

## PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/23047>

Please be advised that this information was generated on 2017-12-05 and may be subject to change.

- <sup>9</sup> Rimmer JH, Braddock D, Fujiura G. Cardiovascular risk factor levels in adults with mental retardation. *Am J Ment Retard* 1994; 98:510-8.
- <sup>10</sup> Coebergh JWW, Heijden LH van der, Janssen-Heijnen MLG, editors. Cancer incidence and survival in the Southeast of the Netherlands, 1955-1994. Eindhoven: IKZ, 1995.
- <sup>11</sup> Centraal Bureau voor de Statistiek (CBS). Atlas van de kankersterfte in Nederland 1979-1990. Den Haag: CBS, 1992.
- <sup>12</sup> Schroyensteen Lantman-de Valk HMJ van, Kessels AGH, Haveman MJ, Maaskant MA, Urlings HFJ, Akker M van den. Medicijngebruik door verstandelijk gehandicapten in instituten en gezinsvervangende tehuizen. *Ned Tijdschr Geneesk* 1995;139:1083-8.
- <sup>13</sup> Rookus MA, Leeuwen FE van. Oral contraceptives and risk of breast cancer in women aged 20-54 years. *Lancet* 1994;344:844-51.

- <sup>14</sup> Schwartz Z, Dgani R, Flugelman MY, Lancet M, Gelerenter I. A novel approach to the analysis of risk factors in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 1985;21:228-34.
- <sup>15</sup> Haggitt RC. Barrett's esophagus, dysplasia, and adenocarcinoma. *Hum Pathol* 1994;25:982-93.
- <sup>16</sup> Roberts IM, Curtis RL, Madara JL. Gastroesophageal reflux and Barrett's esophagus in developmentally disabled patients. *Am J Gastroenterol* 1986;81:519-23.
- <sup>17</sup> Böhmer CJM, Niczen-de Boer MC, Klinkenberg-Knol EC, Schreuder H, Meeuwissen SGM. The prevalence of gastroesophageal reflux (GER) and refluxesophagitis (RE) in severely mentally handicapped. *Gastroenterol* 1996;110:A66.

Aanvaard op 1 augustus 1996

## *Succes van infusie met lymfocyten als behandeling van leukemierecidief na allogene beenmergtransplantatie is afhankelijk van een laag percentage eigen lymfocyten*

A.V.M.B.SCHATTENBERG, E.VAN DE WIEL-VAN KEMENADE, B.M.A.M.BÄR, A.H.M.GEURTS VAN KESSEL, R.W.M.VAN DER MAAZEN EN T.J.M.DE WITTE

De kans op leukemierecidief na allogene beenmergtransplantatie (BMT) is ongeveer 30%. De kans op recidief is relatief groot na transplantatie met beenmerg waaruit het grootste gedeelte van de T-lymfocyten verwijderd is.<sup>1</sup> T-celdepletie wordt toegepast om de kans op het ontstaan en de ernst van zogenaamde 'graft-versus-host' (GVH)-ziekte (de omgekeerde afstotingsreactie waarbij de geïnfundeerde cellen de acceptor aantasten) te beperken.

De prognose van patiënten met een recidief na BMT is slecht. Na intensieve behandeling met cytostatica is de mediane overleving van patiënten met een recidief van acute leukemie ongeveer 6 maanden.<sup>2</sup> De mediane overleving van patiënten met een recidief van chronische myeloïde leukemie (CML) varieert van minder dan enkele weken na een recidief met blastencrisis tot ongeveer 3 jaar na een recidief in de chronische fase.<sup>3,4</sup> De resultaten van retransplantatie zijn slecht: de actuarieel berekende kans op overleving zonder leukemie 2 jaar na retransplantatie is 21%.<sup>5</sup>

Sedert enige jaren worden recidieven na BMT behandeld met intraveneus toegediende lymfocyten van de oorspronkelijke beenmergdonor. Deze vorm van immunotherapie heeft vooral succes bij patiënten met een recidief-CML.<sup>6</sup>

In dit artikel bespreken wij de resultaten van een dergelijke infusie van lymfocyten bij 28 patiënten met een

### SAMENVATTING

*Doel.* Evaluatie van de infusie van lymfocyten van de oorspronkelijke beenmergdonor voor de behandeling van leukemierecidief na allogene beenmergtransplantatie.

*Plaats.* Afdeling Bloedziekten van het Academisch Ziekenhuis Nijmegen en Rode Kruis Bloedbank Nijmegen.

*Opzet.* Prospectief, niet-gerandomiseerd onderzoek.

*Methode.* Er werden 28 patiënten met een leukemierecidief na allogene beenmergtransplantatie behandeld met lymfocyten van de oorspronkelijke beenmergdonor. De lymfocyten werden verkregen door middel van leukoferese. Follow-up vond plaats door de patiënten frequent op de polikliniek te controleren.

