

Diplomarbeit

**Tumorimmunologische Effekte bei hämatopoietischer
Stammzelltransplantation**

eingereicht von

Judith Geschrey

Matr.Nr.: 0433177

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor(in) der gesamten Heilkunde

(Dr. med.univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Kinderklinik Graz/Pädiatrische Hämato-Onkologie

unter der Anleitung von

Univ.-Prof. Dr.med.univ. Christian Urban

Ort, Datum.....

(Unterschrift)

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

Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

1.	Abbildungsverzeichnis und Tabellenverzeichnis	S. 4
2.	Abkürzungsverzeichnis	S. 5
3.	Abstract	S. 7
4.	Geschichte der Stammzelltransplantation	S. 8
4.1.	Erste Erkenntnisse	S. 8
4.2.	Entdeckung der Wirkung bei soliden Tumoren	S. 13
4.3.	Entdeckung des Killer-Cell-Immunoglobulin-Like-Receptors	S. 16
4.3.1.	Das Immunsystem	S. 15
4.3.2.	T-Zellen	S. 17
4.3.3.	Major Histocompatibility Complex	S. 18
4.3.4.	Natürliche Killerzellen	S. 18
4.3.5.	Killer-cell-immunoglobulin-like-receptor	S. 20
5.	Derzeitige Erkenntnisse und Erfolge	S. 25
5.1.	Stammzelltransplantation	S. 25
5.2.	Graft versus Host Disease	S. 28
5.3.	Stammzelltransplantation bei soliden Tumoren	S. 31
5.4.	Aktuelle Ergebnisse	S. 32
6.	Zukunftsaussichten	S. 38
6.1.	SCT - Forschung	S. 38
6.1.1.	Stammzellen aus der Nabelschnur	S. 38
6.1.2.	Verstärkung des GvL-Effektes	S. 40
6.1.3.	Reduktion der GvHD	S. 40
6.1.4.	Interleukin 6	S. 41
6.1.5.	Mesenchymale Stammzellen	S. 41

6.1.6. CD4-NKT-Zellen	S. 42
6.1.7. Zyklin-D1	S. 42
6.1.8. Dendritische Zellen als T-Zell-Inhibitoren	S. 43
6.1.9. CD40-B-Zellen	S. 44
6.2. Nicht SCT-bezogene Forschung	S. 44
6.2.1. Tumorzellen als Immunogene	S. 44
6.2.2. EGF-SEA-Proteine	S. 45
6.2.3. Cell-Checkpoint-Kinase 1	S. 46
6.2.4. Hemmung der Angiogenese	S. 46
6.2.5. Radiopharmaka	S. 47
6.3. Zusammenfassung	S. 47
7. Diskussion	S. 48
8. Literaturverzeichnis	S. 50
9. Danksagung	S. 57
10. Lebenslauf	S. 58

1. Abbildungsverzeichnis

Abb.1, S. 8	E. Donnall Thomas
Abb.2, S. 9	Jean Dausset
Abb.3, S. 12	Wirkungsweise des MHC bei normalen Pathogenen und die Abweisung inkompatibler Spenderzellen durch körpereigene Immunzellen.
Abb.4, S. 16	Entwicklung der Zellen des Immunsystems von der pluripotenten Stammzelle bis zu ihrer entgültigen Form
Abb.5, S. 19	NK Zelle mit verschiedenen Oberflächenrezeptoren
Abb.6, S. 21	Die verschiedenen KIR Typen mit ihren Untergruppen
Abb.7, S. 24	Die verschiedenen Möglichkeiten einer GvL aufgrund der verschiedenen KIR und den dazu passenden bzw. fehlenden Liganden zwischen Spender und Empfänger
Abb.8, S. 26	obere Skizze: HLA-Match zwischen Spender und Empfänger untere Skizze: HLA-Mismatch zwischen Spender und Empfänger
Abb.9, S. 28	Konzept der Stammzelltransplantation
Abb.10, S. 30	Patho (physio) logie einer GvHD
Abb.11, S. 35	Überlebensrate von Patienten mit Neuroblastom mit allogene SCT(A) im Vergleich zu P. ohne SCT(B)
Abb.12, S. 36	Überlebensrate von Patienten mit soliden Tumoren bei SCT in einer Phase der Stagnation(durchgehende Linie) im Vergleich zu Patienten in einer Phase der Progression(gestrichelte Linie)
Abb.13, S. 39	Entnahme von Nabelschnurblut aus der Nabelschnur

Tabellenverzeichnis

Tab.1, S. 29	Stadieneinteilung der akuten GvHD
Tab.2, S. 29	Graduierung der akuten GvHD
Tab.3, S. 32	Art der Tumore und die Anzahl der Patienten, die an der Klinik behandelt wurden
Tab.4, S. 33	Alle Patienten, die an einem Neuroblastom erkrankt sind. Da es nur sehr wenige Patienten, sind kann man keine allgemeingültigen Schlüsse daraus ziehen.
Tab.5, S. 34	Patienten mit Osteosarkom und Ewing-Sarkom im Vergleich
Tab.6, S. 37	Überlebensrate der Patienten nach allogener SCT

2. Abkürzungsverzeichnis

BMT	bone marrow transplantation
CD	cluster of differentiation
CHK	cell checkpointkinase
CpG	Cytosin-phosphatidyl-Guanin
CTL	cytotoxic T-lymphocytes
EGF	epidermal growth factor
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
G-CSF	granulocyte-colony stimulating factor

GIT	Gastrointestinaltrakt
GvHD	graft versus host disease
GvHR	graft versus host reaction
GvT	graft versus tumor
HLA	human leukocyte antigen
IDO	Indoleamin 2,3-Dioxygenase
IFN	interferon
IL	interleukin
iPS	induzierte pluripotente Stammzellen
KIR	killer cell immunoglobulin like receptor
MHC	major histocompatibility complex
MR	Mausrezeptor
NKZ	natürliche Killerzellen
PGE	prostaglandin E
RNA	ribonucleinacid
SEA	staphylokokken enterotoxin
SCID	severe combined immunodeficiency
SCT	stem cell transplantation
TNF	tumor necrosis factor

3. Abstract

Manche solide Tumore stellen eine sehr schwerwiegende und kaum erfolgreich zu behandelnde Erkrankung dar. Im Laufe der Jahrzehnte wurden schon viele verschiedene Methoden zur Bekämpfung dieser Krankheiten erforscht und erprobt.

In dieser Arbeit soll die Entdeckung der Stammzelltransplantation als Therapieoption für genetische Erkrankungen sowie für Leukämien, ihre Entwicklung über die Jahre bis hin zum gegenwärtigen Wissensstand und der Benützung als Therapieoption bei ungünstigen soliden Tumoren gezeigt werden. Nach einem kurzen historischen Überblick zeige ich in dieser Arbeit die derzeitigen Erfolge der Behandlung solider Tumoren mittels Stammzelltransplantation anhand der Daten der hämato-onkologischen Station der Kinderklinik Graz. Im Anschluss werden noch einige Forschungsansätze diskutiert, in welche Richtung sich die Stammzelltransplantation entwickeln könnte und was wir in Zukunft noch von dieser Art der Therapie für solide Tumoren erwarten dürfen.

Some solid tumors are very serious diseases which are difficult to deal with. Over the years many methods for treating these diseases have been explored and proved.

In this thesis, the discovery of stem cell transplantation as treatment for genetic diseases or leukemias, as well as its development over the years up to current knowledge and its use as an option for therapy of some unfavorable solid tumors will be showed. After a short historical overview I will show the actual successes with the treatment of unfavorable solid tumors using stem cell transplantation with the support of the information of the hemato-oncologic division of the University children's Hospital in Graz. Afterwards I will outline some promising research approaches, indicating in which way stem cell transplantation may be developing and what we may expect in the future of stem cell transplantation as a therapy for solid tumors.

4. Geschichte der Stammzelltransplantation

*"Der Behandler hat nur eine Aufgabe,
zu heilen,
und wenn ihm das gelingt,
ist es gleichgültig, auf welchem Wege es ihm gelingt!"*

(Hippokrates)

4.1. Erste Erkenntnisse

Um 1900 entstand bereits zum ersten Mal der Gedanke, Menschen mit Hilfe von Knochenmark zu heilen, nachdem man herausfand, dass es im Körper Zellen gibt, die Blutzellen produzieren können. Da das Knochenmark aber oral verabreicht wurde und somit keine Wirkung zeigte, wurde diese Idee wieder verworfen. ¹

1907 entwickelten Ross Harrison und ein wenig später auch Alexis Carrel die Grundlagen der Gewebekultur, die es Forschern ermöglichte, Zellen in Kulturschalen am Leben zu halten und zu vermehren. Damit war die Grundlage für die spätere Stammzellforschung gegeben. ²

1936 entdeckte Peter Gorer den ersten MHC bei Studien zur Transplantatabstoßung bei der Maus. ³

1955 erschien ein Artikel über die Wirkung von Knochenmarkinfusionen bei Mäusen, die den Arzt Dr. Donnell Thomas (Abbildung 1.)⁴ inspirierten, sich mit der Knochenmarkforschung zu beschäftigen. Er war der Erste, der 1956 bei einem Menschen eine Knochenmarktransplantation durchführte. Der Spender war der Zwilling des Patienten und

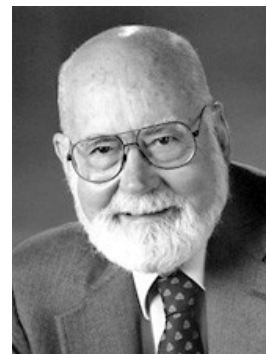


Abb. 1.: E. Donnell Thomas

obwohl die Transplantation an sich ein Erfolg war, konnte der Patient leider nicht gerettet werden. In den darauffolgenden Jahren wurde diese Art der Therapie nur für Zwillinge angeboten, da man zu diesem Zeitpunkt noch nicht genau verstand, wann und warum Spenden von Geschwistern und fremden Menschen abgestoßen wurden und starke Nebenwirkungen – sogenannte Graft versus Host Reactions (GvHR) – hervorriefen. ⁴

1958 beschrieb Jean Dausset das erste Leukozyten-Antigen, MAC, das heutzutage besser bekannt ist unter dem Namen HLA-A2. Diese Entdeckung ist bis heute wichtig bei Transplantationen, da das HLA eine Komponente des Immunsystems ist, die zwischen körpereigenen und fremden Zellen unterscheidet. Auf dieser Entdeckung beruhen auch die weiteren Forschungen von E. Donnall Thomas, der sich mit den Histokompatibilitäts-Antigenen beschäftigte, die zur Gewebstypisierung von Spendern und Empfängern dient. ^{1, 5}

1962 beschrieben D.W. Barnes und J.F. Loutit erstmals die Graft versus Host Disease (GvHD) bei Mäusen. Der Begriff GvHD wurde allerdings schon ein paar Jahre zuvor von M. Simonsen eingeführt, um die immunologischen Schäden zu beschreiben, die auftreten, wenn man immunkompetente Zellen in immunsupprimierte Empfängerzellen einbringt. ⁶

1963 haben amerikanische Forscher erstmals bei Mäusen Stammzellen gefunden. Daraufhin entwickelte man sehr schnell die Methode der Stammzelltransplantation(SCT). ²



1965 beschrieb Jean Dausset (Abbildung 2.)⁷ das erste Gewebesystem, das er damals Hu-1 nannte, heute aber nur mehr als HLA (humanes Leukozyten-Antigen System) bekannt ist. Diese Entdeckung war für die Stammzellforschung sehr wichtig, da man anhand des HLA-Systems die Histokompatibilität von Spender und Empfänger bestimmen und so das Risiko einer Abstoßung vermindern

Abb. 2.: Jean Dausset

konnte.⁸

1966 beschrieb R.E. Billingham drei Bedingungen die für die Entstehung einer GvHD notwendig sind:

1. das Transplantat muss Immunkompetent sein,
2. Der Empfänger muss Alloantigene besitzen, die im Spendertransplantat fehlen, so dass der Empfänger für den Spender fremd erscheint,
3. Der Empfänger darf nicht die Fähigkeit besitzen, eine immunologische Reaktion gegenüber dem Spender zu entwickeln.⁶

1968 führte Robert A. Good die erste erfolgreiche Knochenmarktransplantation bei einem Kind durch. Spender war die Schwester des Patienten. Es handelte sich dabei allerdings nicht um eine Tumorerkrankung, sondern um einen SCID (schwerer kombinierter Immundefekt).¹

1969 führte E. Donnall Thomas die erste erfolgreiche Knochenmarktransplantation bei einem Kind mit Leukämie durch. Spender war ein Verwandter des Patienten. Damit war die erste Knochenmarktransplantation eines Leukämiepatienten gelungen, bei der die Spende nicht von einem Zwilling stammte.

In den folgenden Jahren wurde die Konditionierungstherapie verbessert: zuerst bekam der Patient eine Radiotherapie, danach bekam er die Knochenmarktransplantation und gleichzeitig wurde eine immunsuppressive Therapie mit Medikamenten begonnen. Diese Kombination verbesserte die Erfolgsrate in der Leukämiebekämpfung auf bis zu 50%. Außerdem wurden mit dieser Therapie auch andere vererbte Blutkrankheiten behandelt, so wie auch Patienten, deren Knochenmark versehentlich durch Bestrahlung zerstört wurde.⁴

1973 wurde erstmals eine Knochenmarktransplantation bei einem 5-jährigen Patienten, der an SCID litt, mit einer Fremdspende erfolgreich durchgeführt. Es waren allerdings sieben Transplantationen erforderlich, bis sich der gewünschte Erfolg einstellte.¹

1978 entdecken Forscher pluripotente blutbildende Stammzellen in der Nabelschnur.⁹

Das war ein weiterer wichtiger Schritt in der Forschung da bis zu diesem Zeitpunkt Stammzellen nur im Knochenmark bekannt waren.

