

Biomathematische Modellierung von Chemo- und
Immuntherapie bei aggressiven
Non-Hodgkin-Lymphomen

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Dr. rer. med.

an der Medizinischen Fakultät
der Universität Leipzig

Eingereicht von:

Dipl.-Math. Katja Schneider geb. Rösch

Geb. 27.07.1984 in Karl-Marx-Stadt (Chemnitz)

Angefertigt am:

Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie der Universität Leipzig

Betreuer:

Prof. Dr. Markus Scholz

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 23.05.2017

Bibliografische Beschreibung

Rösch, Katja

Biomathematische Modellierung von Chemo- und Immuntherapie bei aggressiven Non-Hodgkin-Lymphomen

Universität Leipzig, Dissertation

101 S., 70 Lit., 6 Abb., 2 Tab.

Referat:

Dosis- und Zeitintensivierungen von Chemotherapie verbesserten das ereignisfreie Überleben bei Patienten mit aggressiven Non-Hodgkin-Lymphomen. Klinische Studien zeigten jedoch, dass zu starke Therapien in schlechteren Überlebensraten resultieren können. Rituximab ist ein monoklonaler Antikörper, der zu einem Durchbruch der Immuntherapie bei CD20-positiven B-Zell-Lymphomen geführt hat. Unterschiede bei den Überlebensraten zwischen einzelnen Therapievarianten werden durch Rituximab allerdings abgeschwächt. In dieser Promotionsarbeit wurde ein Modell entwickelt, welches diese Phänomene aus klinischen Studien durch die Annahme eines Anti-Tumor-Effekts des Immunsystems erklärt. Ein Differentialgleichungsmodell beschreibt die Dynamiken und Interaktionen zwischen Tumor- und Immunzellen unter Immunchemotherapie. Spezielle Parameter des Modells wurden durch Überlebenskurven aus klinischen Studien geschätzt. Dazu wurde ein Algorithmus entwickelt, der die Heterogenität der Überlebens- und Rezidivraten innerhalb eines Patientenkollektivs auf die Variabilität einiger weniger Parameter zurückführt. Das Modell wurde so an verschiedene Patientenkollektive angepasst. Schlechtere Ergebnisse bei zu intensiven Therapien werden im Modell durch eine zu starke Schädigung des Immunsystems erklärt, welches nicht mehr in der Lage ist, den residualen Tumor nach Therapieende zu bekämpfen.

Ein weiterer Bestandteil des Modells ist die Vorhersage neuer Chemo- sowie Immuntherapievarianten, um vielversprechende Therapieszenarien zu ermitteln, die in die Konzeption neuer klinischer Studien einfließen können. Prognosen in Abhängigkeit von bestimmten Risikogruppen der Patienten können gestellt werden, indem Modellparameter mit messbaren Risikofaktoren assoziiert werden. Die wesentlichen Ergebnisse dieser Arbeit werden in zwei Publikationen vorgestellt.

Inhaltsverzeichnis

Bibliografische Beschreibung	i
1 Einleitung	3
1.1 Struktur der Arbeit	3
1.2 Medizinischer und biologischer Hintergrund	4
1.2.1 Aggressive Non-Hodgkin-Lymphome	4
1.2.2 Aktuelle kurative Konzepte	5
1.2.3 Studienlage	6
1.3 Motivation für neue Modelle	8
1.4 Zielstellung der vorliegenden Arbeit	11
2 Das biomathematisches Modell der Chemotherapie für aggressive Non-Hodgkin-Lymphome	13
2.1 Struktur des Modells	13
2.2 Parametrisierung des Modells	15
2.3 Ergebnisse	16
Publikation 1: 'Modelling Lymphoma Therapy and Outcome' Bull Math Biol (2014) 76:401-430	16
3 Das Modell mit kombinierter Chemo- und Immuntherapie	47
3.1 Struktur des Modells	47
3.2 Parametrisierung des Modells	48
3.3 Ergebnisse	48
3.4 Vorhersagen	48
Publikation 2: 'Modelling combined chemo- and immunotherapy of high-grade non-Hodgkin lymphoma' Leuk Lymphoma (2015) 76:401-430	49
4 Zusätzliche Ergebnisse	63
4.1 Parameterschätzung bei jungen Patienten mit guter Prognose	64
4.1.1 Methodik	64
4.1.2 Ergebnisse	64
4.1.3 Schlussfolgerung	64
4.2 Vorhersagen unter Berücksichtigung von Risikofaktoren	68
4.2.1 Methodik	68
4.2.2 Ergebnisse	68
4.2.3 Schlussfolgerung	69

5 Diskussion und Ausblick	71
6 Zusammenfassung	75
Abkürzungsverzeichnis	79
Symbolverzeichnis	81
Abbildungsverzeichnis	83
Tabellenverzeichnis	83
Literaturverzeichnis	92
Selbstständigkeitserklärung	93
Danksagung	95
Curriculum vitae	97

Kapitel 1

Einleitung

1.1 Struktur der Arbeit

Diese Arbeit ist als kumulative Publikationspromotion angelegt. Sie umfasst zwei Publikationen mit Erstautorschaft in peer-review Journalen. Zusätzlich werden einige weitere Ergebnisse vorgestellt. Die Arbeit ist dabei wie folgt strukturiert:

Kapitel 1 gibt eine Einführung in die Thematik der aggressiven B-Zell-Lymphome. In Abschnitt 1.2 wird dabei kurz auf die medizinischen und biologischen Grundlagen dieser Erkrankung eingegangen. Aktuelle kurative Konzepte und Wirkungsweisen der Chemo- und Immuntherapie werden diskutiert und die entsprechende Studienlage erläutert. In Abschnitt 1.3 wird die Motivation für die Entstehung dieser Arbeit dargestellt. Genaue Zielstellungen, die durch diese Arbeit erreicht werden sollten, werden in Abschnitt 1.4 konkretisiert. Kapitel 2 gibt einen kurzen Überblick über die Inhalte der ersten Publikation, deren Schwerpunkt bei der mathematischen Modellbildung von Interaktionen zwischen Tumorwachstum und Immunsystem und der Chemotherapie bei aggressiven B-NHL liegt. Es werden kurz die Modellannahmen und die Parametrisierung erklärt, sowie ein Überblick über die Ergebnisse gegeben. Anschließend folgt die erste Publikation. Analog werden in Kapitel 3 die Inhalte der zweiten Publikation zusammengefasst, in der das Modell durch Implementierung einer Immuntherapie erweitert wird und durch Vorhersagen von Therapieergebnissen Möglichkeiten zur klinischen Anwendung behandelt werden. Die zweite Publikation findet man am Ende des Kapitels. In Kapitel 4 werden weitere relevante Ergebnisse vorgestellt, die nicht in den Publikationen enthalten sind. Dabei werden in Abschnitt 4.1 die Modellparameter auf das Kollektiv der jungen Patienten mit niedrigem Risiko angepasst. Außerdem werden in Abschnitt 4.2 Modellvorhersagen unter Berücksichtigung von Risikofaktoren behandelt. Beide Abschnitte enden mit einer kurzen Diskussion über diese zusätzlichen Ergebnisse. Kapitel 5 beinhaltet eine Diskussion über die Limitationen des Modells und einen Ausblick. Kapitel 6 fasst die wichtigsten Ergebnisse dieser Arbeit kurz zusammen.

1.2 Medizinischer und biologischer Hintergrund

1.2.1 Aggressive Non-Hodgkin-Lymphome

Aggressive Non-Hodgkin-Lymphome (NHL) sind Tumorerkrankungen des Lymphatischen Systems [1]. Die Inzidenzrate von NHL liegt bei 4-10 Erkrankungsfällen auf 100 000 Personen pro Jahr [1, 2], wobei die Tendenz leicht steigend ist [2]. Auch wenn Lymphome in jedem Alter auftreten können, steigen die Inzidenzraten exponentiell mit dem Lebensalter [1]. Männer sind etwa anderthalb mal öfter betroffen als Frauen.