*Resultaten.* Van de 15 patiënten met een recidief van chronische myeloïde leukemie (CML) en van de 13 patiënten met een recidief van acute leukemie kwamen respectievelijk 11 (73%) en 1 (8%) in complete remissie ( $p < 0,001$ ). Het bereiken van een complete remissie werd altijd voorafgegaan door acute of chronische omgekeerde afstotingsreactie ('graft-versus-host' (GVH)-ziekte): patiënten zonder GVH-ziekte kwamen ook niet in complete remissie. Het ontstaan van GVH-ziekte en dus het bereiken van een complete remissie hing duidelijk samen met de oorsprong van de T-lymfocyten in het bloed van de patiënt op het moment van de infusie. Waren de T-lymfocyten voornamelijk afkomstig van de patiënt, dan had infusie meestal geen effect. Indien ze voornamelijk afkomstig waren van de donor, dan bereikten de patiënten een complete remissie.

*Conclusie.* Patiënten met een leukemierecidief na allogene beenmergtransplantatie kunnen opnieuw in complete remissie komen door infusie van lymfocyten van de oorspronkelijke beenmergdonor. Deze poliklinische vorm van immunotherapie heeft vooral succes bij patiënten met een recidief-CML die op het moment van infusie relatief weinig eigen circulerende T-lymfocyten hebben.

leukemierecidief na BMT. Wij verklaren waarom sommige patiënten wel en andere niet in complete remissie komen.

Academisch Ziekenhuis, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.  
Afd. Bloedziekten: dr.A.V.M.B.Schattenberg en prof.dr.T.J.M.de Witte, internisten; mw.dr.E.van de Wiel-van Kemenade, bioloog.  
Afd. Genetica van de Mens: prof.dr.A.H.M.Geurts van Kessel, geneticus.

Afd. Radiotherapie: dr.R.W.M.van der Maazen, radiotherapeut.  
Stichting Rode Kruis Bloedbank, Nijmegen.  
Mw.B.M.A.M.Bär, internist.

Correspondentie-adres: dr.A.V.M.B.Schattenberg.



PATIËNTEN EN METHODEN

*Patiënten.* Van maart 1991 tot september 1995 behandelde wij 28 patiënten met een leukemierecidief na BMT met lymfocyten van de oorspronkelijke beenmergdonor. Deze 28 patiënten (8 vrouwen en 20 mannen) hadden een recidief van acute myeloïde leukemie (AML; n = 9), acute lymfatische leukemie (ALL; n = 4) of CML (n = 15). De mediane leeftijd van de patiënten was 36 jaar (uitersten: 17-55).

Bij 26 donors ging het om HLA-identieke broers of zusters; 1 donor was een broer die met uitzondering van 1 HLA-A-antigeen HLA-identiek was en 1 patiënt kreeg beenmerg van een HLA-identieke, niet-verwante donor van een beenmergdonorbank. De mediane leeftijd van de donors (11 vrouwen en 17 mannen) was 39 jaar (uitersten: 13-59).

*GVH-ziekte.* Acute GVH-ziekte ontstaat per definitie binnen 3 maanden na de transplantatie of binnen 3 maanden na de infusie van lymfocyten en wordt ingedeeld in verschillende graden (graad 1 is minimaal en graad 4 is zeer ernstig).<sup>7</sup> GVH-ziekte die nog aanwezig is na 3 maanden of die ontstaat na 3 maanden, wordt gedefinieerd als chronisch.<sup>8</sup>

*Diagnose van het recidief na beenmergtransplantatie.* Patiënten hadden een recidief, indien wederom die afwijkingen werden gevonden die representatief waren voor de oorspronkelijke ziekte.