1979 beschrieb P.L. Weiden erstmals die Graft versus Leukemia Effekte. Dabei stellte er fest, dass leukämiekranken Patienten, die nach ihrer Knochenmarkstransplantation eine mittlere bis schwere GvHD entwickelten, um 2,5 mal seltener ein Rezidiv auftrat als jene, die eine milde bis gar keine GvHD hatten. Des Weiteren beschrieb er, dass sich dieser Effekt noch deutlicher bei lymphoblastischen Leukämien als bei nicht lymphoblastischen Leukämien einstellte und auch wenn man die Transplantation im Zuge eines Rückfalles durchführte, als während einer Remissionsphase.¹⁰

1980 erhielten Jean Dausset, Baruj Benacerraf und George Davis Snell den Nobelpreis für die Entdeckung und Charakterisierung des Gens, das für den MHC (Hauptbestandteil des HLA-Systems) verantwortlich ist. [Der MHC ist für die Präsentation von Oberflächenantigenen zuständig, die von unserem Immunsystem erkannt werden. Wenn sich eine körperfremde Zelle in uns befindet, präsentiert sie falsche Antigene und wird von unserem Immunsystem eliminiert(Abbildung 3)¹¹.]⁸

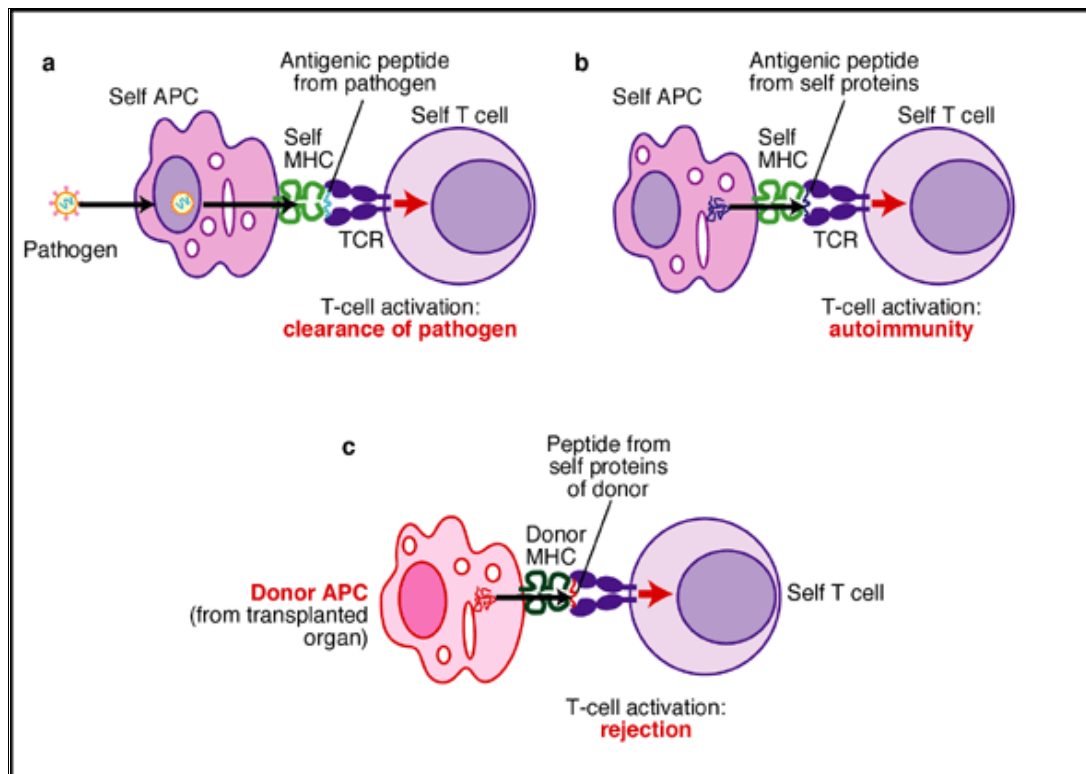


Abb. 3.: Wirkung des MHC: Die beiden oberen Graphiken zeigen die Wirkung des MHC bei pathogenen Zellen im Körper. Die untere Graphik zeigt die Inkompatibilität des exprimierten MHC des Spenders mit der körpereigenen T-Zelle, die somit den Eindringling identifiziert und zu eliminieren versucht.

1981 konnten M. Evans, M. Kaufman und G. R. Martin pluripotente Zellen in Mäuseembryonen finden und im Labor isolieren und vermehren.^{2, 58}

1982 fanden Forscher heraus, dass im Nabelschnurblut hämatopoietische Stammzellen vorhanden sind, die sich für Transplantationen eignen würden.²

1983 fand die erste Transplantation von autologen Stammzellen aus dem peripheren Blut statt. Dabei wurde dem Patienten zuerst G-CSF gegeben um die Zahl der Stammzellen im Blut zu erhöhen. Danach wurden genügend Stammzellen aus dem Blut extrahiert, aufbereitet und dem Patienten wieder verabreicht.¹²

1984 wurde eine nationale Knochenmark- Spenderdatenbank in den USA gegründet, weitere Spenderdatenbanken gibt es mittlerweile weltweit. Damit nahm die Knochenmarktransplantation einen grossen Aufschwung, da man von nun an

auf Daten in der ganzen Welt Zugriff hat und so leichter einen passenden Spender finden kann.⁵

1985 wurde die erste allogene Stammzelltransplantation mit peripheren Blutstammzellen durchgeführt.¹³

1988 wurde erstmals erfolgreich eine Nabelschnurbluttransplantation bei einem Kind mit Fanconie-Anämie durchgeführt. Das Nabelschnurblut stammte von einem seiner Geschwister.¹⁴

1990 erhielten E. Donnall Thomas und Joseph E. Murray den Nobelpreis für ihre Einführung der Methode der Übertragung von hämatopoietischen Stammzellen als klinische Behandlungspraxis in die Humanmedizin.¹⁵

Seit Anfang dieses Jahrzehnts setzt sich außerdem die Stammzelltransplantation aus peripherem Blut immer mehr bei gewissen Indikationen durch.

4.2. Entdeckung der Wirkung bei soliden Tumoren

1992 bekam ein Patient mit einem rezidivierenden Medulloblastom, welches auch schon in Lymphknoten und Knochen metastasiert war, nach einer intensiven Chemotherapie eine allogene Knochenmarktransplantation durch eine HLA-identische Geschwisterspende. Neben einer GvHD Grad I bemerkte man, wie sich der Tumor immer weiter zurückbildete und schließlich ganz verschwand. Eineinhalb Jahre nach dieser Behandlung war der Patient immer noch zu 100% tumorfrei. Das war der erste dokumentierte Fall eines Graft versus Tumor Effects(GvT).¹⁶

Im selben Jahr wurde auch die erste erfolgreiche Nabelschnurbluttransplantation bei einem Leukämiepatienten durchgeführt.¹⁶

Im selben Jahr versuchte man auch eine Xenotransplantation von Knochenmark. Spender war dabei ein Pavian. Der Patient verstarb aber 26 Tage später aufgrund einer Infektion.¹

1995 versuchte man eine weitere Xenotransplantation von Knochenmark eines Pavians bei einem HIV kranken Patienten, da Paviane natürliche Resistenzen gegen HIV besitzen. Die Transplantation war erfolgreich, allerdings verschwanden die transplantierten Zellen im Empfängerkörper sehr rasch wieder.¹

1996 wurden einer Patientin mit Brustkrebs Stammzellen ihrer HLA-identischen Schwester transplantiert, um damit die vorgeschaltete Toxizität der Chemotherapie erhöhen zu können. Im Zuge der aufkeimenden GvHD beobachtete man, wie sich zur selben Zeit in ihrem Körper zytotoxische T-Zellen bildeten, die gegen die Tumorzellen reagierten. Nach weiteren Tests bemerkte man auch, dass das Vorbehandeln der Tumorzellen mit TNF-alpha, nicht aber mit IFN-alpha oder IFN-gamma, die Anfälligkeit durch zytotoxische T-Zellen lysiert zu werden, deutlich erhöhte.¹⁷

1998 gelang es Forschern erstmals, embryonale Stammzellen im Labor zu vermehren.²

2001 gelingt es Forschern menschliche Embryonen zu klonen um von ihnen Stammzellen zu gewinnen. Außerdem wird im neuen Jahrtausend die Nabelschnurbluttransplantation immer häufiger angewendet.²

2005 finden Forscher im Nabelschnurblut Zellen, die über ähnliche Eigenschaften wie embryonale Stammzellen verfügen. Diese werden als cord-blood-derived embryonic-like stem cells benannt. Ihnen wird die Fähigkeit zugeschrieben, sich in mehr Gewebstypen differenzieren zu können als erwachsene Stammzellen.¹⁸

2006 gelingt es Forschern Leberzellen aus Nabelschnurblutstammzellen herzustellen.¹⁹

2007 schaffen es Forscher, adulte Stammzellen wieder in ihren embryonalen Urzustand zu verwandeln, von dem aus sie sich in alle Gewebstypen differenzieren können (induzierte pluripotente Stammzellen – iPS). Es ist ihnen allerdings nicht gelungen, diese Zellen in größeren Mengen herzustellen. Außerdem haben diese Zellen ein höheres Potential maligne zu entarten.²⁰

2009 arbeiteten Forscher an einer verbesserten Methode zur Gewinnung von iPS. Außerdem wird auf vielen anderen Gebieten der Stammzellforschung eifrigst geforscht, um die Gewinnung und Nutzung von Stammzellen zu optimieren.²¹

2011 suchen Forscher Wege zur Nutzung des Nabelschnurblutes in der Therapie von Tumorerkrankungen. Auch am Verständniss der Immunologie und somit am Verständniss der Wirkung von Transplantaten, Chemotherapie und Radiotherapie wird geforscht.

4.3. Entdeckung des Killer-Cell-Immunglobulin-Like-Receptors

4.3.1. Das Immunsystem

Gegen Mikroorganismen wie Viren, Bakterien, Pilze oder Parasiten, sowie gegen als fremd identifizierte Makromoleküle besitzt das menschliche Immunsystem sowohl eine unspezifische oder angeborene Immunabwehr, zu der unter anderem Makrophagen, neutrophile Granulozyten und natürliche Killerzellen (NKZ) zählen, als auch eine spezifische oder erworbene Immunabwehr zu der T- und B-Lymphozyten gehören. Die spezifische Immunabwehr beruht auf der Erkennung von Fremdantigenen mittels antigenspezifischer Rezeptoren, wobei die erkannten Fremdkörper dann entweder durch die B-Lymphozyten (humorale Immunabwehr) oder durch T-Lymphozyten (zelluläre Immunabwehr) eliminiert werden.²²

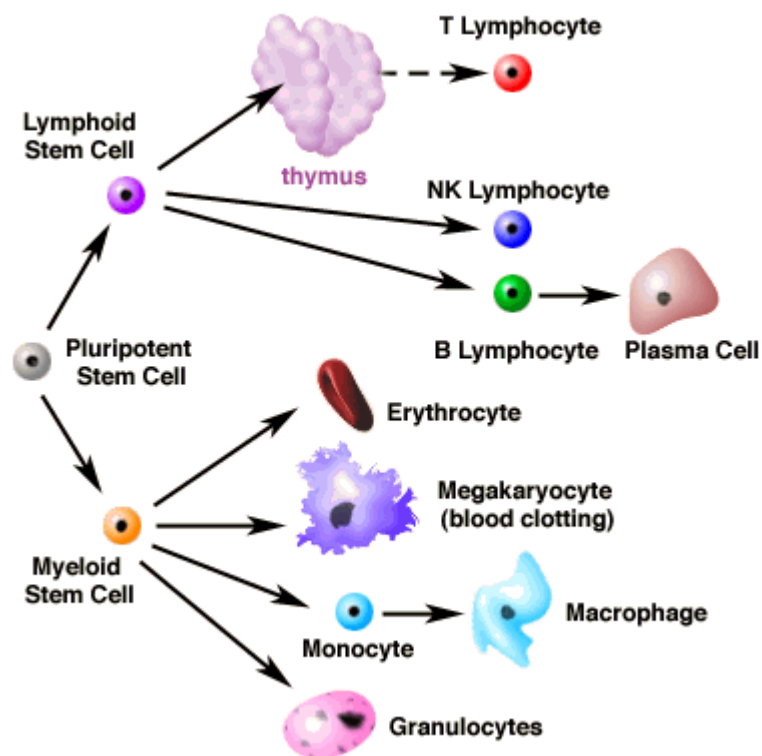


Abb. 4.: Entwicklung der Zellen des Immunsystems²³

Die unspezifische Immunabwehr hingegen sucht die Oberfläche von Zellen nach pathogenen Strukturen ab, um diese daraufhin zu lysieren oder zu phagozytieren. Sie bilden die erste Abwehr in unserem Organismus, denn sie sind als Erstes vor Ort und versuchen den oder die Eindringlinge unschädlich zu machen. Gelingt ihnen das nicht, lösen sie durch das Sezernieren von Zytokinen, Chemokinen oder Interferonen eine Entzündung aus, wodurch weitere Zellen des Immunsystems angelockt werden. Bis zum Eintreffen der spezifischen Immunabwehr, was ein paar Tage dauern kann, sind sie außerdem für die Schadensbegrenzung zuständig. Während zur Bekämpfung von bakteriellen Infektionen eher Zytokine und Chemokine ausgeschüttet werden, wird bei viralen Infektionen das Interferon bevorzugt, das die Virusreplikation in den Wirtszellen hemmt und die NKZ anlockt. Diese töten die infizierten Zellen und schütten außerdem Zytokine aus, die Lymphozyten der spezifischen Immunabwehr aktivieren.²²