Lymphome umfassen eine vielfältige Gruppe an Tumorentitäten, deren gemeinsamer Ursprung ein entarteter Lymphozyt oder die Vorgängerzelle eines Lymphozyten ist [1]. Lymphozyten bestehen hauptsächlich aus zwei Untergruppen: T-Lymphozyten, die im Thymus reifen und B-Lymphozyten, die im Knochenmark gebildet werden [3, chap. 24]. Lymphozyten sind Bestandteil des adaptiven Immunsystems. Als Träger der humoralen Immunantwort erkennen B-Lymphozyten körperfremde Antigene und produzieren nach der Weiterentwicklung zu Plasmazellen antigen-spezifische Antikörper. T-Lymphozyten entwickeln sich zu verschiedenen Zell-Typen: T-Helferzellen erkennen Antigene und stimulieren die Proliferation zytotoxischer T-Zellen und anderer Immunzellen, zytotoxische T-Zellen zerstören Krankheitserreger oder Tumorzellen, regulatorische T-Zellen unterdrücken das Immunsystem nach erfolgreicher Abwehr um so die Selbsttoleranz sicherzustellen. Sowohl B- als auch T-Zellen können außerdem zu Gedächtniszellen ausdifferenzieren, die Informationen über ein Antigen über lange Zeiträume speichern können und bei erneutem Kontakt mit dem gleichen Erreger eine schnellere und effektivere Immunreaktion möglich machen [3, chap. 24].

Dementsprechend lassen sich Lymphome je nach zellulärem Ursprung in T-Zell-Lymphome und B-Zell-Lymphome unterteilen. Hodgkin-Lymphome sind Lymphome, die eine bestimmte Zellart (Sternberg-Reed-Zellen) aufweisen [4]. Lymphome ohne Sternberg-Reed-Zellen werden unter dem Begriff Non-Hodgkin-Lymphome zusammengefasst. NHL ist somit eine sehr heterogene Gruppe von verschiedensten Tumorerkrankungen, die aber überwiegend durch maligne B-Zellen ausgelöst werden (ca. 80% [5]). Als aggressiv (hochmaligne) werden schnell wachsende Lymphome bezeichnet, die das Leben des Patienten innerhalb von Monaten gefährden können, während indolente Lymphome über mehrere Jahre wachsen [6]. Die genaue Klassifizierung von Lymphomen in Varianten und Untergruppen wird seit 2001 anhand der WHO-Klassifikation festgelegt. Dabei werden histologische, immunhistochemische, genetische, sowie molekulargenetische Gesichtspunkte und klinische Aspekte berücksichtigt. Der häufigste Subtyp bei NHL ist das diffuse großzellige B-Zell Lymphom (DLBCL) [7], welches sich wiederum in Varianten und Unterkategorien einteilen lässt [8, 9]. Charakteristisch für DLBCL ist das rapide Wachstum von Tumormasse an einem oder mehreren Lymphknoten oder auch außerhalb der Lymphknoten (extranodaler Befall) [8, p.233]. Diese Arbeit beschränkt sich in ihrer Modellierung auf hochmaligne B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphome (B-NHL) und insbesondere hauptsächlich auf DLBCL.

Heilungschancen und Prognosen sind vom Phänotyp und den Eigenschaften (genetische Veränderungen, Aggressivität) des Lymphoms abhängig. Außerdem haben klinische Aspekte signifikanten Einfluss auf den erwartbaren Krankheitsverlauf [10]: Entscheidend sind zum einen therapiebedingte Faktoren und zum anderen krankheitsbezogene Merkmale wie

Stadium, Tumorlast, Extranodalbefall oder LDH Level. Zusätzlich spielen Patientencharakteristika eine Rolle: Neben Faktoren wie der körperliche Allgemeinzustand, der Immunstatus sowie das Geschlecht ist vor allem das Alter des Patienten von Bedeutung. Gerade ältere Patienten sind eine heterogene Patientengruppe, die sich unter anderem durch zusätzliche mit schlechter Prognose assoziierte Faktoren des Internationalen Prognostischen Index (IPI) [11], unterschiedliche Lymphombiologie [12] sowie veränderte Immunfunktion auszeichnet [11]. Hochdosistherapien werden aufgrund von Begleiterkrankungen häufig nicht vertragen [12]. Außerdem treten bei älteren Patienten oft Veränderungen in der Stoffwechslung, d.h. Aufnahme, Verteilung, Aktivierung und Abbau von Medikamenten auf, was Auswirkungen auf die Pharmakodynamik bei Medikamenten der Lymphomtherapie hat [12]. Ältere Patienten haben somit eine generell schlechtere Prognose [12], was ebenfalls bei im Vergleich zu jüngeren Patienten klinisch identischen Parametern gilt. Deshalb werden in dieser Arbeit Parameter für ältere und jüngere Patienten getrennt behandelt.

Eine wesentliche Voraussetzung für das in dieser Arbeit entwickelte Modell ist die Immunogenität von Lymphomen. Tumorzellen, die sich unkontrolliert vermehren werden von Immunzellen als schädigend erkannt und setzen eine tumorspezifische Immunreaktion in Gang [13]. Dabei werden vorwiegend zytotoxische T-Zellen und natürliche Killerzellen produziert. Diese Zellen attackieren und zerstören Tumorzellen. Lymphome und besonders aggressive NHL (aNHL) gelten als immunogen. Beispielsweise haben Patienten unter Immunsuppression aufgrund von Organtransplantationen [14] oder der Behandlung mit Methotrexat bei rheumatoider Arthritis ein erhöhtes Risiko zur Ausbildung von Lymphomen [15, 16, 17, 18]. Bei einer Erholung des Immunsystems bilden sich diese Lymphome häufig spontan zurück [19]. Das um ein vielfaches erhöhte NHL-Risiko bei AIDS-Patienten dokumentiert ebenfalls die wichtige Rolle des Immunsystems bei NHL[20]. In Publikation 1, Abschnitt 1.1 wird der Immuneffekt bei Lymphomen ausführlich besprochen.

1.2.2 Aktuelle kurative Konzepte

Die meisten hochmalignen B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphome (B-NHL) können mittlerweile kurativ, das heißt mit Aussicht auf langfristige Heilung behandelt werden [21, 22]. Aktuelle Konzepte bestehen im Allgemeinen aus einer Kombinationschemotherapie (eine Zusammensetzung mehrerer Chemotherapeutika (Zytostatika)) und Immuntherapie mit Rituximab.

Der theoretische Hintergrund zur Chemotherapiewirkung basiert auf dem Chemotherapiemodell von Skipper [23, 24]. Bei diesem Modell wird davon ausgegangen, dass Tumorzellen sich näherungsweise exponentiell vermehren. Dies bedeutet, dass die Tumorzellzahl sich unabhängig von der Tumorgröße in einer konstanten Zeit jeweils verdoppelt. Des Weiteren zerstört eine Dosis Chemotherapie einen bestimmten Prozentsatz an Zellen, welcher unabhängig von der absoluten Zellzahl ist. In Tiermodellen mit schnell wachsenden Tumoren wurde diese lineare log-Beziehung zwischen Dosisintensität und Tumorzellkill nachgewiesen [25]. Zwischen den Dosisgaben wächst der Tumor wieder exponentiell an. Dieses Modell liefert eine Rationale für Dosisintensivierungen verschiedener Arten: Das Erhöhen der Zytostatikadosen oder der Anzahl der Dosisgaben, sowie das Hinzufügen neuer Medikamente zerstört einen größeren Prozentsatz an Tumorzellen. Das Verkürzen der Zeit zwischen den Zyklen verhindert das erneute Wachsen des Tumors.

