinblick auf Knochenmarksfunktion, Organfunktion (Leber, Herz, Niere) und LDH-Serumkonzentration durchgeführt. Eine Bildgebung erfolgt optimalerweise mittels PET-CT. Im Hinblick auf die Knochenmarksinvolvierung ist die Sensibilität des PET-CT in einigen Subtypen, wie beim DLBCL, vergleichbar mit einer Biopsie. Bei Subtypen wie dem folliculären Lymphom bleibt die Knochenmarksbiopsie das Mittel der Wahl, um eine Knochenmarksbeteiligung festzustellen. Es existieren verschiedene Systeme um prognostische Aussagen treffen zu können. Das erste dieser Systeme, der „International Prognostic Index“ (IPI) wurde ursprünglich für die aggressiven B-Lymphome entwickelt, ist aber prädiktiv für alle Non-Hodgkin Lymphome. Andere Systeme gibt es in verschiedenen Auflagen auch für spezielle Subtypen, wie das Mantelzell-Lymphom, periphere T-Zell Lymphome und das folliculäre Lymphom. Als bester Prädiktor für ein krankheitsfreies Überleben bei Behandlungsende hat sich das PET-CT etabliert. Für aggressive Lymphome und für das folliculäre Lymphom wird dies für die Standarddefinition der Remission verwendet (19). Dies ist durch die Einführung des Deauville-Score (Tabelle 3) möglich geworden, der anhand des Speicherverhaltens in 5

Stufen eingeteilt wird (20). Ein Deauville Score von unter 3 steht hierbei für ein gutes Outcome bei DLBCL und folliculären Lymphom (4).

Table 3 Deauville Score: Punkte in Abhängigkeit der FDG-Aufnahme im PET-CT als Maß für das Ansprechen der PatientInnen auf die Therapie (20)

| | |
|---|--|
| 1 | Keine Aufnahme mit Bezug zum Lymphom |
| 2 | Die höchste Aufnahme in jeglicher Lymphomlokalisierung ist kleiner oder gleich der Aufnahme des Mediastinums |
| 3 | Die höchste Aufnahme einer Lymphomlokalisierung ist höher als im Mediastinum aber kleiner oder gleich groß der Aufnahme durch die Leber |
| 4 | Die Aufnahme an jeglicher Lymphomlokalisierung ist größer als die Aufnahme durch die Leber |
| 5 | Präsenz neuer Lokalisationen der Aufnahme oder substanzielle Erhöhung des standardisierten Aufnahmewertes in bekannten Lokalisationen, oder beides |

1.4. Follikuläres Lymphom

1.4.1. Epidemiologie

Das folliculäre Lymphom macht etwa 25% der Non-Hodgkin Lymphome aus. Der Altersmedian der Erkrankung liegt bei 60 Jahren. Es ist das häufigste indolente Non-Hodgkin Lymphom in Westeuropa und den USA. Frauen sind häufiger betroffen als Männer (3,21).

1.4.2. Ätiologie / Risikofaktoren

Während der Einfluss von äußeren Faktoren auf die Entstehung eines folliculären Lymphoms noch nicht endgültig aufgeklärt ist, fanden sich in epidemiologischen Studien Hinweise auf Risikofaktoren, die das Erkrankungsrisiko erhöhen. Hierzu gehört die Belastung mit Benzol, die berufliche Belastung mit Pestiziden sowie Rauch und Passivrauchen (21).

1.4.3.Morphologie

Morphologisch imitiert das folliculäre Lymphom in den meisten Fällen die reaktiven Follikel der Keimzellen, daher wachsen die meisten folliculären Lymphome in folliculären Mustern. Die neoplastischen Follikel können dabei gleichförmig sein oder in ihrer Größe und Form variieren und ineinander verschmelzen. Dabei verdrängen die malignen Follikel die physiologischen reaktiven Follikel, verteilen sich über den gesamten Lymphknoten und zerstören so die physiologische Architektur. Oft infiltrieren diese auch das perinodale Fettgewebe. Wenn ein Lymphknoten nur teilweise infiltriert ist, kann die Architektur der reaktiven Keimzentren und des Lymphknotens auch teilweise erhalten bleiben. Außer beim folliculären Lymphom Grad 3B differenzieren sich die B-Zellen in Zentroblasten und Zentrozyten, die sich auf Einzelzellebene morphologisch nicht von ihren physiologischen Varianten unterscheiden. Dies gilt auch für T-Zellen, die Teil der reaktiven Mikroumgebung sind. Der Unterschied zwischen reaktiven Follikeln und folliculärem Lymphom liegt primär in der Anordnung, dem reaktiven Gehalt der verschiedenen Zelltypen und dem Immunophänotyp. Zentroblasten stellen sich als große Zellen mit moderatem bis üppigen Zytoplasma dar, welches in der Giemsa-Färbung basophil ist. Die Nuclei weisen verschiedene Nucleoli auf, die nah an der Kernmembran lokalisiert sind. Zentrozyten sind kleiner als Zentroblasten und besitzen nur einen kleinen Zytoplasmaring, der keine basophile Färbung zeigt. Im folliculären Lymphom sind diese Zellen in zufälligem Verteilungsmuster in den malignen Follikeln zu finden. Es findet im Gegensatz zum physiologischen Keimzentrum keine Unterteilung mehr in eine dunkle, überwiegend mit Zentroblasten besetzte Zone und eine helle, primär zentrozytische Zone, statt (22).

1.4.4.Grading

Von der Weltgesundheitsorganisation wurde im Jahr 2000 eine Klassifikation eingeführt um ein histologisches Grading des folliculären Lymphoms durchzuführen. Diese 2008 noch einmal modifizierte Klassifikation ist unter Hämathopathologen nicht unumstritten. Kontrovers diskutiert wurde der Mangel an klinischer Relevanz und die schlechte Reproduzierbarkeit von Untersucher zu Untersucher (22). Der Grad des Folliculären Lymphoms wird dabei über die Anzahl der Zentroblasten pro High-Power-Field (HPF) bei einer hohen Vergrößerung mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitten bestimmt. 1 bis 5 Zentroblasten entsprechen dabei einem folliculären Lymphom Grad 1, 6-15 Zentroblasten Grad 2 und mehr als 15 Zentroblasten Grad 3A und B. Während sich in Grad 3A noch

Zentrozyten zwischen den Zentroblasten finden, sind diese bei Grad 3B nicht mehr zu finden (23).

In der WHO Klassifikation von 2008 wurde auch die Definition einer Transformation geändert. Die aktualisierte Klassifikation legt nahe, dass alle folliculären Lymphome mit mehr als 15 Zentroblasten pro HPF in einem diffusen Bereich als Transformation zu einem DLBCL definiert werden (22,23).

Die Grade 1-3A des folliculären Lymphom werden in Europa zu den indolenten Lymphomen gezählt und Grad 3B wird den aggressiven Lymphomen zugerechnet (21).

1.4.5. Immunphänotyp

Da das folliculäre Lymphom ein reifes B-Zell-Lymphom ist, exprimiert es in der Regel ein großes Spektrum von B-Zell-Markern. Dazu gehören zum Beispiel CD19, CD20, CD22, Cd79a und Pax5. (22) Zum Diagnosezeitpunkt sind folliculäre Lymphome praktisch immer CD20-positiv. Nach einer Immuntherapie ist CD20 meistens nicht mehr detektierbar, aber noch vorhanden. Der tatsächliche Verlust von CD20 wird mit der Transformation in ein high-grade Lymphom assoziiert (24). Mit seinem Ursprung im Keimzentrum sind verschiedene Keimzentrumsantigene wie CD10, BCL6, CD38, LMO2, AID, GCET1 oder CXCR4 beim folliculären Lymphom zu finden. Für die Diagnose sind dabei CD10 und BCL6 am wichtigsten. Die meisten folliculären Lymphome exprimieren zytoplasmatisch BCL2, was oft, aber nicht immer seinen Ursprung in der Translokation t(14;18)(q32;q21) hat (22). Bei 15% der folliculären Lymphome ist keine BCL2-Expression nachweisbar (25). Auch beim folliculären Lymphom Grad 3B nimmt die BCL2-Expression ab (26). Die Expression von CD23 ist sowohl in den Lymphom-Zellen als auch in den folliculären dendritischen Zellen nachweisbar (27), CD5 und Cyclin-D1 werden normalerweise nicht exprimiert. Einzelne MUM1-positive Zellen werden in praktisch allen Lymphomen gefunden, während EBV nicht gefunden wird. Die malignen Zellen des folliculären Lymphoms sind von reaktiven immunologischen Zellen umgeben, zu denen T-Zellen, Makrophagen und dendritische Zellen gehören. Den größten Teil bilden dabei CD3-positiv T-Zellen. Nicht-neoplastische folliculäre dendritische Zellen sind mit CD21 verlässlich färbbar (22).

1.4.6.Pathophysiologie / Pathogenese

Das klassische Modell der Pathogenese beschreibt die Entstehung des follikulären Lymphoms aus B-Zellen der Keimzentren. Dabei weisen 90% der PatientInnen eine balancierte Translokation zwischen dem Immunglobulin-Schwerketten-Gen auf Chromosom 14 und dem BCL-2-Gen auf Chromosom 18 auf (28). Durch diese t(14;18)(q32;21) Translokation gerät das BCL-2-Gen unter den Einfluss des IGH-Enhancers und es kommt zu einer Überexpression des BCL-2-Proteins (29). Dieses wirkt anti-apoptotisch, da es zum Beispiel an pro-apoptotische Proteine wie BAX und BAK bindet, aber auch intrazelluläre Stresssensoren wie BIM und PUMA blockiert (30). Die verminderte Apoptose führt dann zu einer unkontrollierten Zellproliferation (17).

Dass sich diese Translokation auch in kleinerer Frequenz bei mehr als der Hälfte der nicht betroffenen Population zeigt, legt nahe, dass es sekundäre genetische Veränderungen benötigt, um auf zellulärer Ebene zu einem follikulären Lymphom zu führen (31). Neuere Untersuchungen hinterfragen, dass t(14;18) die erste oder einzige genetische Veränderung ist, die ein follikuläres Lymphom initiieren kann. So führte zum Beispiel im Mausmodell die Deletion von KMT2D während der frühen B-Zell-Entwicklung zu einer Zunahme der B-Zellen der Keimzentren (32). In gleicher Weise führte die Exzision von CREBBP in den hämatopoetischen Stammzellen zu einer vermehrten Entwicklung von Lymphomen. Horton et al. dokumentierten in dieser Studie auch eine CREBBP-Mutation bei einem Lymphom-Patienten, womit demonstriert wurde, dass Mutationen solcher Art prä-maligne Vorgänge ähnlich der t(14;18)-Translokation darstellen können (33). Wie sich diese frühesten Schritte der Lymphomentwicklung charakterisieren lassen und in welcher Reihenfolge diese stattfinden, ist derzeit nicht ausreichend geklärt (17).

Seit den 1980er Jahren wurden die Genome von follikulären Lymphomen untersucht, um sekundäre zytogenetische Veränderungen zu beschreiben. Die über die Jahre durch neuere Methoden verbesserte Auflösung hat dabei zur Identifikation immer wieder auftretender Chromosomenfehler geführt, wie dem nichtzufälligen Verlust von 1p36 und 6q (34). Dabei konnten zum Beispiel in den Deletionen liegenden kritische Tumorsuppressorgene wie EPHA7 und TNFRSF14 identifiziert werden (35,36). Bei der Sequenzierung von FL-Genomen stößt man typischerweise auf 4000 bis 10000 einzelne Nukleotidvarianten, etwa 200- 800 kleinere Insertionen oder Deletionen sowie 5 bis 50 strukturelle Neuarrangements, wie größere Deletionen, Insertionen oder Translokationen (37). Auch wenn vermutet wird, dass viele dieser genetischen Veränderungen eher als „Passenger-

Mutationen“ zu sehen sind und nur ein kleiner Teil als „Driver-Mutation“ fungiert, legt die bloße Komplexität der gefundenen Veränderungen nahe, dass die Pathogenese des folliculären Lymphoms das Ergebnis multipler biologischer Veränderungen darstellt (17).

Nach neuerer Auffassung betrifft das folliculäre Lymphom allerdings nicht nur das Genom, sondern auch das Epigenom. Das veränderte Ableseverhalten der DNA, welches durch die Bindung und Entfernung von chemischen Gruppen an der DNA oder Histonen zu Stande kommt, ist daher ein weiterer untersuchter Teil der Pathogenese. B-Zell-Lymphome gehören zu den ersten Krebsarten, bei denen wiederkehrende Veränderungen in Chromatin-modifizierenden Enzymen identifiziert wurden. Das folliculäre Lymphom sticht dabei als ein Prototyp einer Krebsart hervor, die abhängig von einer deregulierten epigenetischen Kontrolle der Genexpression ist. Betroffen sind dabei Gene, die zum Beispiel Histon-Methyltransferasen, Histon-Acetyltransferasen oder Histon-Linker-Proteine kodieren oder beeinflussen. Charakteristisch ist beim folliculären Lymphom, dass durch die Veränderung der epigenetischen Modifikatoren auf Transkriptionsebene Änderungen durchgeführt werden, die zur Aufrechterhaltung des Keimzell-B-Status beitragen und einer B-Zell-Aktivierung und Plasmazelldifferenzierung entgegenwirken (17). Eine Rolle spielen hier Missense-Mutationen von KMT2D, welche in 60-70% der folliculären Lymphome beobachtet werden können. Der Verlust von KMT2D führt zu einer global verringerten H3K4-Methylierung und dadurch zur Herunterregulierung von Schlüsselgenen für die Immunsignalwege und B-Zell-Differenzierung (32,38). Inaktivierende Mutationen der Acetyltransferase CREBBP treten beim folliculären Lymphom in ähnlicher Frequenz auf und führen zu pleiotropen Effekten auf die Genexpression. Potenziell sind diese zumindest teilweise durch die defekte Acetylierung von BCL6 und TP53 vermittelt (17,39). Gain-of-Function Mutationen von EZH2 steigern die Genrepression über gesteigerte H3K27-Trimethylierung und führen zu einer Repression von Plasmazelldifferenzierung (40). Im Mausmodell konnte gezeigt werden, dass die Veränderung jeweils eines dieser Gene in Kombination mit einer BCL2-Überexpression zur Entwicklung eines Lymphoms führte (17,32,38,39,41).

Im Vergleich zu normalen B-Zellen im Keimzentrum ist die DNA bei den Zellen der folliculären Lymphome weitgehend hypomethyliert, was zu einer verringerten Expression der Gene für die dunkle Zone der Keimzentren führt. Ursprünglich war man der Ansicht, dass das folliculäre Lymphom eher der hellen Zone der Keimzentren entstammt, aber neuere epigenetische Untersuchungen deuten darauf hin, dass verschiedene Subtypen

existieren, von denen einer eher zentrozytischen Ursprungs ist, während der andere eher aktivierten B-Zellen ähnelt (42).

Verschiedene Schlüsselsignalwege haben bei der Pathogenese des folliculären Lymphoms eine besondere Relevanz. So ist BCL6 als Transkriptionsfaktor ein Repressor, der eine Schlüsselrolle bei der Bildung und Aufrechterhaltung vom Keimzentren besitzt, er wird in über 95% der folliculären Lymphome exprimiert (43). Auch der mTOR- und der JAK-STAT-Signalweg werden als wichtige Signalwege in der Pathogenese des folliculären Lymphom diskutiert (17).

Ein weiterer wichtiger Faktor bei der Pathogenese ist die Mikroumgebung des Tumors. So zeigte sich in Genexpressionsstudien, dass die Gensignaturen der nicht-malignen tumorinfiltrierenden Zellen das PatientInnenoutcome beeinflussen (44). Darüber hinausgehend konnte auch gezeigt werden, dass die Tumorzellen des Folliculären Lymphoms ihre Mikroumgebung zu ihrem Vorteil umerziehen (17).

1.4.7. Transformation in ein Aggressives Lymphom

Wie alle indolenten Lymphome hat auch das folliculäre Lymphom das Risiko, eine Transformation zu einem aggressiven Lymphom zu durchlaufen. Durch die Transformation ändern sich die Ziele und die Art der Therapie. In der Literatur variiert die Definition der Transformation, aber als Goldstandard gilt eine ausreichende Biopsie, mit der eine immunhistochemische und zytogenetische bzw. FISH-Analyse durchgeführt werden kann. Da nicht immer eine Biopsie gewonnen werden kann, wird auch auf Basis der Klinik, des Labors und der radiologischen Information auf eine Transformation geschlossen. Dabei wird ein Verdacht meistens durch eine Veränderung im klinischen Status ausgelöst. Als potenzielle klinische Marker gelten dabei eine Verschlechterung des ECOG Performance Status, neu aufgetretene B-Symptome, schnelles Wachstum befallener Lymphknoten, neuer Extranodalbefall, neu entwickelte Zytopenie, erhöhte Serum Laktatdehydrogenase Werte, erhöhtes Serum-Kalzium und eine Erhöhung im International Prognostic Index (IPI) (45–49).

Bei der Gewinnung einer adäquaten Biopsie einer vermuteten Transformation stellt sich das Problem, dass eine Transformation normalerweise nur in einem Teil der betroffenen nodalen oder extranodalen Läsionen stattfindet. Um diese Läsionen zu identifizieren, hat

sich die funktionelle Bildgebung mittels Fluorodeoxyglukose (FDG) Positionen-Emmissions-Tomographie (PET) bewährt (siehe auch Kapitel 1.4.9.) (49).

Als nicht invasive Technik zur Diagnose einer Transformation gibt es Untersuchungen mit Multi-Gen Panels, die zur Sequenzierung zirkulierender Tumor DNA genutzt werden. Diese zirkulierende DNA kann Fragmente von allen Läsionen enthalten, wodurch die Notwendigkeit entfällt, die entsprechende Läsion zuerst zu identifizieren (49). In einer Studie konnten Scherer et al. mit dieser Technik bereits veränderte Mutationsprofile in zirkulierender DNA identifizieren und damit eine Unterscheidung zwischen indolenten folliculären Lymphomen und in DLBCL transformierte Lymphome vornehmen (50).

Durch die ungenaue Definition der Transformation und die Exklusion aus den meisten klinischen Studien lässt sich die genaue Inzidenz von Transformationen schwer bestimmen. Geschätzt wird, dass 2-3% der folliculären Lymphom pro Jahr in ein aggressives Lymphom transformieren (46,47). Das Lebenszeitrisiko für eine Transformation wird auf 25-35% geschätzt, wobei es in einigen Fällen scheinbar niemals zu einer Transformation kommt. In Langzeitstudien lässt sich ein Plateau in der Transformationsrate etwa 15 Jahre nach der Diagnose beobachten (46,49,51).