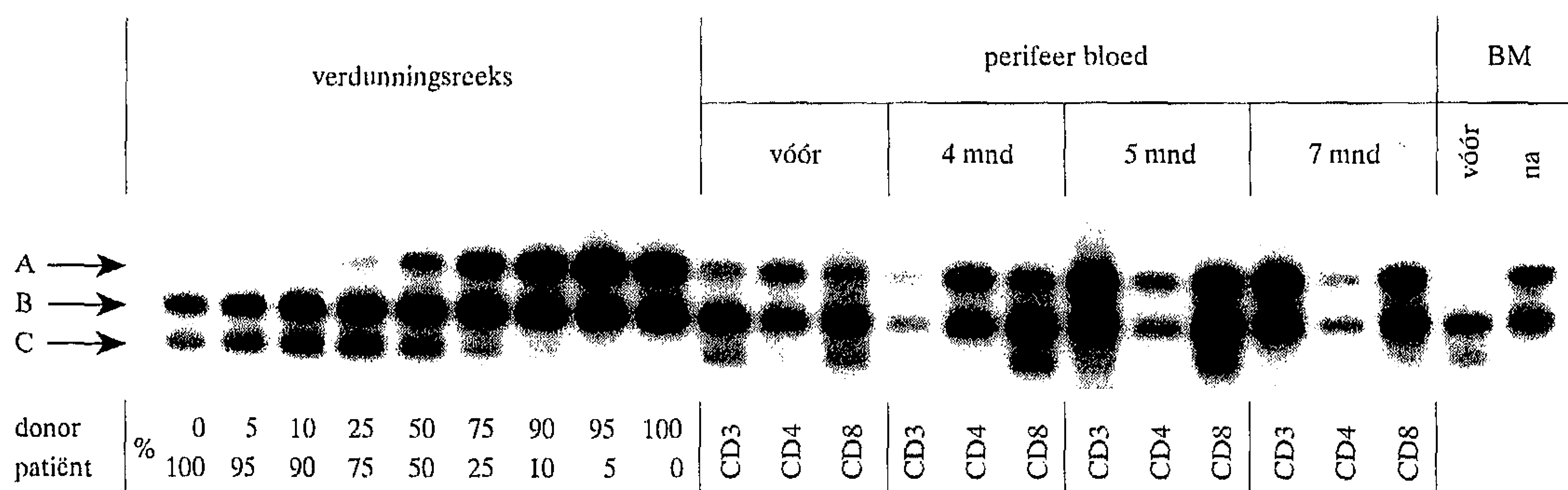
*Leukofereze.* Leukofereze is een procedure waarbij met behulp van een bloedcelscheider leukocyten uit het

bloed verkregen worden. De procedure duurt ongeveer 3 h en werd bij alle donors poliklinisch uitgevoerd. Ongeveer 70% van de aldus verkregen leukocyten zijn lymfocyten.

Om ernstige en onbehandelbare GVH-ziekte te voorkomen, dienen wij tegenwoordig bij de eerste infusie niet meer dan  $0,7 \times 10^8$  T-lymfocyten per kg lichaamsgewicht toe. Wordt dat aantal niet tijdens één leukofereze-sessie bereikt, dan kan de procedure enkele dagen later herhaald worden. Vertoonde de patiënt geen respons binnen 3 maanden, dan kreeg hij nogmaals lymfocyten van de donor. De lymfocyten werden zonder verdere behandeling poliklinisch in 20-30 min via een infuus toegediend.

*Analyse van de oorsprong van de T-lymfocyten.* Na een BMT kunnen de cellen in het beenmerg en in het bloed afkomstig zijn van uitsluitend de donor, van de patiënt én van de donor of uitsluitend van de patiënt. Dit geldt voor alle soorten bloedcellen, dus ook voor T-lymfocyten.<sup>9</sup> De T-lymfocyten die afkomstig zijn van de patiënt (de zogenaamde autologe T-lymfocyten) hebben de intensieve behandeling direct voorafgaande aan de BMT overleefd of zijn na de BMT ontstaan uit persisterende hematopoëtische stamcellen van de patiënt.<sup>10</sup>

Na de BMT bepaalden wij de oorsprong van de T-lymfocyten in het bloed met behulp van cytogenetisch onderzoek of met de polymerase-kettingreactie (PCR). Cytogenetisch onderzoek is gebaseerd op verschillen in



FIGUUR 1. Voorbeeld van de bepaling van de herkomst van T-lymfocyten uit het bloed van een patiënt na allogene beenmergtransplantatie: zijn de lymfocyten van de donor of van de patiënt zelf? Er zijn 9 mengsels van donor- en patiëntlymfocyten-DNA gemaakt (onder het kopje 'verdunningsreeks'); de totale hoeveelheid DNA is per verdunning constant, maar het percentage patiënt-DNA neemt van links naar rechts af van 100 tot 0 en het donor-DNA neemt toe van 0 tot 100. Alle DNA-verdunningen zijn elektroforetisch gescheiden van boven naar beneden en daarna is de DNA-probe opgebracht, hetgeen zwarte vlekken heeft opgeleverd op de plaatsen waar de probe zich heeft gehecht aan het lymfocyten-DNA. Het gaat hier om een semikwantitatieve polymerase-kettingreactie gericht op DNA-fragmenten met een variabel aantal van zich steeds herhalende stukjes DNA ('variable number of tandem repeats').

Pijl A wijst naar een band in het DNA-mengsel die specifiek is voor cellen van de donor (in de laan met DNA uit 100% donorcellen is deze band zichtbaar, in de laan met DNA uit 100% patiëntcellen is deze band niet aanwezig). Pijl C geeft een band aan die specifiek is voor de patiënt (deze band is te zien in de laan met DNA uit 100% patiëntcellen en ontbreekt in de laan met DNA uit 100% donorcellen). Pijl B geeft een gemeenschappelijke band aan. De gevoeligheid van de methode is 5%: in de laan met 5% cellen van de patiënt en 95% cellen van de donor is nog net de patiënt-specifieke band zichtbaar.