Allerdings muss bei Dosisintensivierungen Folgendes berücksichtigt werden: Zytostatika stören Zellteilungsvorgänge und schädigen damit vor allem schnell wachsenden Zellen. Die hohe Teilungsrate von Tumorzellen macht diese sensitiv gegenüber Zytostatika. Jedoch werden dabei auch körpereigene gesunde Zellen zerstört. Insbesondere wird die Zahl der Lymphozyten stark dezimiert [26, 27, 28, 29]. Deshalb ist Chemotherapie meistens mit erheblichen Nebenwirkungen verbunden. In der Therapieplanung steht man also in dem Konflikt, die größtmöglichen Heilungschancen des Patienten sicherzustellen und gleichzeitig schwere Nebenwirkungen so gering wie möglich zu halten [30]. Diese Ansätze der Therapieintensivierung wurden und werden für aggressive B-Zell-Lymphomen in verschiedenen klinischen Studien verfolgt und werden im nächsten Abschnitt behandelt.

Durch die Einführung des Antikörpers Rituximab hat sich die Prognose von aggressiven B-NHL in den letzten 10 Jahren signifikant verbessert. Rituximab ist ein monoklonaler Antikörper dessen Wirkungsweise Gegenstand aktueller Forschung ist [31]. Rituximab zerstört B-Zellen im Blut, die einen CD20-Rezeptor aufweisen. Es werden sowohl maligne als auch normale CD20-positive B-Zellen angegriffen [32]. Dabei wirkt Rituximab durch mehrere verschiedene Mechanismen: Durch Binden an die Oberfläche der Tumorzellen aktiviert es die Komplementkaskade, welche Phagozytose bewirkt (CDC - Komplement-abh. Zytotoxizität) [33, 32]. Durch diese Anregung des Komplementsystems werden wiederum vermehrt Effektorzellen aktiviert (CDC - Komplement-abh. zelluläre Zytotoxizität) [34]. Zusätzlich bindet Rituximab an Tumorzellen und macht sie dadurch besser sichtbar für Fc-Rezeptor-tragende Effektorzellen, die antikörperbedeckte Tumorzellen erkennen und abtöten (ADCC - Antikörper abh. zelluläre Zytotoxizität) [33, 32]. Rituximab induziert auch eine direkte Apoptose von Tumorzellen. [33, 32]. Außerdem gibt es Diskussionen über eine Verstärkung der Chemotherapiewirkung durch Rituximab [32, 35, 36, 37, 38]: Rituximab soll durch Reprimierung der anti-apoptotischen Interleukin-10 Kreisläufe zu einer Unterdrückung des antiapoptotischen Proteins BCL2 und einer erhöhten Sensitivität für Apoptose führen [39]. Außerdem wird eine Rituximab induzierte Hemmung der P-Glycoprotein Aktivität und damit ein behinderter Abfluss von Medikamenten wie Doxorubicin und Vincristin diskutiert [40]. Diese Mechanismen scheinen unabhängig von sonstigen anti-proliferativen Effekten von Rituximab zu sein [40]. Aktuelle Forschungsarbeiten beobachten zudem keine generelle Immunsuppression durch Rituximab und insbesondere keinen direkten Abbau von T-Zellen [41, 42].

Klinische Studien stehen vor der Herausforderung durch eine möglichst optimale Kombination aus Chemo- und Immuntherapie eine Verbesserung der Überlebensraten in aNHL zu bewirken. Dazu wurden in den letzten Jahren verschiedene Ansätze untersucht, welche im nächsten Abschnitt vorgestellt werden.

1.2.3 Studienlage

Das CHOP-Schema [43] war über mehrere Jahrzehnte die klassische Chemotherapie zur Behandlung aggressiver Non-Hodgkin-Lymphome. Es besteht aus einer Kombination von Cyclophosphamid, Doxorubicin, Vincristin und Prednison. Auch heute noch ist CHOP Standard bei Erstbehandlung von aNHL, oft erweitert durch die Gabe von anderen Substanzen und dem Antikörper Rituximab [44].

Zur weiteren Verbesserung der Heilungsraten bei aggressivem B-NHL wurden im wesentlichen zwei Ansätze verfolgt: (1) Intensivierungen der Chemotherapie CHOP durch

Verkürzen der Zeit zwischen den Zyklen, Erhöhen der Zyklenzahl, Steigern der Dosisstärke oder Gabe von zusätzlichen Medikamenten wie Etoposid; und (2) die Optimierung des Therapieplans für Rituximab in Kombination mit Chemotherapie [7, 38].

Über diese Therapieoptionen wurde in zahlreichen Studien für verschiedene Risikogruppen geforscht. Die randomisierten Studien NHL-B1 und NHL-B2 haben systematisch Intervallverkürzungen zwischen den Zyklen und Dosissteigerungen bei jüngeren (NHL-B1, <60 Jahre) und älteren (NHL-B2, 61-75 Jahre) Patienten untersucht. Für ältere Patienten hat sich eine Verkürzung der Zeit zwischen den Zyklen von 21 auf 14 Tage als vorteilhaft erwiesen (CHOP-21 vs. CHOP-14), während Dosissteigerungen durch die Zugabe von Etoposid (CHOEP) geringere Verbesserungen im ereignisfreien Überleben (EFS) erzielten [45]. Für jüngere Patienten mit guter Prognose wiederum haben Intervallverkürzungen einen eher geringen Effekt [46]. Hier wiederum führt eine Dosiserhöhung durch Etoposidgabe zu signifikanten Verbesserungen. Die Frage des optimalen Therapieschemas ist also stets auch in Abhängigkeit der Patientengruppe und der individuellen Risikofaktoren zu beantworten.

Allen Risikogruppen ist jedoch gemein, dass paradoxe Phänomene auftreten, die sich nicht allein durch die Toxizität der Medikamente erklären lassen: Ab einem bestimmten Grad der Therapieintensivierung verbessern sich Überlebensraten nicht mehr oder können sich sogar verschlechtern. So ist in NHL-B2 CHOEP gegeben alle 21 Tage (CHOEP-21) für ältere Patienten zwar noch leicht besser als CHOP-21, das doppelt intensivierte CHOEP-14 ist jedoch klar schlechter als CHOP-14 [45]. Für jüngere Patienten mit guter Prognose bewirkte die Gabe von High-CHOEP-21, einer dosisintensivierten CHOEP-21-Therapie keine Verbesserung des ereignisfreien Überlebens (HighCHOEP-Studie [47]).

Rituximab hat die Überlebensraten in allen Patientengruppen signifikant verbessert [48, 49, 50, 51, 52]. Gleichzeitig hebt es jedoch Unterschiede im ereignisfreien Überleben der jeweiligen CHOP/CHOEP Schemata auf: In der RICOVER-60 Studie sind bei älteren Patienten 8 Zyklen CHOP besser als 6 Zyklen CHOP, es gibt jedoch keinen Unterschied im ereignisfreien Überleben zwischen 6 und 8 Zyklen CHOP mit Rituximab (R-CHOP) [48]. Intervallverkürzungen von 21 auf 14 Tage hatten bei einer randomisierten Studie der GELA keinen Effekt im ereignisfreien Überleben bei R-CHOP [53]. In der Studie von Cunningham et al. waren die Überlebensraten der Arme 6 mal R-CHOP-14 plus zwei zusätzliche Dosen Rituximab und 8 mal R-CHOP-21 nahezu identisch [54]. Der positive Effekt von CHOEP gegenüber CHOP bei jüngeren Patienten mit guter Prognose hebt sich in der MInT Studie durch die Einführung von Rituximab auf [51]. Allerdings wurde CHOP gegen CHOEP hier nicht randomisiert, sondern nach Therapiestandard im jeweiligen Land verabreicht. Trotzdem ist dieser Effekt beachtenswert.