1.4.8. Stadieneinteilung

Das folliculäre Lymphom wird in verschiedene Stadien eingeteilt. Dies geschieht nach der in Tabelle 4 dargestellten Ann-Arbor-Klassifikation, welche sich am Befallsmuster orientiert und die Erkrankung in ein klinisches Stadium von I bis IV einteilt.

Tabelle 4 Stadieneinteilung nach Ann-Arbor-Klassifikation (21,52)

| Stadium | Kriterien |
|----------------|--|
| I | Befall einer einzigen Lymphknotenregion (I/N) oder Vorliegen eines einzigen oder lokalisierten extranodalen Herdes (I/E) |
| II | Befall von zwei oder mehr Lymphknotenregionen auf einer Seite des Zwerchfells (II/N) oder Vorliegen eines extranodalen Herdes (II/E) und Befall einer oder mehrerer Lymphknotenregionen auf einer Seite des Zwerchfells (II/N/E) |
| III | Befall von zwei oder mehr Lymphknotenregionen auf beiden Seiten des |

| | |
|------------------------|---|
| | Zwerchfells (III/N) oder Befall von lokalisierten extranodalen Herden und Lymphknotenbefall, so dass ein Befall auf beiden Seiten des Zwerchfells vorliegt (III/E oder III/N/E) |
| III₁ | subphrenische Lokalisation, beschränkt auf Milz, zöliakale und/oder portale Lymphknoten allein oder gemeinsam |
| III₂ | subphrenische Lokalisation mit Beteiligung paraaortaler, mesenterialer, iliakaler und/oder inguinaler Lymphknoten allein oder gemeinsam |
| IV | disseminierter Befall eines oder mehrerer extralymphatischer Organe mit oder ohne Befall von Lymphknoten |

1.4.9. Therapie

Die Beschreibung der Therapie des folliculären Lymphoms bezieht sich in dieser Arbeit in erster Linie auf die Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie (DGHO), Österreichischen Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie (OEGHO), Schweizerischen Gesellschaft für Medizinische Onkologie (SGMO) und Schweizerischen Gesellschaft für Hämatologie (SGH+SSH) in der aktuellen Version aus dem September 2019 (21), diese wird auch als Onkopedia-Leitlinie bezeichnet. Zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit, lag die S3-Leitlinie „Diagnostik, Therapie und Nachsorge für Patienten mit einem folliculären Lymphom“ erst in einer Konsultationsfassung vor, weshalb diese nicht verwendet wurde, um Therapiestandards zu beschreiben. Eine Durchsicht der Konsultationsfassung legt aber nahe, dass es bei der Therapie des folliculären Lymphoms in Zukunft zu Veränderungen kommen wird (53). Eine Fertigstellung der S3-Leitlinie war für Ende 2019 geplant (54)

Die Therapie des folliculären Lymphoms richtet sich nach dem Stadium der Erkrankung. Ein kurativer Anspruch besteht nur bei Bestrahlung der betroffenen Lymphknoten in früheren Stadien der Erkrankung. In späteren Stadien besteht lediglich ein palliativer Therapieansatz. Die Einleitung einer medikamentösen Therapie wird in fortgeschrittenem Stadium erst bei Eintreten von klinischer Symptomatik empfohlen. Unter Immunchemotherapie, also einer Kombinationstherapie von Rituximab, einem CD20-Antikörper, und Chemotherapie, lassen sich aber Remissionsraten von über 90% erreichen. Dabei ist der klinische Verlauf insgesamt aber sehr variabel. So können die

Überlebenszeiten der PatientInnen bei einigen Jahren, aber auch bei mehr als zwei Jahrzehnten liegen (21). In Abbildung 1 ist das Schema der Erstlinientherapie abhängig vom Stadium des folliculären Lymphoms dargestellt.

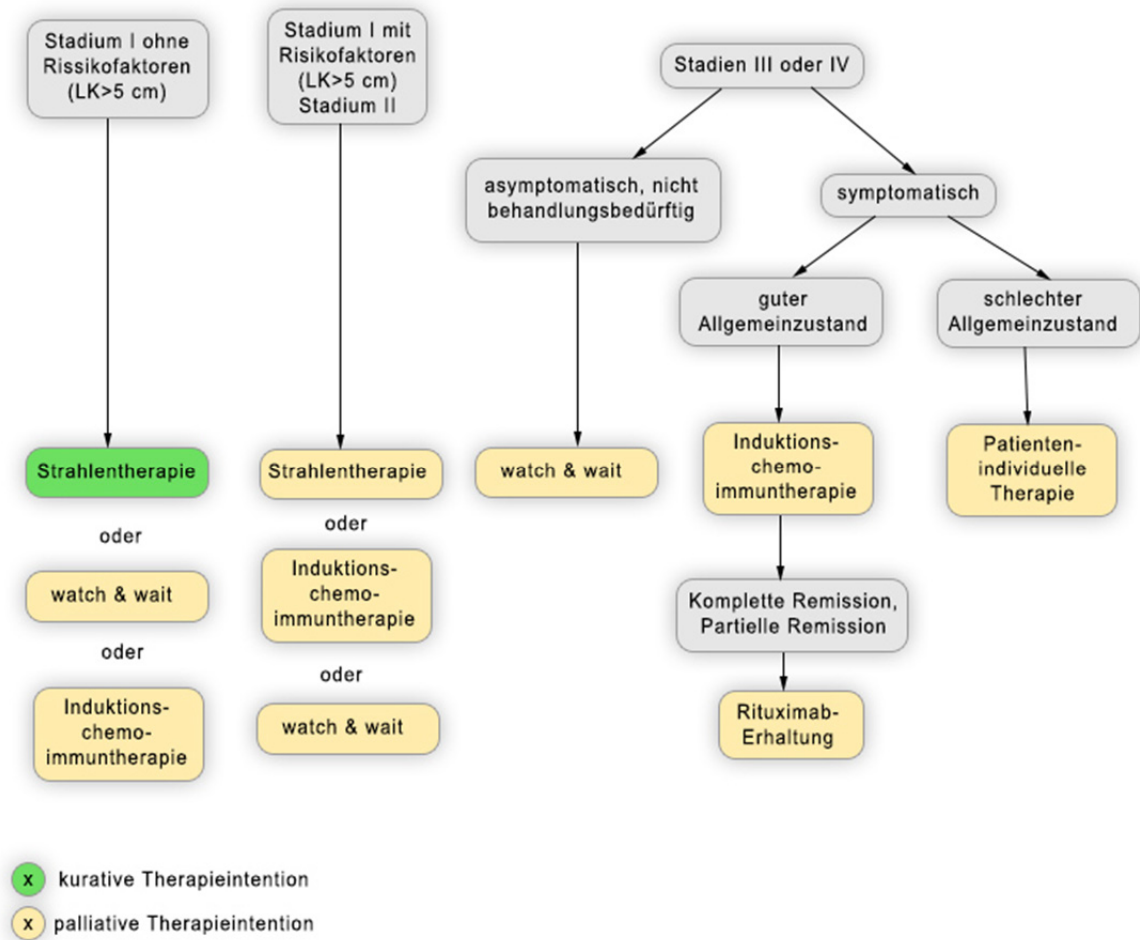


Abbildung 1 Erstlinientherapie des folliculären Lymphoms (21)

1.4.9.1. Stadium I und II

Beim folliculären Lymphom kann in Stadium I und II eine lokale Bestrahlung als Therapieoption verwendet werden. Diese wird mit 24-30 Gy durchgeführt und als „involved field“ bezeichnet, da hierbei nur die vom Lymphom betroffenen Bereiche bestrahlt werden. Durch diese Bestrahlung kann eine langanhaltende Krankheitsfreiheit oder sogar potenzielle Heilung erzielt werden (21,55). Da bei Stadium II oder LK > 3-5 cm nach 10 Jahren lediglich 35% der PatientInnen weiterhin in Remission sind, ist für diese PatientInnen die Addition von Immunochemotherapie zur lokalen Bestrahlung

möglich. Sollten Kontraindikationen gegen eine Strahlentherapie oder eine systemische Chemotherapie vorliegen, ist auch die „watch & wait“ Strategie eine Option (21).

1.4.9.2. Stadium III und IV

Auch im fortgeschrittenen Stadium wird eine Therapie erst eingeleitet, wenn krankheitsassoziierte Symptome wie B-Symptomatik, hämatopoetische Insuffizienz, rasche Lymphomprogression oder Kompression vitaler Organe, die sogenannten GELF-Kriterien, auftreten (56). Ansonsten wird auch hier primär eine „watch & wait“- Strategie verfolgt, da bisher nicht nachgewiesen werden konnte, dass das Gesamtüberleben durch eine frühzeitige Chemotherapie oder Rituximab-Monotherapie bei fortgeschrittenem folliculären Lymphom beeinflusst wird (21,57).

1.4.9.3. Erstlinientherapie

Als Induktionstherapie wird standardmäßig eine Kombination eines Anti-CD20 Antikörpers mit einer Chemotherapie verwendet (58).

Hier gelten R-CHOP / Obi-CHOP (R: Rituximab; CHOP: Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin, Predniso(lo)n; Obi: Obinutuzumab) als Standardtherapie, welche eine gute Verträglichkeit und geringe Stammzelltoxizität aufweist (59). Zu den Nebenwirkungen der Therapie gehören Kardio- und Neurotoxizität, Infektionen und Alopezie (21). Auf Grund der geringen Stammzelltoxizität wird diese Therapie vor allem bei jüngeren PatientInnen empfohlen (59). In einer Studie konnte gezeigt werden, dass Obinutuzumab im Vergleich mit Rituximab zu einer verlängerten progressionsfreien Überlebenszeit führte, nicht aber die Gesamtüberlebenszeit verlängerte (60).

Für ältere PatientInnen oder PatientInnen mit Komorbiditäten ist je nach Performance Status und abhängig von der Chemotherapietauglichkeit eine der folgenden Therapiemöglichkeiten empfohlen: R-Bendamustin, R-CVP, Rituximab-Monotherapie oder eine orale Chemotherapie (21,61).

Bei PatientInnen mit Ansprechen auf eine Erstlinien-Immunochemotherapie sollte eine Erhaltungstherapie mit Rituximab durchgeführt werden. Dabei erhalten die PatientInnen alle 8 Wochen über 2 Jahre 1x 375mg/m² Rituximab, was zu einer Verlängerung des progressionsfreien Überlebens führt, nicht jedoch zu einer Verlängerung der Gesamtüberlebenszeit (21,62,63). Beim Vergleich einer Obinutuzumab-Chemotherapie mit

Obinutuzumab-Erhaltung gegenüber der klassischen Rituximab-Chemotherapie mit folgender Rituximab-Erhaltung konnte gezeigt werden, dass erstere Kombination hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens überlegen war. Dies zeigte sich besonders deutlich bei PatientInnen mit intermediären oder hohem FLIPI-Score (21,60).

Bei PatientInnen mit geringer Tumorlast, bei denen initial nur eine Antikörpermonotherapie mit Rituximab durchgeführt wurde, konnte gezeigt werden, dass ein abwartendes Verhalten zu den gleichen Ergebnissen wie bei einer Erhaltungstherapie führt, wenn im Falle eines Rezidivs eine erneute Rituximab-Therapie eingeleitet wird (21,64).

Keine Empfehlung gibt es für eine myeloablative Hochdosistherapie mit nachfolgender autologer Stammzelltransplantation bei PatientInnen in erster Remission, da sich dabei bisher keine Verbesserung des Gesamtüberlebens zeigen ließ (21).

1.4.9.4. Rezidiv

Bevor bei einem Rezidiv eine Therapie eingeleitet wird, ist immer eine erneute Histologiegewinnung durch Lymphknotenextirpation- oder biopsie anzustreben, damit eine sekundäre Transformation in ein aggressives Lymphom ausgeschlossen werden kann. Dabei kann ein PET zur Identifizierung der Läsion mit der höchsten Anreicherung genutzt werden (21).

Beim Rezidiv wird analog zur Erstlinientherapie eine Immunchemotherapie als Standard verwendet, wobei sich das Schema an der Primärtherapie orientiert. Dabei ist die Zeit von Therapieende bis zum Auftreten des Rezidivs entscheidend. So kann bei einem Rezidiv, welches nach mehr als 2 Jahren auftritt, die initiale Therapie wiederholt werden oder ein Wechsel durchgeführt werden. Dabei wird gegebenenfalls von einer initialen R-CHOP Therapie auf eine R-Bendamustin Therapie gewechselt oder umgekehrt (21).

Bei einem Rezidiv innerhalb der ersten 6 Monate nach der Erstlinientherapie zeigte sich eine Obinutuzumab/Bendamustin Kombinationstherapie mit anschließender Obinutuzumab-Erhaltungstherapie als effektiver hinsichtlich der progressionsfreien Überlebenszeit als auch der Gesamtüberlebenszeit, wenn man dies mit einer Bendamustin-Monotherapie verglich (21,65).

Eine Monotherapie mit dem PI3K-Inhibitor Idelalisib ist für PatientInnen zugelassen, bei denen trotz zweimaliger vorheriger Behandlung kein Therapieansprechen stattgefunden hat (21). Bei PatientInnen, die gegen eine vorausgegangene Therapie mit Rituximab und Alkylanzien refraktär waren, konnte in einer Phase-II Studie eine Ansprechrate von 56% erreicht werden (21,66).

Auch für die Erhaltungstherapie beim Rezidiv stehen verschiedene Therapieoptionen zur Verfügung. Die myeloablative Hochdosistherapie mit nachfolgender autologer Stammzelltransplantation wird vor allem bei Rezidiven innerhalb von 2 Jahren bei jüngeren PatientInnen eingesetzt (21,67). Zwei Studien beschreiben den potentiellen positiven Einfluss auf das progressionsfreie Überleben bei dieser PatientInnengruppe mit frühem Rezidiv (68,69). Eine weitere Option ist die Erhaltungstherapie mit Rituximab, nachdem eine Infusion alle 3 Monate über 2 Jahre verabreicht wurde (Re-Induktion) (21). Der positive Einfluss auf das progressionsfreie Überleben konnte in mehreren Studien gezeigt werden (70,71). In der Onkopedia-Leitlinie wird als alternativ diskutierte Therapieoption in dieser Situation auch die Radioimmuntherapie mit Yttrium-90-Ibritumomab-Tiuxetan genannt, welche in erster Linie für PatientInnen mit Rezidiv unter Rituximab-Erhaltungstherapie interessant ist (21,72). In der Leitlinie wird auch berichtet, dass die allogene Stammzelltransplantation kein Standard für PatientInnen im ersten Rezidiv ist, aber bei jüngeren Rezidiv-PatientInnen nach autologer Stammzelltransplantation bei gutem Allgemeinzustand in Erwägung gezogen werden kann. Dies sollte bevorzugt im Rahmen einer klinischen Studie durchgeführt werden (21)(67).

1.4.10. Prognostische Faktoren

FLIPI

Zur Prognostischen Differenzierung in verschiedene PatientInnengruppen mit unterschiedlicher Risikoeinschätzung wird der sogenannte „Follicular Lymphoma International Prognostic Index“ (FLIPI) verwendet (21). Dieser Score errechnet sich aus verschiedenen Risikofaktoren, die jeweils einen Punkt beitragen. Dazu zählen mehr als 4 befallene Lymphknoten, LDH-Erhöhung, Alter über 60 Jahre, Ann-Arbor-Stadium III oder IV und Hämoglobin <12g/dl (73). Die sich daraus ergebende Risikoabschätzung ist in

Tabelle 5 angegeben.

Table 5 Risikoabschätzung anhand des FLIPI-Scores (21)

| Anzahl von Risikofaktoren | Rezidivrisiko | 10-Jahres-Überlebensrate in % |
|----------------------------------|----------------------|--------------------------------------|
| 0 – 1 | niedrig | 62 – 71 |
| 2 | intermediär | 48 – 51 |
| 3 – 5 | hoch | 34 – 36 |

M7-FLIPI

Als erweiterte Variante des FLIPI wurde 2015 der m7-FLIPI veröffentlicht. Dieser beinhaltet neben dem FLIPI und dem ECOG Performance Status auch den Mutationsstatus von 7 Genen (EZH2, ARID1A, MEF2B, EP300, FOXO1, CREBBP und CARD11). Die Biopsie für die genetischen Untersuchungen muss dabei innerhalb von 12 Monaten vor Therapiebeginn erfolgt sein. Bei der Identifizierung der Hochrisikogruppe hinsichtlich des 5-Jahres-Überleben ohne Therapieversagen (5 year failure free survival) war der m7-FLIPI sowohl dem FLIPI als auch der Kombination aus FLIPI und ECOG überlegen (74).

POD24

Als weiterer prognostischer Faktor existiert das progressionsfreie Überleben in den ersten 24 Monaten nach Behandlungsbeginn mit Standardtherapie (POD24). Es zeigte sich, dass das Therapieansprechen in den ersten 24 Monaten als stärkster Faktor bei Voraussagen zum Gesamtüberleben zu werten ist (75). So hatten PatientInnen mit einer frühen Progression innerhalb der ersten 24 Monate (POD24) nur ein 5-Jahres-Überleben von 34-50%, während PatientInnen ohne POD24 ein 5-Jahres-Überleben von 90-94% aufwiesen (76).

PRIMA-PI

Da bis dahin kein prognostischer Index auf Basis einer nur mit Immunchemotherapie behandelten Kohorte erstellt wurde, entwickelten Bachy et al. 2018 den PRIMA-PI (PRIMA-prognostic-index). Dieser basiert auf der PRIMA-Kohorte, die 1135 PatientInnen umfasst, welche mit Rituximab und Chemotherapie behandelt wurden. Der vereinfachte Score umfasst zwei Parameter: Die Beteiligung des Knochenmarks und β_2 -Microglobulin (β_2m). Diese werden genutzt, um das progressionsfreie Überleben zu prognostizieren. Das

dazugehörige Schema ist in Abbildung 2 dargestellt. Die 5-Jahres-Raten für das progressionsfreie Überleben lagen in der getesteten Kohorte bei 77%, 57% und 44% für die low-risk, intermediate-risk und high-risk Gruppe (77).