4.3.2. T-Zellen

T-Zellen werden im Knochenmark erzeugt und gehören zur Gruppe der weissen Blutkörperchen. Da sie aber erst im Thymus ausreifen und dort auch ihre MHC-Rezeptoren gebildet werden, haben sie ihr T im Namen dem Thymus zu verdanken. Die MHC Rezeptoren auf ihrer Oberfläche sind sehr wichtig, da sie über diese in der Lage sind, körperfremde Zellen zu erkennen. Normalerweise befinden sich T-Zellen in einem passiven Zustand, in dem sie durch den Körper zirkulieren. Sollten sie jedoch eine Zelle finden, die aufgrund einer Virusinfektion, Mutation oder ähnlichem, ein gewisses Oberflächenmolekül mittels des MHC exprimiert, das zufällig exakt mit dem Oberflächenmolekül der T-Zelle übereinstimmt, so wird ein Schlüssel-Schloss-Prinzip ausgelöst. Dadurch wird die T-Zelle aktiviert und sie verwandelt sich je nach Art des Fremdkörpers in eine T-Killerzelle, die den Fremdkörper eliminiert oder in eine T-Helferzelle, die mit Hilfe von Zytokinen noch mehr Zellen der Immunabwehr anlockt. Weiters kann eine T-Zelle einen

regulatorischen Effekt haben, um eine überschüssige Immunantwort zu verhindern und somit intakte Zellen zu schützen. Außerdem haben T-Zellen ein Gedächtnis, wobei sie sich die Oberflächenstruktur jedes erfolgreich bekämpften Erregers merken und bei einer erneuten Infektion diese rascher bekämpfen können. Bei einer Transplantation muss man daher im Vorhinein für die Zerstörung dieser Zellen mittels Zytostatika, Bestrahlung oder immunsuppressiver Medikamente sorgen, damit es zu keiner Abstossung des Transplantates kommt.²⁴

4.3.3. Major Histocompatibility Complex

Der MHC ist eine Gruppe von Genen, welche für die Codierung von Proteinen zuständig ist, die für die Immunerkennung, immunologische Individualität und Gewebeverträglichkeit bei Transplantaten zuständig ist. Der MHC ist der Hauptbestandteil des HLA Systems, über welchen die Kompatibilität von Spender und Empfänger bei SCT getestet wird. Der MHC wird in 2 große Gruppen unterteilt: Der MHC-I-Komplex, über den entartete Zellen identifiziert und anschließend von T-Killerzellen vernichtet werden, und der MHC II Komplex über den die T-Helferzellen Phagozyten und spezielle Antikörper anlocken, welche die fremden Zellen vernichten.²⁵

4.3.4. Natürliche Killerzellen

NKZ sind zwar auch Lymphozyten, gehören aber, im Gegensatz zu den T- und B-Lymphozyten, zum angeborenen Immunsystem und haben keine antigenspezifischen Rezeptoren. Auf ihrer Oberfläche sind spezielle Rezeptoren die mit MHC-I-Molekülen interagieren und auf diese Weise körpereigene von fremden Zellen unterscheiden können. Des Weiteren besitzen NKZ auf ihrer Oberfläche spezielle Proteine, sogenannte Differenzierungscluster (cluster of differentiation, CD), durch die man sie von anderen Zellen unterscheiden kann, da es über 100 solcher CDs gibt und jedes

einem oder mehreren speziellen Zelltypen zugeordnet werden kann. Für NKZ ist das Bekannteste CD 56, das für die Zelladhäsion zuständig ist. Auf diesen CDs beruht auch ein spezieller Teil der Pharmakotherapie, da bestimmte Medikamente sehr selektiv an gewissen CDs binden und somit gezielt gegen einzelne Erkrankungen vorgegangen werden kann (zB.: CD 20 NKZ haben ganz spezielle Rezeptoren, die sowohl stimulierend als auch inhibierend auf die Zelle wirken können. Es gibt verschiedene Rezeptorgruppen, wobei die KIR die wichtigsten für die Tumorthherapie sind. ²⁶

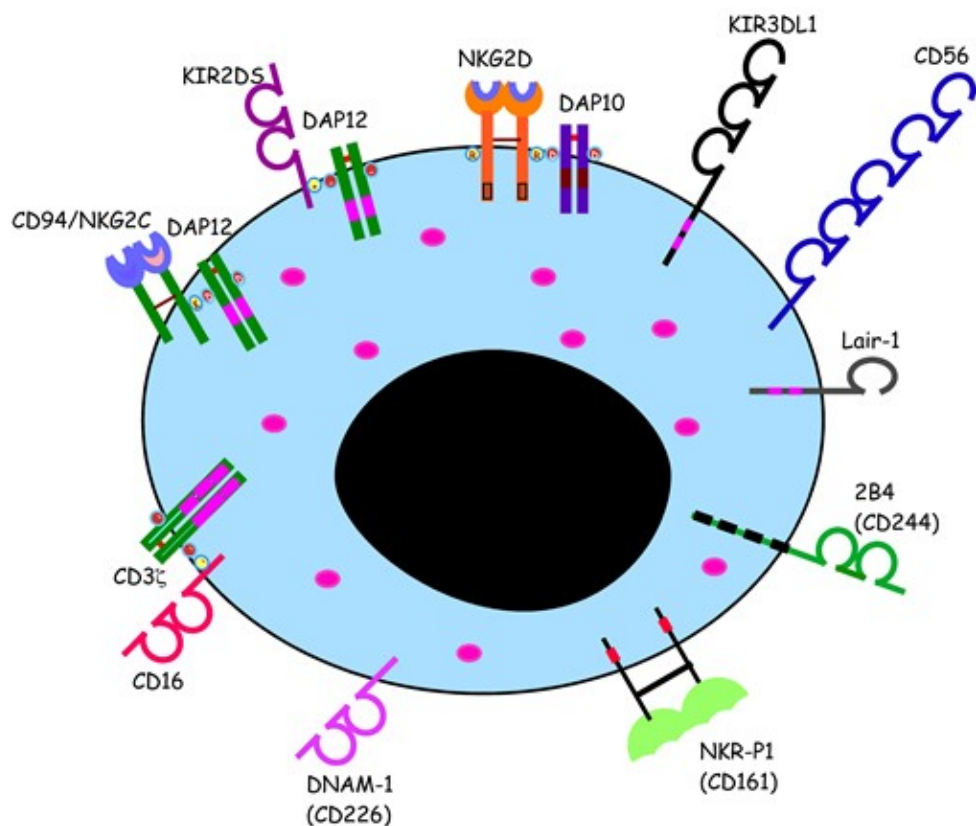


Abbildung 5: NK Zelle mit verschiedenen Oberflächenrezeptoren ²⁷

4.3.5. Killer-Cell-Immunoglobulin-Like-Receptor

Die KIR-Rezeptoren werden auf dem Chromosom 19q13.4 codiert, einer Region, in der auch der Leukozyten Rezeptor Komplex gespeichert ist. Sie sind auf einer Länge von ca. 150 kb gereiht, mit der Eigenschaft, dass sich der Gen Inhalt zwischen den verschiedenen Haplotypen unterscheiden kann.

KIR-Rezeptoren sind eine Gruppe transmembranärer Glykoproteine mit Rezeptorfunktion. Hauptsächlich werden sie von NK-Zellen exprimiert und besitzen dort eine aktivitätsregulierende Funktion. Die KIRs werden auch von HLA Klasse I Molekülen exprimiert, wodurch sie in der Interaktion mit den KIR's der NK-Zellen die Zerstörung gesunder körpereigener Zellen verhindern können. Außerdem spielen KIRs eine große Rolle in der Aktivierung der NK-Zellen bei der Immunantwort. Das heißt KIRs besitzen sowohl eine aktivierende als auch inhibierende Funktion. Besonders im Hinblick auf Stammzelltransplantationen könnten durch eine höhere Übereinstimmung der HLA und KIR ein besserer Outcome erzielt werden.^{28,29}

Man unterscheidet 3 verschiedene Gruppen von KIRs (Abb.5):

1. Typ-I-KIR2D-Gene, die zwei extrazelluläre Domänen zur Kodierung besitzen, mit einer D1 und D2 Konstellation.
2. Typ-II-KIR2D-Gene, die ebenfalls zwei extrazelluläre Domänen zur Kodierung besitzen, allerdings mit einer D0 und D2 Konstellation.
3. KIR3D-Gene, die drei extrazelluläre Domänen zur Kodierung von Proteinen besitzen, D0, D1 und D2.

Des weiteren werden sie durch einen ergänzenden Buchstaben nach dem D noch weiter unterteilt: L für langes Ende, S für kurzes Ende und P für Pseudogen. So heißt ein KIR dann vollständig z.B.: KIR2DL4 oder KIR3DS1.^{28,29}

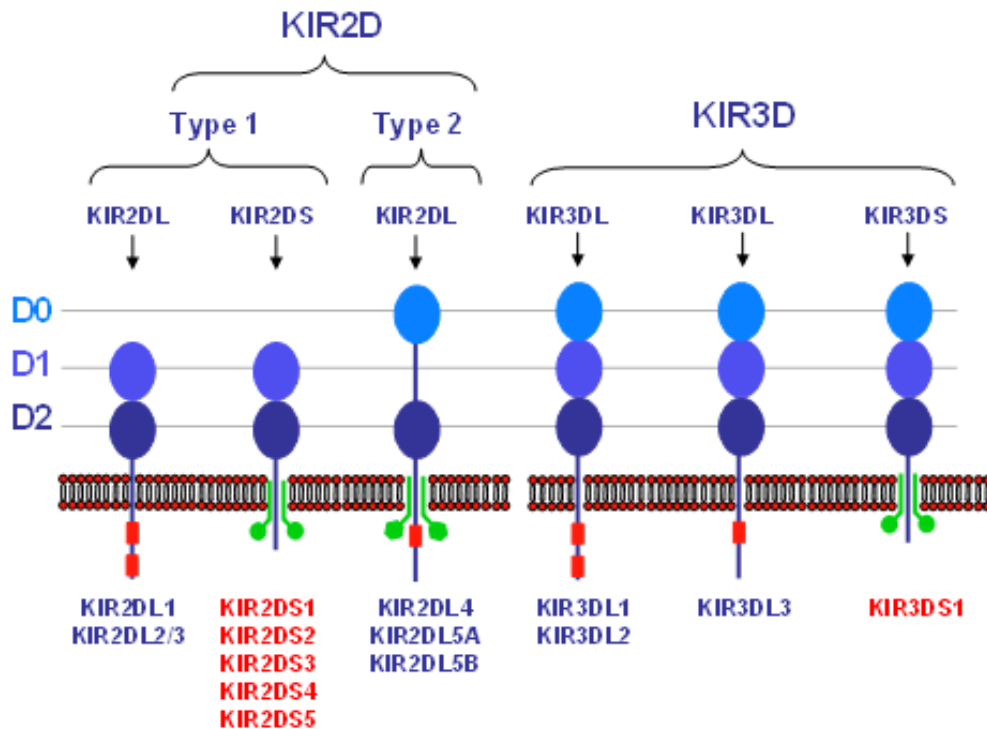


Abb. 6: Die verschiedenen KIR Typen mit ihren Untergruppen³⁰

Sowohl Typ I als auch Typ II der KIR2D-Gene binden sich an das HLA-Typ-C-Molekül, allerdings hängt es von den entsprechenden Aminosäuren ab, an welcher Stelle sie andocken. Ausschlaggebend ist das Aminosäurende an Position 80 auf dem HLA-C-Molekül Asparagin oder Lysin, sowie das entsprechende Aminosäurende auf dem KIR D1 an Position 44, Lysin oder Methionin. So bindet D1 an die α_1 -Helix des HLA-C-Moleküls, während D2 an die α_2 -Helix bindet. An HLA-Typ A und B binden die KIR3D Gene. Hier konnte man allerdings noch nicht die genauen Mechanismen erforschen.

Drei der KIR Gene – KIR3DL3, KIR2DL4 und KIR3DL2 – sowie ein Pseudogen – KIR3DP1 – kommen auf fast allen KIR-Haplotypen vor, weswegen man sie auch Grund(struktur) – Gene nennt. Der zentromere Teil des KIR befindet sich bei KIR3DL3 auf der zentromeren, bei KIR3DP1 auf der telomeren Seite. Der telomere Teil befindet sich bei KIR2DL4 auf der telomeren und bei KIR3DL2

auf der zentromeren Seite. An jedem dieser Teile hängen noch zusätzliche KIR-Gene, die sich in ihrer Größe und Identität je nach Haplotyp unterscheiden. Aufgrund der Tatsache, dass alle KIR Gene so eng beisammen sitzen und als Haplotypen vorkommen, kommt es oft zu asymmetrischen Rekombinationen, wobei die Wahrscheinlichkeit von identischen, zerstörten oder völlig neuen Genen viel höher als normal ist. Durch diese Entwicklung kann es schon einmal vorkommen, dass zwei ursprünglich verschiedene KIRs durch Rekombination so ähnlich sind, dass sie das gleiche Molekül kodieren können. So können sowohl KIR2DL3 als auch KIR2DL2 das HLA – C Molekül an der Stelle 80 durch Asparagin kodieren.^{28, 29}

Ein spezieller Haplotyp findet sich in der Bevölkerung sehr oft wieder. Er enthält sieben KIRs und zwei Pseudo-KIRs, ist zwar nicht homolog, dafür aber sehr vielfältig durch den Polymorphismus der individuellen Gene. Diese Gruppe der Haplotypen werden als Gruppe A bezeichnet. In ihr befinden sich vier inhibitorische KIRs (KIR2DL1, KIR2DL3, KIR3DL1, KIR3DL3), sowie einen aktivierende KIR (KIR2DS4) und einen KIR der sowohl eine aktivierende als auch inhibierende Funktion besitzt (KIR2DL4). In Japan wurde mit 76% der Bevölkerung die höchste Gruppe A Frequenz gefunden.