Konzepte zur Optimierung der Immuntherapie mit Rituximab sind Gegenstand aktueller Forschung. Aufgrund der im vorherigen Abschnitt genannten Wirkmechanismen werden hauptsächlich folgende zwei Ansätze verfolgt: Zu Anfang der Therapie wird durch mehrere kurz hintereinander folgende Rituximabgaben eine schnelle Erhöhung des Serumspiegel herbeigeführt, um ein schnelles, effektives Wirken von Rituximab sicherzustellen. Außerdem wird versucht durch eine Exposition über das Ende der Chemotherapie hinaus die positive Wirkung von Rituximab möglichst lange aufrechtzuerhalten.

Bei der Phase-II-Studie DENSE-R mit einer intensivierten Rituximab-Induktionsphase zeigte sich jedoch keine Verbesserungen im ereignisfreien Überleben bei älteren Patienten [55]. Allerdings profitierten in der Phase-II-Studie SMARTE-R ältere Patienten mit

schlechter Prognose durch eine verlängerte Rituximab-Exposition [56]. Dosissteigerungen bei mutmaßlich unterdosierten Risikogruppen (abhängig von Geschlecht und Gewicht) erzielten ebenfalls Verbesserungen in den Heilungsraten [57]. Auch Regimes mit einer Induktionsphase dosisintensivierter Immunchemotherapie und anschließender Konsolidierungstherapie über einen längeren Zeitraum haben sich als vielversprechend herausgestellt (R-ACVBP, [58]).

Ergänzend zur Immunchemotherapie werden bei aggressivem B-NHL Hochdosistherapie mit autologer Stammzelltransplantation oder Strahlentherapie eingesetzt. Klinische Studien zur Hochdosistherapie mit autologer Stammzelltransplantation (R-Mega-CHOEP, [59, 60]) konnten keine Verbesserungen im Vergleich zu konventioneller Chemotherapie bei aggressivem B-NHL nachweisen. Diese werden nur vereinzelt für bestimmte Risikogruppen wie junge Hochrisikopatienten oder Patienten mit rezidivierenden oder chemoresistenten Lymphomen angewandt [44]. Obwohl aNHL sehr strahlensensibel sind, ist der Stellenwert der Strahlentherapie bei der Behandlung nicht klar definiert [61]. Radiotherapie wird von der Deutschen Studiengruppe für Hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome (DSHNHL) vor allem bei sehr großen Tumoren ('bulky disease') oder Extranodalbefall eingesetzt. Für rezidivierende Lymphome stehen verschiedene Optionen der Salvagebehandlung oder palliativen Therapie zur Verfügung [44, 62, 63, 64]. Da sich das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Modell auf die Simulation von Erstlinientherapien ohne Radiotherapie und Hochdosistherapie beschränkt, werden diese Optionen hier nicht behandelt und im Rahmen dieser Arbeit nicht berücksichtigt.

Als Erstlinientherapie werden aktuell in Deutschland ältere DLBCL-Patienten mit 6 mal R-CHOP-14 plus 2 zusätzliche Gaben Rituximab behandelt, während für junge DLBCL-Patienten mit niedrigem Risiko 6 mal R-CHOP-21 vorgesehen ist [44]. Trotzdem ist ein optimales Therapieschema unter Rituximab je nach Risikogruppe und individuellen Faktoren weitgehend unbekannt. Mögliche Verbesserungen der Ansprechraten und im ereignisfreien Überleben durch Variationen bei der Dosierung und in der zeitlichen Verabfolgung der Therapie sind weiterhin Gegenstand der Forschung. Dies gilt insbesondere für Hochrisikopatienten, ältere Patienten oder Patienten die auf Rituximabtherapie schlecht ansprechen [7, 12, 65, 66].

1.3 Motivation für neue Modelle

Das klassische Modell von Tumorwachstum und Chemotherapiewirkung von Skipper et al. [24] lieferte eine theoretische Begründung für Dosisintensivierungen verschiedenster Art: höhere Dosiskonzentrationen, Hinzufügen neuer Zytostatika, Zyklenerhöhungen oder Intervallverkürzung. Diese Intensivierungen von Chemotherapie waren in klinischen Studien bei aggressiven B-NHL jedoch nur bis zu einem gewissen Grad erfolgreich (Siehe Abschnitt 1.2.3). Moderate Dosiserhöhungen führten zu Verbesserungen im ereignisfreien Überleben. Massive Intensivierungen brachten jedoch keinen Vorteil oder waren sogar klar schlechter als moderate Therapien. Außerdem beobachtet man durch die Einführung von Rituximab ein Angleichen der ereignisfreien Überlebenskurven zwischen verschiedenen Therapieverläufen mit unterschiedlichen Dosisintensitäten.

Diese paradoxen Phänomene lassen sich nicht allein durch toxische Nebenwirkungen erklären, sondern deuten auf wesentliche Mechanismen hin, die im Skipper-Paradigma nicht

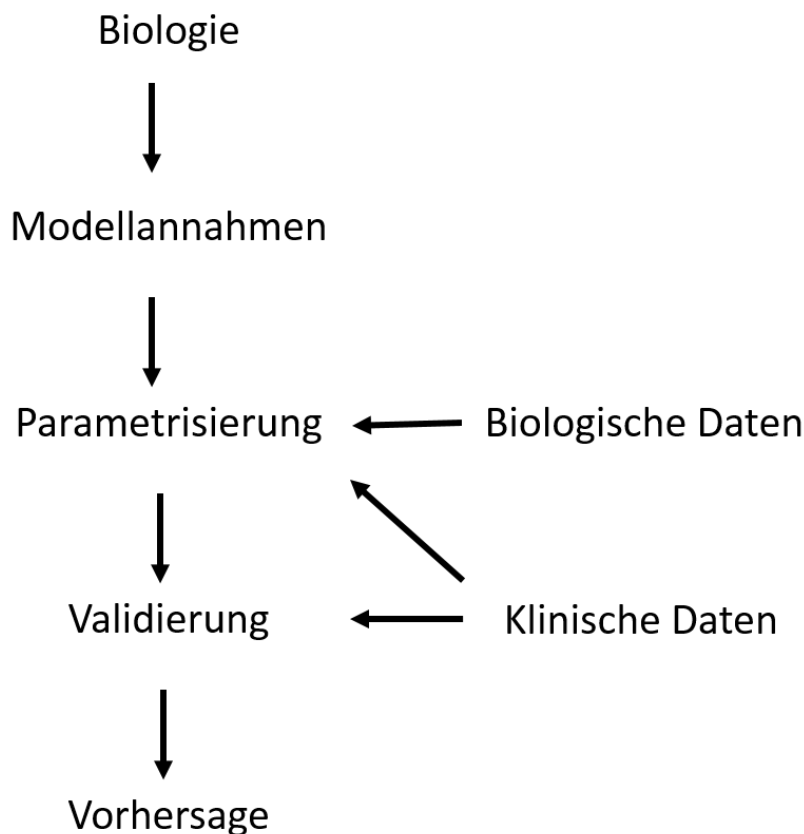


Abbildung 1.1: Vorgehensweise bei der biomathematischen Modellierung

berücksichtigt wurden. Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein biomathematisches Modell entwickelt, welches das Skipper-Modell durch grundlegende Annahmen erweitert, um solche Phänomene darstellen und erklären zu können.

In dieser Arbeit wurden Ergebnisse aus klinischen Studien durch Simulationen des Modells plausibilisiert. Ziel war es, bis jetzt ungetestete Therapieoptionen für aggressive B-Zell-Lymphome (im speziellen CD20-pos. DLBCL) vorherzusagen. Optimalerweise können diese Modellvorhersagen in die Konzeption neuer klinischer Studien einfließen.