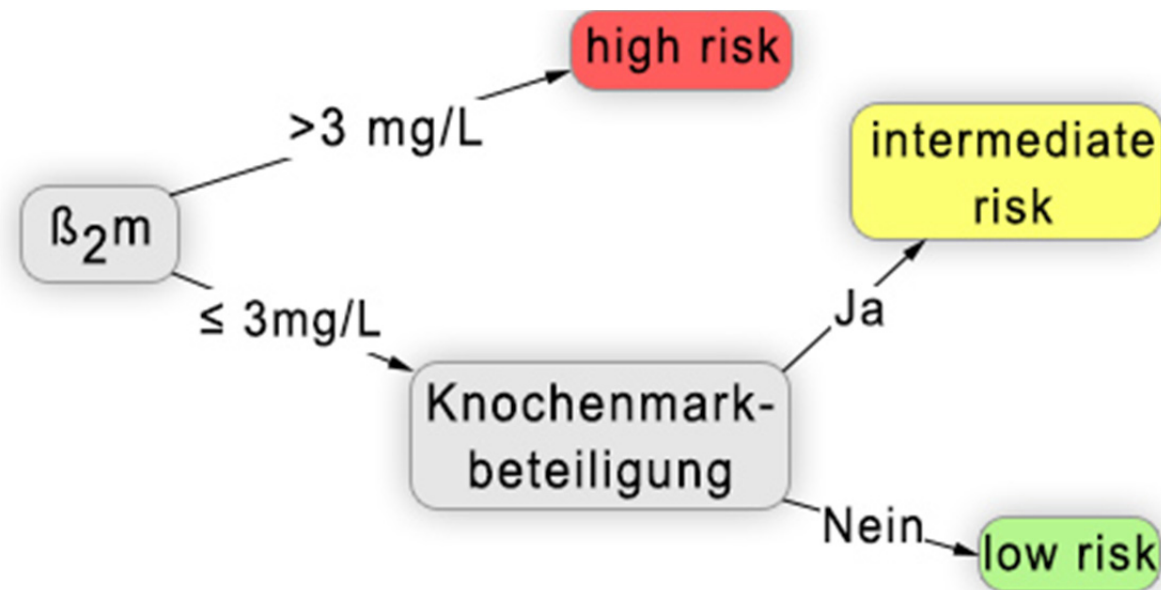


Abbildung 2 Risikoprognose nach PRIMA-PI (77)

2. Material und Methoden

2.1. Untersuchte Parameter

Die retrospektive Studie basiert auf einer Datenbank von 238 PatientInnen mit follikulärem Lymphom, die am LKH Graz behandelt wurden. Diese PatientInnen wurden zwischen Februar 1993 und September 2018 nach den Kriterien der WHO mit einem histologisch bestätigten follikulären Lymphom diagnostiziert. Männer und Frauen wurden unabhängig von ihrem Alter in die Studie eingeschlossen. Erhoben wurden Geschlecht, Alter, FLIPI, Therapieregime, Rezidive bzw. Krankheitsprogression, Datum der Erstdiagnose, Letztkontakt, Todesdatum und eine Reihe molekulargenetischer Marker zum Zeitpunkt der Erstdiagnose.

Das Projekt dieser Arbeit begann mit der Erhebung der molekulargenetischen Daten aus den histopathologischen Diagnosebefunden der PatientInnen im MEDOC-System des Universitätsklinikums Graz. Dabei wurde auch das Datum des Letztkontakts aktualisiert und aktuelle Arztbriefe auf die Erwähnung eines Rezidivs hin kontrolliert. Todesdaten wurden, wenn vorhanden, aus dem openMEDOCS-System oder aus den medizinischen Unterlagen übernommen.

2.2. Statistische Analyse

Die erhobenen Daten wurden in Microsoft Excel (Version 16.30) gespeichert, gesichtet und aus den vorliegenden Daten weitere Parameter errechnet. Die statistische Analyse erfolgte mittels IBM SPSS Statistics (Version 25). Die Daten wurden zuerst mittels deskriptiver Statistik analysiert und mit SPSS und Excel visualisiert.

Aus den vorliegenden Daten der Erstdiagnose und des Letztkontakts wurde die Beobachtungsdauer in Monaten errechnet, um dies als Basis für das Gesamtüberleben zu nutzen. Bei Vorliegen eines Rezidivs oder einer Krankheitsprogression wurde die Rezidivzeit als Abstand zwischen Erstdiagnose/Ersttherapie und Auftreten eines Rezidivs oder einer Progression definiert. Wenn die Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs unter 24 Monaten lag, wurde dies als positive POD24 gewertet. Bei einem Rezidiv- und Progressionsfreien Intervall von über 24 Monaten nach Erstdiagnose/Ersttherapie wurde dies als POD24 negativ gewertet.

Es erfolgte dann eine Einteilung in Gruppen (Expressionsgrade) von 0* bis 3*, je nachdem, ob die molekulargenetischen Marker (MIB-1, Myeloperoxidase, Cyclin D1, BCL6, BCL2, Pax-5, MUM-1, LK-Lambda, LK-Kappa, IgM, CD 3, CD 5, CD 8, CD 10, CD 21, CD 23, CD 30, CD 79a) bei Erstdiagnose als negativ (<5% entspricht 0), schwach oder vereinzelt positiv (5-20%; 1*), mäßig positiv (20-50%; 2*) oder zu über 50% positiv (3*) beschrieben wurden. Auch MiB-1 beziehungsweise Ki-67 als Proliferationsmarker wurde in gleicher Weise in Gruppen von 0* bis 3* unterteilt (<5%, 5-20%, 20-50%, >50%). Zusätzlich wurde auch für jeden Marker die Gesamtanzahl positiver und negativer Ergebnisse erhoben und entsprechende Gruppen gebildet.

Molekulargenetische Marker, die nur in einzelnen Fällen vorlagen, wurden aus der statistischen Analyse ausgeschlossen.

Im Anschluss wurde mittels Kreuztabellen und Chi-Quadrat und überprüft, ob Zusammenhänge zwischen den einzelnen Gruppen und dem POD24 bestehen. Wenn zum Beispiel durch zu geringe Fallzahlen die Voraussetzungen für den Chi-Quadrat-Test nicht gegeben waren, wurde die Signifikanz mit der Monte-Carlo-Methode getestet.

Mittels Kaplan-Meier-Kurven, dem Log-Rank Test und Cox-Regressionsmodell wurde dann überprüft, ob Unterschiede in den verschiedenen Gruppen der Expressionsgrade hinsichtlich des Gesamtüberlebens und des progressionsfreien Überlebens vorhanden sind.

3. Ergebnisse

3.1. Deskriptive Analyse

3.1.1. Charakterisierung der Studienpopulation

Die 238 PatientInnen umfassende Studienpopulation wies eine ausgeglichene Geschlechterverteilung auf. Sie setzte sich aus 122 (51,3%) weiblichen und 116 (48,7%) männlichen Personen zusammen, wie in Abbildung 3 dargestellt.

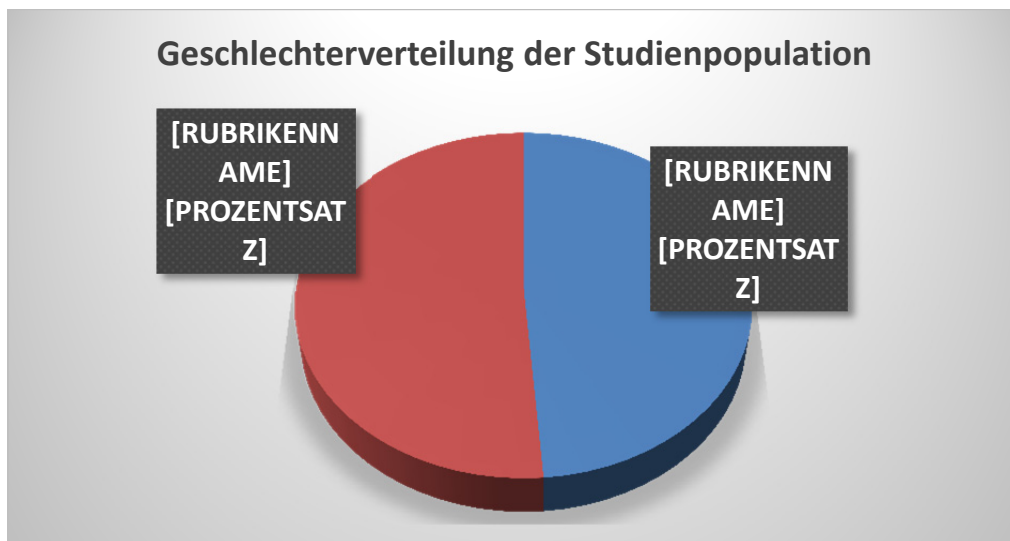


Abbildung 3 Geschlechterverteilung der Studienpopulation

Der Altersdurchschnitt bei der Erstdiagnose lag bei 59,8 Jahren, der Median bei 60 Jahren. Der jüngste Patient war bei Diagnose 24 Jahre alt, die älteste Patientin war zum Zeitpunkt ihrer Diagnose 86 Jahre alt, was einer Spannweite von 62 Jahren entspricht. In Abbildung 4 ist die Altersverteilung bei Erstdiagnose dargestellt.

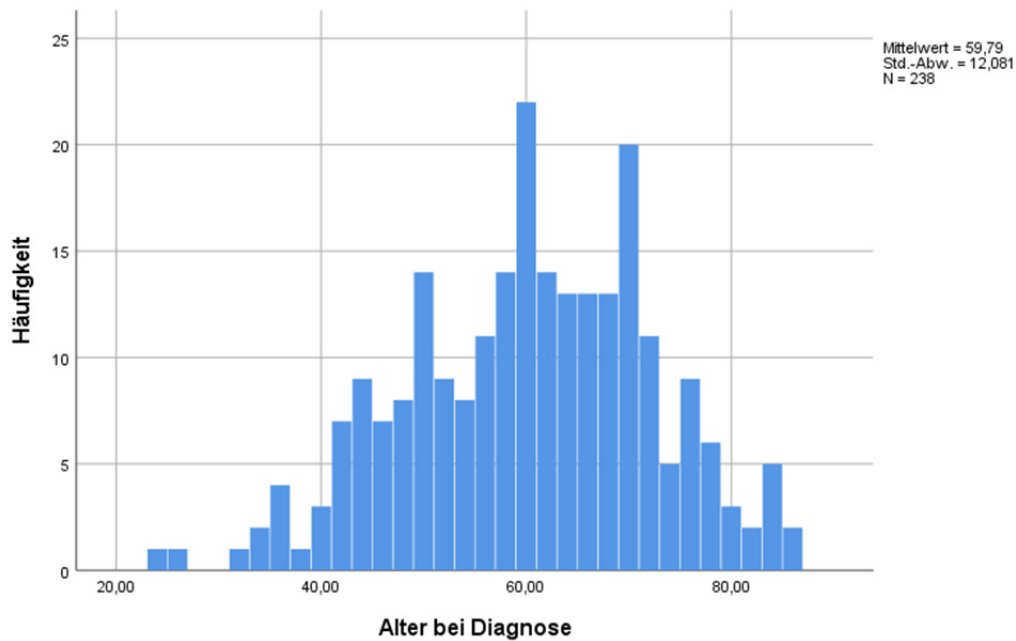


Abbildung 4 Altersverteilung zum Diagnosezeitpunkt

Zum Zeitpunkt des jeweiligen Letztkontakts waren 49 PatientInnen bereits verstorben, was einem Anteil von 20,6% der Studienpopulation entspricht. 189 PatientInnen (79,4%) waren zum Zeitpunkt des Letztkontakts am Leben.

Der durchschnittliche Beobachtungszeitraum der PatientInnen betrug 96,89 Monate mit einer Standardabweichung von 57,828 Monaten. Der kürzeste Beobachtungszeitraum lag bei 2 Monaten, der längste bei 317 Monaten. Die Häufigkeitsverteilung des Beobachtungszeitraum ist im Histogramm in Abbildung 5 dargestellt.

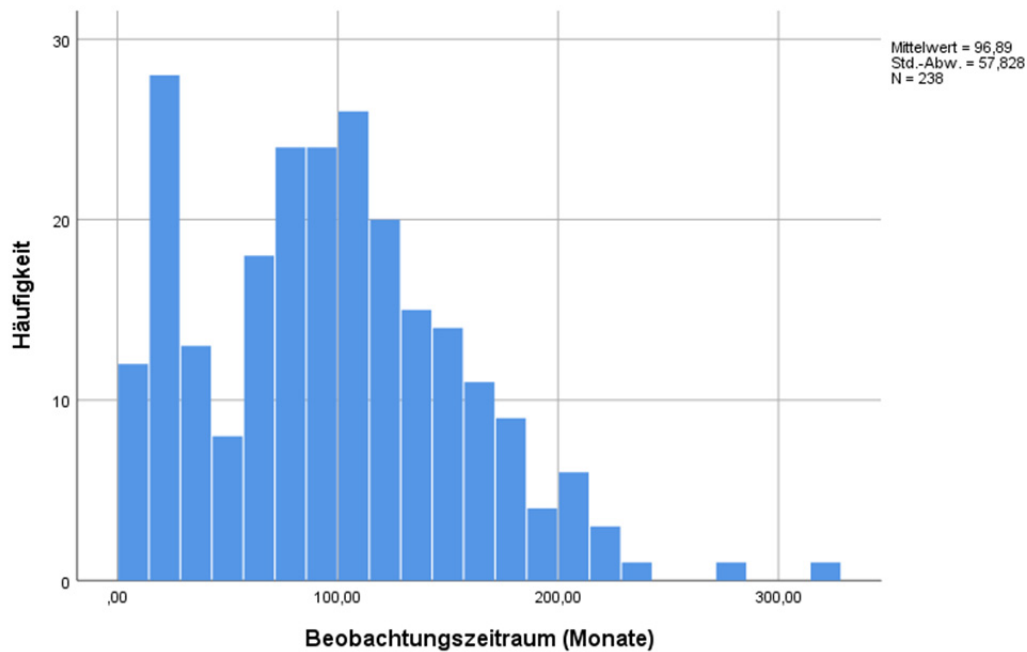


Abbildung 5 Beobachtungszeitraum der Kohorte

Im beobachteten Verlauf kam es bei 91 PatientInnen (38,2%) zu einem Rezidiv oder einer Progression. Bei 26 PatientInnen (10,9%) geschah dies innerhalb der ersten 24 Monate nach Diagnosestellung (POD24). Bei 147 (61,8%) PatientInnen trat während des Beobachtungszeitraums weder ein Rezidiv auf noch kam es zur Progression. In Abbildung 6 ist die Verteilung der Studienpopulation hinsichtlich POD24 dargestellt. Miterfasst sind auch die PatientInnen, bei denen bisher kein Rezidiv aufgetreten oder Progression stattgefunden hat, die aber bisher weniger als 24 Monate beobachtet wurden und daher nicht als POD24 negativ gewertet werden konnten.

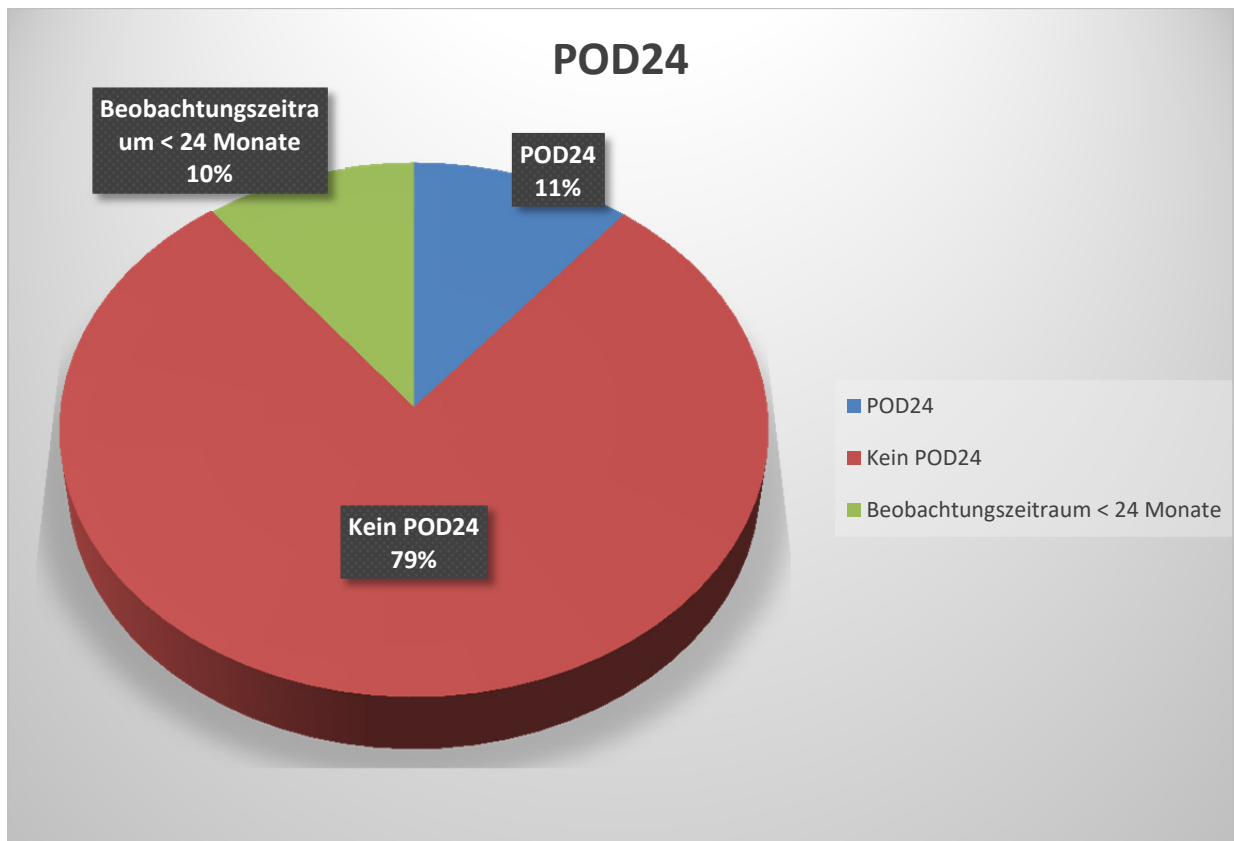


Abbildung 6 POD24 in der Studienpopulation

3.1.2. Histologische Subgruppen

In der Studienpopulation verteilen sich die histologischen Subtypen bei Erstdiagnose wie folgt: 14 PatientInnen (5,9%) wiesen ein folliculäres Lymphom Grad 1 auf, 6 PatientInnen (2,5%) wurden mit Grad 1-2, 117 PatientInnen (49,2%) mit Grad 2, 19 PatientInnen (8%) mit Grad 2-3, 8 PatientInnen (3,4%) mit Grad 2-3a, 2 PatientInnen (0,9%) mit Grad 2-3b, 13 PatientInnen (5,5%) mit Grad 3, 44 PatientInnen (18,5%) mit Grad 3a und 12 PatientInnen (5,1%) mit Grad 3b diagnostiziert. Bei 3 (1,3%) PatientInnen konnte der Grad bei Diagnosestellung nicht erhoben werden.