Vóór de infusie van lymfocyten (de elektroforeselaneen aangegeven met 'vóór' onder het kopje 'perifeer bloed') zijn patiënt- én donor-specifieke banden aanwezig in de uitgesplitste CD3-, CD4-, en CD8-positieve T-lymfocyten. Bij vergelijking van de mate van zwarting van deze banden met die van de verdunningsreeks mag geconcludeerd worden dat 5 tot 20% van de T-lymfocyten afkomstig is van de patiënt. Zeven maanden na de infusie (aangegeven met '7 mnd') is de patiënt-specifieke band (C) niet of nauwelijks aantoonbaar in de lanen met T-lymfocyten. De beenmergcellen (BM) zijn vóór de infusie van lymfocyten uitsluitend afkomstig van de patiënt (band A ontbreekt) en 7 maanden na de infusie uitsluitend afkomstig van de donor (band C ontbreekt).



chromosomen die kenmerkend zijn voor de patiënt en de donor.<sup>9</sup> De PCR is gevoeliger en gaat uit van voor de patiënt en de donor specifieke langere of kortere stukjes DNA (variabel aantal van zich steeds herhalende stukjes DNA; 'variable number of tandem repeats' (VNTR)).<sup>11</sup> Dit onderzoek vond plaats voor 2 soorten T-lymfocyten, de zogenaamde CD4- en CD8-positieve T-lymfocyten, die uit het bloed werden gehaald door binding aan monoklonale antilichamen en sortering met behulp van een 'flow'-cytometer. Figuur 1 laat zien hoe de oorsprong van de verschillende cellen semikwantitatief bepaald kan worden met de PCR-VNTR.

De oorsprong van de T-lymfocyten kon bij 19 patiënten bepaald worden met de PCR-VNTR en bij 2 met cytogenetisch onderzoek. Bij 7 patiënten kon dit onderzoek niet plaatsvinden, omdat geen bloedmonster beschikbaar was of omdat geen discriminatie mogelijk was tussen patiënt- en donorcellen.

*Definitie van complete remissie na de infusie van lymfocyten.* Patiënten bereikten een complete remissie indien alle afwijkingen verdwenen die representatief waren voor het recidief.

*Follow-up.* De follow-up eindigde op het moment van overlijden, op het moment van retransplantatie of op 1 maart 1996. De patiënten die niet overleden of die niet opnieuw transplantatie ondergingen, hadden een follow-up van minimaal 6 maanden.

*Statistische analyse.* De exacte toets van Fisher en de U-toets van Mann en Whitney werden gebruikt om verschillen aan te tonen tussen de patiënten die wel en die niet in complete remissie kwamen. Het verschil in de actuariële overleving werd berekend met de logrank-toets. Een p-waarde  $\leq 0,05$  werd als aanwijzing voor een statistisch significant verschil beschouwd.

## RESULTATEN

Van de 28 patiënten bereikten er 12 (43%) een complete remissie 1-18 maanden (mediaan: 6) na de eerste infusie van lymfocyten. In de tabel worden de kenmerken vergeleken van de patiënten die wel en die niet in complete remissie kwamen. Van de 15 patiënten met een recidief-CML bereikten 11 (73%) een complete remissie en van de 13 met een recidief van acute leukemie 1 (8%) ( $p < 0,001$ ). De patiënten die niet in complete remissie kwamen, kregen relatief meer infusies en meer lymfocyten, omdat bij uitblijven van een respons de infusie werd herhaald.

Bij patiënten die een complete remissie bereikten, was het recidief duidelijk later na de BMT opgetreden. Dit kwam door het grote aantal patiënten met een recidief-CML in deze groep. (Een recidief van een CML treedt namelijk in het algemeen later na transplantatie op dan een recidief van een acute leukemie.<sup>2-4</sup>)

Het bereiken van een complete remissie werd bij 11 van de 12 patiënten (92%) voorafgegaan door acute GVH-ziekte, die bij 4 patiënten ernstig was; 1 patiënt overleed hieraan. De 11 patiënten die een complete remissie bereikten en een follow-up hadden  $> 3$  maanden kregen chronische GVH-ziekte die bij 7 (64%) ernstig was. Eén patiënt overleed 19 maanden na de infusie van lymfocy-