Die zweite Gruppe der KIR-Haplotypen ist demnach die Gruppe B. Gruppe B-Haplotypen haben nur die Gemeinsamkeit, mindestens ein Gen zu besitzen, das nicht in der Gruppe A vorkommt. Die meisten dieser zusätzlichen Gene (KIR2DS1,2,3,5, KIR3DS1) sind aktivierende Gene mit Ausnahme von KIR2DL5, der eine inhibierende Funktion besitzt. Diese Gruppe B gibt den KIR Genen erst ihre Vielfältigkeit und sorgen für einen Überhang an aktivierenden KIRs.

Aufgrund dieser Vielfältigkeit liegt die Wahrscheinlichkeit bei ca. 1-2% jemanden mit genau denselben KIR-Genen zu finden.^{28, 29}

Welche KIRs auf welchen NK-Zellen exprimiert werden, wird bereits im Knochenmark festgelegt. Verschiedene NK-Zellen haben verschieden viele KIRs in den verschiedensten Kombinationen und sobald ein Muster festgelegt ist, wird jede NK-Zelle des selben Types auf die selbe Art mit den selben KIRs produziert. Die meisten NK-Zellen nutzen ihre KIRs nicht für sich selbst, sondern als Funktion der Autoimmuntoleranz. So kann z.B.: der HLA-C-Asparagin80 Ligand den KIR2DL1 als einen inhibitorischen Rezeptor für sich selbst nutzen, falls dieser Ligand auf den HLA jedoch fehlt, würde die NK-Zelle aktiviert und das HLA angegriffen werden.

Es kann daher vorkommen, dass eine Person sowohl ein HLA-C-asn80 als auch ein HLA-C-lys80 besitzt. Falls diese Person jetzt auch noch für jeden der beiden einen passenden KIR hat, wird sich bei seinen NKZ eine Subpopulation bilden, die KIR2DL2/3 als einen speziellen HLA-C-asn80-Rezeptor für sich selbst benutzen. Diese NKZ besitzen dann weder einen CD- oder Ig-Rezeptor mehr, noch haben sie den KIR2DL1-Rezeptor für das HLA-C-lys80. Sie werden zwar keine allogenen Zellen attackieren die das HLA-C-asn80 exprimieren, jedoch jede Zelle, die homozygot das HLA-C-lys80 besitzt. Genau das Gleiche passiert auch anders herum: Es werden NKZ gebildet die nur den KIR2DL1 für das HLA-C-lys80 besitzen und sobald eine Zelle vorbeikommt, die nur das HLA-C-asn80 exprimiert, wird diese angegriffen, da die NKZ auf der Oberfläche des „Feindes“ keinen bekannten Liganden findet.

Wie sich diese Funktionen auf Stammzelltransplantate auswirkt, ist noch nicht genau bekannt. Man nimmt an, dass die Übereinstimmung der HLA-Gruppen genügend Ähnlichkeit bietet, um diese Reaktion zu verhindern. Sollte jedoch nur eine HLA-Gruppe nicht mit dem Spender übereinstimmen, kann es passieren, dass die NKZ des Spenders diejenigen Zellen im Empfänger angreifen, die nicht die passenden Liganden aufweisen können.^{28, 29}

5. Derzeitige Erkenntnisse und Erfolge

5.1. Stammzelltransplantation

Die Stammzelltransplantation stellt mittlerweile ein praktikables und kuratives Verfahren im Kampf gegen die verschiedensten Arten von Leukämie dar. Bei einer Leukämie handelt es sich um eine Erkrankung des blutbildenden Systems. Sie zeichnen sich durch eine starke Vermehrung der Leukozyten und ihrer funktionsuntüchtigen Vorstufen aus, die in Folge ihrer raschen Vermehrung die anderen Bestandteile des Blutes im Knochenmark und in der Peripherie verdrängen. Die Ursachen dafür sind noch nicht genau geklärt, vermutet werden Veränderungen der Erbinformation durch Strahlung, virale Erkrankungen, genetische Prädisposition, und gewisse Umweltfaktoren,...

Bei der Stammzelltransplantation unterscheidet man die allogene und die autologe SCT. Bei der autologen SCT nimmt man Stammzellen vom Patienten selbst, bereitet diese auf und gibt sie dem Patienten meist in gereinigter Form wieder zurück. Bei der allogenen SCT gewinnt man die Stammzellen von einem Spender. Diese Stammzellen werden dem Patienten mittels einer Transfusion verabreicht.

Bei der allogenen Stammzelltherapie wird ein passender Spender gesucht, der mit dem Empfänger im Idealfall eine 100%ige HLA-Übereinstimmung aufweist. Sehr oft kommen Geschwister dafür in Frage, da sie mit 25% die höchste Wahrscheinlichkeit besitzen, die selben Gene von ihren Eltern bekommen zu haben. Falls nicht, wird nach Fremd Spendern gesucht. Dazu gibt es in jedem Land ein nationales Knochenmarkregister, in dem jeder Spender registriert ist. Falls auch hier niemand passender gefunden werden kann, wird zuerst noch in einer internationalen Datenbank gesucht, und falls hier auch keine Übereinstimmung gefunden werden kann, kann man es mit dem Knochenmark der Eltern versuchen. Je größer allerdings die Diskrepanz zwischen Spender- und Empfänger-HLA ist, desto eher besteht jedoch die Wahrscheinlichkeit einer Abstoßungsreaktion durch den Empfänger.³²

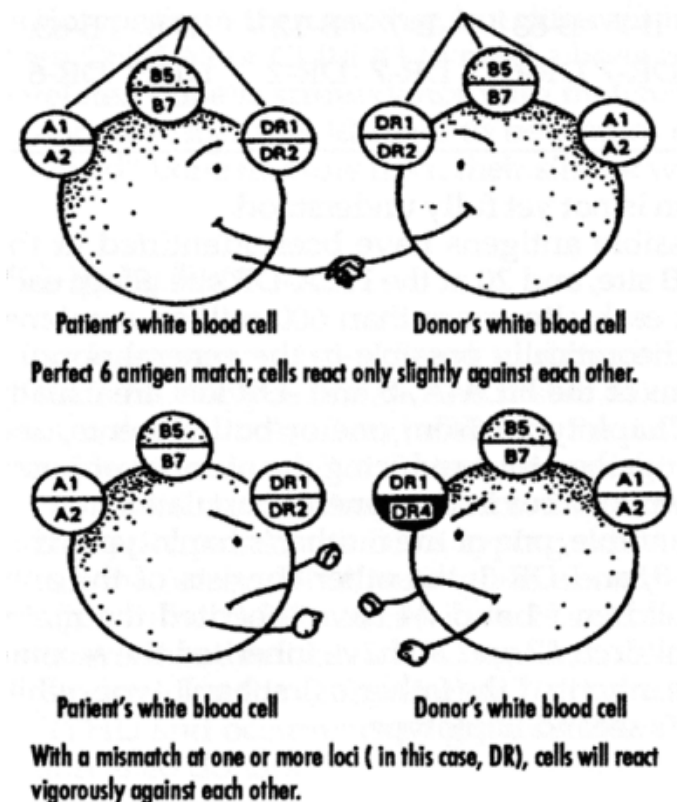


Abb. 8: obere Skizze: HLA Match zwischen Spender und Empfänger
 untere Skizze: HLA Missmatch zwischen Spender und Empfänger³³

Sobald ein passender und gesunder Spender gefunden ist, wird diesem das Knochenmark entnommen (z.B.: aus dem Beckenkamm) oder periphere Stammzellen aus dem Blut, die zuvor mittels einer G-CSF Mobilisierung aus dem Knochenmark in die periphere Blutbahn geschwemmt worden sind und anschließend für den Empfänger aufbereitet werden.

Bei der Reinigung kommt sehr häufig das Verfahren der CD34-Anreicherung statt. Bei diesem Verfahren werden die entnommenen Stammzellen mit Antikörpern an das CD34-Antigen gebunden, und mit Hilfe eines Magnetfeldes vom Rest isoliert.. N Dieses Verfahren findet mehrmals hintereinander im Wechsel mit Waschphasen statt, um einen möglichst hohen Reinheitsgrad zu erzielen. Diese Technik hat bei der autologen Transplantation den Vorteil, dass man viele Tumorzellen entfernen

kann, bei der allogenen Transplantation, dass man den Grad der GvHD reduzieren kann.

Nun beginnt die eigentliche Therapie des Patienten. Zuerst wird der Patient konditioniert, das heißt, es wird eine Chemotherapie und/oder Radiotherapie gestartet, um das Immunsystem sowie das blutbildende System im Körper auszuschalten. Diese Entscheidung hängt vor allem mit der Art und dem Stadium der Erkrankung zusammen. Idealerweise werden hier schon ein Großteil der bösartigen Zellen vernichtet. Wichtig ist hierbei aber vor allem die Vernichtung des Immunsystems, um eine Abstoßungsreaktion auf das Transplantat zu vermeiden. Nach der Konditionierung bekommt der Patient das Knochenmark bzw. die Stammzellen aus dem peripheren Blut direkt über einen intravenösen Zugang verabreicht. Diese finden dann wieder in die leerstehenden Nischen des Knochenmarks, wo durch die vorangegangene Konditionierung Platz geschaffen wurde, um wieder gesundes Blut zu produzieren. Da dies einige Wochen dauern kann, beobachtet man nach einer Knochenmarktransplantation einen deutlichen Abfall aller Blutkörperchen. Dieses Stadium nennt man Aplasiephase, der man mit ausreichend Bluttransfusionen entgegenwirken muss.

Um den Erfolg einer SCT beurteilen zu können, achtet man auf den Chimärismus. Dabei wird durch Blutabnahmen beobachtet, ab wann sich die neuen Stammzellen im Knochenmark angesiedelt und begonnen haben, neues Blut zu bilden. Ein Chimärismus hat dann stattgefunden, wenn man im Blut die Spender-DNA identifizieren kann. Dann hat das Spenderknochenmark, das Knochenmark des Patienten erfolgreich ersetzt und produziert nun neues gesundes Blut.³²

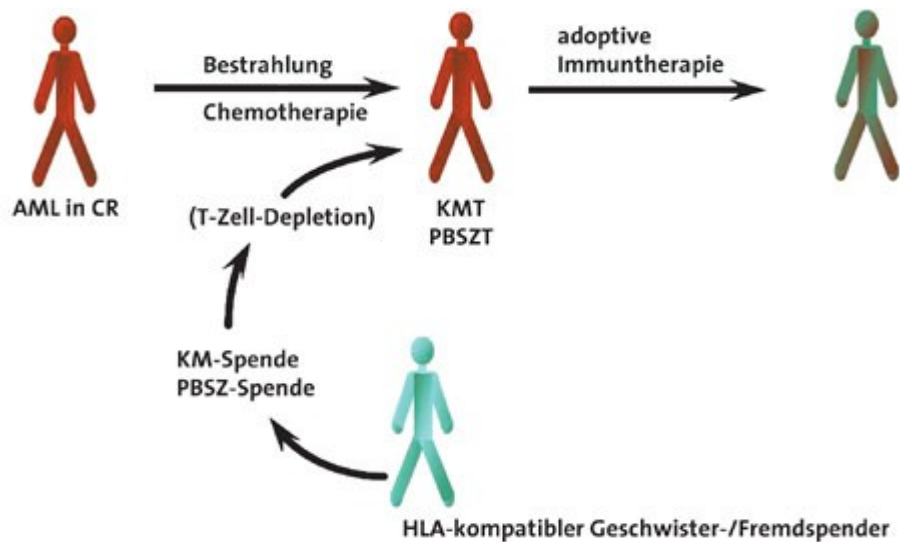


Abb. 9: Konzept einer Stammzelltransplantation ³⁴

5.2. Graft versus Host Disease

Nach diesem aufwändigen Prozess der Konditionierung und Transplantation gibt es die verschiedensten Probleme, die auftreten können. Zum Einen muss man an die Möglichkeit einer Infektion denken, da der Patient ohne Immunsystem lebt, das ja bei der Konditionierung zerstört wurde. Bis durch das Spenderknochenmark ein neues Immunsystem aufgebaut wird, ist der Patient für jede Art von Infektion sehr anfällig und sollte sich daher in einer möglichst sterilen Umgebung befinden. Zum Anderen muss man immer an die Möglichkeit einer GvHD denken, da man nie ganz ausschliessen kann, dass die Immunzellen des Spenders nicht doch eine Reaktion gegen Empfängerantigene aufbauen. Dies kommt vor, da die immunkompetenten T-Lymphozyten des Spenders auf die Antigene des Empfängers reagieren. Am häufigsten betroffen sind dabei die Haut, der Darm und die Leber.^{35,36}

Stadium	Haut	Leber (Bilirubin mg/dL)	Darm

I	Makulopapuläres Exanthem 25% der Körperoberfläche	2-3	Diarrhoe 500- 1000mL/d
II	Makulopapuläres Exanthem 25–50% der Körperoberfläche	3-6	Diarrhoe 1000-1500 mL/d
III	Generalisierte Erythrodermie	6-15	Diarrhoe 1500mL/d
IV	Desquamation und Bullae	15	Paralytischer Ileus

Tabelle 1: Stadieneinteilung der akuten GvHD ³⁷

Graduierung	Haut	Leber	Darm	Funktionelle Ausfälle
1	I-II	0	0	0
2	I-III	I	I	I
3	II-III	II-III	II-III	II
4	II-IV	II-IV	II-IV	III

Tabelle 2: Graduierung der akuten GvHD ³⁷

Seit 1966 sind drei immunologische Voraussetzungen für das Entstehen einer GvHD bekannt:

1. Das Transplantat enthält immunkompetente Zellen des Spenders
2. Der Empfänger exprimiert Antigene, die beim Spender nicht vorhanden sind.
3. Der Empfänger ist immunsupprimiert und damit nicht in der Lage, eine effektive gegen die Zellen des Transplantates gerichtete Immunantwort aufzubauen.