3.1.3. Ann-Arbor-Stadien

Insgesamt wurde bei 27 PatientInnen (11,4%) bei Erstdiagnose ein Ann-Arbor-Stadium 1 diagnostiziert. 5 PatientInnen (2,1%) wurden im Stadium 1-2 eingeordnet, 44 PatientInnen (18,5%) im Stadium 2, 46 PatientInnen (19,3%) im Stadium 3 und 114 PatientInnen (47,9%) wurden im Stadium 4 eingeordnet. Bei 2 PatientInnen (0,9%) lagen keine Daten zum Ann-Arbor-Stadium vor.

3.1.4.FLIPI

Soweit die entsprechenden Daten erhoben werden konnten, wurde den PatientInnen ein FLIPI-Score zugewiesen. Dabei fielen 64 PatientInnen (26,9%) in die low-risk Kategorie mit keinem oder einem Risikofaktor. Die Intermediate Kategorie mit 2 Risikofaktoren bestand in der Studienpopulation aus 43 PatientInnen (18,1%), während 64 PatientInnen (26,9%) 3 oder mehr Risikofaktoren aufwiesen und damit in der high-risk Kategorie eingeordnet wurden. Bei 45 PatientInnen (18,9%) konnte auf Grund fehlender Daten kein FLIPI bestimmt werden.

3.1.5.Molekulargenetische/immunhistochemische Marker

Im Rahmen der Datenerhebung wurden aus den histopathologischen Berichten 18 Marker zur Auswertung in die Datenbank übernommen. Diese waren MIB-1 als Proliferationsmarker, Myeloperoxidase, Cyclin D1, BCL6, BCL2, Pax-5, MUM-1, LK-Lambda, LK-Kappa, IgM, CD3, CD5, CD8, CD10, CD21, CD23, CD30 und CD79a. Je Marker konnten zwischen 9 und 227 gültige Werte erhoben werden. Der Median der Anzahl erhobener Werte liegt bei 150,50, der Mittelwert bei 125,28. Die Verteilung der erhobenen Werte ist in Abbildung 7 visualisiert. Die genaue Anzahl für die erhobenen jeweiligen Marker ist in

Tabelle 6 einzeln aufgeschlüsselt.

In Tabelle 7 sind die verarbeiteten Fälle für die jeweiligen Kreuztabellen aufgeschlüsselt. Da nicht für jede Person in der Datenbank ein gültiger POD24 Wert erhoben werden konnte, unterscheiden sich die verarbeiteten Fälle von der Gesamtzahl erhobener Werte der Marker.

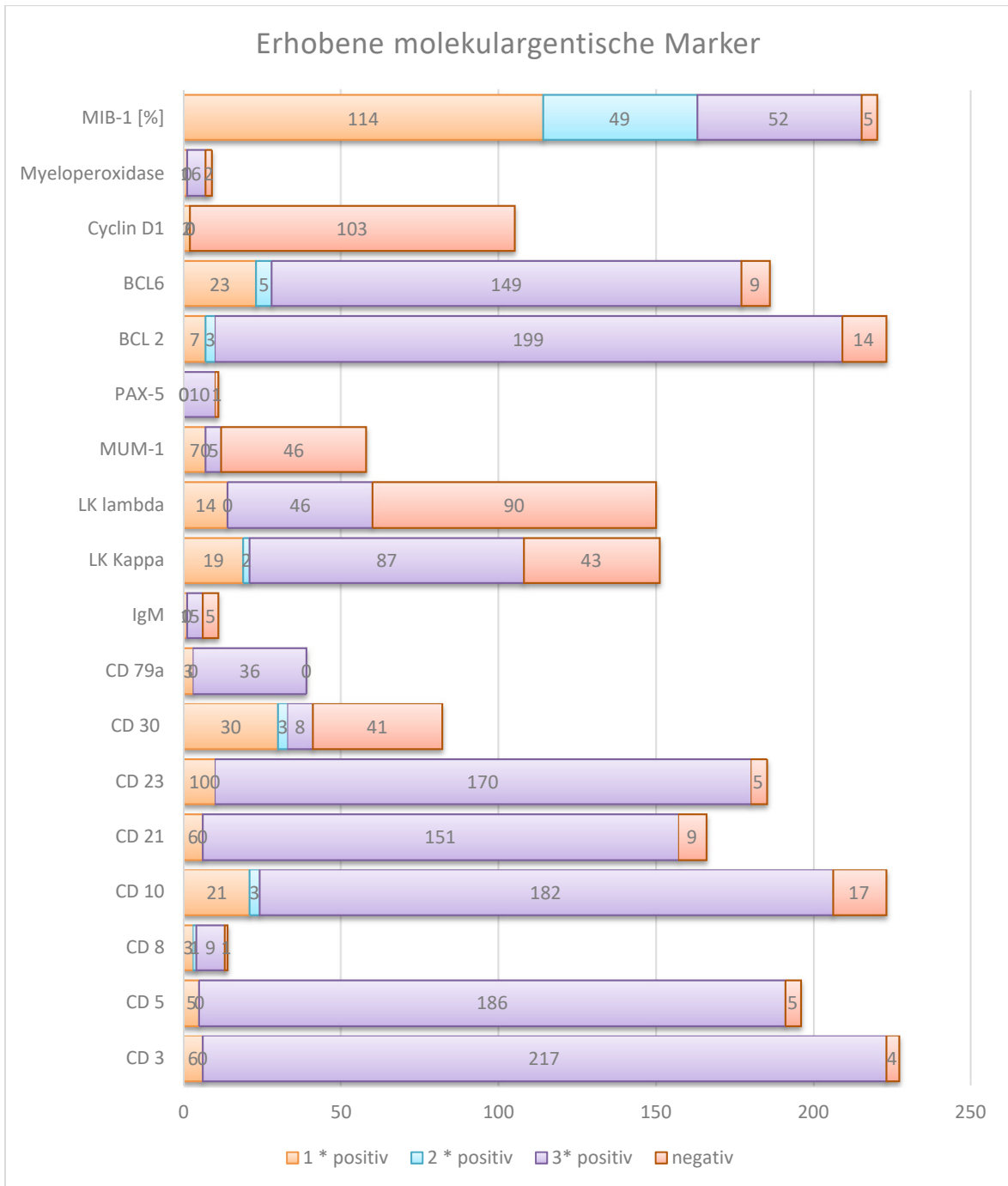


Abbildung 7 Erhobene molekulargenetische Marker. Anzahl erhobener Werte für die jeweiligen Expressionsgrade (1*positiv; 2*positiv; 3*positiv; negativ)

Tabelle 6 Erhobene molekulargenetische/immunhistochemische Marker

| | Erhobene Werte | 1 * positiv | 2 * positiv | 3* positiv | positiv gesamt | negativ | positiv [%] | negativ [%] | nicht erhebbar |
|------------------|----------------|-------------|-------------|------------|----------------|---------|-------------|-------------|----------------|
| CD3 | 227 | 6 | 0 | 217 | 223 | 4 | 98,24% | 1,76% | 11 |
| CD5 | 196 | 5 | 0 | 186 | 191 | 5 | 97,45% | 2,55% | 41 |
| CD8 | 14 | 3 | 1 | 9 | 13 | 1 | 92,86% | 7,14% | 223 |
| CD10 | 223 | 21 | 3 | 182 | 206 | 17 | 92,38% | 7,62% | 14 |
| CD21 | 166 | 6 | 0 | 151 | 157 | 9 | 94,58% | 5,42% | 72 |
| CD23 | 185 | 10 | 0 | 170 | 180 | 5 | 97,30% | 2,70% | 52 |
| CD30 | 82 | 30 | 3 | 8 | 41 | 41 | 50,00% | 50,00% | 155 |
| CD79a | 39 | 3 | 0 | 36 | 39 | 0 | 100,00% | 0,00% | 199 |
| IgM | 11 | 1 | 0 | 5 | 6 | 5 | 54,55% | 45,45% | 225 |
| LK Kappa | 151 | 19 | 2 | 87 | 108 | 43 | 71,52% | 28,48% | 87 |
| LK Lambda | 150 | 14 | 0 | 46 | 60 | 90 | 40,00% | 60,00% | 86 |
| MUM-1 | 58 | 7 | 0 | 5 | 12 | 46 | 20,69% | 79,31% | 179 |
| PAX-5 | 11 | 0 | 0 | 10 | 10 | 1 | 90,91% | 9,09% | 227 |
| BCL 2 | 223 | 7 | 3 | 199 | 209 | 14 | 93,72% | 6,28% | 15 |
| BCL6 | 186 | 23 | 5 | 149 | 177 | 9 | 95,16% | 4,84% | 49 |
| Cyclin D1 | 105 | 2 | 0 | 0 | 2 | 103 | 1,90% | 98,10% | 132 |
| Myelo-peroxidase | 9 | 1 | 0 | 6 | 7 | 2 | 77,78% | 22,22% | 228 |
| MIB-1 | 220 | 114 | 49 | 52 | 215 | 5 | 97,73% | 2,27% | 15 |

Tabelle 7 Verarbeitete Fälle der POD24 Kreuztabellen

| | Fälle | | | | | |
|--------------------|--------|---------|---------|---------|--------|---------|
| | Gültig | | Fehlend | | Gesamt | |
| | N | Prozent | N | Prozent | N | Prozent |
| CD3 * POD 24 | 205 | 85,1% | 36 | 14,9% | 241 | 100,0% |
| CD5 * POD 24 | 176 | 73,0% | 65 | 27,0% | 241 | 100,0% |
| CD10 * POD 24 | 200 | 83,0% | 41 | 17,0% | 241 | 100,0% |
| CD21 * POD 24 | 153 | 63,5% | 88 | 36,5% | 241 | 100,0% |
| CD23 * POD 24 | 165 | 68,5% | 76 | 31,5% | 241 | 100,0% |
| LK Kappa * POD 24 | 135 | 56,0% | 106 | 44,0% | 241 | 100,0% |
| LK Lambda * POD 24 | 134 | 55,6% | 107 | 44,4% | 241 | 100,0% |
| BCL2 * POD 24 | 200 | 83,0% | 41 | 17,0% | 241 | 100,0% |
| BCL6 * POD 24 | 167 | 69,3% | 74 | 30,7% | 241 | 100,0% |
| MUM-1 * POD 24 | 50 | 20,7% | 191 | 79,3% | 241 | 100,0% |
| Cyclin D1 * POD 24 | 92 | 38,2% | 149 | 61,8% | 241 | 100,0% |
| MIB-1 * POD 24 | 196 | 81,3% | 45 | 18,7% | 241 | 100,0% |
| CD8 * POD 24 | 13 | 5,4% | 228 | 94,6% | 241 | 100,0% |
| CD30 * POD 24 | 76 | 31,5% | 165 | 68,5% | 241 | 100,0% |

| | | | | | | |
|--------------------------|----|-------|-----|-------|-----|--------|
| CD79a * POD 24 | 34 | 14,1% | 207 | 85,9% | 241 | 100,0% |
| IgM * POD 24 | 11 | 4,6% | 230 | 95,4% | 241 | 100,0% |
| PAX-5 * POD 24 | 10 | 4,1% | 231 | 95,9% | 241 | 100,0% |
| Myeloperoxidase * POD 24 | 7 | 2,9% | 234 | 97,1% | 241 | 100,0% |

3.2. Kreuztabellen

3.2.1. Zusammenhang zwischen molekulargenetischen Markern und POD24

Um den Zusammenhang zwischen den in Kapitel 3.1.5 genannten Markern und dem klinischen Verlauf hinsichtlich POD24 zu untersuchen, wurden für jeden Marker eine Kreuztabelle angelegt und der Zusammenhang mittels Chi-Quadrat bzw. Monte-Carlo-Methode überprüft.

CD3

Die Überprüfung des Zusammenhangs zwischen dem Expressionsgrad von CD3 und POD24 sowie die Überprüfung der Signifikanz mittels Monte-Carlo-Methode sind in

Tabelle 8 und Tabelle 9 dargestellt. Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang ($p=0,044$) zwischen einem negativen Expressionsgrad von CD3 und einem positiven POD24 Wert.

Tabelle 8 Kreuztabelle CD3 und POD24

| | | POD 24 | | Gesamt | |
|--------|------|------------------|------|--------|-------|
| | | Ja | Nein | | |
| CD 3 | ,00 | Anzahl | 2 | 1 | 3 |
| | | Erwartete Anzahl | ,4 | 2,6 | 3,0 |
| | 1,00 | Anzahl | 0 | 5 | 5 |
| | | Erwartete Anzahl | ,6 | 4,4 | 5,0 |
| | 3,00 | Anzahl | 24 | 173 | 197 |
| | | Erwartete Anzahl | 25,0 | 172,0 | 197,0 |
| Gesamt | | Anzahl | 26 | 179 | 205 |
| | | Erwartete Anzahl | 26,0 | 179,0 | 205,0 |

Tabelle 9 Monte-Carlo-Test zur Kreuztabelle CD3 und POD24

| | Wert | df | Asymptotische Signifikanz (zweiseitig) | Monte-Carlo-Signifikanz (2-seitig) | | |
|--------------------------------|--------------------|----|--|------------------------------------|------------------------|------|
| | | | | Signifikanz | 99%-Konfidenzintervall | |
| | | | | Untergrenze | Obergrenze | |
| Chi-Quadrat nach Pearson | 8,665 ^a | 2 | ,013 | ,044^b | ,039 | ,050 |
| Likelihood- Quotient | 6,113 | 2 | ,047 | ,044 ^b | ,039 | ,050 |
| Anzahl der gültigen Fälle | 205 | | | | | |

a. 4 Zellen (66,7%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,38.

b. Basierend auf 10000 Stichprobentabellen mit dem Startwert 251863758.

Andere molekulargenetische Marker

Mit Hilfe der Kreuztabellen ließ sich für keinen der anderen in Kapitel 3.1.5 genannten molekulargenetischen Marker ein signifikanter Zusammenhang zwischen Expressionsgrad und POD24 nachweisen, weshalb auf diese hier nicht im Detail eingegangen wird.

3.3. Kaplan-Meier-Kurven

Zu den in Kapitel 3.1.5 aufgezählten Markern wurden jeweils Kaplan-Meier-Kurven zum Gesamtüberleben (Overall Survival; OS) und dem Progressionsfreien Überleben (Progression Free Survival; PFS) erstellt. Mittels Log-Rank Test wurde dann auf Gleichheit der Überlebensverteilung für die verschiedenen Expressionsgrade überprüft.

3.3.1. Gesamtüberleben

CD3

Der Vergleich des Gesamtüberlebens bei verschiedenen Expressionsgraden von CD3 zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen, wie in Abbildung 8 zu erkennen ist. Dabei zeigte sich eine fehlenden oder niedrige Expression in einem geringeren OS. Eine Überprüfung mit dem Log-Rank Test ergab $\chi^2 = 30,947$ und ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

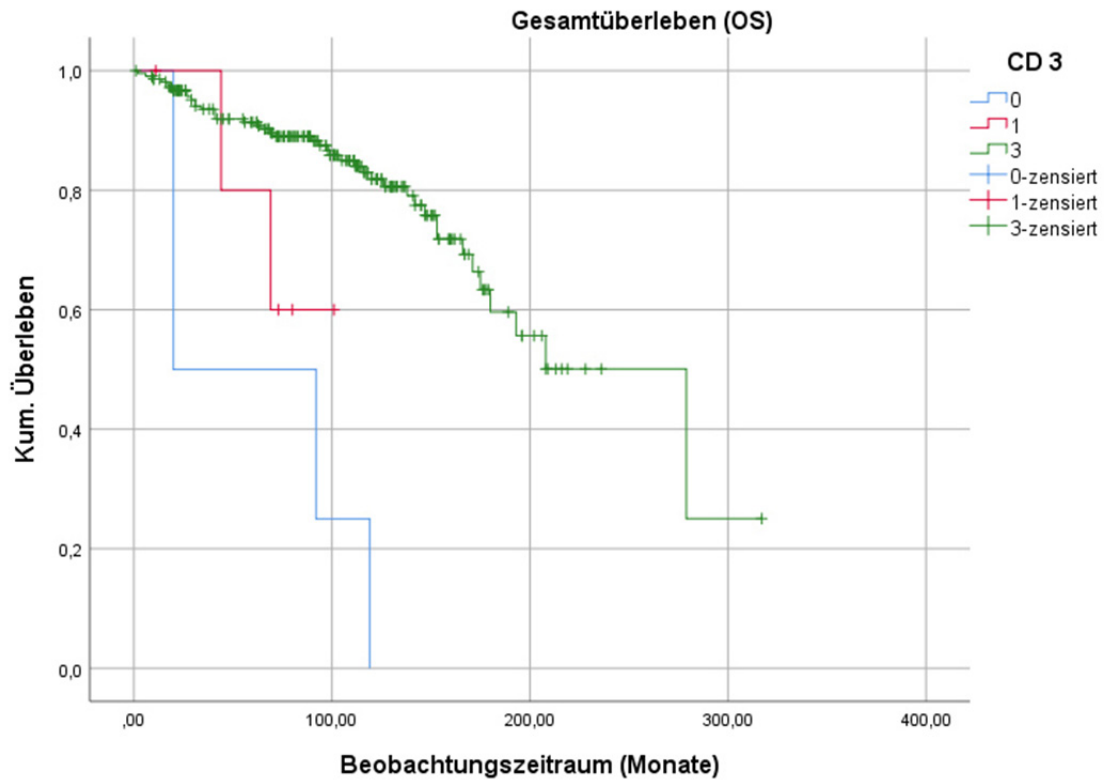


Abbildung 8 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD3 ($n_{\text{gesamt}}=227$; $n_0=4$; $n_1=6$; $n_3=217$)

CD5

Hinsichtlich des Gesamtüberlebens bei verschiedenen Expressionsgraden von CD5 zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen, wie in Abbildung 9 zu erkennen ist. Dabei zeigte sich eine fehlende oder niedrige Expression in einem geringeren OS. Eine Überprüfung mit dem Log-Rank Test ergab $\chi^2 = 7,051$ und ein Signifikanzniveau von $p=0,029$.