Das prinzipielle Vorgehen dieser Arbeit ist in Schaubild 1.1 dargestellt: Ein biomathematisches Modell basiert auf einigen biologischen Annahmen, die in mathematische Gleichungen übersetzt werden. In dieser Arbeit sind dies Annahmen über Zell-Zell-Interaktionen, Wachstumskinetiken und Wirkungsarten von Medikamenten, aus denen ein gewöhnliches Differentialgleichungssystem konstruiert wird. Dieses System enthält neben veränderlichen Größen (Variablen) auch einige unveränderliche Größen (Parameter). Einige Modellparameter werden aus messbaren biologischen oder medizinischen Daten hergeleitet. Andere Parameter werden durch den Vergleich von Simulationsergebnissen des Modells mit Ergebnissen aus klinischen Studien geschätzt. Auf diese Weise wird das Modell an klinische Daten angepasst. Anschließend erfolgt eine Validierung des Modells: Außer den Therapieergebnissen aus klinischen Studien, die zur Anpassung genutzt wurden, sollte das Modell auch Ergebnisse aus bisher ungenutzten Studien wiedergeben. Nach ausreichender Validierung können dann klinische Fragestellungen simulativ vorhergesagt werden.

Das Modell, was im Rahmen dieser Arbeit entwickelt wurde, basiert auf der Annahme folgender Hypothesen:

1. **Aggressive B-NHLs sind immunogen** (siehe Abschnitt 1.2.1). Tumorzellen werden von Immunzellen als bösartig erkannt und lösen eine spezifische Immunreaktion aus. Die Produktion von Effektorzellen wird stimuliert, welche die Tumorzellen angreifen und zerstören.
2. **Chemotherapie zerstört Tumorzellen und Immunzellen** (siehe Abschnitt 1.2.2). Durch jede Dosis Chemotherapie wird ein gewisser Prozentsatz an Tumorzellen und Effektorzellen abgetötet. Dies impliziert jedoch, dass nach Ende der Chemotherapie der Tumor im Allgemeinen nicht vollständig zerstört ist.
3. **Der Zustand des Immunsystems nach Therapieende ist entscheidend**. Ob der Tumor nach Beendigung der Therapie geheilt ist oder rezidiert, ist nicht nur abhängig von der Größe des Residualtumors sondern auch von der Anzahl der verbleibenden Immunzellen. Ist das Immunsystem stark genug, kann es die restlichen Tumorzellen eliminieren, anderenfalls kommt es zu einem erneuten Anwachsen des Tumors.
4. **Rituximab unterstützt das Immunsystem** (siehe Abschnitt 1.2.1). Rituximab wirkt nicht nur durch direkten Zellkill, sondern auch - und vor allem - als Immunsystemverstärker. Eine verstärkte Rekrutierung von tumorspezifischen Effektorzellen und das effizientere Erkennen und Zerstören der Tumorzellen durch diese Effektorzellen sind die Folge.

Dosissteigerungen führen also zu einer größeren Tumorreduktion und somit öfter zu Heilung. Es wird jedoch auch eine größere Anzahl Immunzellen zerstört. Ist das Immunsystem nach einer massiven Therapie zu schwach um den Residualtumor zu bekämpfen, kann der Tumor trotz größerer Nettoerduktion erneut anwachsen und rezidivieren. Deshalb können zu intensive Therapien schädlich sein.

Die immunologische Wirkung von Rituximab führt nicht nur zu einer allgemeinen Verbesserung der Heilungsraten, sondern auch zu einem Angleichen der Unterschiede im ereignisfreien Überleben zwischen den Armen mit verschiedenen Therapieintensitäten.

Basierend auf diesen Voraussetzungen kann das Modell einen Beitrag zum besseren und tiefer gehenden Verständnis der Interaktionen zwischen Tumorzellen und Immunzellen sowie der Wirkung von Chemotherapie und Immuntherapie bei aggressiven CD20-positiven B-NHL leisten. Es ist erstrebenswert zu verstehen, warum es eine Grenze bei der Intensivierung von Chemotherapie zu geben scheint, bei deren Überschreitung Verbesserungen in den Heilungsraten kaum noch möglich sind. Widersprüchliche Ergebnisse aus klinischen Studien könnten so plausibilisiert werden.

Optimalerweise erklärt ein solches Modell nicht nur Phänomene aus bisher durchgeführten Studien, sondern kann auch dabei helfen, nach neuen Therapieoptionen und Verläufen zu suchen und neue Therapiepläne zu entwerfen. Bisher ungetestete klinisch relevante Therapieszenarien könnten dann simuliert und die vielversprechendsten in klinischen Studien getestet werden.

Darüberhinaus wird eine Individualisierung der Therapie prinzipiell durch eine geeignete Parametrisierungen des Modells möglich. Wenn Modellparameter mit messbaren Risikofaktoren assoziiert werden, können Therapieergebnisse für einzelne Risikogruppen und unterschiedliche Kollektive vorhergesagt werden. Diese Möglichkeiten sind im Zeitalter der personalisierten Medizin von wachsender Bedeutung.

Es existiert eine Vielzahl von immunologischen Tumormodellen in der Literatur. Bis jetzt wurden diese Modelle jedoch noch nicht mit klinischen Daten verknüpft, sodass damit Therapieergebnisse vorhergesagt werden konnten. Die Schwierigkeit besteht darin, dass die Messung von Tumorlasten im Menschen nicht möglich ist. Außerdem werden bei der Tumorbekämpfung beteiligte Immunzellzahlen nicht erfasst. Meist sind nur Überlebenszeitdaten oder Stagingergebnisse nach Therapieende verfügbar und nur diese können zur Parametrisierung der Modelle verwendet. Dies schränkt die Anwendbarkeit solcher Modelle bisher ein.

In dieser Arbeit wird erstmals ein immunologisches Tumormodell mit klinischen Daten zur Simulation von klinisch relevanten Vorhersagen verknüpft und somit ein relevanter Beitrag zur aktuellen Forschung auf dem Gebiet der aggressiven Non-Hodgkin-Lymphome geleistet werden.

1.4 Zielstellung der vorliegenden Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, Ergebnisse aus klinischen Studien des aggressiven B-NHL (siehe Abschnitt 1.2.3) durch eine biomathematische Modellierung zu interpretieren und durch Simulationsvorhersagen neue Therapieinterventionen beim Menschen zu testen. Konkret sollen folgende Ziele erreicht werden:

1. Durch Variation einiger weniger Modellparameter lässt sich die Heterogenität der Überlebensraten aus klinischen Studien rekonstruieren.
2. Die geschätzten Modellparameter sind biologisch plausibel.
3. Das Modell erklärt Überlebensdaten nach Chemotherapie und insbesondere paradoxe Effekte der Therapieintensivierung.
4. Das Modell erklärt Überlebensdaten nach Immunchemotherapie mit Rituximab und insbesondere die Abschwächung von Therapieunterschieden seit der Einführung von Rituximab.
5. Das Modell simuliert neue Therapieverläufe der Dosierung und zeitlichen Verabfolgung und kann durch Vorhersagen von Überlebensraten die Konzeption neuer klinischer Therapiestudien unterstützen.
6. Das Modell kann bei ausreichender Datenlage für spezielle Risikogruppen und für neue Medikamente der Immunchemotherapie angewendet werden. Vorhersagen zu optimaler Therapie und Prognose sind dann in Abhängigkeit individueller Risikofaktoren möglich.

Kapitel 2

Das biomathematische Modell der Chemotherapie für aggressive Non-Hodgkin-Lymphome

Publikation 1: 'Modelling Lymphoma Therapy and Outcome'

Bull Math Biol (2014) 76:401-430

DOI 10.1007/s11538-013-9925-3

Roesch K, Hasenclever D, Scholz M

In dieser Publikation wird ein biomathematisches Differentialgleichungsmodell beschrieben, welches im Rahmen dieser Arbeit entwickelt wurde. Das Modell bildet die Interaktionen eines wachsenden Tumors mit tumorspezifischen Immunzellen nach. Außerdem wurde die Wirkung von Chemotherapie auf Tumor- und Immunzellen modelliert. Das Modell wurde anschließend an klinische Daten angepasst mit dem Ziel, Vorhersagen über Therapieergebnisse machen zu können. Die Immuntherapie mit Rituximab wurde hier noch nicht berücksichtigt und ist Gegenstand der nächsten Publikation in Kapitel 3.