Pathophysiologisch gesehen gibt es drei Phasen der GvHD: in der Konditionierungsphase wird Gewebe beschädigt, was eine Mukosaschädigung mit

Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen sowie Lipopolysacchariden zur Folge hat. Dies bedingt eine weitere Zytokinfreisetzung, die wiederum zu einer unspezifischen Aktivierung von antigenpräsentierenden Zellen und Makrophagen führt. Das wird als Aktivierungsphase bezeichnet. In der Effektorphase führt dies zur Verstärkung der Alloreaktivität der Spender T-Lymphozyten und somit zur Apoptose der Zielzellen.

Dieser Vorgang ist auch für die Entstehung einer chronischen GvHD Voraussetzung. Durch die Konditionierung und die vorausgegangene akute GvHD werden die aus den Stammzellen neu entstehenden T-Lymphozyten im geschädigten Thymus nicht geprägt und bauen keine Toleranz gegen Alloantigene des Empfängers auf. ^{35,36}

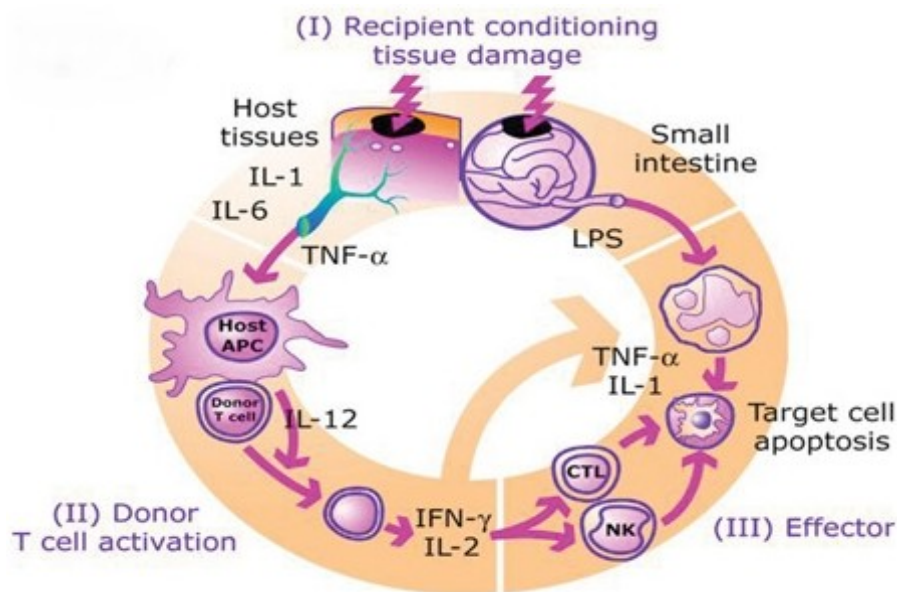


Abb. 10: Patho (physio) logie einer GvHD ³⁸

5.3. Stammzelltransplantation bei soliden Tumoren

Bei soliden Tumoren, ist die Therapie der Wahl die Chemo- bzw. Radiotherapie kombiniert mit einer operativen Entfernung des entarteten Gewebes und im Anschluss erneut eine Chemotherapie. Leider gibt es aber Tumore, die auf diese Art der Therapie nicht ansprechen. In solchen Fällen hat man versucht, andere Möglichkeiten der Tumorbekämpfung zu suchen und einzusetzen. Eine dieser Möglichkeiten stellt die Stammzelltransplantation dar. Da die SCT bei den Leukämien sehr gute Resultate erzielt hat, wurde diese Methode nun auch bei soliden Tumoren getestet. Der Grundgedanke dabei war, dass in jedem Körper ein einzigartiges Immunsystem steckt und auch wenn man Knochenmark eines Spenders transplantiert, der HLA-Ident ist, so hat dieser ein etwas anderes Immunsystem, bedingt durch die KIR-Liganden. Diese fremde Immunabwehr kann in der Lage sein, den Tumor als Fremdkörper zu betrachten und ihn zu bekämpfen. Da der Tumor das Immunsystem des Patienten bereits erfolgreich umgangen hat, ist er mit den nun fremden Antikörpern und T-Zellen des Spenders konfrontiert, die sich von den Oberflächenmerkmalen des Tumors nicht täuschen lassen und den Tumor angreifen. Falls diese Therapie Wirkung zeigt, kann man den Tumor im Anschluss mit einer Chemo- und Radiotherapie weiter bekämpfen und im besten Fall vernichten. Natürlich kann man mit dieser Methode noch nicht die gleichen Ergebnisse erwarten wie in der Leukämie-Therapie, aber das Outcome ist überzeugend genug, um sich dem Thema genauer zu widmen und weitere Forschungen anzustellen. Erste Ergebnisse haben bereits gezeigt, dass es gewisse Tumore gibt, bei denen diese Therapie mehr Erfolg hat als bei anderen. Man fand auch heraus, dass es oftmals besser ist, wenn der Spender nicht 100% HLA-ident ist, da durch die grössere Divergenz zwischen den beiden Immunsystemen noch bessere Erfolge erzielt werden können. Allerdings musste man sich hier dann wieder dem Problem der GvHD stellen, da es durch die HLA Abweichung auch zu einer vermehrten Spenderreaktion im Empfänger kam und die Patienten je nach Abweichungsgrad starke Symptome der GvHD entwickelten.^{32,38}

5.4. Aktuelle Ergebnisse

An der Kinderklinik Graz wurden bis jetzt 11 Kinder mit dieser Form der Tumorbekämpfung behandelt. Bei jedem von ihnen wurde ein maligner Tumor diagnostiziert, bei dem weder die vorausgegangene Chemo- und Radiotherapie, noch die operative Tumorentfernung zufriedenstellende Erfolge aufweisen konnten. Auch der Versuch der autologen SCT schlug bei allen Patienten fehl. Als eine letzte Möglichkeit zur Bekämpfung der letal endenden Erkrankung, bekamen sie eine allogene Knochenmarkstransplantation, entweder von einem HLA-Identem Geschwisterteil oder von einem haploidenten Elternteil, in der Hoffnung auf eine GvT-Reaktion.

Tumor	Patienten
Neuroblastom	5
Ewing-Sarkom	3
Osteosarkom	2
Wilmstumor	1
Medulloblastom	1

Tabelle 3: Art der Tumore und die Anzahl der Patienten die an der Klinik behandelt wurden

Da keine offiziellen Statistiken und Ergebnisse zum Erfolg der Stammzelltransplantation bei soliden Tumoren bei Kindern existieren, gibt es auch keine klinisch getesteten Studien über die genaue Wirkung dieser Therapie. Aus diesem Grund kann auch niemand exakt vorhersagen, wie und in welchem Umfang das Spenderknochenmark auf die einzelnen Tumore wirkt.

Glücklicherweise gibt es nicht so viele Kinder mit refraktären malignen Tumoren an der Kinderklinik Graz, sodass man aufgrund der geringen Anzahl an Patienten auch keine allgemeingültigen Aussagen über den Erfolg oder Misserfolg dieser Art von Therapie treffen kann. Dennoch möchte ich hier alle Patienten mit einem Neuroblastom, die eine allogene SCT bekommen haben, zusammenfassen und gegenüberstellen:

Pat	m / w	Alter (b. Transplant)	Vorangegangene Therapie	Spender	GvHD	Outcome
S.S.	w	7	OP, Chemo, Radio,	HLA identer Bruder	keine	Progression des Tumors
S.S.	w	9	OP, Chemo, Radio, allog. SCT,	Haploidente Mutter	akut Haut II	Teilweises Ansprechen für 2 Mo,
P.C.	m	2	Chemo, OP, Radio,	Haploidenter Vater	chron Haut II-III	Gute Teilremission für 56 Mo,
S.A.	m	2	Chemo, OP,	HLA idente Schwester	akut Leber III	Progression des Tumors nach 2 Mo,
S.J.	w	14	Chemo, OP, Radio,	Haploidenter Vater	Haut II	Gutes Ansprechen für 26 Mo,

Tabelle 4: Alle Patienten, die an einem Neuroblastom erkrankt sind. Da es nur sehr wenige Patienten sind kann man keine allgemeingültigen Schlüsse daraus ziehen.

Des weiteren möchte ich auch bei den Patienten mit Osteosarkom und Ewing-Sarkom einen Vergleich zeigen:

Pat.	m / w	Alter (b. Trans plant)	Erkrankung	Vorangegangene Therapie	Spender	GvHD	outcome
A.H.	w	11	Osteosarkom	Chemo, OP,	haploidente Mutter	Keine	Gutes Ansprechen, verstorben nach 15 Mo,
S.V.	w	19	Osteosarkom	Chemo, OP,	haploidente Mutter	chron. Haut II-III	Gutes Ansprechen, neuer Herd nach 10 Mo,
K.R.	m	24	Ewing- Sarkom	Chemo, OP, Radio,	haploidente Schwester	keine	Transplant. Bedingter Tod
M.J.	w	21	Ewing- Sarkom	OP, Chemo, Radio,	haploidenter Bruder	chron. Haut II-III	Gutes Ansprechen, neuer Herd nach 20 Mo,

Tabelle 5: Patienten mit Osteosarkom und Ewing-Sarkom im Vergleich

Im Vergleich zu Patienten, die keine SCT bekommen haben, ist das Outcome bei jenen mit einer SCT besser. Allerdings konnte man auch hier das Wiederauftreten der Erkrankung nicht verhindern.³⁹

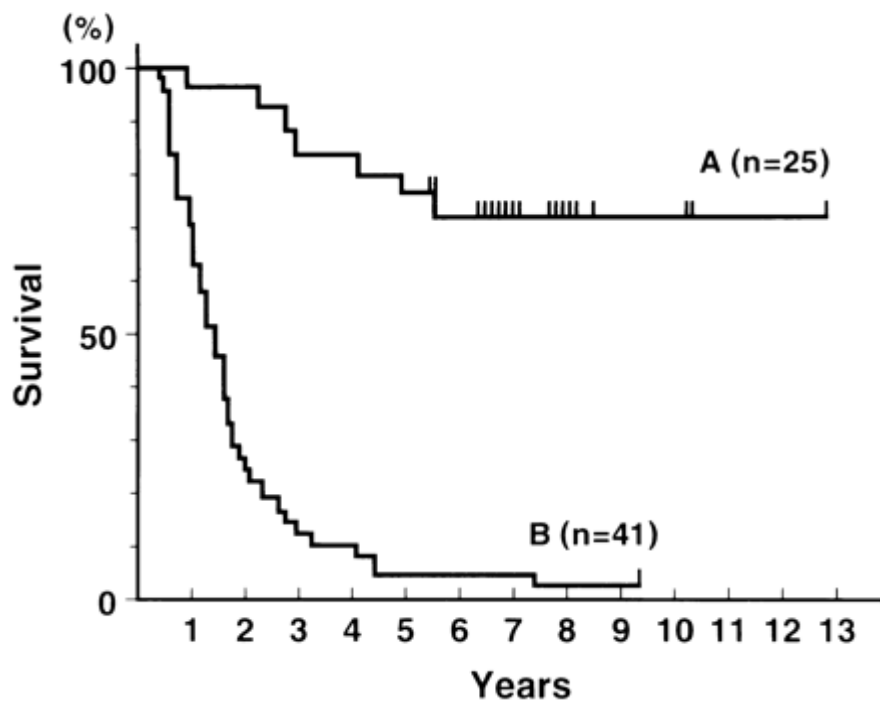


Abb. 11: Überlebensrate von Patienten mit Neuroblastom mit allogene SCT(A) im Vergleich zu P. ohne SCT(B)³⁹

Aber auch der Zustand des Tumors zum Zeitpunkt der SCT ist ausschlaggebend für den Erfolg. So fand man heraus, dass bei einem kontinuierlich fortschreitenden Prozess das Outcome wesentlich schlechter ist als bei Tumoren, die in einer progredienzfreen Phase mit einer SCT behandelt wurden.⁴⁰

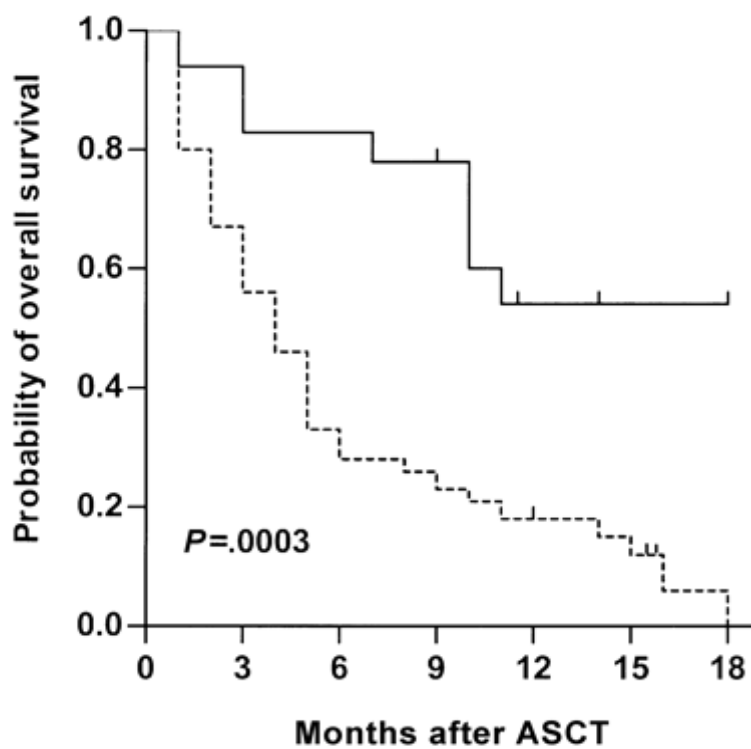


Abb. 12: Überlebensrate von Patienten mit soliden Tumoren bei SCT in einer Phase der Stagnation(durchgehende Linie) im Vergleich zu Patienten in einer Phase der Progression(gestrichelte Linie)⁴⁰

Um nun auf die Patienten an der Kinderklinik Graz zurückzukommen, so konnte doch einigen von ihnen geholfen werden. Obwohl die Meisten ein Rezidiv bekommen haben, konnte möglicherweise die Sterblichkeitsrate der Patienten gesenkt werden.