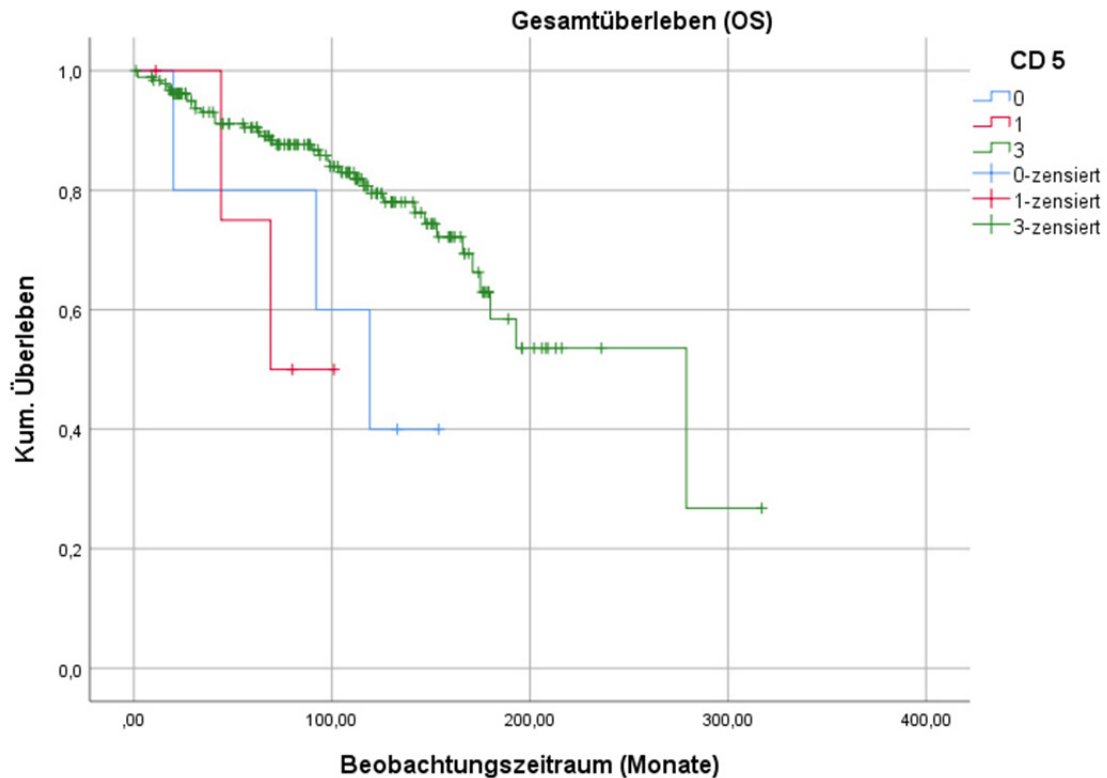


Abbildung 9 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD5 ($n_{\text{gesamt}}=196$; $n_0=5$; $n_1=5$; $n_3=186$)

CD10

Der Test auf Gleichheit der Überlebensverteilung bei verschiedenen Expressionsgraden von CD10 ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen, wie in Abbildung 10 zu erkennen ist. Dabei zeigte sich eine fehlende oder niedrige Expression in einem geringeren OS als bei einer hohen oder mittleren Expression. Eine Überprüfung mit dem Log-Rank Test ergab $\chi^2 = 18,320$ und ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

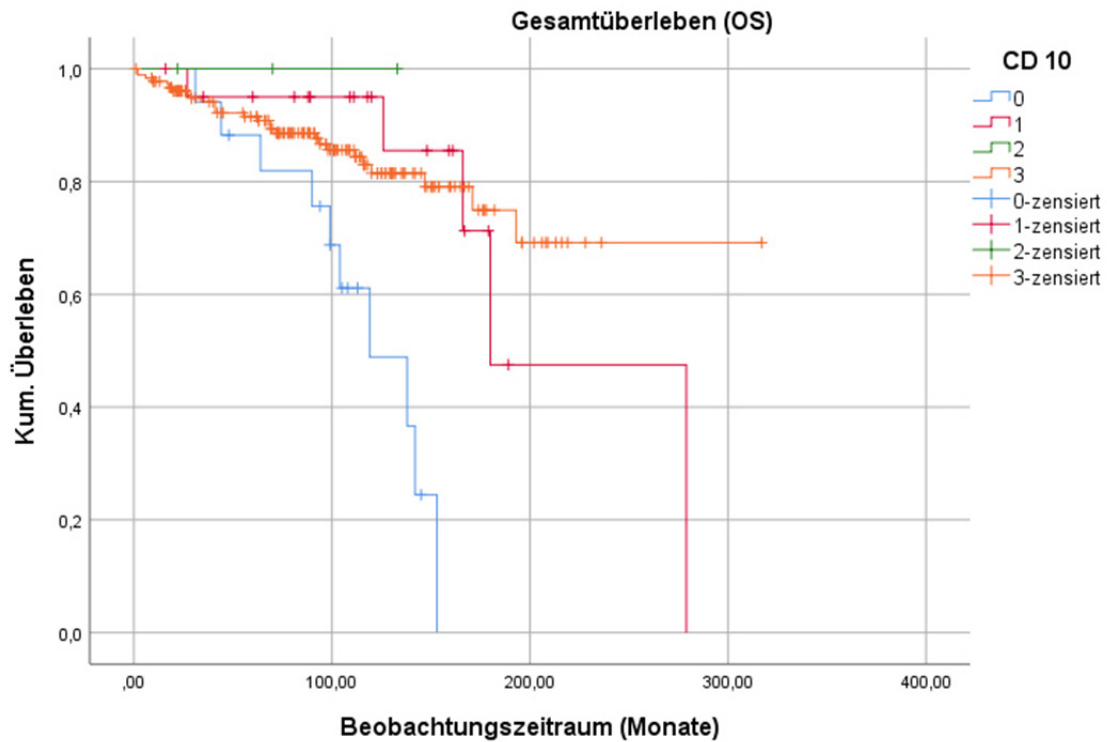


Abbildung 10 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD10 ($n_{gesamt}=223$; $n_0=17$; $n_1=21$; $n_2=3$; $n_3=182$)

CD23

Bei der Überprüfung der verschiedenen Expressionsgrade von CD23 hinsichtlich der Gleichheit der Überlebensverteilung zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen, wie in Abbildung 11 zu sehen ist. Dabei war eine fehlende Expression mit einem geringeren OS assoziiert. Eine Überprüfung mit dem Log-Rank Test ergab $\chi^2 = 6,765$ und ein Signifikanzniveau von $p=0,034$.

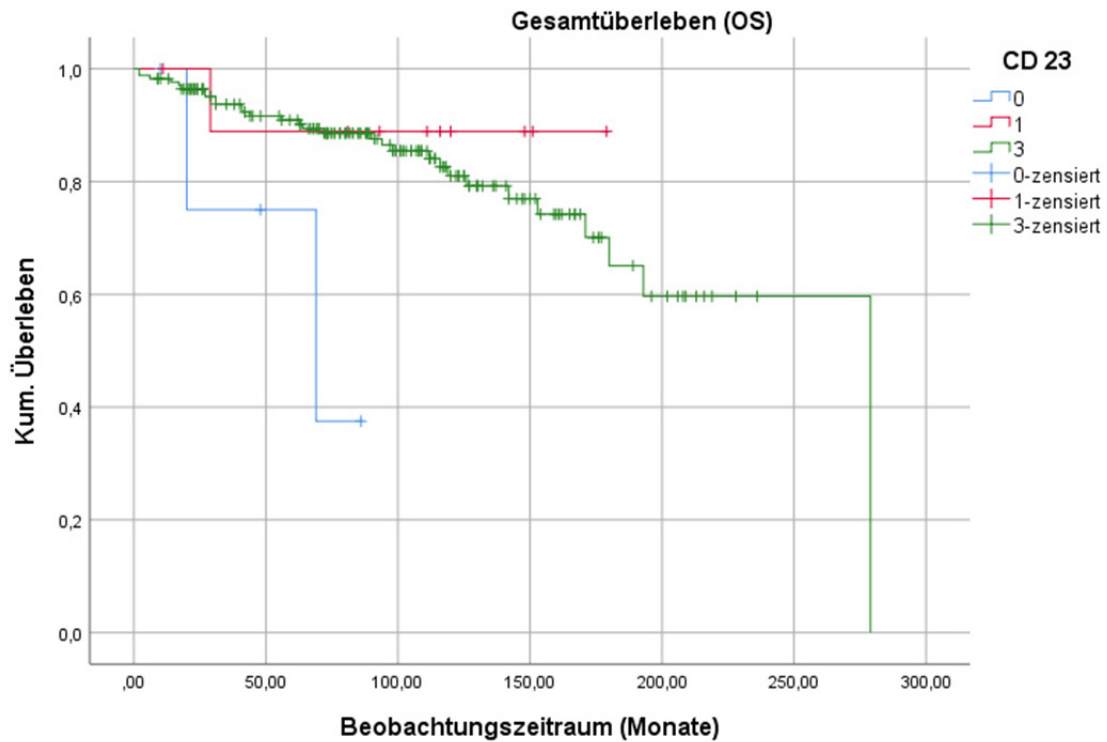


Abbildung 11 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD23 ($n_{gesamt}=185$; $n_0=5$; $n_1=10$; $n_3=185$)

MUM-1

Im Vergleich der Überlebensverteilungen für die verschiedenen Expressionsgrade von MUM-1 zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen, dargestellt in Abbildung 12. Dabei zeigte sich eine fehlende oder niedrige Expression in einem höheren OS. Eine Überprüfung mit dem Log-Rank Test ergab $\chi^2 = 10,369$ und ein Signifikanzniveau von $p=0,006$.

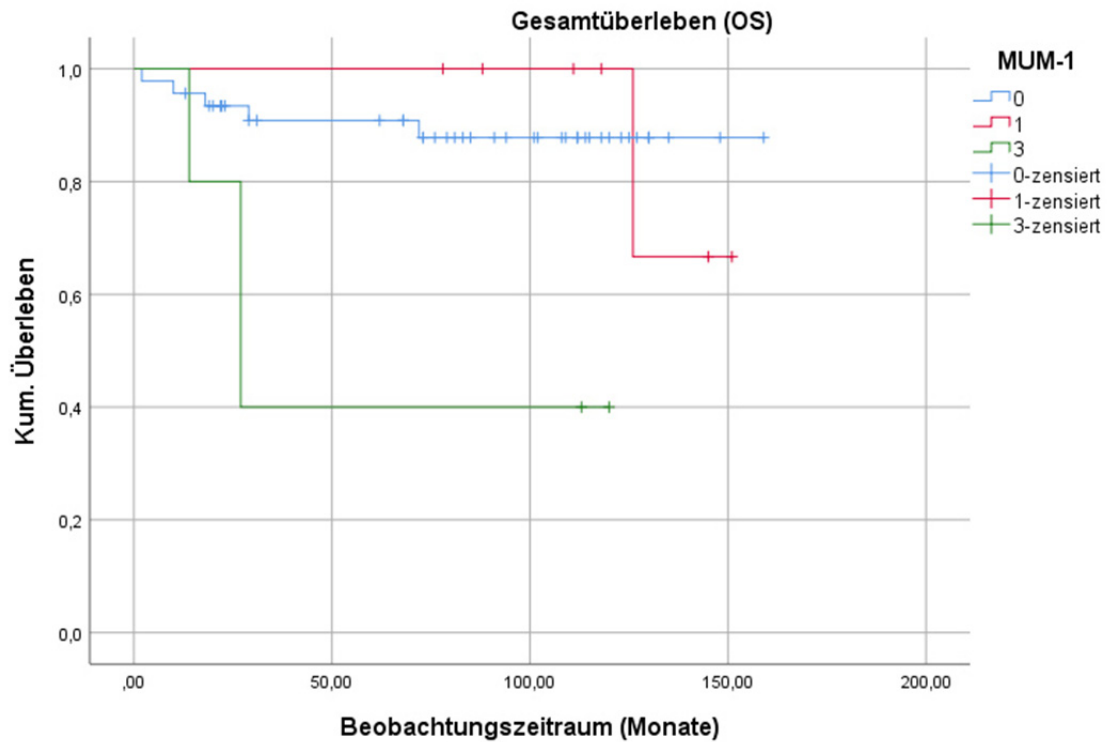


Abbildung 12 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von MUM-1 ($n_{\text{gesamt}}=58$; $n_0=46$; $n_1=7$; $n_3=5$)

CD8

Der Test auf Gleichheit der Überlebensverteilung für die verschiedenen Expressionsgrade von CD8 ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen, wie in Abbildung 13 zu erkennen ist. Dabei war eine fehlende Expression mit einem geringeren, eine niedrige und mittlere Expression mit einem höheren OS assoziiert. Eine Überprüfung mit dem Log-Rank Test ergab $\chi^2 = 14,168$ und ein Signifikanzniveau von $p=0,003$.

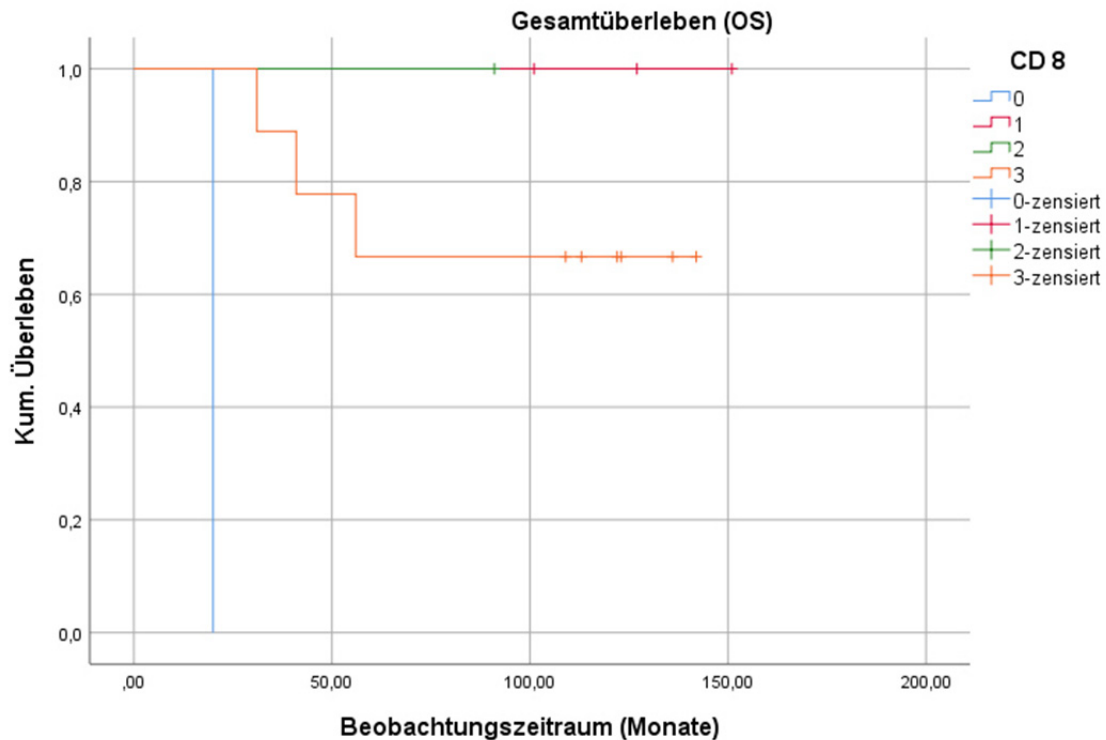


Abbildung 13 Gesamtüberleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD8 ($n_{gesamt}=14$; $n_0=1$; $n_1=3$; $n_2=1$; $n_3=9$)

Andere molekulargenetische Marker

Bei der Überprüfung der übrigen in Kapitel 3.1.5 genannten Marker konnte zwischen den verschiedenen Expressionsgraden jeweils kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Gesamtüberlebens festgestellt werden, weshalb auf diese hier nicht im Detail eingegangen wird.

3.3.2. Progressionsfreies Überleben (PFS)

CD3

Bei der Überprüfung des progressionsfreien Überlebens (Progression Free Survival; PFS) im Hinblick auf die verschiedenen Expressionsgrade von CD3 konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen festgestellt werden, wie in Abbildung 14 zu sehen ist. Dabei war eine fehlende, beziehungsweise niedrige Expression mit einem geringeren PFS assoziiert. Eine Überprüfung mit dem Log-Rank Test ergab $\chi^2 = 30,435$ und ein Signifikanzniveau von $p < 0,001$.

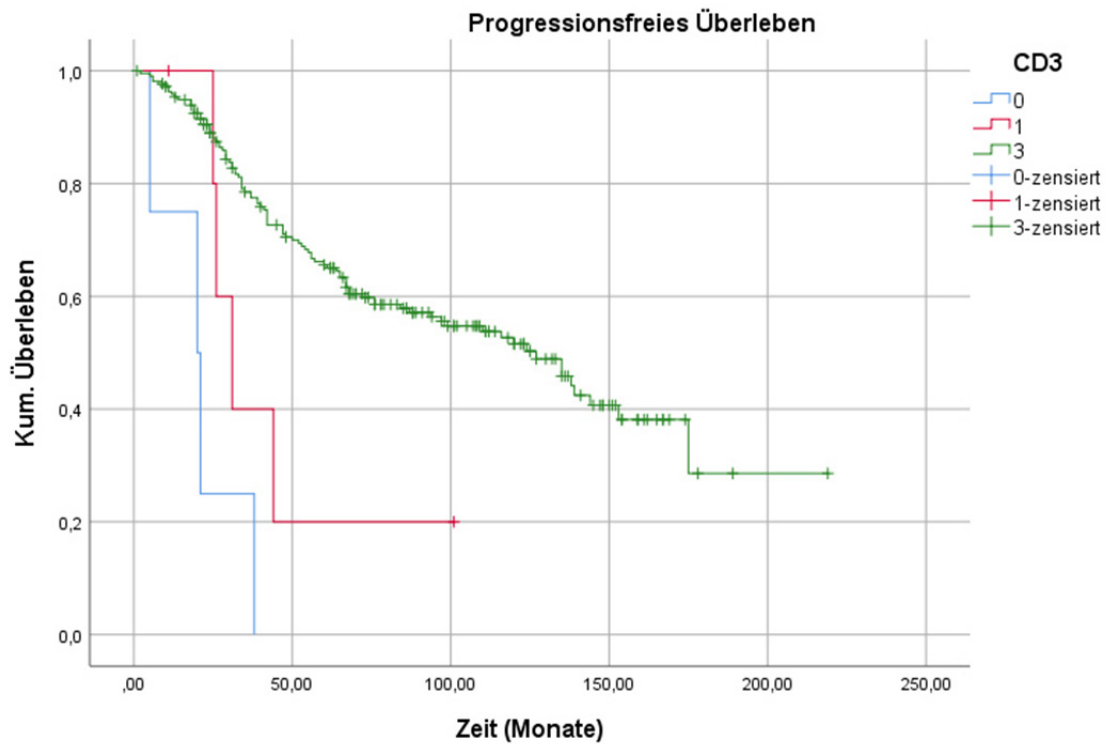


Abbildung 14 Progressionsfreies Überleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD3 ($n_{gesamt}=227$; $n_0=4$; $n_1=6$; $n_3=217$)

MUM-1

Eine Überprüfung des progressionsfreien Überlebens in Abhängigkeit der verschiedenen Expressionsgrade von MUM-1 ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen, was in Abbildung 15 dargestellt ist. Dabei war eine fehlende oder niedrige Expression in einem längeren PFS assoziiert. Eine Überprüfung mit dem Log-Rank Test ergab $\chi^2 = 8,844$ und ein Signifikanzniveau von $p=0,012$.