2.1 Struktur des Modells

Das Modell von Kuznetsov [67] dient als Grundlage für das Differentialgleichungssystem dieser Arbeit, welches dann weiterentwickelt und für Lymphome im Menschen angepasst wurde. Es besteht nun aus den folgenden zwei Gleichungen:

$$(2.1) \quad \frac{dE}{dt} = \sigma + \frac{\rho ET^c}{\eta + T^c} - \mu ET^c - \delta E - k_E \chi_{CT} E,$$

$$(2.2) \quad \frac{dT}{dt} = \alpha T - \nu ET^c - k_T \chi_{CT} T.$$

Die erste Gleichung beschreibt die Dynamik des tumorspezifischen Immunsystems. Tumorspezifische Immunzellen werden als Effektorzellen E bezeichnet und umfassen hauptsächlich die Population der zytotoxischen CD8+ T-Zellen. Die Dynamik der Tumorzellen T ist in der zweiten Gleichung dargestellt. Es wird die Entwicklung von Zellpopulationen betrachtet, d.h. man betrachtet große Zellzahlen und keine Einzelzellmodelle.

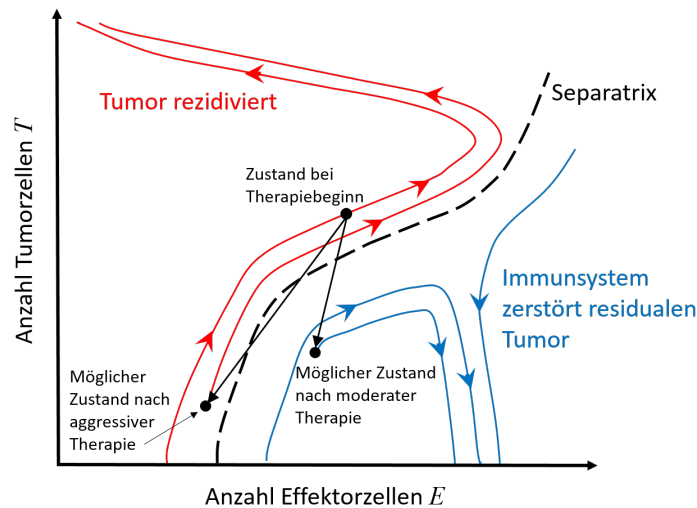


Abbildung 2.1: Illustration des Verhaltens des Differentialgleichungssystems. Das System ist durch zwei Einzugsbereiche charakterisiert, welche durch eine Kurve (Separatrix) getrennt sind. Für den Therapieausgang ist entscheidend auf welcher Seite der Separatrix sich der Zustand des Systems nach Therapieende befindet.

Das Gleichungssystem lässt sich folgendermaßen interpretieren: Effektorzellen fließen mit einer konstanten Produktionsrate σ in Tumorregionen. Außerdem stimulieren Tumorzellen die Rekrutierung von Effektorzellen mit einer Rate ρ . η ist die Tumorlast bei halbmaximaler Stimulation von Effektorzellen (Michaelis-Menten-Kinetik). Die Immunogenität des Tumors wird durch diesen Term charakterisiert. Effektorzellen werden durch natürlichen Zerfall δ und durch die Bekämpfung von Tumorzellen μ verbraucht. Tumorzellen vermehren sich in Abwesenheit von Immunzellen und Chemotherapie mit exponentieller Rate α . Effektorzellen zerstören Tumorzellen mit einer Eliminationsrate ν . Um zu berücksichtigen, dass aggressive B-Zell-Lymphome in Knoten wachsen und somit die Interaktion zwischen Tumor- und Effektorzellen überwiegend auf der Tumoroberfläche stattfindet, wird eine fraktale Dimension der Tumoroberfläche c eingeführt. Für einen großen kugelförmigen Tumor gilt $c = \frac{2}{3}$, während für multiple kleinere Tumoren c einen Wert nahe 1 annimmt. In diesem Modell gilt $c = 0.75$.

Chemotherapie zerstört sowohl Tumor- als auch Effektorzellen. χ_{CT} kennzeichnet dabei die charakteristische Chemotherapiefunktion, welche 1 am Tag der Zytostatikagabe und sonst 0 ist. k_E und k_T stellen die spezifischen Toxizitäten der Chemotherapie dar. Dabei induziert eine Gabe Zytostatika einen prozentualen Verlust an Zellen in Abhängigkeit der Dosisintensität. Dosisintensivierungen (bspw. durch Zugabe von Etoposid zu CHOP-Standardtherapie) werden durch eine nicht-lineare Dosis-Wirkungs-Beziehung relativ zur Toxizität der Standardtherapie beschrieben (siehe Publikation).

Als Anfangszustand wird eine kleine Tumorpopulation und eine Effektorzellzahl $E = \sigma/\delta$ gewählt, welche die Immunzellzahl für $T = 0$ kennzeichnet. Das System hat einen Fixpunkt bei $E = \sigma/\delta, T = 0$, welcher unter bestimmten Parameterwerten stabil ist. Das Fixpunktverhalten des Differentialgleichungssystems wird in der Publikation ausführlich charakterisiert. In Abbildung 2.1 ist das grundlegende Modellverhalten dargestellt. Im Phasenraum lassen sich zwei Einzugsgebiete für das System ohne Chemotherapie beob-

achten. Diese werden von einer Kurve im Phasenraum, der Separatrix, getrennt. Oberhalb der Separatrix wächst die Tumorpopulation und stimuliert dabei anfänglich die Rekrutierung von Effektorzellen. Ab einer bestimmten Tumorgröße wird das Immunsystem jedoch von den Tumorzellen zurückgedrängt und die Effektorzellzahl konvergiert gegen 0, während die Tumorpopulation weiter wächst. Unterhalb der Separatrix stirbt der Tumor entweder sofort aus für genügend große Effektorzellzahlen oder er wächst zunächst an und stimuliert dabei die Rekrutierung von Effektorzellen. Ab einer genügend großen Effektorzellzahl wird der Tumor komplett zerstört. Durch Chemotherapie werden sowohl Tumorzellen als auch Effektorzellen zerstört. Entscheidend ist nun auf welcher Seite der Separatrix sich der Systemzustand nach Beendigung der Therapie befindet. Dadurch wird es prinzipiell möglich, dass eine aggressive Chemotherapie schädlich ist. Wie in Abbildung 2.1 zu sehen ist, werden durch eine moderate Chemotherapie weniger Tumorzellen zerstört, jedoch auch weniger Effektorzellen. Der verbleibende Tumor wird durch die Effektorzellen eliminiert. Eine massive Chemotherapie bewirkt dagegen eine größere Reduktion der Tumormasse, gleichzeitig sind die verbleibenden Effektorzellen nicht mehr in der Lage den restlichen Tumor zu zerstören. Dieser wächst erneut an und rezidiert. Ziel der Dosierung bei der Chemotherapie ist also den Systemzustand so zu verschieben, dass dieser sich bei Therapieende unterhalb der Separatrix befindet. Dafür darf das Immunsystem durch die Therapie nicht zu stark geschädigt werden.

2.2 Parametrisierung des Modells

Im Rahmen dieser Publikation wurde ein Verfahren entwickelt um das Modell zunächst an Therapien mit CHOP-Schema ohne Rituximab bei aggressiven B-Zell-Lymphomen anzupassen. Einige Parameter des Modells wurden aus biologischen und medizinischen Daten hergeleitet und konstant gesetzt. Das Systemverhalten ist für gegebene Parameter deterministisch, d.h. es ist eindeutig festgelegt, ob und wann es zu einem Rezidiv kommt oder der Patient durch die Zerstörung des Tumors geheilt ist. Um mit dem Modell Überlebenskurven generieren zu können, wurden einige Parameter als heterogen angenommen. Für diese Parameter werden keine konstanten Werte festgelegt, sondern Wahrscheinlichkeitsverteilungen mit Verteilungsparametern (Erwartungswerte, Standardabweichungen) angenommen. Es wurden Modellparameter gewählt, die bekannt für ihre starke Varianz in einem Patientenkollektiv sind: Die Tumorstadiumsgeschwindigkeit α , die Immunogenität ρ , die Größe des Tumors bei Diagnose T_{diag} sowie die Chemosensitivität k_T . In einem komplexen Verfahren werden die Wahrscheinlichkeitsverteilungen dieser Parameter sowie weitere Modellparameter an Überlebenskurven von klinischen Studien angepasst.