Tumor	Patienten Gesamt	Patienten lebend	Patienten verstorben
Neuroblastom	5	2	3
Ewing-Sarkom	2	0	2
Osteosarkom	2	1	1
Wilmstumor	1	0	1
Medulloblastom	1	0	1

Tabelle 6: Überlebensrate der Patienten nach allogener SCT

Die Tabelle zeigt, dass durch die SCT die Chance besteht, einen soliden Tumor mittels des neuen Immunsystems zumindest teilweise bekämpfen zu können. Dies könnte eventuell weitere Möglichkeiten eröffnen, mittels zellulärer Immuntherapie Tumore zu bekämpfen.

6. Zukunftsaussichten

In der Zukunft werden noch weitere Methoden erforscht, mit denen man solide Tumore besser behandeln kann als mit den Möglichkeiten, die uns derzeit zur Verfügung stehen. Ein paar dieser Ansätze möchte ich hier noch anklingen lassen:

6.1. SCT Forschung

6.1.1. Stammzellen aus der Nabelschnur

Schon seit 1989, als die erste erfolgreiche Nabelschnurbluttransplantation stattgefunden hat, versucht man, diese Form der Therapie zu vertiefen und zu etablieren. Da sich im Nabelschnurblut noch unreife T-Zellen befinden, die noch mit keinen Viren und Bakterien in Kontakt waren und daher auch noch kein Gedächtnis entwickelt haben, würde sich dieses Blut hervorragend für die SCT eignen, da man weniger mit einer GvHD rechnen muss, obwohl diese nie ausgeschlossen werden kann. Man kann hier sogar bei einer nicht vollständigen HLA-Kompatibilität eine SCT durchführen. Des Weiteren konnte in Testreihen gezeigt werden, dass diese Vorläuferzellen sich schneller vermehren und eine längere Lebensdauer aufweisen als adulte Knochenmarksstammzellen. Allerdings gibt es auch Nachteile. Nabelschnurblut eines Babys kann nur einmalig abgenommen werden, und daher kann auch nur eine einmalige Dosis an einen Empfänger übertragen werden, mit dem zusätzlichen Problem, dass eventuell zu wenig Stammzellen im Nabelschnurblut für die erfolgreiche Übertragung vorhanden sind. Die Zahl an CD34-Zellen im Transplantat ist nämlich beschränkt. Ein weiteres Problem besteht eventuell in erblichen Erkrankungen, die durch eine SCT übertragen werden können. Auch die Wirkung des GvL-Effektes ist eventuell aufgrund der geringen Immunkompetenz des Nabelschnurblutes geringer. Ein großes Problem ist leider auch die hohe Sterblichkeit der Patienten nach einer

Nabelschnurbluttransplantation. Als Ursache hierfür wird das Fehlen von genügend Granulozyten und Vorläuferzellen während der aplastischen Phase sowie fehlender Gedächtnislymphozyten nach der Transplantation vermutet, das Engraftmentversagen liegt bei 20%.

Die Nabelschnurbluttransplantation ist zwar ein vielversprechendes therapeutisches Mittel, muss jedoch noch genauer studiert werden, um gezielt wirkungsvoll eingesetzt werden zu können.^{41,42}



Abb. 13: Entnahme von Nabelschnurblut aus der Nabelschnur⁴³

6.1.2. Verstärkung des GvL Effektes

Eine Möglichkeit den GvL-Effekt zu verstärken, ist die Gabe von Spenderlymphozyten im Anschluss an die Stammzelltransplantation, wodurch man eine starke Immunantwort auslösen kann.

Eine weitere Möglichkeit ist die Aktivierung von NK Zellen des Spenders zur Bildung einer tumorspezifischen Immunantwort. In Studien konnte bewiesen werden, dass ein rekombinantes Fusionsprotein, bestehend aus einem Liganden des stimulierenden NKG2D Rezeptors und eines tumorspezifischen Antikörperfragmentes, in der Lage ist, eine tumorspezifische NK-Zellaktivierung auszulösen. Eine wichtige Rolle spielt auch hier der Zusammenhang zwischen den KIR-Rezeptoren des Spenders und den MHC-Liganden des Empfängers. Ziel dieser Forschung ist es, die Effektorzellen der rekombinanten Liganden zu stimulieren und zur Bildung einer Anti-Tumor Immunantwort anzuregen.⁴⁴

6.1.3. Reduktion der GvHD

Die Reduktion einer GvHD kann man mit Hilfe verschiedener Faktoren beeinflussen:

- durch eine hochauflösende HLA-Typisierung auf Allel-Basis
- durch eine besser post SCT Immunsuppression
- durch eine T-Zell Depletion des Transplantats
- durch eine reduzierte Konditionierung (RIC) und somit geringere Empfänger-AG-Expression⁴⁵

6.1.4. Interleukin 6

Eine weitere Studie hat sich mit der Rolle des Interleukin 6 bei SCT beschäftigt. Zu diesem Zweck wurde analysiert, wie Empfänger auf eine BMT reagieren, bei der das IL6 durch einen Anti-Maus-Rezeptor MR16-1 blockiert wird. Tatsächlich konnte eine verlängerte Überlebenszeit nachgewiesen werden, je weniger IL6 sich noch in den Spenderzellen befand. Auch die gefürchtete GvHD konnte stark reduziert werden, bei gleichbleibendem GvT-Effekt.⁴⁶

6.1.5. Mesenchymale Stammzellen

Bei mesenchymalen Stammzellen des Knochenmarkes konnte nachgewiesen werden, dass sie sich immunoregulatorischer Funktionen bedienen können, Behinderung der Entwicklung von T-Zellen und NK-Zellen sowie die Hemmung ihrer Killeraktivität eingeschlossen. Auch eine Reduktion der GvHD konnte mit mesenchymalen Stammzellen in vitro nachgewiesen werden. Im Zuge einer Studie wurde der Einfluss dieser mesenchymalen Zellen auf die antitumorösen Aktivitäten der zytokin induzierten Killer/NK-Zellen, die aus Nabelschnurblut gewonnen wurden, zu verschiedenen Zeiten und an verschiedenen Injektionsorten überwacht. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die antitumorösen Aktivitäten der CIK und NK Zellen durch mesenchymale Stammzellen nur dann blockiert wurden, wenn sie an der selben Stelle in den Körper gelangten. Bei einer Injektion an verschiedenen Körperregionen konnten keinerlei Effekte festgestellt werden. Auch wenn man die beiden Infusionen mit einem Abstand von 48 Stunden verabreicht hatte, konnte kein Effekt nachgewiesen werden. Dies lässt den Schluss zu, dass bei gleichzeitiger Injektion die Chancen am höchsten sind, eine Interaktion zu erzielen.⁴⁷

6.1.6. CD4-NKT-Zellen

Eine weitere Studie hat sich mit den Effekten von Spender-CD4-NKT-Zellen im Bezug auf eine Reduktion der GvHD befasst. Zu diesem Zweck wurden hoch gereinigte CD4-NKT-Zellen transplantiert. NKT-Zellen verwenden ähnliche Wege wie T-Zellen und proliferieren auch auf ähnliche Weise, können sich allerdings über 100 Tage im Organismus aufhalten und verursachen keinerlei Schäden. Bei einer Dosis von 1.0×10^4 konnten sie die GvHD unterdrücken, die von einer Menge von 5.0×10^5 T-Zellen durch den IL4 abhängigen Mechanismus verursacht werden würde. Höhere Dosen der NKT-Zellen wirken sich geringgradig auf die T-Zell-Proliferation aus, rufen aber im Gegenzug eine wesentliche Reduktionen der IFN- γ und TNF- α -Produktion hervor. Außerdem reduzieren sie die Erkrankungen der Haut, Milz und des GIT und wirken sich nicht negativ auf die GvT Wirkung der T-Zellen gegen BCL-1-Tumore aus.⁴⁸

6.1.7. Zyklin D1

Zyklin D1 wurde schon in verschiedenen Tumoren gefunden, da es als ein wichtiger Zellzyklusregulator von den Tumoren oft überexprimiert wird. Also wurde in einer Studie getestet, ob man Zyklin D1 als ein mögliches Ziel für eine Immuntherapie in Betracht ziehen kann. Da man kürzlich Hinweise darauf erhalten hatte, dass aufgrund einer Thymin-Deletion Zyklin-D1-Epitope fehlen, die in der Lage wären aktive T-Zellen zu erkennen, wurde ein Versuch gestartet, zytotoxische T-Lymphozyten sowohl in gesunden Patienten als auch in Patienten mit einem Zyklin D1 überexprimierenden Tumor herbeizuführen. Zu diesem Zweck wurden CD40 aktivierte B-Zellen als antigenpräsentierende Zellen als Köder verwendet.

Zyklin-D1-Epitope in HLA-A*0201 wurden durch einen Computeralgorithmus berechnet, in HLA-A2 bindenden Proben untersucht und anschließend für eine T-Zell-Stimulation verwendet. Die so erschaffenen zytotoxischen T-Lymphozyten(CTL) und deren Klone wurden mittels ELISA oder Zytolyseproben analysiert. Danach konnte man zwei auf natürliche Weise gewachsene HLA-A2*0201 bindende Zyklin-D1-Epitope identifizieren.

Zu diesen dazu wurden spezielle CTL aus HLA-A2+ Spendern gezüchtet. Diese erkannten erfolgreich auf HLA-A*0201 beschränkt die Zielzellen, welche ähnlich den Peptid und Zyklin D1 verwandten Tumorzelllinien agierten. Selbst primäre Zyklin D1 Tumorzellen wurden erfolgreich von Zyklin D1 spezifischen CTL erkannt.⁴⁹

6.1.8. Dendritische Zellen als T-Zell Inhibitoren

Dendritische Zellen spielen eine zentrale Rolle in der Immuntoleranz gegenüber Tumoren und deren Bekämpfung. Man fand heraus, dass dendritische Zellen, die in der Gegenwart von PGE2 gereift sind, eine Erhöhung von Indoleamin-2,3-Dioxygenase(IDO) zur Folge haben, wodurch ein potentieller Mechanismus für die Entwicklung der T-Zell-Toleranz durch die dendritischen Zellen gebildet werden kann. In Studien wurde nun die Sekretion von löslichem CD25 als Begleiterscheinung der Erhöhung des IDO nach der Reifung der dendritischen Zellen unter PGE2-Einfluss nachgewiesen. Ausschließlich die Einbindung des PGE2-Signals führte zu einer Hochregulierung funktionsfähiger IDO, sowie löslichem CD25-Protein. Als Folge daraus war die T-Zell-Proliferation, sowie die Zytokin-Produktion massiv eingeschränkt, was hauptsächlich auf den durch IDO induzierten Tryptophan-Abbau zurückzuführen war. Daraus folgte die Überlegung, dass PGE2, eventuell die IDO Expression bei dendritischen Zellen in tumoröser Umgebung beeinflussen kann. Darüberhinaus vermutet man, dass PGE2 einen Mediator der Tumortoleranz in frühen Stadien darstellt.⁵⁰

6.1.9. CD40 B-Zellen

CD40 aktivierte B-Zellen wurden kürzlich als Alternative zu antigenpräsentierenden Zellen in der Immuntherapie vorgestellt. Sie können zuerst naiv und später Gedächtnis-T-Zellen sein, es können aus einer kleinen Menge peripherem Blut sehr viele Zellen gewonnen werden, unabhängig davon, ob der Spender gesund oder krank ist. Als zelluläres Hilfsmittel könnten sie zu den entsprechenden sekundären Lymphorganen wandern und dort die T-Zellen durch spezielle Chemokine anlocken. In Studien wurde nun auch nachgewiesen, dass CD40-B-Zellen Adhäsionsmoleküle sowie Chemokinrezeptoren exprimieren, mit deren Hilfe sie in die sekundären Lymphorganen sowie zu allen anderen verwandten Liganden migrieren können. Weiters konnte gezeigt werden, dass sie wichtige T-Zell-Lockstoffe als auch eine starke T-Zell Chemotaxis besitzen. All das macht sie als Hilfsmittel für die Chemotherapie noch interessanter.⁵¹