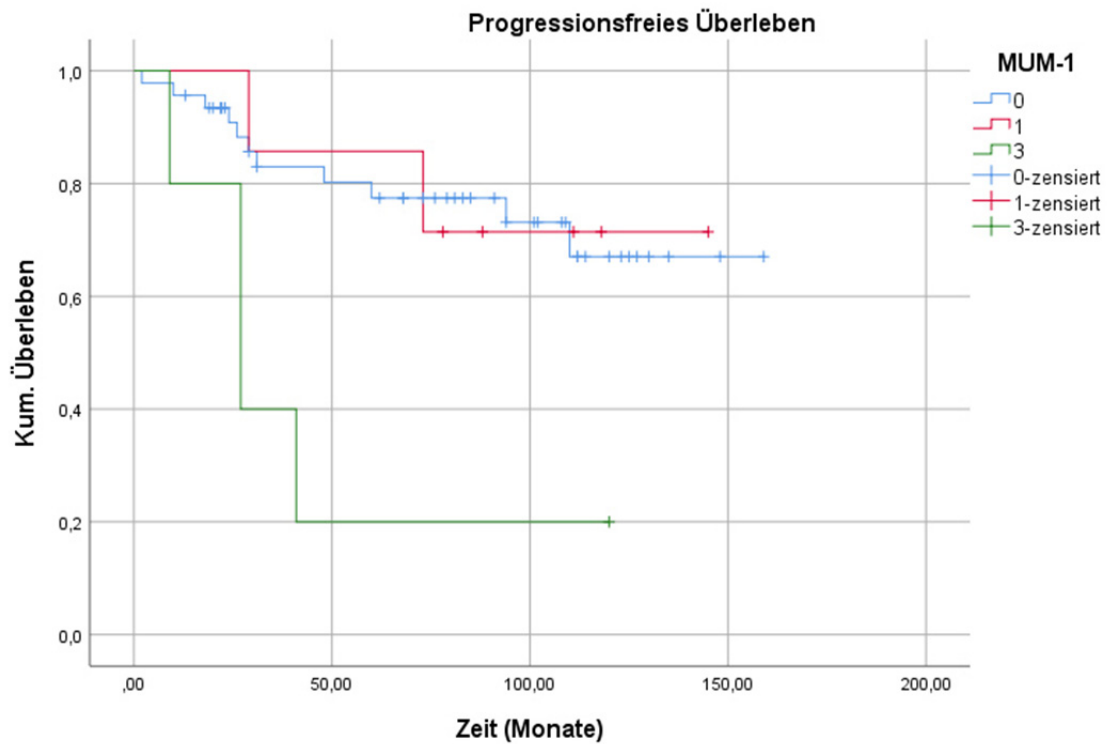


Abbildung 15 Progressionsfreies Überleben bei verschiedenen Expressionsgraden von MUM-1 ($n_{\text{gesamt}}=58$; $n_0=46$; $n_1=7$; $n_3=5$)

CD79a

Der Test auf Gleichheit der Überlebensverteilung für das progressionsfreie Überleben im Hinblick auf die verschiedenen Expressionsgrade von CD79a ergab einen signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen, wie in Abbildung 16 zu erkennen ist. Dabei korrelierte eine niedrige Expression mit einem kürzeren PFS. Eine Überprüfung mit dem Log-Rank Test ergab $\chi^2 = 4,491$ und ein Signifikanzniveau von $p=0,034$.

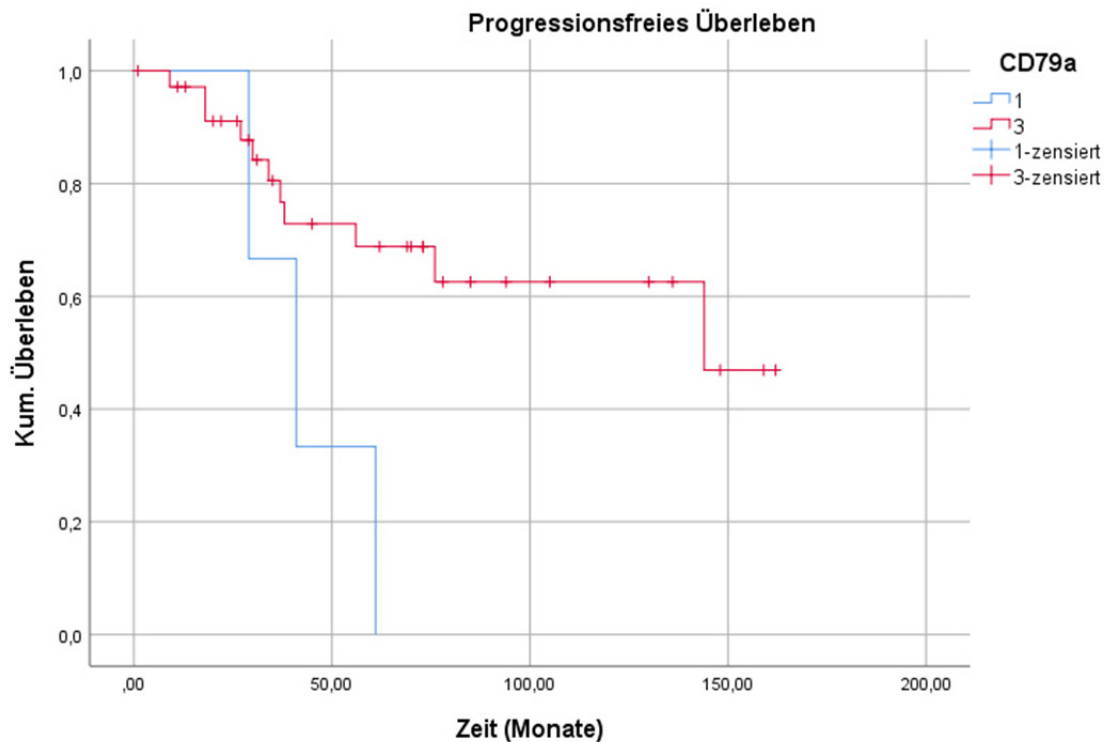


Abbildung 16 Progressionsfreies Überleben bei verschiedenen Expressionsgraden von CD79a ($n_{gesamt}=39$; $n_1=3$; $n_3=36$)

3.4. Cox-Regression

3.4.1. Gesamtüberleben (OS)

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurden die Auswirkungen der Expressionsgrade der molekulargenetischen Marker auf das Gesamtüberleben analysiert. In Tabelle 10 sind die Ergebnisse der univariaten Cox-Analyse aufgelistet.

Tabelle 10 Univariate Cox-Analyse der Auswirkungen der Expressionsgrade der molekulargenetischerer Marker auf das OS. Signifikante Werte sind fett gedruckt. (HR = Hazard-Ratio; CI = 95%-Konfidenzintervall der Hazard-Ratio)

| | HR | 95% CI | p |
|-------------|---------|---------------|------------------|
| CD3 | | | |
| 0 (negativ) | 1 (ref) | | |
| 1* positiv | 0,338 | 0,061 – 1,862 | 0,213 |
| 3* positiv | 0,096 | 0,034 – 0,276 | <0,001 |
| CD5 | | | |

| | | | |
|--------------|---------|--------------------|------------------|
| 0 (negativ) | 1 (ref) | | |
| 1* positiv | 1,247 | 0,205 – 7,596 | 0,811 |
| 3* positiv | 0,0330 | 0,101 – 1,078 | 0,066 |
| CD10 | | | |
| 0 (negativ) | 1 (ref) | | |
| 1* positiv | 0,274 | 0,081 – 0,752 | 0,014 |
| 2* positiv | 0,000 | 0,000 - 2,672E+271 | 0,971 |
| 3* positiv | 0,235 | 0,112 - 0,494 | <0,001 |
| CD23 | | | |
| 0 (negativ) | 1 (ref) | | |
| 1* positiv | 0,108 | 0,010 - 1,219 | 0,072 |
| 3* positiv | 0,189 | 0,044 – 0,819 | 0,026 |
| MUM-1 | | | |
| 0 (negativ) | 1 (ref) | | |
| 1* positiv | 0,919 | 0,105 - 0 8,042 | 0,939 |
| 3* positiv | 7,384 | 1,689 – 32,278 | 0,008 |
| CD8 | | | |
| 0 (negativ) | 1 (ref) | | |
| 1* positiv | 0,000 | 0,000 - 2,453E+237 | 0,959 |
| 2* positiv | 0,000 | 0,000 - 2,508E+237 | 0,959 |
| 3* positiv | 0,000 | 0,000 - 7,763E+237 | 0,962 |

Es zeigte sich, dass im Hinblick auf CD3, dass eine 3* positiver Expressionsgrad des Markers im Vergleich mit einem negativen Expressionsgrad mit einem signifikant besseren Gesamtüberleben zusammenhängt.

Für CD5 ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem negativen Expressionsgrad des Markers und den positiven Expressionsgraden zeigen.

Im Hinblick auf CD10 konnte sowohl für den 1* positiven, als auch für den 3* positiven Expressionsgrad des Markers ein signifikant besseres Gesamtüberleben im Vergleich zur Referenzgruppe mit negativem Expressionsgrad des Markers gezeigt werden. Zwischen der Referenzgruppe und der 2*positiven Gruppe konnte kein Unterschied gezeigt werden.

Bei der Analyse von CD23 zeigte sich zwischen der Gruppe des negativen Expressionsgrades und der 3*positiven Gruppe eine signifikante Verbesserung im Gesamtüberleben. Zur 1* positiven Gruppe konnte kein Unterschied gezeigt werden.

In der Analyse der Expressionsgrade von MUM-1 konnte gezeigt werden, dass ein 3*positiver Expressionsgrad des Markers mit einem signifikant schlechteren Gesamtüberleben assoziiert war.

Hinsichtlich CD8 konnten auf Grund der geringen Anzahl der gültigen Daten keine Unterschiede zwischen den Gruppen bestätigt werden.

3.4.2. Progressionsfreies Überleben (PFS)

Mittels des Cox-Regressionsmodells wurden die Auswirkungen der Expressionsgrade der molekulargenetischen Marker auf das progressionsfreie Überleben analysiert. In Tabelle 11 sind die Ergebnisse der univariaten Cox-Analyse dargestellt.

Tabelle 11 Univariate Cox-Analyse der Auswirkungen der Expressionsgrade der molekulargenetischen Marker auf das PFS. Signifikante Werte sind fett gedruckt. (HR = Hazard-Ratio; CI = 95%-Konfidenzintervall der Hazard-Ratio)

| | HR | 95% CI | p |
|-------------|---------|---------------|------------------|
| CD3 | | | |
| 0 (negativ) | 1 (ref) | | |
| 1* positiv | 0,302 | 0,075 – 1,219 | 0,093 |
| 3* positiv | 0,106 | 0,38 – 0,279 | <0,001 |

| | | | |
|--------------|---------|----------------|--------------|
| MUM-1 | | | |
| 0 (negativ) | 1 (ref) | | |
| 1* positiv | 0,936 | 0,207 – 4,230 | 0,932 |
| 3* positiv | 4,708 | 1,477 – 15,008 | 0,009 |
| CD79a | | | |
| 1* positiv | 1 (ref) | | |
| 3* positiv | 0,517 | 0,568 – 0,997 | 0,049 |

Es zeigte sich für die Gruppe mit CD3-Expressionsgrad 3* ein signifikant besseres progressionsfreies Überleben gegenüber der Gruppe des negativen Expressionsgrades.

Hinsichtlich MUM-1 zeigte sich in der Expressionsgrad 3* Gruppe ein signifikant schlechteres progressionsfreies Überleben, verglichen mit der Referenzgruppe des negativen Expressionsgrades.

Bei der Analyse von CD79a zeigte sich für die 3*positive Gruppe ein signifikant besseres progressionsfreies Überleben verglichen mit dem 1*positiven Expressionsgrad.

4. Diskussion

Das folliculäre Lymphom ist mit einem Anteil von etwa 25% an allen Non-Hodgkin Lymphomen das häufigste indolente NHL in Westeuropa und den USA. Der Krankheitsverlauf ist im Vergleich zwischen verschiedenen PatientInnen sehr heterogen, weshalb eine Abschätzung des möglichen Krankheitsverlaufs bei Diagnose sowohl für PatientInnen als auch BehandlerInnen interessant ist. Zu diesem Zweck existieren verschiedene prognostische Hilfsmittel, wie FLIPI, FLIPI-2, m7-FLIPI und PRIMA-PI. In der bisher nur als Konsultationsfassung veröffentlichten S3-Leitlinie zum folliculären Lymphom wird aber auch weiterhin nur die Heranziehung des FLIPI als Möglichkeit der Risikoabschätzung bei Erstdiagnose empfohlen. Explizit wird hier darauf hingewiesen, dass FLIPI, FLIPI-2 und m7-FLIPI „nicht zur Therapiesteuerung eingesetzt werden“ (53) sollen. Der aktuellste vorgestellte Score ist der PRIMA-PI, der als Vereinfachung des FLIPI-2 gilt, dessen prognostische Überlegenheit gegenüber FLIPI und FLIPI-2 hinsichtlich des Gesamtüberlebens aber noch gezeigt werden muss (53,77). Diese Gesamtsituation verdeutlicht, dass die Suche nach prognostischen Faktoren, die auch im klinischen Alltag bei Diagnosestellung erhoben werden können, von aktueller Relevanz ist.

In dieser retrospektiven Studie wurde erstmals die Kohorte der am Universitätsklinikum Graz behandelten PatientInnen mit folliculären Lymphom auf bei Diagnosestellung routinemäßig erhobene molekulargenetische Marker mit potentiell prognostischer Relevanz untersucht. Dabei konnten verschiedene Marker identifiziert werden, die mit einem unterschiedlichen Überleben der PatientInnen assoziiert waren.

In einer ersten statistischen Analyse wurden versucht, mögliche Zusammenhänge zwischen den Expressionsgraden und der Progression in den ersten 24 Monaten (POD24) zu finden. Dabei wurde POD24 als Surrogatparameter für das Gesamtüberleben bzw. 5-Jahres-Überleben verwendet, da nicht alle PatientInnen der Kohorte über einen längeren Zeitraum beobachtet werden konnte, und das Therapieansprechen in den ersten 24 Monaten als stärkster Faktor bei Voraussagen zum Gesamtüberleben zu werten ist. Mit Hilfe von Kreuztabellen und dem Chi-Quadrat-Test bzw. der Monte-Carlo-Methode wurden die möglichen Zusammenhänge dann auf Signifikanz überprüft.

Bei der Überprüfung der verschiedenen Gruppen der Expressionsgrade von CD3 zeigte sich eine signifikant erhöhtes Auftreten von frühzeitiger Progression in der CD3-negativen PatientInnengruppe ($p=0,044$). Auch Analyse der gleichen Gruppen hinsichtlich ihres

Gesamtüberlebens und des progressionsfreien Überlebens mittels Kaplan-Meier-Kurven und Log-rank-Test zeigte signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (jeweils $p < 0,001$). In der abschließenden univariaten Analyse mittels Cox-Regression zeigte sich sowohl im Gesamtüberleben als auch im progressionsfreien Überleben ein besseres Outcome für die Gruppe PatientInnen mit Expressionsgrad 3* gegenüber der Gruppe der CD3-negativen PatientInnen (jeweils $p < 0,001$).

Damit konnte gezeigt werden, dass CD3 ein interessanter Kandidat hinsichtlich der prognostischen Relevanz in diesem Kontext ist.

CD3 ist ein T-Zell-Marker, dessen Rolle hinsichtlich des Krankheitsverlaufes des follikulären Lymphoms insbesondere im Kontext der nicht-malignen Mikroumgebung mehrfach untersucht wurde. So untersuchten Meirav et al. in einer Kohorte von 48 PatientInnen die CD3-Expression, allerdings nur in den intra-follikulären Arealen. Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit, in der jegliche CD3-Expression der vorhandenen histopathologischen Diagnostik in die Analyse einging, stellten Meirav et al. einen Zusammenhang zwischen niedriger CD3-Expression und einem verbesserten Outcome im Sinne der 5-Jahres-Freiheit von Therapieversagen (freedom from treatment failure; FFTF) fest (78). In einer weiteren Studie analysierten Xerri et al. das histologische Material von 417 PatientInnen der PRIMA-Studie mittels Computer-assistierter Bildanalyse und stellten fest, dass hohe CD3-Expression in dieser Kohorte mit einem signifikant verbesserten progressionsfreien Überleben korrelierte, während beim Gesamtüberleben lediglich ein Trend in diese Richtung zu finden war. Da sich diese Ergebnisse zwar in einer RNA-Analyse und einer Trainingsuntergruppe bestätigen ließen, aber in einer Bestätigungsuntergruppe ihre Signifikanz verloren, vermuteten die Untersucher, dass die Rituximab-Behandlung den prognostischen Wert der immunohistochemischen Färbung in diesem Fall verhinderte (79). Den Einfluss von infiltrierenden Immunzellen auf das follikuläre Lymphom untersuchten auch Tobin et al. im Hinblick auf POD24 als Endpunkt. Dabei stellten sie fest, dass in ihrer untersuchten Kohorte die Subgruppe mit niedriger Immuzellinfiltration ein signifikant erhöhtes Risiko für eine frühe Progression in den ersten 24 Monaten hatte. Sie schlussfolgerten daraus, dass die Immuzellinfiltration ein vielversprechendes Werkzeug sein könnte, um PatientInnen zu identifizieren, die ein Risiko für POD24 haben (80). Dass die nicht-maligne Mikroumgebung des follikulären Lymphoms einen Einfluss auf das Outcome der PatientInnen hat, ist in vielen Studien untersucht worden (44,81). Die endgültige prognostische Relevanz von CD3 bleibt dabei

noch zu klären. Da CD3 von einem weiten Spektrum an T-Zellen exprimiert wird, könnte es in diesem Kontext durchaus Sinn machen, wie von Xerri et al. postuliert, den prognostischen Effekt von weniger bekannte T-Zell-Untergruppen zu untersuchen, auch um potenzielle gegenläufige Effekte komplementär arbeitender T-Zellen auszuschließen (79).