Vergelijking van patiënten met leukemierecidief na allogene beenmergtransplantatie die wel of niet in complete remissie kwamen na infusie van lymfocyten van de oorspronkelijke beenmergdonor

kenmerk	complete remissie (n = 12)	geen complete remissie (n = 16)	p*
patiënten			
vrouwen/mannen	3/9	5/11	$> 0,05$ †
mediane leeftijd (uitersten), in jaren	38 (28-52)	32 (17-55)	$> 0,05$ †
donors			
vrouwen/mannen	3/9	8/8	$> 0,05$ †
mediane leeftijd (uitersten), in jaren	40 (22-54)	38 (13-59)	$> 0,05$ †
indicatie voor infusie			
recidief van acute leukemie (n = 13)	1	12	
recidief-CML (n = 15)	11	4	$< 0,001$ ‡
aantal lymfocyteninfusies			
mediaan (uitersten)	3 (2-6)	3 (1-11)	$> 0,05$ †
aantal lymfocyten geïnfundeed ( $\times 10^6$ /kg), mediaan (uitersten)	1,6 (0,9-3,0)	2,2 (0,3-5,0)	$> 0,05$ †
interval BMT-recidief			
mediaan (uitersten), in maanden	24 (12-85)	8 (3-120)	0,003
interval recidief-eerste infusie			
mediaan (uitersten), in maanden	4 (0-51)	1 (0-44)	$> 0,05$ †
aantal patiënten met acute GVH-ziekte (n = 11)	11	0	
zonder acute GVH-ziekte (n = 17)	1	16	$< 0,001$ §
aantal patiënten   met chronische GVH-ziekte (n = 11)	11	0	
zonder chronische GVH-ziekte (n = 9)	0	9	$< 0,001$ §
percentage T-lymfocyten van patiëntorigine op moment van eerste infusie, mediaan (uitersten)	$< 10$ ( $< 10$ - $> 90$ )¶	$> 90$ (0-100)¶	0,01

CML = chronische myeloïde leukemie; BMT = beenmergtransplantatie; GVH = 'graft-versus-host'.

\*Waarde van p bij vergelijking van de 2 patiëntengroepen.

†Verschil statistisch niet significant.

‡Waarde van p bij vergelijking van het remissiepercentage in de groep met acute leukemie en in de groep met CML.

§Waarde van p bij vergelijking van het remissiepercentage in de groep met en de groep zonder GVH-ziekte.

||Aantal patiënten met een follow-up  $> 3$  maanden.

¶Onderzocht bij 11 patiënten die een complete remissie bereikten en bij 10 patiënten bij wie dat niet het geval was.

ten ten gevolge van een complicatie bij ernstige chronische GVH-ziekte.

Bij 5 van de 11 patiënten (45%) die acute GVH-ziekte kregen en in complete remissie kwamen, ontstond cytopenie (leukocyten  $< 1,0 \times 10^9$ /l en (of) trombocyten  $< 20 \times 10^9$ /l en (of) hemoglobineconcentratie  $< 6,0$  mmol/l). De duur van de leukopenie varieerde van 9 tot 62 dagen (mediaan: 37), de trombopenie duurde 32 tot 389 dagen (mediaan: 52) en de duur van de anemie varieerde van 62 tot 1030 dagen (mediaan: 248). Geen enkele patiënt