6.2. Nicht-SCT-bezogene Forschung

6.2.1. Tumorzellen als Immunogene

Eine weitere Möglichkeit der Tumorbekämpfung ist die Nutzung der getöteten Tumorzellen als Immunogene. In toten Tumorzellen finden sich nämlich eine große Menge an tumor-assoziierten Antigenen, wodurch sich der Tumor nicht die Mühe machen muss, jedes einzelne Antigen zu identifizieren. Leider sind diese getöteten Tumorzellen nur sehr schwach immunogen. Um dieses Problem zu umgehen, wurde ein konjugierter Immunstimulator CpG-oligodeoxynucleotid an die toten Tumorzellen gebunden um somit ihre spezielle tumorassoziierte Antigen-Antwort hervorzurufen. Dieser Mix kann als auf Zellen basierender Impfstoff von dendritischen Zellen aufgenommen werden, die co-stimulierende Molekülexpression nach oben regulieren und die Produktion von immunstimulierenden Cytokinen fördern. Diese Art von

Impfstoff fördert die Nachrüstung von tumorspezifischen zytotoxischen T-Lymphozyten, welche die Größe von Tumoren verkleinern und Metastasen verhindern können.⁵²

6.2.2. EGF-SEA Proteine

Erfolgreiche immungesteuerte Bekämpfung von soliden Tumoren ist aufgrund der kleinen Anzahl an zytotoxischen T-Zellen sehr schwer. Daher wurde ein spezieller tumor-infiltrierender zytotoxischer T-Lymphozyt entwickelt, der aus einem Mix aus menschlichem epidermalem Wachstumsfaktor(EGF) und einem staphylokokken Enterotoxin der Gruppe A(SEA) mit der D227A Mutation bestand. Dieses Protein konnte das Wachstum von soliden Tumoren in Mäusen stark unterdrücken. Des weiteren fand man um die EGF-Rezeptoren der Tumorzellen eine starke Anreicherung von CD4, CD8 und SEA-reaktiven T-Lymphozyten. Diese Rezeptoren wurden eventuell durch die EGF-SEA-Kombination phosphoryliert, und durch dieses Mix-Protein wurden T-Zellen angeregt, IFN- γ und TNF- α abzurufen. Intratumorale zytotoxische T-Zellen setzen Perforine und Granzym-B-Proteine in der Nähe der Oberfläche frei, die den Tod einiger Tumorzellen verursachten. Es konnte somit nachgewiesen werden, dass dieses Kombinationsprotein direkt auf den Tumor wirkt und somit eine wichtige Rolle in der Bekämpfung solider Tumore durch zytotoxische T-Zellen darstellt.⁵³

6.2.3. Cell Checkpoint Kinase 1 (CHK1)

In Amerika wurden in einer Studie mehrere hundert Proteinkinasen, die von der DNA von Neuroblastomen codiert werden konnten, miteinander verglichen. Diese Kinasen werden von Tumoren als Wachstums- und Überlebensstimulatoren verwendet. Bei dieser Studie wurden die Proteinkinasen mit Hilfe einer speziellen RNA daran gehindert, Proteine zu produzieren. Nachdem jede einzelne Kinase überprüft wurde, fand man 30 Kinasen, durch deren Hemmung ein Zelluntergang im Tumor zu beobachten war. Unter diesen 30 Kinasen stach die Cell Checkpoint Kinase 1 am stärksten heraus. Während einer Chemotherapie kann sich, durch die Aktivierung dieses CHK1 die Tumorzelle selbst reparieren und somit die Therapie wirkungslos machen. Interessanterweise wird diese CHK1 nicht bei der Reparatur von normalen Körperzellen aktiviert. Des Weiteren regt das Signal dieser Kinase den Wachstum des Neuroblastomes an. Wenn man also diese CHK1 Aktivitäten durch spezielle RNA-Stücke oder durch kleine Molekül-Hemmstoffe unterbinden könnte, kann man Neuroblastomzellen töten.

Im Zuge dieser Studie wurde getestet, dass die Tumorzellen teilweise sensibel auf die Hemmung des CHK1 ohne weitere Präparate reagieren.⁵⁴

6.2.4. Hemmung der Angiogenese

Tumore können erst dann wachsen und metastasieren, wenn sie mit genug Sauerstoff versorgt werden. Aus diesem Grund bilden sie neue Blutgefäße aus, durch die sie ihre Nährstoffe erhalten und über die sie auch an andere Orte im Körper geschwemmt werden können. In Studien fand man heraus, dass es ein spezielles Protein namens B-Fibronektin gibt, dass immer bei einer Angiogenese aktiv ist. Daher versucht man ein Fusionsprotein aus Antikörperfragmenten und Interleukin zu erstellen, dass gezielt die Wirkung dieses Proteins hemmt. Allerdings befindet sich diese Studie noch in den Kinderschuhen, weshalb es noch dauern kann, bis es zur praktischen Anwendung kommt.^{55,56}

6.2.5. Radiopharmaka

Radiopharmaka sind kleine radioaktive Moleküle, die gezielt an der Oberfläche von Tumoren haften, sowohl dem Primärtumor als auch an allen Metastasen ab einer Größe von 3mm, wodurch die Bestrahlung viel gezielter auf den Tumor trifft und so weniger gesundes Gewebe mitgeschädigt wird.⁵⁷

6.3. Zusammenfassung

Es gibt viele verschiedene Forschungsansätze, mit deren Hilfe man bessere und effizientere Therapien zur Bekämpfung von Tumoren entwickeln kann. Allerdings kann man erst nach einigen Studien und Forschungsreihen herausfiltern, welche Ansätze nun wirklich vielversprechend sind und welche leider nicht. In diesem Kapitel wurden nur ein paar Möglichkeiten gezeigt, wohin sich die Forschung entwickeln könnte. Natürlich gibt es weltweit noch viel mehr Ideen zur Entwicklung von Therapien von Tumoren.

7. Diskussion

Schon seit dem 18. Jahrhundert hat man sich mit der Therapie von Tumoren auseinander gesetzt. Die Zugänge davor, Aderlass und Operation, waren leider nur in den seltensten Fällen erfolgreich. Deswegen musste man sich mit diesem Thema etwas wissenschaftlicher auseinandersetzen, um wirksamere Heilmethoden zu entwickeln. Die Knochenmarktransplantation war schon sehr früh in Diskussion, aber da man sie falsch applizierte, trat die gewünschte Wirkung nicht ein und diese Idee wurde zunächst verworfen. Erst in den 50ern wurde die Idee der Knochenmarktransplantation wieder aufgegriffen und erforscht. In einem Mausmodell konnte Dr. Edward Donnall Thomas die Wirkung der Knochenmarksinfusion nachweisen. Damals wusste man noch nicht genau aufgrund welcher Mechanismen das Knochenmark den Patienten half und wieso es nur bei Zwillingen funktionierte, aber man hatte einen vielversprechenden Ansatz in der Behandlung von Blutkrankheiten gefunden. In den darauffolgenden Jahren konzentrierte sich die Forschung auf die Pathomechanismen der Knochenmarkstransplantation, im Zuge dessen die Stammzellen gefunden wurden. Als im Jahr 1965 Jean Dausset das System des HLA entdeckte, konnte man erstmals untersuchen, welche Stammzellen zu einem Patienten passten und welche nicht. Im Jahr 1969 konnte dadurch die erste Stammzelltransplantation bei einem Kind mit einer Bluterkrankung durchgeführt werden, bei dem der Spender kein Zwilling war. Von diesem Zeitpunkt an entwickelte sich die Forschung um die Stammzelltransplantation sehr schnell, sodass man im Jahr 1992 erstmals eine Stammzelltransplantation auch bei einem soliden Tumor durchführte. Bei dieser Transplantation konnte man erstmals den Graft versus Tumor Effekt dokumentieren, wodurch sich der Stammzelltransplantation ganz neue Gebiete eröffneten. Parallel dazu entwickelte sich auch die Idee der Nabelschnurtransplantation und der Xenotransplantation. In den darauffolgenden Jahren wurde die Stammzelltransplantation immer wieder verbessert und verändert, um für jede Erkrankung ein optimales Ergebnis erzielen zu können.

Derzeit kann dank vieler Forschungen und Entwicklungen auf dem Gebiet der Stammzelltransplantation einigen Patienten geholfen werden, oder zumindest ein längeres Leben ermöglicht werden. Weshalb man weiterhin unermüdlich auf der Suche nach besseren Methoden und neuen Ideen ist, um bessere Therapien für Tumoren zu entwickeln. Es gibt einige vielversprechende Forschungsansätze - vom Nabelschnurblut über verschiedenste Moleküle und Proteine in unseren Körper, die zur Tumorbekämpfung herangezogen werden können, bis hin zu neuen Medikamenten und besseren Methoden der Strahlentherapie.

Ich persönlich halte die Stammzelltransplantation für eine wichtige Entwicklung in der Medizin, da sie das Prinzip der alleinigen Hochdosistherapie solider Tumoren und Leukämien durch die zusätzliche zelluläre Immunotherapie verstärkt und damit neue Ansätze in der Entwicklung von Immunverfahren bei malignen Erkrankungen aufzeigt. Einige Forschungsansätze sehen vielversprechend aus, sodass man für die nächsten Jahrzehnte bahnbrechende Erkenntnisse erwarten darf. Vielleicht gelingt auch ein Durchbruch in der Organtransplantation, wenn es möglich ist, mittels Übertragung des Immunsystems des Organspenders im Empfänger immunologische Toleranz gegen das gespendete Organ aufzubauen.⁵⁹

Gentherapeutische Ansätze, autologe defekte Stammzellen zu reparieren und bei bestimmten Bluterkrankungen zu übertragen sind in einigen Fällen bereits gelungen. In welche Richtung letztendlich die „Zelltherapie“ sich entwickeln wird, ist allerdings für mich nicht vorrauszusehen.⁶⁰

8. Literaturverzeichnis

- 1) http://www.biotechlearn.org.nz/themes/biotech_therapies/timeline_for_bone_marrow_transplants
- 2) http://www.gesundheit.com/gc_detail_11_gc02010316.html
- 3) Monika Raulf-Heimsoth, Einführung in die Immunologie, IPA 2010, http://expneu.softimpulse.de/lehre/biochemie/vorlesungen/immun/ss2010-01_einfuehrung.pdf
- 4) http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1990/thomas-autobio.html
- 5) Taken from <http://www.allaboutpopularissues.org/history-of-stem-cell-research-faq.htm>, published by AllAboutGOD.com Ministries, M. Houdmann, P. Matthews-Rose, R. Niles, editors, 2002-2011,
- 6) Phillip Ruiz, Harumi Jyonouchi, Pediatric Graft Versus Host Disease, Medscape 2009, <http://emedicine.medscape.com/article/886758-overview>
- 7) <http://www.nndb.com/people/825/000131432/>
- 8) http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1980/dausset-bio.html
- 9) Prindull et al.: Haematopoietic stem cells in human cord blood, Acta Paediatr Scand. 1978
- 10) Weiden PL, Flournoy N, Thomas ED, Prentice R, Fefer A, Buckner CD, Storb R., Antileukemic effect of graft-versus-host disease in human recipients of allogeneic-marrow grafts. , New England Journal of Medicine 1979, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=antileukemic%20effect%20of%20graft%20versus%20host%20disease%20in%20human%20recipients%20of%20allogenic%20bone%20marrow%20grafts>
- 11) http://journals.cambridge.org/fulltext_content/ERM/ERM1_17/S1462399499001179sup019.gif
- 12) JW. Lee, CC. Kim, The activity of hematopoietic stem cell transplantation in Korea, Bone marrow transplantation 2008, <http://www.nature.com/bmt/journal/v42/n1s/full/bmt2008127a.html>

- 13) Hennon PR, Peripheral blood stem cell transplantations: past, present and future, Stem cells 1993,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8100462>
- 14) Theodore Moore Stuart M Greenstein Bone Marrow Transplantation; Medscape 2010,
<http://emedicine.medscape.com/article/1014514-overview>
- 15) <http://www.faqs.org/health/bios/56/E-Donnall-Thomas.html>
- 16) Lundberg JH, Weissman DE, Beatty PA, Ash RC, Treatment of recurrent metastatic medulloblastoma with intensive chemotherapy and allogeneic bone marrow transplantation, Neurooncological Journal 1992,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1432032?dopt=Abstract&holding=npg>
- 17) AM Carella, M. Bregni, Current role of allogenic stem cell transplantation in breast cancer, Oxford journal 2007,
<http://annonc.oxfordjournals.org/content/early/2007/09/09/annonc.mdm342.full>
- 18) Colin McGuckin, Nicolas Forraz, Marc-Oliver Baradez, Christina Basford, Anne M. Dickinson, Steve Navran, Jeffrey D. Hartgerink, Embryonic like stem cells from umbilical cord blood and potential for neural modeling, Acta neurobiological experiments 2006,
http://www.genethique.org/carrefour_infos/biblio/Acta_NeurMcGuckin.pdf
- 19) Kathryn Garfield, Good news for alcoholics, Discover 2007,
<http://discovermagazine.com/2007/mar/good-news-for-alcoholics>
- 20) Kazutoshi Takahashi, Koji Tanabe, Mari Ohnuki, Megumi Narita, Tomoko Ichisaka, Kiichiro Tomoda, Shinya Yamanaka, Introduction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defines factors, Cell 2007,
<http://images.cell.com/images/Edimages/Cell/IEPs/3661.pdf>
- 21) Dohoon Kim, Chun-Hyung Kim, Jung-Il Moon, Young-Gie Chung, Mi-Yoon Chang, Baek-Soo Han, Sanghyeok Ko, Eungi Yang, Kwang Yul Cha, Robert Lanza, Kwang-Soo Kim, Generation of Human Induced Pluripotent Stem Cells by Direct Delivery of Reprogramming Proteins, Cell stem cell 2009,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2705327/?tool=pmcentrez>
- 22) Gerd-Rüdiger Burmester: Taschenatlas der Immunologie. Grundlagen, Labor, Klinik. Thieme, Stuttgart; 2. Auflage (2006)