Bei der Untersuchung von CD5 konnte in den verschiedenen Gruppen der Expressionsgrade keine Unterschiede zum POD24 gefunden werden. Lediglich in den Kaplan-Meier-Kurven zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p=0,029$), der aber hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens nicht signifikant nachzuweisen war. Auch die Cox-Regression zeigte lediglich einen Trend zum besseren Gesamtüberleben für die Gruppe der PatientInnen mit CD5-Expressionsgrad 3* ($p=0,066$). Wie CD3 ist auch CD5 ein T-Zell-Marker, der typischerweise im folliculären Lymphom negativ ist (82,83). Die Einordnung in vergleichbare Literatur fällt dahingehend schwer, dass die meisten anderen Studien die CD5-Expression der malignen B-Zellen messen, während in dieser Arbeit analog zur CD3-Expression die gesamte Expression erfasst wurde, die im histopathologischen Bericht erwähnt war. So untersuchten Li et al. 88 Fälle von CD5-positiven folliculären Lymphomen und zeigten, dass diese im Vergleich zu einer gematchten CD5-negativen Gruppe einen höheren FLIPI, eine höhere Transformationsrate und ein kürzeres progressionsfreies Überleben aufwiesen (84). Miyoshi et al. stellten in einer ähnlichen Arbeit mit 22 CD5-positiven folliculären Lymphomen fest, dass diese im Vergleich mit der CD5-negativen Kontrollgruppe ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben zeigten (85).

Da in der vorliegenden Arbeit aber wahrscheinlich primär die CD5-Expression von T-Zellen erfasst wurden, lässt sich der hier erfasste Überlebensvorteil eher auf den Einfluss der nicht-malignen tumorinfiltrierenden Immunzellen zurückführen, wie im vorhergehenden Absatz erläutert.

Bei der Analyse von CD10 konnte mittels Kreuztabellen kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen der Expressionsgrade hinsichtlich POD24 gefunden werden. Auch hier zeigte sich dann aber in der Überlebensanalyse mittels Kaplan-Meier-Kurven ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p<0,001$) hinsichtlich des Gesamtüberlebens, nicht aber beim progressionsfreien Überleben. In der Cox-Regression bestätigten sich die Ergebnisse der Kaplan-Meier-Kurven. Hier konnte gezeigt werden,

dass in der vorliegenden Kohorte sowohl die PatientInnengruppen mit Expressionsgrad 3* und 1* ein signifikant besseres Gesamtüberleben im Vergleich mit der Referenzgruppe der CD10-negativen Gruppe hatten ($p < 0,001$ bzw. $p = 0,014$).

Es ist bereits bekannt, dass das Oberflächenprotein CD10 als Tumorsuppressor agieren kann, wobei der genaue Mechanismus dabei ungeklärt ist. Der CD10-Expressionsstatus ist in mehreren Krebsentitäten mit einem prognostischen Wert verbunden (86). Bei einer Studie mit 94 PatientInnen konnten Kelley et al jedoch keine Assoziation zwischen der CD10-Expression in der immunochemischen Färbung und einem veränderte Gesamtüberleben nachweisen. Auch Torlakovic et al. betonen die prognostische Relevanz von Keimzentrums-Phänotyp Markern, konnten aber keinen Zusammenhang zwischen CD10-Expression und verändertem Gesamtüberleben und progressionsfreien Überleben aufzeigen (87). Im Gegensatz dazu konnten Bilalovic et al. in einer 73 PatientInnen umfassenden Arbeit eine Assoziation zwischen CD10-Expression und verlängertem Gesamtüberleben, krankheitsspezifischen Überleben und Zeit bis zum Therapieversagen feststellen. Karube et al. untersuchten spezifisch PatientInnen mit negativer CD10- und positivere MUM1-Expression und berichteten dabei nicht nur von einer schlechteren Prognose dieser PatientInnen, sondern auch von der Annahme, dass MUM1-Positivität mit einer negativen CD10-Expression verknüpft sei und diese folliculären Lymphome einen eigenen, atypische FL-Subtyp darstellen (88).

Die statistische Untersuchung der CD23-Expressionsgrade mittels Kreuztabellen zeigte hinsichtlich POD24 keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen. Mit Hilfe der Kaplan-Meier-Kurven konnte aber ein bestehender Unterschied im Gesamtüberleben gezeigt werden ($p < 0,001$), der auch in der Cox-Regression nachweisbar war. Hier zeigte sich dass die 3*positive Gruppe ein signifikant besseres Gesamtüberleben gegenüber der Gruppe des negativen CD23-Expressionsgrades aufwies ($p < 0,001$). Keine signifikanten Unterschiede konnten in der Analyse des progressionsfreien Überlebens gezeigt werden.

Als Transmembranprotein, welches unter anderem in die Regulation von IgE involviert ist, wurde auch der Einfluss von CD23 auf den klinischen Verlauf auch von Olteanu et al. untersucht (83,89). In einer Untersuchung der Expression mittels Durchflusszytometrie konnten sie zeigen, dass CD23-Expression bei folliculärem Lymphom mit einem verbesserten Gesamtüberleben und Ereignis-freien Überleben assoziiert war.

Auch für MUM-1 konnte keine statistische Assoziation zu POD24 mittels Kreuztabellen nachgewiesen werden. Unter Nutzung der Kaplan-Meier-Kurven zeigte sich aber ein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen sowohl beim Gesamtüberleben ($p=0,006$) als auch beim progressionsfreien Überleben ($p=0,012$). Dass ein 3*positiver Expressionsgrad gegenüber der negativen MUM-1-Gruppe mit einem signifikant schlechteren Gesamtüberleben ($p=0,008$) und progressionsfreien Überleben ($p=0,009$) assoziiert war, zeigte sich in der anschließenden Cox-Regressionsanalyse.

Kelley et al. beschrieben in einer Arbeit, dass MUM-1 routinemäßig als Marker für nicht-Keimzentrums-B-Zellen benutzt wird und in diesem Kontext ein nützlicher Prädiktor für schlechtes Outcome beim diffus großzelligen B-Zell Lymphom ist. In dieser Arbeit konnten sie zwar keinen signifikanten Einfluss der MUM-1-Expression auf das Gesamtüberleben feststellen, stellten aber fest, dass alle positiven MUM-1-PatientInnen zum Zeitpunkt der Diagnose behandelt wurden (90).

In der schon oben genannten Arbeit von Miyoshi et al. konnte eine starke Assoziation zwischen den mit einer schlechteren Prognose verbundenen CD5-negativen folliculären Lymphomen und der Expression von MUM-1 festgestellt werden (85). Huo et al. fanden eine Assoziation zwischen MUM-1-Expression und höherem Grad des folliculären Lymphoms und schlossen daraus auf eine schlechtere Prognose bei entsprechender Expression (91). Einen Schritt weiter gingen Sweetenham et al. und zeigten, dass PatientInnen, die mit monoklonalen Antikörpern (mAb) und Chemotherapie behandelt wurden bei positiver MUM-1-Expression ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben hatten. In der Gruppe der PatientInnen mit Chemotherapie ohne Antikörpertherapie konnten sie diesen Unterschied allerdings nicht feststellen (92). Xerri et al. untersuchten die Biopsien von 434 PatientInnen mit Hilfe automatisierter computerassistierter Bildanalyse, wobei sie ein signifikant schlechteres progressionsfreies Überleben in der MUM-1 positiven Gruppe zeigen konnten und MUM-1 als einen robusten Prädiktor für schlechteres Outcome beim folliculären Lymphom bezeichnen. Sie schlagen vor, dass der prädiktive Wert mit einem funktionalen Mechanismus zusammenhängt, der das Tumorwachstum begünstigt (93). Diese Ergebnisse hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens gehen damit in die gleiche Richtung, wie die in dieser Arbeit beobachteten Ergebnisse.

Für den Marker Cd79a konnten hinsichtlich POD24 keine signifikanten Unterschiede gefunden werden. In den Kaplan-Meier-Kurven zeigte sich für das progressionsfreie Überleben ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen der Expressionsgrade (3*positiv vs. 1*positiv; $p=0,034$), welcher sich in der Cox-Regression knapp signifikant zu Gunsten der 3*positiven Gruppe bestätigte ($p=0,049$).

In der Literatur waren hinsichtlich der prognostischen Relevanz von CD79a beim folliculären Lymphom nur wenige Arbeiten zu finden. Torlakovic et al. kamen zu dem Ergebnis, dass eine höhere CD79a-Expression mit einem schlechteren progressionsfreien Überleben assoziiert sein könnte (87). Bei der Auswertung von CD79a konnte in der vorliegenden Kohorte kein Fall gefunden werden, in dem eine negativer Expressionsgrad von CD79a vermerkt war, womit es in der Reihe der hier untersuchten Marker ein Sonderfall ist, da kein negativer Referenzwert zur Auswertung vorliegt.

Auch bei der Analyse von CD8 konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bezogen auf POD24 gefunden werden. Lediglich die Kaplan-Meier-Kurven des Gesamtüberlebens zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen im Log-rank-Test ($p=0,003$), der sich aber in der Cox-Regression nicht bestätigen ließ.

Sugimoto et al. beschreiben in einer Übersichtsarbeit den Einfluss von CD8-positiven infiltrierenden T-Zellen als Teil der Mikroumgebung auf die Prognose der PatientInnen. Ein höhere Infiltration von CD8-positiven T-Zellen wird dabei als vorteilhaft für das Gesamtüberleben beschrieben (94). Auf Grund der kleinen Fallzahl und der fehlenden Signifikanz in der Cox-Regression ist es schwierig, die vorliegenden Ergebnisse hiermit zu vergleichen. Mit der Einordnung in den Kontext der Mikroumgebung fallen diese aber in die gleiche Kategorie wie auch schon die Ergebnisse zu CD3 und CD5.

Zusammenfassend kann man sagen, dass aus der Vielzahl der untersuchten molekulargenetischen Marker einige Kandidaten identifiziert werden konnten, die in der Grazer Kohorte mit dem Outcome der PatientInnen assoziiert waren. Durch die einheitliche Erfassung in einer Datenbank konnten die Daten dieser relativ großen Kohorte so abgespeichert werden, dass sie stetig ergänzt und für weitere Untersuchungen verwendet werden können.

Eine Limitation dieser Arbeit ist die Datenqualität, welche sich auf die Einordnung der prognostischen Relevanz der identifizierten Marker ausschlägt. Die Expressionsdaten der

Marker aus den histopathologischen Berichten wurden zwar von einer Person in die Expressionsgrade für die statistische Analyse eingeordnet, um ein gleichmäßiges Vorgehen zu gewährleisten, aber die Berichte selber stammten von verschiedenen Untersuchern, wodurch eine Interobserver-Variabilität nicht verhindert werden konnte. Dadurch, dass diese Untersuchungen nicht nur von verschiedenen Untersuchern, sondern auch über einen längeren Zeitraum durchgeführt wurden, unterschied sich die Auswahl der analysierten Marker zwischen den Berichten sehr, was auch auf die sich über den Beobachtungszeitraum veränderten diagnostischen (pathologischen und molekularpathologischen) Kriterien zurückzuführen ist und zu einer hohen Breite der Anzahl erhobener Werte für die jeweiligen Marker führte (22). Auch die benutzten Formulierungen, die die Expression beschrieben und in die Gruppeneinteilung der Expressionsgrade umgesetzt wurden, variierten sehr. Um diese Effekte zu minimieren, könnte man, wie von Sander et al. vorgeschlagen, in zukünftigen Studien mit einem computer-assistierte Scoring arbeiten (95), was aber den Aufwand in einer Kohorte wie dieser maßgeblich vergrößern würde und auch retrospektiv nicht immer logistisch umsetzbar ist, weil von den PatientInnen gegebenenfalls kein Biopsiematerial mehr zur Verfügung steht. Sander et al. erklären damit auch die heterogenen Ergebnisse, die zum prognostischen Wert der Mikroumgebung in der Literatur vorhanden sind (95).

Ein weiterer Faktor ist die bereits angesprochene, in retrospektive schwierige Trennung von Expressionsdaten der folliculären Mikroumgebung und der malignen Zellen, insbesondere bei T-Zell-Markern wie CD3 und CD5.

In der statistischen Analyse fiel auch auf, dass bei einigen der signifikanten Fälle die Fallzahlen für einen Expressionsgrad sehr klein waren, was die Fehleranfälligkeit, insbesondere bei der oben beschriebenen Methode der Datenerhebung, vergrößert.

Vor diesem Hintergrund sticht MUM-1 als prognostischer Marker in dieser Arbeit besonders heraus. Die Gesamtzahl der erhobenen Werte liegen zwar mit $n=58$ eher im Mittelfeld, mit etwa 20% zu 80% negativen zu positiven Werten und fehlender potenzieller Verzerrung durch die Mikroumgebung ist die statistische Auswertung, die signifikante Ergebnisse auf verschiedenen Ebenen erbrachte, hier als robuster als bei den anderen Markern zu bewerten.

Ein weiterer interessanter Faktor, der bei der sich bei der Einordnung der Ergebnisse in den Kontext der Literatur zeigte ist der Einfluss der Tumormikroumgebung, insbesondere der

tumorinfiltrierenden Immunzellen, deren Einfluss sich beispielsweise bei der Analyse von CD3 zeigte. Dies bietet ein weiteres Themenfeld, für dessen genauere Untersuchungen die Methodik aber sicherlich modifiziert werden müsste.

In einer weiterführenden Arbeit wäre es dann möglich die vorhandenen Daten zu MUM-1 zu nutzen und in einen prognostischen Score zu überführen. So könnte die prognostische Relevanz auch an PatientInnen mit einem aktuelleren Diagnosezeitpunkt, die noch nicht in die Datenbank aufgenommen worden sind, überprüft werden. Dabei wäre es hilfreich, wenn die MUM-1-Expression in Zukunft, zum Beispiel im Rahmen einer prospektiven Studie, bei Diagnose erfasst werden würde. Inwiefern sich dabei auch eine computerassistierte Bildanalyse einsetzen lassen würde, wäre dabei auch im Hinblick auf logistische Aspekte zu eruieren.

5. Literaturverzeichnis

1. Behrends JC, Bischofberger J, Deutzmann R, Ehmke H, Frings S, Grissmer S, u. a. Duale Reihe Physiologie. 3. Auflage. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2016.
2. Schmidt RF, Lang F, Heckmann M. Physiologie des Menschen. 30. Auflage. Springer Berlin Heidelberg; 2007. 477–514 S. (Springer-Lehrbuch).
3. Hoffbrand AV, Moss PAH. Hoffbrand's Essential Haematology. Wiley-Blackwell. 2016.
4. Armitage JO, Gascoyne RD, Lunning MA, Cavalli F. Non-Hodgkin lymphoma. Lancet. Juli 2017;390(10091):298–310.
5. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Krebs in Deutschland 2011/2012. 10. Ausgab. Berlin; 2015.
6. Perry AM, Jacques D, Nathwani BN, Maclennan KA, Müller-Hermelink HK, Boilesen E, u. a. Classification of Non-Hodgkin Lymphoma in Seven Geographic Regions Around the World: Review of 4539 Cases from the International Non-Hodgkin Lymphoma Classification Project. Blood. 2015;126(23):1484.
7. Chihara D, Ito H, Matsuda T, Shibata A, Katsumi A, Nakamura S, u. a. Differences in incidence and trends of haematological malignancies in Japan and the United States. Br J Haematol. 2014;
8. Morton LM, Hartge P, Holford TR, Holly EA, Chiu BCH, Vincis P, u. a. Cigarette smoking and risk of non-Hodgkin lymphoma: A pooled analysis from the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2005;
9. Bayerdörffer E, Rudolph B, Neubauer A, Thiede C, Lehn N, Eidt S, u. a. Regression of primary gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after cure of Helicobacter pylori infection. Lancet. 1995;
10. Saha A, Robertson ES. Epstein-barr virus-associated B-cell lymphomas: Pathogenesis and clinical outcomes. Clinical Cancer Research. 2011.
11. Kwong YL. Natural killer-cell malignancies: Diagnosis and treatment. Bd. 19, Leukemia. 2005. S. 2186–94.
12. Giordano TP, Henderson L, Landgren O, Chiao EY, Kramer JR, El-Serag H, u. a. Risk of non-Hodgkin lymphoma and lymphoproliferative precursor diseases in US veterans with hepatitis C virus. J Am Med Assoc. 2007;
13. Colli C, Leinweber B, Müllegger R, Chott A, Kerl H, Cerroni L. Borrelia burgdorferi-associated lymphocytoma cutis: Clinicopathologic, immunophenotypic, and molecular study of 106 cases. J Cutan Pathol. 2004;
14. Ferreri AJM, Govi S, Pasini E, Mappa S, Bertoni F, Zaja F, u. a. Chlamydomydia Psittaci eradication with doxycycline as first-line targeted therapy for ocular adnexae lymphoma: Final results of an international phase II trial. J Clin Oncol. 2012;
15. Melenotte C, Million M, Audoly G, Gorse A, Dutronc H, Roland G, u. a. B-cell non-Hodgkin lymphoma linked to Coxiella burnetii. Blood. 2016;
16. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Lee Harris N, Stein H, Siebert R, u. a. WHO Classification