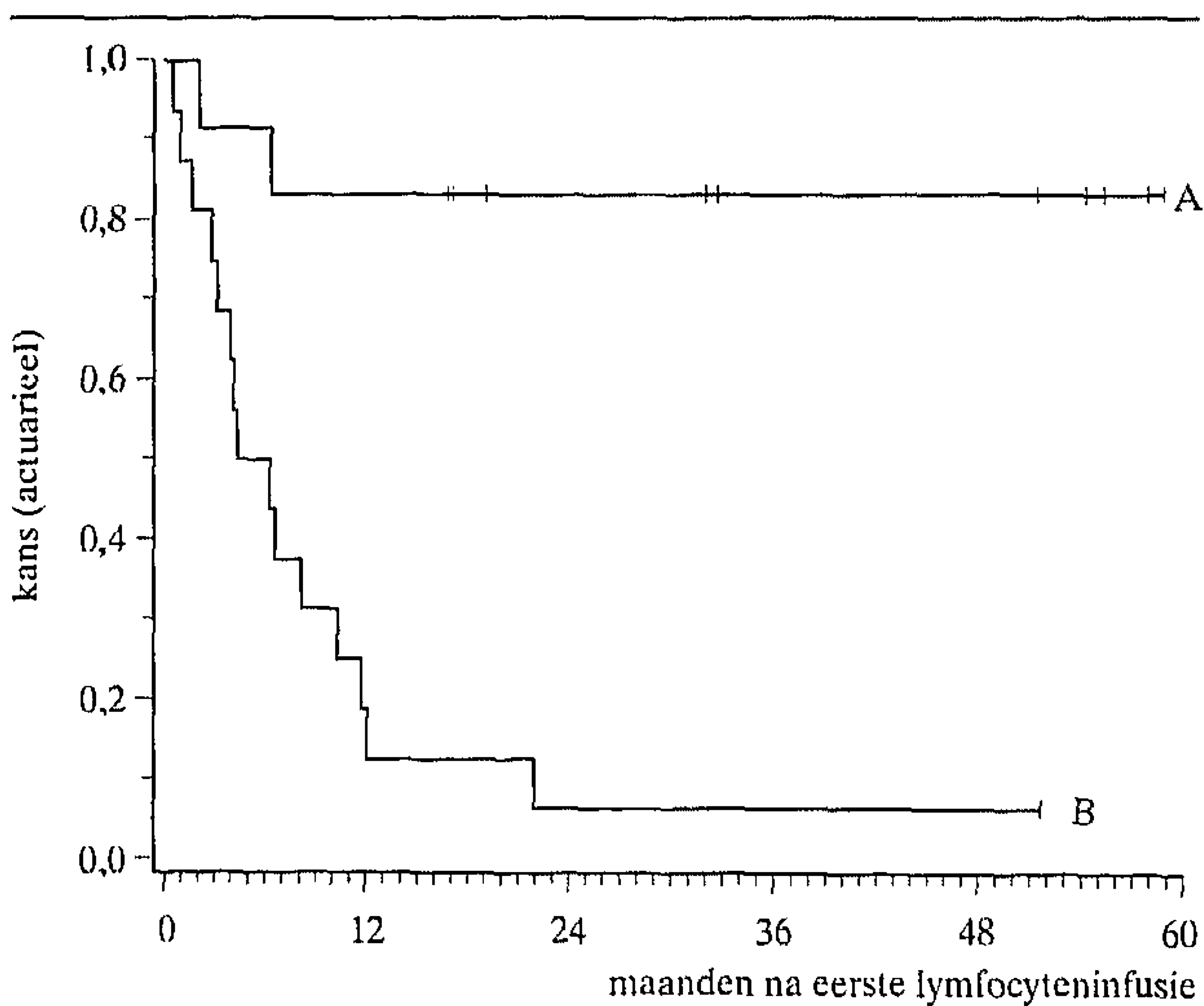
kreeg tijdens de leukopenieperiode een ernstige opportunistische infectie.

Het aantal eenheden getransfundeerde erythrocyten varieerde van 14 tot 74 (mediaan: 35) en er werden mediaan 242 (uitersten: 42-276) eenheden trombocyten toegediend. Bij 1 patiënt werd de duur van de pancytopenie verkort door een boostertoediening van stamcellen van de oorspronkelijke beenmergdonor.

Van de 28 patiënten reageerden 16 niet op de infusie van lymfocyten. Geen van deze patiënten had tekenen van acute GVH-ziekte en 9 patiënten leefden langer dan 3 maanden. Niet één patiënt kreeg chronische GVH-ziekte. Van de 16 patiënten overleden er 13 (81%) ten gevolge van het recidief 1 tot 12 maanden (mediaan: 4) na de eerste infusie van lymfocyten. Er ontvingen 3 patiënten met een recidief-CML alsnog een hernieuwde transplantatie met beenmerg van de oorspronkelijke beenmergdonor; 2 van hen overleden na respectievelijk 3 en 5 maanden, de een ten gevolge van een met de retransplantatie samenhangende complicatie en de andere met een recidief met blastencrisis. De 3e patiënt was 35 maanden na retransplantatie nog steeds in complete remissie.

Figuur 2 laat de overlevingscurve zien van de 12 patiënten die in complete remissie kwamen en van de 16 patiënten bij wie dat niet gebeurde.

*Invloed van de oorsprong van de T-lymfocyten op het effect van de infusie van donorlymfocyten.* Bij 11 van de 12 patiënten (92%) die een complete remissie bereikten en bij 10 van de 16 (63%) bij wie dat niet gebeurde ( $p = 0,09$ ), kon direct voorafgaande aan de infusie van donorlymfocyten de identiteit van de T-lymfocyten bepaald



FIGUUR 2. Actuarieel berekende overleving van 12 patiënten met leukemierecidief na allogene beenmergtransplantatie die in complete remissie kwamen na infusie van lymfocyten van de oorspronkelijke beenmergdonor (A) en van 16 die niet in remissie kwamen (B). De verticale streepjes geven de patiënten aan die bij afsluiting van het onderzoek nog in leven waren. Slechts 1 van de 16 patiënten die niet in complete remissie kwamen, was nog in leven 52 maanden na de eerste lymfocyteninfusie en 35 maanden na retransplantatie. Het verschil tussen de overlevingscurven was significant ( $p < 0,001$ ).

worden. Bij remissiepatiënten varieerde het percentage autologe T-lymfocyten van  $< 10$  tot  $> 90$  (mediaan  $< 10$ ), bij de anderen van 0 tot 100% (mediaan  $> 90\%$ ) ( $p = 0,01$ ). Het al dan niet bereiken van een complete remissie was dus duidelijk afhankelijk van het percentage autologe T-lymfocyten op het moment dat de donorlymfocyten gegeven werden: hoe meer eigen T-lymfocyten, des te minder remissie.