Eine genaue Übersicht aller konstanten, angepassten und heterogenen Parameter des Modells findet man in der Publikation. Dort erfolgt auch eine genaue Beschreibung des Parametrisierungsverfahrens, welches im Folgenden nur kurz beschrieben wird. Das Differentialgleichungssystem wird auf einem multi-dimensionalen Raum eines diskretisierten Gitters aller möglichen Parameterwerte $\alpha, \rho, T_{\text{diag}}, k_T$ simuliert. Für jede Parameterkonstellation werden Ausgang und Überlebenszeiten für verschiedene zeitliche Verläufe der Chemotherapie bestimmt. Über dieses Gitter wird dann eine Maximum-Entropie-Verteilungsfunktion gelegt. Jede mögliche Verteilungsfunktion reproduziert so eine Überlebenskurve. Indem der Abstand zwischen diesen Überlebenskurven und den EFS-Kurven

aus klinischen Daten minimiert wird, können die Erwartungswerte und Varianzen dieser Verteilungen zusammen mit einigen anderen Parametern geschätzt werden. Diese Anpassung wird mithilfe eines Evolutionsalgorithmus durchgeführt.

2.3 Ergebnisse

Das Modell reproduziert Überlebenskurven und Therapieunterschiede aus den klinischen Studien NHL-B2 und RICOVER-60 ohne Rituximab für ältere Patienten bei aggressiven Lymphomen. Vorhergesagte Hazard Ratios liegen innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls der klinischen Beobachtungen. Insbesondere können intensivierete CHOP/CHOEP-Therapien durch Dosissteigerungen, Intervallverkürzungen oder Zyklenerhöhung zu schlechteren Überlebensraten führen. Damit erklärt das Modell beobachtete paradoxe Therapieeffekte durch die einfache Annahme einer relevanten Anti-Tumor-Wirkung des Immunsystems. Die geschätzten Modell- und Verteilungsparameter sind biologisch plausibel und passen zu klinischen Daten. Beispielsweise werden die Erwartungswerte für Tumorwachstumsgeschwindigkeit und Chemosensitivität relativ hoch geschätzt, was für das Kollektiv älterer Menschen mit aggressiven Lymphomen überzeugend ist.

Mit dem Modell wurden Therapien mit abweichender Zyklenanzahl und variierenden Intervalllängen zwischen den Dosisgaben simuliert. Es zeigt, dass weitere Intervallverkürzungen und Dosissteigerungen der Chemotherapie nur geringe Effekte auf Überlebensraten haben.

Modelling Lymphoma Therapy and Outcome

Katja Roesch · Dirk Hasenclever · Markus Scholz

Received: 11 April 2013 / Accepted: 2 December 2013 / Published online: 14 December 2013
© The Author(s) 2013. This article is published with open access at Springerlink.com

Abstract Dose and time intensifications of chemotherapy improved the outcome of lymphoma therapy. However, recent study results show that too intense therapies can result in inferior tumour control. We hypothesise that the immune system plays a key role in controlling residual tumour cells after treatment. More intense therapies result in a stronger depletion of immune cells allowing an early re-growth of the tumour.

We propose a differential equations model of the dynamics and interactions of tumour and immune cells under chemotherapy. Major model features are an exponential tumour growth, a modulation of the production of effector cells by the presence of the tumour (immunogenicity), and mutual destruction of tumour and immune cells. Chemotherapy causes damage to both, immune and tumour cells. Growth rate, chemosensitivity, immunogenicity, and initial size of the tumour are assumed to be patient-specific, resulting in heterogeneity regarding therapy outcome. Maximum-entropy distributions of these parameters were estimated on the basis of clinical survival data. The resulting model can explain the outcome of five different chemotherapeutic regimens and corresponding hazard-ratios.

We conclude that our model explains observed paradox effects in lymphoma therapy by the simple assumption of a relevant anti-tumour effect of the immune system.

K. Roesch (✉) · D. Hasenclever · M. Scholz
Institute for Medical Informatics, Statistics and Epidemiology, University of Leipzig,
Härtelstraße 16-18, 04107 Leipzig, Germany
e-mail: katja.roesch@imise.uni-leipzig.de

D. Hasenclever
e-mail: dirk.hasenclever@imise.uni-leipzig.de

M. Scholz
e-mail: markus.scholz@imise.uni-leipzig.de

M. Scholz
LIFE Research Center for Civilization Diseases, University of Leipzig, Philipp-Rosenthal-Straße 27,
04103 Leipzig, Germany

Heterogeneity of therapy outcomes can be explained by distributions of model parameters, which can be estimated on the basis of clinical survival data. We demonstrate how the model can be used to make predictions regarding yet untested therapy options.

Keywords Chemotherapy · Differential equation based model · Immune system · Lymphoma · Survival analysis

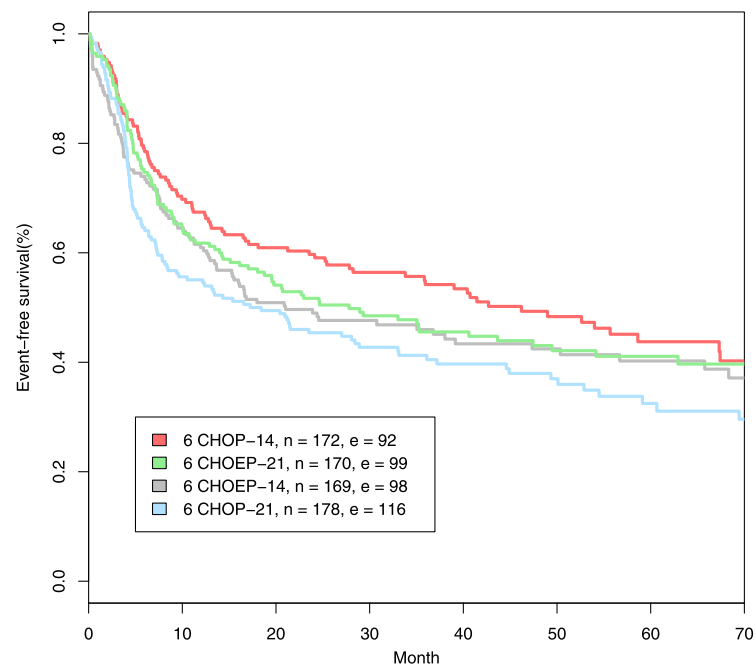
1 Introduction

1.1 Medical and Biological Background

High-grade non-Hodgkin lymphoma (NHL) is a haematologic malignancy, which is curable by multi-drug and multi-cycle cytotoxic chemotherapy in a substantial proportion of cases (DeVita et al. 1975). The classical model of chemotherapy action and tumour regrowth proposed by Skipper et al. (1970) provided a rationale for chemotherapy intensifications either by increasing the dose of the drugs or the number of cycles, adding additional drugs or shortening the time between chemotherapy cycles. Accordingly, a number of trials were performed which, however, were only partially successful. For example, in the NHL-B2 trial (Pfreundschuh et al. 2004a), it has been shown that either dose- or time-intensification of the standard multi-drug chemotherapy containing cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) improves the outcome. But double-intensification is inferior, which cannot be explained away by increased toxic side-effects (see Fig. 1). Since this phenomenon partially disproves the Skipper paradigm, we aim at extending this model. We hypothesise that the immune system plays a crucial role in controlling residual tumour cells and treatment effects on the immune system need to be considered.