- 23) <http://www.drstandley.com/images/immune.bmp>
- 24) G. A. Holländer: Immunologie, Grundlagen für Klinik und Praxis. 1. Auflage. Elsevier, München 2006
- 25) Janeway CA Jr, Travers P, Walport M, et al., Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5. Edition, Garland Science 2001,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27156/#583>
- 26) C.S. Falk, D. ter Meer, B. Simm, M. Braun, B. Mosetter, I. Bigalke, H.-J. Kolb, Die Regulation humaner NK Zellen durch aktivierende und inhibitorische Rezeptoren, Institut für molekulare Immunologie 2005,
http://www.helmholtz-muenchen.de/neu/Aktuelles/jahresbericht/2005/201_206_imi_inst.pdf
- 27) http://immunology.ucsf.edu/immuno/graphics/faculty/figures/lanier_page.jpg
- 28) Mary Carrington, Paul Norman, The KIR gene cluster, The KIR gene cluster 2003,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10134/>
- 29) P. Parham et al., Immunogenetics of killer cell immunoglobulin like receptors, Tissue antigens 2003,
<http://www2.fiu.edu/~ci/Parham%20paper.pdf>
- 30) http://www.ebi.ac.uk/ipd/kir/images/figure_06.jpg
- 31) <http://www.nature.com/nri/journal/v3/n2/images/nri999-i2.gif>
- 32) Peter Gutjahr: Krebs bei Kindern und Jugendlichen, Klinik und Praxis der pädiatrischen Onkologie. 5. Überarbeitete und erweiterte Auflage. Deutscher Ärzte Verlag 2004
- 33) <http://www.oncolink.org/treatment/images/bmt/buhle3.gif>
- 34) M. Bornhäuser, J. Kienast, Stammzelltransplantation, Onkodin 2008,
http://www.onkodin.de/e2/e51675/e53188/e53499/index_ger.html
- 35) Richard W. Childs, Immunotherapy of Solid Tumors: Nonmyeloablative Allogeneic Stem Cell Transplantation, Medscape Hematology-Oncology eJournal 2002,
<http://www.euchromatin.org/Childs02.htm>
- 36) Phillip Ruiz Harumi Jyonouchi, Pediatric Graft Versus Host Disease, Medscape 2009,
<http://emedicine.medscape.com/article/886758-overview>

- 37) Ulrike Fötsch, Graft versus Host Erkrankung in der pädiatrischen Hämato-Onkologie 2008,
http://www.ahop.at/images/literatur/10_AHOP-Generalversammlung_2009.pdf
- 38) Pavan Reddy and James LM Ferrara, Mouse model of graft versus host disease, Stem book 2008,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27033/>
- 39) K. Kawa, N. Ohnuma, M. Kaneko, K. Yamamoto, T. Etoh, H. Mugishima, M. Ohhira, J. Yokoyama, F. Bessho, T. Honna, J. Yoshizawa, K. Nakada, M. Iwafuchi, T. Nozaki, J. Mimaya, T. Sawada, T. Nakamura, H. Miyata, K. Yamato, Y. Tsuchida, Long-Term Survivors of Advanced Neuroblastoma With *MYCN* Amplification: A Report of 19 Patients Surviving Disease-Free for More Than 66 Months, Journal of clinical oncology 1999,
<http://jco.ascopubs.org/content/17/10/3216.full>
- 40) Didier Blaise, Jacques Olivier Bay, Catherine Faucher, Mauricette Michallet, Jean-Michel Boiron, Bachra Choufi, Jean-Yves Cahn, Nicole Gratecos, Jean-Jacques Sotto, Sylvie François, Joel Fleury, Mohamad Mohty, Christian Chabannon, Karin Bilger, Gwenaëlle Gravis, Frédéric Viret, Anne Chantal Braud, Valérie Jeanne Bardou, Dominique Maraninchi, and Patrice Viens, Reduced-intensity preparative regimen and allogeneic stem cell transplantation for advanced solid tumors, Blood journal 2003,
<http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/103/2/435.full>
- 41) Matthias W. Beckmann: Molekulare Medizin in der Frauenheilkunde: Diagnostik und Therapie, 2002,
http://books.google.at/books?hl=de&lr=&id=4TCx-KOeCMQC&oi=fnd&pg=PA165&dq=nabelschnurblut+hla+&ots=0zJ1oF-9rZ&sig=SusMHK_-9OZivPBy0FuZwRprzi8#v=onepage&q=nabelschnurblut%20hla&f=false
- 42) Dr. Martin Imhof, Die Stammzelle aus der Nabelschnur: Gewinnung, Verarbeitung, Lagerung, Verwendung, 2001,
<http://www.kup.at/kup/pdf/664.pdf>
- 43) <http://relevant.at/life/gesundheit/44126/nabelschnurblut-fuer-zelltransplantationen.story>

- 44) Shimabukuro-Vornhagen, Alexey Popov, Nela Klein-Gonzalez, Francesca Fiore, Svenja Debey, Andreas Draube, Britta Maecker, Isaura Menezes, Lee M. Nadler, and Joachim L. Schultze, CD40-activated B cells express full lymph node homing triad and induce T-cell chemotaxis: potential as cellular adjuvants, *Blood* 2006,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1895368/?tool=pubmed>
- 45) Helmut Gadner, *Pädiatrische Hämatologie und Onkologie*, Springer Verlag 2006,
http://books.google.at/books?id=B65MOmbAIWkC&pg=PA75&lpg=PA75&dq=reduktion+der+gvhd+hla++immunsuppression&source=bl&ots=_hXuBube39&sig=3ciYLrvllsx FfHqDy2KvzMCC-Jk&hl=de&ei=3334TfK6MYrDswbb1J2KCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CB8Q6AEwAA#v=onepage&q=reduktion%20der%20gvhd%20hla%20%20immunsuppression&f=false
- 46) Tawara I, Koyama M, Liu C, Toubai T, Thomas D, Evers R, Chockley P, Nieves E, Sun Y, Lowler KP, Malter C, Nishimoto N, Hill GR, Reddy P, Interleukin-6 modulates graft versus host response after experimental allogeneic bone marrow transplantation, *Clinical cancer research* 2011,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21047980>
- 47) Pradier A, Passweg J, Villard J, Kindler V, Human bone marrow stromal cells and skin fibroblasts inhibit natural killer cell proliferation and cytotoxic activity, *Cell transplant* 2010
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21054933>
- 48) Leveson-Gower DB, Olson JA, Segal EI, Luong RH, Baker J, Zeiser R, Negrin RS, Low doses of natural killer t cells provide protection from acute graft versus host disease via an IL-4 dependent mechanism, *Blood journal* 2011,
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21258007>
- 49) Eisei Kondo, Britta Maecker, Martin R. Weihrauch, Claudia Wickenhauser, WanYong Zeng, Lee M. Nadler, Joachim L. Schultze, Michael S. von Bergwelt-Baildon, Cyclin D1-Specific Cytotoxic T Lymphocytes Are Present in the Repertoire of Cancer Patients: Implications for Cancer Immunotherapy, *Clinical cancer research* 2008,
<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/14/20/6574.long>
- 50) Michael S. von Bergwelt-Baildon, Alexey Popov, Tomo Saric, Jens Chemnitz, Sabine Classen, Marc S. Stoffel, Francesca Fiore, Udo Roth, Marc Beyer, Svenja Debey,

Claudia Wickenhauser, Franz-Georg Hanisch, and Joachim L. Schultze, CD25 and indoleamine 2,3-dioxygenase are up-regulated by prostaglandin E2 and expressed by tumor-associated dendritic cells in vivo: additional mechanisms of T-cell inhibition , Blood journal 2006,

<http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/108/1/228.full>

- 51) Schultze JL, Grabbe S, von Bergwelt-Baildon MS, DCs and CD40-activated B cells: current and future avenues to cellular cancer immunotherapy, Trends immunology 2004, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=15530836&ordinalpos=8&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum
- 52) Shirota H, Klinman DM, CpG-conjugated apoptotic tumor cells elicit potent tumor-specific immunity, Cancer Immunology Immunotherapie 2011, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21318638>
- 53) Jialin Sun, Lina Zhao, Lijie Teng, Feng Lin, Hongna Zhang, Zhengnan Li, and Qiang Gao, Solid Tumor-Targeted Infiltrating Cytotoxic T Lymphocytes Retained by a Superantigen Fusion Protein, Plos one 2011, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3032773/?tool=pubmed>
- 54) K. A. Cole, J. Huggins, M. Laquaglia, C. E. Hulderman, M. R. Russell, K. Bosse, S. J. Diskin, E. F. Attiyeh, R. Sennett, G. Norris, M. Laudenslager, A. C. Wood, P. A. Mayes, J. Jagannathan, C. Winter, Y. P. Mosse, J. M. Maris, RNAi screen of the protein kinome identifies checkpoint kinase 1 (CHK1) as a therapeutic target in neuroblastoma. Proceedings of the National Academy of Sciences 2011, <http://www.sciencedaily.com/releases/2011/02/110207122015.htm>
- 55) T. Tammela, A. Saaristo, T. Holopainen, S. Yla-Herttuala, L. C. Andersson, S. Virolainen, I. Immonen, K. Alitalo, Photodynamic Ablation of Lymphatic Vessels and Intralymphatic Cancer Cells Prevents Metastasis, Science Translational Medicine 2011, <http://www.sciencedaily.com/releases/2011/02/110209151257.htm>
- 56) Judah Folkman, Anti-Angiogenesis: new concept of therapy for solid tumors, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1355186/pdf/annsurg00265-0115.pdf>

- 57) Urs Martin Lütorf, Pius August Schubiger, Raimo Pellikka, Genau dosierter Zelltod im Rahmen der Bestrahlungstherapie und Radionuklide zur Diagnose und Therapie von Neuroblastomen, Molekül 5/2003,
https://www.chab.ethz.ch/information/publicrelations/publikationen/molekuel/mol ekuel5_2003.pdf
- 58) M.J. Evans, M. Kaufman, Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos, Nature 1981,
<http://www.nature.com/nature/journal/v292/n5819/abs/292154a0.html>
- 59) John D. Scandling, M.D., Stephan Busque, M.D., Sussan Dejbakhsh-Jones, M.S., Claudia Benike, B.S., Maria T. Millan, M.D., Judith A. Shizuru, M.D., Ph.D., Richard T. Hoppe, M.D., Robert Lowsky, M.D., Edgar G. Engleman, M.D., and Samuel Strober, M.D., Tolerance and Chimerism after Renal and Hematopoietic-Cell Transplantation, new England Journal of Medicine 2010,
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa074191>
- 60) Kaan Boztug, M.D., Manfred Schmidt, Ph.D., Adrian Schwarzer, M.D., Pinaki P. Banerjee, Ph.D., Inés Avedillo Díez, Ph.D., Ricardo A. Dewey, Ph.D., Marie Böhm, M.Sc., Ali Nowrouzi, Ph.D., Claudia R. Ball, Ph.D., Hanno Glimm, M.D., Sonja Naundorf, M.Sc., Klaus Kühlcke, Ph.D., Rainer Blasczyk, M.D., Irina Kondratenko, M.D., László Maródi, M.D., Jordan S. Orange, M.D., Ph.D., Christof von Kalle, M.D., and Christoph Klein, M.D., Ph.D., Stem-Cell Gene Therapy for the Wiskott–Aldrich Syndrome, New England Journal of Medicine 2010,
<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1003548>

Alle Literaturangaben wurden zuletzt am 15.6.2011 aufgerufen und kontrolliert.

9. Danksagung

Für das Thema der Diplomarbeit, die Unterstützung und stete Hilfsbereitschaft bei meiner Arbeit möchte ich mich bei meinem Doktorvater Univ.-Prof. Dr.med.univ. Christian Urban herzlichst bedanken. Des weiteren gilt mein Dank dem Team der hämato-onkologischen Abteilung der Kinderklinik Graz für ihre Unterstützung bei der Recherche und Arbeit im Archiv.

Mein Dank gilt auch meinen Eltern für ihre Unterstützung während des ganzen Studiums sowie meinem Freund, der mich immer ermutigt und mir beigestanden hat.

10. Lebenslauf

Personalialia:

Name: Judith Geschrey
Adresse: Koschatgasse 17, A- 8020 Graz
Geb. Datum: 04.09.1986
Geb. Ort: A-8530 Deutschlandsberg LKH (Steiermark)
Staatsbürger: Österreich
Familienstand: ledig
Religion: römisch-katholisch

Schulischer Werdegang:

1992-1996 Volksschule Schulschwestern Graz-Eggenberg
1996 - 2004 Akademisches Gymnasium Graz
2004-2011 Studium an der Medizinischen Universität Graz

Ausbildungspraktika im Studium (Famulaturen):

2006 Kinderklinik Graz - Neonatologie
2007 UKH Graz - Unfallchirurgie
2007 Barmherzige Brüder Marschallgasse Graz - Chirurgie
2008 LKH West Graz – Innere Medizin
2008 Kinderklinik Graz – Hämato-Onkologie
2008 LSF – Kinder- und Jugendpsychiatrie
2009 Kinderklinik Graz – Psychosomatik