#### BESCHOUWING

Na infusie van lymfocyten vonden Kolb et al. een complete remissie bij 54 van de 75 patiënten (72%) met een recidief-CML, bij 5 van de 17 (29%) met een recidief-AML en bij geen van de 12 patiënten met een recidief-ALL.<sup>6</sup> Voor de patiënten die behandeld werden voor een recidief-CML werd de relatie tussen het optreden van acute GVH-ziekte en het bereiken van een complete remissie vermeld: 33 van de 36 patiënten (92%) met acute GVH-ziekte  $\geq$  graad 2 kwamen in complete remissie. Een complete remissie werd echter ook bereikt door 22 van de 39 patiënten (56%) die geen acute GVH-ziekte  $\geq$  graad 2 hadden. Niet vermeld werd hoeveel van deze 22 patiënten acute GVH-ziekte graad 1 of chronische GVH-ziekte hadden, waardoor zij mogelijk in complete remissie kwamen.

*'Graft-versus-leukemia'-reactie.* Bij de door ons beschreven patiënten werd de complete remissie altijd voorafgegaan door acute en (of) chronische GVH-ziekte. GVH-ziekte is een immunologische reactie die uitgaat van de T-lymfocyten van de donor en die verband houdt met de zogenaamde 'graft-versus-leukemia' (GVL)-reactie. Deze reactie kan uiteindelijk leiden tot een complete remissie. GVH-ziekte en GVL-reactie kunnen uitsluitend ontstaan, indien de geïnfundeerde lymfocyten niet afgestoten worden door het afweersysteem van de patiënt. In dit systeem spelen circulerende T-lymfocyten een belangrijke rol. Zijn deze T-lymfocyten uitsluitend of voornamelijk van de patiënt afkomstig, dan worden de toegediende T-lymfocyten van de donor afgestoten; er ontstaat geen GVH-ziekte, geen GVL-reactie en de patiënt komt niet in complete remissie.

Toch bereikten 2 patiënten met een recidief-CML die op het moment van infusie respectievelijk 90 en  $> 90\%$  autologe T-lymfocyten hadden een complete remissie. Na de infusie hadden beide patiënten acute GVH-ziekte, gevolgd door ernstige chronische GVH-ziekte. Zij gebruikten voorafgaande aan de infusie gedurende enige maanden interferon gamma of alfa. Mogelijk moduleerde het interferon bij deze patiënten het afweersysteem zodanig dat rejectie van de geïnfundeerde lymfocyten werd voorkomen.

Bij alle 16 patiënten die niet in complete remissie kwamen, was ook geen acute en (of) chronische GVH-ziekte ontstaan. Het percentage autologe T-lymfocyten was bij 9 van de 10 patiënten bij wie de oorsprong van de T-lymfocyten bepaald kon worden  $\geq 80$  (mediaan  $> 90$ ). Eén patiënt had op het moment van infusie geen autologe T-lymfocyten. Hij had een recidief-AML en overleed 6 weken na de infusie, te snel om een respons te kunnen tonen.



*Immunosuppressieve therapie voorafgaand aan reïnfusie.* Patiënten met een leukemierecidief na BMT lijken dus te reageren op de infusie van lymfocyten indien het percentage autologe T-lymfocyten laag is. Is dit percentage hoog, dan worden de geïnfundeerde lymfocyten van de donor afgestoten en kan het gewenste effect niet ontstaan. Om afstoting van de geïnfundeerde donorlymfocyten te voorkomen, behandelen wij thans patiënten die een hoog percentage autologe T-lymfocyten hebben eerst met immunosuppressieve therapie. Deze therapie wordt gegeven in de vorm van totale lymfklierbestraling (met in totaal 12 Gy). Inmiddels hebben wij zo 2 patiënten met een vroeg recidief van een acute leukemie behandeld. Beiden kregen acute GVH-ziekte en bij beiden trad een antileukemierespons op.

#### CONCLUSIE

Patiënten met een leukemierecidief na BMT kunnen opnieuw in complete remissie komen door infusie van lymfocyten van de oorspronkelijke beenmergdonor. Deze vorm van immunotherapie heeft een grote kans van slagen indien het percentage autologe T-lymfocyten op het moment van infusie laag is. Is dit percentage hoog (> 50), dan is ons advies de patiënten eerst te behandelen met een immunosuppressieve therapie, bijvoorbeeld totale lymfklierbestraling. Vooral voor CML-patiënten die een transplantatie ondergaan met T-cel-'gedepleteerd' beenmerg en die een relatief grote kans hebben op een recidief, biedt deze vorm van immunotherapie een tweede kans op het bereiken van een langdurige complete remissie.