- of Tumours of the Haematopoietic and Lymphoid Tissues The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 19. Mai 2016;127(June 2016):2375–91.
17. Lackraj T, Goswami R, Kridel R. Pathogenesis of follicular lymphoma. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2018;31(1):2–14.
 18. De Leval L, Gaulard P. Pathology and biology of peripheral T-cell lymphomas. *Histopathology*. 2011.
 19. Barrington SF, Mikhaeel NG, Kostakoglu L, Meignan M, Hutchings M, Müller SP, u. a. Role of imaging in the staging and response assessment of lymphoma: Consensus of the international conference on malignant lymphomas imaging working group. *J Clin Oncol*. 2014;
 20. Meignan M, Gallamini A, Haioun C. Report on the First International Workshop on interim-PET scan in lymphoma. In: *Leukemia and Lymphoma*. 2009.
 21. Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie. Follikuläres Lymphom [Internet]. *Onkopedia Leitlinie Follikuläres Lymphom*. [zitiert 20. November 2019]. Verfügbar unter: <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/folikulaeres-lymphom/@@view/pdf/index.pdf?filename=folikulaeres-lymphom.pdf>
 22. Klapper W. Pathobiology and diagnosis of follicular lymphoma. *Semin Diagn Pathol*. 2011;28(2):146–60.
 23. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, u. a. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France. World Heal Organ Classification Tumours Haematop Lymphoid Tissue. 2008;
 24. Hiraga J, Tomita A, Sugimoto T, Shimada K, Ito M, Nakamura S, u. a. Down-regulation of CD20 expression in B-cell lymphoma cells after treatment with rituximab-containing combination chemotherapies: Its prevalence and clinical significance. *Blood*. 2009;
 25. Gaulard P, D'Agay MF, Peuchmaur M, Brousse N, Gisselbrecht C, Solal-Celigny P, u. a. Expression of the bcl-2 gene product in follicular lymphoma. *Am J Pathol*. 1992;
 26. Ott G, Katzenberger T, Lohr A, Kindelberger S, Rüdiger T, Wilhelm M, u. a. Cytomorphologic, immunohistochemical, and cytogenetic profiles of follicular lymphoma: 2 types of follicular lymphoma grade 3. *Blood*. 2002;
 27. Sukumar S, Conrad DH, Szakal AK, Tew JG. Differential T Cell-Mediated Regulation of CD23 (FcεRII) in B Cells and Follicular Dendritic Cells. *J Immunol*. 2006;
 28. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* (80-). 1984;
 29. Sungalee S, Mamessier E, Morgado E, Grégoire E, Brohawn PZ, Morehouse CA, u. a. Germinal center reentries of BCL2-overexpressing B cells drive follicular lymphoma progression. *J Clin Invest*. 2014;
 30. Brunelle JK, Letai A. Control of mitochondrial apoptosis by the Bcl-2 family. *J Cell Sci*. 2009;
 31. Limpens J, Stad R, Vos C, De Vlaam C, De Jong D, Van Ommen - GJB, u. a. Lymphoma-

- associated translocation t(14;18) in blood B cells of normal individuals. *Blood*. 1995;
32. Zhang J, Dominguez-Sola D, Hussein S, Lee JE, Holmes AB, Bansal M, u. a. Disruption of KMT2D perturbs germinal center B cell development and promotes lymphomagenesis. *Nat Med*. 2015;
 33. Horton SJ, Giotopoulos G, Yun H, Vohra S, Sheppard O, Bashford-Rogers R, u. a. Early loss of Crebbp confers malignant stem cell properties on lymphoid progenitors. *Nat Cell Biol*. 2017;
 34. Schwaenen C, Viardot A, Berger H, Barth TFE, Bentink S, Dohner H, u. a. Microarray-based genomic profiling reveals novel genomic aberrations in follicular lymphoma which associate with patient survival and gene expression status. *Genes Chromosom Cancer*. 2009;
 35. Oricchio E, Nanjangud G, Wolfe AL, Schatz JH, Mavrakis KJ, Jiang M, u. a. The Eph-receptor A7 is a soluble tumor suppressor for follicular lymphoma. *Cell*. 2011;
 36. Cheung KJJ, Johnson NA, Affleck JG, Severson T, Steidl C, Ben-Neriah S, u. a. Acquired TNFRSF14 mutations in follicular lymphoma are associated with worse prognosis. *Cancer Res*. 2010;
 37. Kridel R, Chan FC, Mottok A, Boyle M, Farinha P, Tan K, u. a. Histological Transformation and Progression in Follicular Lymphoma: A Clonal Evolution Study. *PLoS Med*. 2016;
 38. Ortega-Molina A, Boss IW, Canela A, Pan H, Jiang Y, Zhao C, u. a. The histone lysine methyltransferase KMT2D sustains a gene expression program that represses B cell lymphoma development. *Nat Med*. 2015;
 39. Zhang J, Vlasevska S, Wells VA, Nataraj S, Holmes AB, Duval R, u. a. The CREBBP acetyltransferase is a haploinsufficient tumor suppressor in B-cell lymphoma. *Cancer Discov*. 2017;
 40. Béguelin W, Popovic R, Teater M, Jiang Y, Bunting KL, Rosen M, u. a. EZH2 Is Required for Germinal Center Formation and Somatic EZH2 Mutations Promote Lymphoid Transformation. *Cancer Cell*. 2013;
 41. García-Ramírez I, Tadros S, González-Herrero I, Martín-Lorenzo A, Rodríguez-Hernández G, Moore D, u. a. Crebbp loss cooperates with Bcl2 overexpression to promote lymphoma in mice. *Blood*. 2017;
 42. Koues OI, Kowalewski RA, Chang LW, Pyfrom SC, Schmidt JA, Luo H, u. a. Enhancer Sequence Variants and Transcription-Factor Dereglulation Synergize to Construct Pathogenic Regulatory Circuits in B-Cell Lymphoma. *Immunity*. 2015;
 43. Basso K, Dalla-Favera R. Roles of BCL6 in normal and transformed germinal center B cells. *Immunol Rev*. 2012;
 44. Dave SS, Wright G, Tan B, Rosenwald A, Gascoyne RD, Chan WC, u. a. Prediction of survival in follicular lymphoma based on molecular features of tumor-infiltrating immune cells. *N Engl J Med*. 18. November 2004;351(21):2159–69.
 45. Ghesquières H, Berger F, Felman P, Callet-Bauchu E, Bryon PA, Traverse-Glehen A, u. a. Clinicopathologic characteristics and outcome of diffuse large B-cell lymphomas presenting with an associated low-grade component at diagnosis. *J Clin Oncol*. 2006;

46. Montoto S, Davies AJ, Matthews J, Calaminici M, Norton AJ, Amess J, u. a. Risk and clinical implications of transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007;
47. Bastion Y, Sebban C, Berger F, Felman P, Salles G, Dumontet C, u. a. Incidence, predictive factors, and outcome of lymphoma transformation in follicular lymphoma patients. *J Clin Oncol.* 1997;
48. Link BK, Maurer MJ, Nowakowski GS, Ansell SM, MacOn WR, Syrbu SI, u. a. Rates and outcomes of follicular lymphoma transformation in the immunochemotherapy era: A report from the university of Iowa/mayo clinic specialized program of research excellence molecular epidemiology resource. In: *Journal of Clinical Oncology.* 2013.
49. Godfrey J, Leukam MJ, Smith SM. An update in treating transformed lymphoma. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2018;31(3):251–61.
50. Scherer F, Kurtz DM, Newman AM, Stehr H, Craig AFM, Esfahani MS, u. a. Distinct biological subtypes and patterns of genome evolution in lymphoma revealed by circulating tumor DNA. *Sci Transl Med.* 2016;
51. Conconi A, Ponzio C, Lobetti-Bodoni C, Motta M, Rancoita PMV, Stathis A, u. a. Incidence, risk factors and outcome of histological transformation in follicular lymphoma. *Br J Haematol.* 2012;
52. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res.* 1971;31(11):1860–1.
53. Leitlinienprogramm Onkologie (DKG; DKH; AWMF). S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge für Patienten mit einem follikulären Lymphom, Langversion 0.1 (Konsultationsfassung) [Internet]. 2019 [zitiert 20. November 2019]. Verfügbar unter: <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/follikulae-res-lymphom/>
54. AWMF: Angemeldetes Leitlinienvorhaben - Diagnostik, Therapie und Nachsorge für Patienten mit einem follikulären Lymphom [Internet]. [zitiert 21. November 2019]. Verfügbar unter: <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/anmeldung/1/II/018-033OL.html>
55. Lowry L, Smith P, Qian W, Falk S, Benstead K, Illidge T, u. a. Reduced dose radiotherapy for local control in non-Hodgkin lymphoma: A randomised phase III trial. *Radiother Oncol.* 2011;
56. Brice P, Bastion Y, Lepage E, Brousse N, Haioun C, Moreau P, u. a. Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine, or interferon alfa: A randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires. *J Clin Oncol.* 1997;
57. Ardeschna KM, Smith P, Norton A, Hancock BW, Hoskin PJ, MacLennan KA, u. a. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: A randomised controlled trial. *Lancet.* 2003;
58. Hiddemann W, Cheson BD. How we manage follicular lymphoma. *Leukemia.* 2014;
59. Hiddemann W, Kneba M, Dreyling M, Schmitz N, Lengfelder E, Schmits R, u. a. Frontline therapy with rituximab added to the combination of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) significantly improves the outcome for patients with advanced-stage follicular lymphoma compared with therapy with CHOP alone: R. *Blood.*

2005;

60. Opat S, Dickinson M, Cheah CY, Tam C, Boulos J, Thorburn AN, u. a. Management of patients with follicular lymphoma treated first line with obinutuzumab. *Asia Pac J Clin Oncol*. 1. Mai 2019;15(S3):3–11.
61. Taverna C, Martinelli G, Hitz F, Mingrone W, Pabst T, Cevreska L, u. a. Rituximab maintenance for a maximum of 5 years after single-agent rituximab induction in follicular lymphoma: Results of the randomized controlled phase III trial SAKK 35/03. *J Clin Oncol*. 2016;
62. Salles G, Seymour JF, Offner F, López-Guillermo A, Belada D, Xerri L, u. a. Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): A phase 3, randomised controlled trial. *Lancet*. 2011;
63. Salles G, Seymour J, Feugier P, Offner F, Lopez-Guillermo A, Belada D, u. a. Updated 6 year follow-up of the PRIMA study confirms the benefit of 2-year rituximab maintenance in follicular lymphoma patients responding to frontline immunochemotherapy. *Blood*. 2013;
64. Kahl BS, Hong F, Williams ME, Gascoyne RD, Wagner LI, Krauss JC, u. a. Rituximab extended schedule or re-treatment trial for low-tumor burden follicular lymphoma: Eastern cooperative oncology group protocol E4402. *J Clin Oncol*. 2014;
65. Sehn LH, Chua N, Mayer J, Dueck G, Trněný M, Bouabdallah K, u. a. Obinutuzumab plus bendamustine versus bendamustine monotherapy in patients with rituximab-refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (GADOLIN): a randomised, controlled, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2016;
66. Gopal AK, Kahl BS, Vos S, Wagner-Johnston ND, Schuster SJ, Jurczak WJ, u. a. PI3K δ inhibition by idelalisib in patients with relapsed indolent lymphoma. *N Engl J Med*. 2014;
67. Montoto S, Corradini P, Dreyling M, Ghielmini M, Kimby E, López-Guillermo A, u. a. Indications for hematopoietic stem cell transplantation in patients with follicular lymphoma: A consensus project of the EBMT-lymphoma working party. *Haematologica*. 2013;
68. Jurinovic V, Metzner B, Pfreundschuh M, Schmitz N, Wandt H, Keller U, u. a. Autologous Stem Cell Transplantation for Patients with Early Progression of Follicular Lymphoma: A Follow-Up Study of 2 Randomized Trials from the German Low Grade Lymphoma Study Group. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;
69. Casulo C, Friedberg JW, Ahn KW, Flowers C, DiGilio A, Smith SM, u. a. Autologous Transplantation in Follicular Lymphoma with Early Therapy Failure: A National LymphoCare Study and Center for International Blood and Marrow Transplant Research Analysis. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2018;
70. van Oers MHJ, Van Glabbeke M, Giurgea L, Klasa R, Marcus RE, Wolf M, u. a. Rituximab maintenance treatment of relapsed/resistant follicular non-Hodgkin's lymphoma: long-term outcome of the EORTC 20981 phase III randomized intergroup study. *J Clin Oncol*. 10. Juni 2010;28(17):2853–8.
71. Vidal L, Gafter-Gvili A, Leibovici L, Dreyling M, Ghielmini M, Hsu Schmitz S-F, u. a. Rituximab Maintenance for the Treatment of Patients With Follicular Lymphoma: Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Trials. *JNCI J Natl Cancer Inst*. Februar

- 2009;101(4):248–55.
72. Morschhauser F, Radford J, Van Hoof A, Botto B, Rohatiner AZSS, Salles G, u. a. 90Yttrium-ibritumomab tiuxetan consolidation of first remission in advanced-stage follicular non-hodgkin lymphoma: Updated results after a median follow-up of 7.3 years from the international, randomized, phase III first-line indolent trial. *J Clin Oncol*. 1. Juni 2013;31(16):1977–83.
 73. Solal-Céligny P, Roy P, Colombat P, White J, Armitage JO, Arranz-Saez R, u. a. Follicular lymphoma international prognostic index. *Blood*. 2004;
 74. Hoster E, Unterhalt M, Stein H, Moccia AA, Hother C, Hiddemann W, u. a. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncol*. 2015;16(9):1111–22.
 75. Connors JM, Klapper W, Rosenwald A, Weinstock DM, Horn H, Staiger AM, u. a. Clinicogenetic risk models predict early progression of follicular lymphoma after first-line immunochemotherapy. *Blood*. 2016;128(8):1112–20.
 76. Casulo C, Byrtek M, Dawson KL, Zhou X, Farber CM, Flowers CR, u. a. Early relapse of follicular lymphoma after rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone defines patients at high risk for death: An analysis from the National LymphoCare Study. *J Clin Oncol*. 2015;
 77. Bachy E, Maurer MJ, Habermann TM, Gelas-Dore B, Maucourt-Boulch D, Estell JA, u. a. A simplified scoring system in de novo follicular lymphoma treated initially with immunochemotherapy. *Blood*. 2018;
 78. Meirav K, Ginette S, Tamar T, Iris B, Arnon N, Abraham A. Extrafollicular PD1 and Intrafollicular CD3 Expression Are Associated With Survival in Follicular Lymphoma. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk*. 2017;
 79. Xerri L, Huet S, Venstrom JM, Szafer-Glusman E, Fabiani B, Canioni D, u. a. Rituximab treatment circumvents the prognostic impact of tumor-infiltrating T-cells in follicular lymphoma patients. *Hum Pathol*. 1. Juni 2017;64:128–36.
 80. Tobin JWD, Keane C, Gunawardana J, Mollee P, Birch S, Hoang T, u. a. Progression of Disease Within 24 Months in Follicular Lymphoma Is Associated With Reduced Intratumoral Immune Infiltration. *J Clin Oncol*. 2019;
 81. Glas AM, Knoops L, Delahaye L, Kersten MJ, Kibbelaar RE, Wessels LA, u. a. Gene-expression and immunohistochemical study of specific T-cell subsets and accessory cell types in the transformation and prognosis of follicular lymphoma. *J Clin Oncol*. 2007;
 82. CD5 CD5 molecule [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI [Internet]. [zitiert 28. November 2019]. Verfügbar unter: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd>ShowDetailView&TermToSearch=921>
 83. Olteanu H, Fenske TS, Harrington AM, Szabo A, He P, Kroft SH. CD23 expression in follicular lymphoma: Clinicopathologic correlations. *Am J Clin Pathol*. Januar 2011;135(1):46–53.
 84. Li Y, Hu S, Zuo Z, Hong M, Lin P, Li S, u. a. CD5-positive follicular lymphoma: Clinicopathologic correlations and outcome in 88 cases. *Mod Pathol*. 2015;

85. Miyoshi H, Sato K, Yoshida M, Kimura Y, Kiyasu J, Ichikawa A, u. a. CD5-positive follicular lymphoma characterized by CD25, MUM1, low frequency of t(14;18) and poor prognosis. *Pathol Int.* 2014;
86. Mishra D, Singh S, Narayan G. Role of B Cell Development Marker CD10 in Cancer Progression and Prognosis. *Mol Biol Int.* 2016;2016:1–9.
87. Torlakovic EE, Bilalovic N, Golouh R, Zidar A, Angel S. Prognostic significance of PU.1 in follicular lymphoma. *J Pathol.* Juli 2006;209(3):352–9.
88. Karube K, Guo Y, Suzumiya J, Sugita Y, Nomura Y, Yamamoto K, u. a. CD10-MUM1+ follicular lymphoma lacks BCL2 gene translocation and shows characteristic biologic and clinical features. *Blood.* 2007;
89. Bonnefoy JY, Lecoanet-Henchoz S, Gauchat JF, Graber P, Aubry JP, Jeannin P, u. a. Structure and functions of CD23. *Int Rev Immunol.* 1997;
90. Kelley T, Beck R, Absi A, Jin T, Pohlman B, Hsi E. Biologic predictors in follicular lymphoma: Importance of markers of immune response. *Leuk Lymphoma.* 2007;
91. Huo Y, Pan Y, Guan B, Fang A, Sun B, Zhou G, u. a. Significance of MUM-1/IRF4 protein expression in follicular lymphoma. *Zhonghua bing li xue za zhi = Chinese J Pathol.* August 2011;40(8):528–31.
92. Sweetenham JW, Goldman B, LeBlanc ML, Cook JR, Tubbs RR, Press OW, u. a. Prognostic value of regulatory T cells, lymphoma-associated macrophages, and MUM-1 expression in follicular lymphoma treated before and after the introduction of monoclonal antibody therapy: A southwest oncology group study. *Ann Oncol.* 29. Oktober 2010;21(6):1196–202.
93. Xerri L, Bachy E, Fabiani B, Canioni D, Chassagne-Clément C, Dartigues-Cuillères P, u. a. Identification of MUM1 as a prognostic immunohistochemical marker in follicular lymphoma using computerized image analysis. *Hum Pathol.* 2014;45(10):2085–93.
94. Sugimoto T, Watanabe T. Follicular Lymphoma: The Role of the Tumor Microenvironment in Prognosis. *Journal of clinical and experimental hematopathology : JCEH.* 2016.
95. Sander B, de Jong D, Rosenwald A, Xie W, Balagué O, Calaminici M, u. a. The reliability of immunohistochemical analysis of the tumor microenvironment in follicular lymphoma: A validation study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Haematologica.* 2014;