Wij danken Ch.Puylaert, hoofd Donorcentrum, van de Rode Kruis Bloedbank te Nijmegen voor het verrichten van de leukoferen, F.Maas, H.Fredrix en E.Linders, analisten van het Centraal Hematologisch Laboratorium van het Academisch Ziekenhuis Nijmegen (AZN) voor het PCR-VNTR-onderzoek, F.Stellink, A.Siepman en J.van Gaal, analisten van de afdeling Antropogenetica (AZN), voor het uitvoeren van het cytogenetisch onderzoek, en Q.van Daal, datamanager van de afdeling Bloedziekten (AZN), voor hulp bij het verzamelen van de data.

#### ABSTRACT

*The success of infusion of lymphocytes to treat recurrence of leukaemia after allogeneic bone marrow transplantation depends on low percentage of patient's own lymphocytes.*

*Objective.* Evaluation of induction of complete remission with infusion of lymphocytes from the original bone marrow donor in patients with leukaemia which relapsed after allogeneic bone marrow transplantation.

*Setting.* Division of Haematology, University Hospital Nijmegen and the Red Cross Blood Bank Nijmegen, the Netherlands.

*Design.* Prospective, non-randomized study.

*Methods.* Twenty-eight patients who relapsed after allogeneic bone marrow transplantation were treated with infusion of lymphocytes from the original bone marrow donor. Lympho-

cytes were collected by means of leukapheresis. Follow-up was done by frequent checks at the outpatient clinic.

*Results.* Eleven of 15 (73%) patients with relapsed chronic myeloid leukaemia (CML) and only one of 13 patients (8%) with a relapse of acute leukaemia went into complete remission ( $p < 0.001$ ). Entering complete remission was always preceded by acute or chronic graft-versus-host disease (GVHD). The development of acute and/or chronic GVHD was significantly associated with the origin of T-lymphocytes in the blood of the recipient at the time of infusion. If the T-lymphocytes came mostly from the patient himself, the infusion remained usually without effect. If the T-lymphocytes came mostly from the donor, the patients went into complete remission.

*Conclusion.* Patients with a relapse of leukaemia after allogeneic bone marrow transplantation may enter complete remission after infusion of lymphocytes from the original marrow donor. This form of immunotherapy can be successful especially in patients with a relapsed CML with a relatively low percentage of autologous T-lymphocytes at the time of infusion.

#### LITERATUUR

- <sup>1</sup> Sobocinski KA, Horowitz MM, Rimm AA, Bortin MM. Current status of allogeneic bone marrow transplantation. *Biomed Pharmacother* 1992;46:57-69.
- <sup>2</sup> Frassoni F, Barrett AJ, Granena A, Ernst P, Garthon G, Kolb HJ, et al. Relapse after allogeneic bone marrow transplantation for acute leukaemia: a survey by the EBMT of 117 cases. *Br J Haematol* 1988;70:317-20.
- <sup>3</sup> Hughes TP, Economou K, Mackinnon S, Vlitos M, Arthur CK, Guo AP, et al. Slow evolution of chronic myeloid leukaemia relapsing after BMT with T-cell depleted donor marrow. *Br J Haematol* 1989;73:462-7.
- <sup>4</sup> Arcese W, Goldman JM, D'Arcangelo E, Schattenberg A, Nardi A, Apperley JF, et al. Outcome for patients who relapse after allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia. *Blood* 1993;82:3211-9.
- <sup>5</sup> Mrsic M, Horowitz MM, Atkinson K, Biggs JC, Champlin RE, Ehninger G, et al. Second HLA-identical sibling transplants for leukemia recurrence. *Bone Marrow Transplant* 1992;9:269-75.
- <sup>6</sup> Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese W, et al. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood* 1995;86:2041-50.
- <sup>7</sup> Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 1974;18:295-304.
- <sup>8</sup> Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL, McDonald GB, Striker GE, Sale GE, et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinicopathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med* 1980;69:204-17.
- <sup>9</sup> Schattenberg A, Bär B, Smeets D, Geurts van Kessel A, Witte T de. Comparison of chromosome studies on PHA-stimulated blood and unstimulated bone marrow cells in recipients of lymphocyte depleted grafts using counterflow centrifugation. *Bone Marrow Transplant* 1993;11:95-101.
- <sup>10</sup> Butturini A, Seeger RC, Gale RP. Recipient immune-competent T lymphocytes can survive intensive conditioning for bone marrow transplantation. *Blood* 1986;68:954-6.
- <sup>11</sup> Lecuwen JEM van, Tol MJD van, Bodzinga BG, Wijnen JTh, Keur M van der, Joosten AM, et al. Detection of mixed chimaerism in flow-sorted cell subpopulations by PCR-amplified VNTR markers after allogeneic bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 1991;79:218-25.

Aanvaard op 15 augustus 1996