There is some biological evidence supporting a role of the immune system: The immune system responds to a growing tumour in a cell-mediated way involving predominantly cytotoxic T-lymphocytes and natural killer cells. It is well known that cancer cells are attacked and killed by these immune cells. This is also the case for lymphoma and especially NHL. For instance, patients with rheumatoid arthritis treated with immune-suppressing methotrexate have a higher risk in developing lymphoma. After the withdrawal of methotrexate, the lymphoma vanishes in some cases (Lim and Bertouch 1988; Mariette et al. 2002; Niitsu et al. 2010; Wang et al. 2010). Lymphoma sometimes occurs in patients under immunosuppression, e.g. after bone marrow transplantation. These lymphomas can regress spontaneously after recovery of the immune system (Mohsin et al. 2007; Nalesnik et al. 1988). The so-called graft-versus-lymphoma effect after allogeneic haematopoietic stem-cell transplantation is also associated with the effect of immune cells on tumour cells, i.e. immune cells of the donor attack tumour cells of the host (Bishop et al. 2008; Doderer et al. 2012). Patients suffering from AIDS have a 165-fold increased risk to get NHL than persons without AIDS (Coté et al. 1997). Finally, there are cases of spontaneous regression of NHL without apparent reasons, which could be explained by immune control (Abe et al. 2007; Cole 1974; Engel and Lee 2009; Iwatani et al. 2011; Watari et al. 2005).

Fig. 1 Event-free survival of older patients from NHL-B2. Standard CHOP-21 chemotherapy was compared with dose-intensification (adding of the additional drug etoposide (CHOEP-21)), time-intensification (shortening the cycle duration (CHOP-14)) and double intensification (CHOEP-14). While the first two intensifications are superior, the double intensification does not result in further improvements. n and e indicate the number of patients and the number of events



Massive doses of chemotherapy, too many cycles, or too few days between dose applications result in a strong depletion of immune cells. In consequence, remaining immune cells may transiently be unable to control residual tumour cells responsible for relapse in a critical period just after the end of therapy. This might explain paradoxical effects of therapy intensifications observed in clinical trials. Therefore, we propose a model of the dynamics of tumour, immune system, and their interactions considering the effects of chemotherapy and patient heterogeneity.

The optimal choice of dose and time schedule in chemotherapy is an important and intricate question. We are in particular interested in describing and understanding these phenomena by model simulations. For this purpose, it is necessary to parametrise the model for humans. Outcome data is available as event-free survival curves derived from clinical trials. Since these data only provide limited information regarding the dynamics of the tumour and immune system, the model is kept as simple as possible in order to reduce the number of free parameters.

In the present paper we explain our model assumptions, requirements and equations, derive the mathematical properties of the model and describe a technique for parameterising the model on the basis of clinical survival data. We discuss the plausibility of our model on parameters in detail. Finally, we demonstrate how the model can be used to make predictions regarding yet untested therapy options.

1.2 Model Assumptions and Requirements

We propose an ordinary differential equations (ODE) model of the interaction of a growing tumour, an anti-tumour immune response, and the effect of chemotherapy on both the tumour and immune system. The system is based on a model proposed by Kuznetsov et al. (1994). To keep our model simple, the immune system will be represented by a single equation describing the overall status of the immune cell population. This population is called *effector cells* in the following and fits best to the CD8+ T-cell population. We construct a model of the dynamics of tumour and

effector cell populations, i.e. we consider large numbers of cells rather than single-cell interactions. The model is based on the following mechanistic assumptions and requirements:

- (1) The tumour grows uncontrolled in the absence of chemotherapy and immune effector cells.
- (2) Both effector cells and chemotherapy reduce the number of tumour cells.
- (3) The production of tumour-specific effector cells is stimulated by the presence of tumour cells (immunogenicity of the tumour).
- (4) There is a loss of effector cells due to degradation, consumption by fighting the tumour, and chemotherapy.
- (5) Higher chemotherapy doses result in both higher tumour and effector cell depletion.

The model will be linked to clinical survival data derived from randomised studies, with the aim to predict and explain data of chemotherapy outcomes. More precisely, we claim that the model fulfils the following requirements:

- (1) heterogeneity of patient outcomes can be traced back to plausible heterogeneity of certain model parameters,
- (2) the estimated parameters and parameter distributions are biologically plausible,
- (3) the time scale and variance of time to relapse is consistent with reported event-free survival curves,
- (4) extent of tumour at diagnosis (e.g. stage) emerges as prognostic factor,
- (5) observed treatment difference of several clinical trials comparing CHOP and CHOEP variants are quantitatively reproduced.

In particular, we are interested in exhibiting the possibility of “paradoxical” treatment effects namely that a more intense chemotherapy has not superior, but even inferior results. This may happen if chemotherapy is not able to completely eradicate the tumour but the immune system is weakened to such an extent that it cannot control residual tumour cells.

2 The ODE-Model for Immunogenic Lymphoma

As basic model of an immunogenic tumour we adapt a model of Kuznetsov et al. (1994) originally developed for leukaemia in mice. For this purpose, we simplify model equations, retrieve parameters valid for humans and take into account that lymphoma grow in compact nodes. Some of the model parameters are determined on the basis of biological reasoning. Others may vary between patients. The distribution describing this heterogeneity will be estimated later using clinical survival data (Sect. 3). For qualitative model analysis, we used the parameters proposed by Kuznetsov et al. (1994) (Sect. 2.1).

Additionally, the effect of chemotherapy is added as transient depletion of cell counts following a first order kinetic (i.e. a fixed percentage of cells survive) both for tumour and for immune effector cells. Corresponding parameters require estimation, also (Sect. 3).

2.1 Kuznetsov's Model for Immunogenic Tumours

The ODE-model introduced by Kuznetsov is based on a system of two ordinary differential equations describing the kinetics of growth and regression of an immunogenic tumour and the interaction with tumour-specific effector cells of the immune system. The model exhibits two major phenomena that were observed in experiments with BCL₁-mice: Firstly, tumour growth stimulates the production of new cytotoxic T-lymphocytes; secondly immune cells destroy tumour cells. Depending on parameter settings, possible stable outcomes of the models are extinction or (saturated) permanent growth of the tumour or persistence of a residual tumour controlled by the immune system. This model meets all of our assumptions and requirements made in Sect. 1.2 except for the incorporation of chemotherapy.

In the following, let T be the number of tumour cells and E be the number of tumour-specific effector cells. The system of differential equations of the model in Kuznetsov et al. (1994) reads

$$\begin{aligned}\frac{dE}{dt} &= \sigma + \frac{\rho ET}{\eta + T} - \mu ET - \delta E, \\ \frac{dT}{dt} &= \alpha T(1 - \beta T) - \nu ET.\end{aligned}\tag{1}$$

The parameters have the following biological interpretations:

- σ : tumour-independent production rate of effector cells,
- ρ : tumour-induced rate of effector cell stimulation,
- η : the number of tumour cells where the stimulation of effector cells is half-maximal (smaller η means more rapid increase of effector cell stimulation),
- μ : tumour-induced rate of effector cell inactivation,
- δ : rate of tumour-independent effector cell inactivation,
- α : maximal rate of tumour growth,
- β : inverse of tumour carrying capacity,
- ν : rate of tumour cell elimination induced by effector cells.

Kuznetsov estimated the parameters of the model on the basis of experimental data in mice (Kuznetsov et al. 1994, pp. 302–303, see Table 1). For this set of parameters, the ODE system has four steady states:

- (A) $T = 0$, $E = \frac{\sigma}{\delta} \approx 3.2 \cdot 10^5$ (tumour-free effector cell population).
- (B) $T \approx 4.6 \cdot 10^8$, $E \approx 1.6 \cdot 10^5$ (large tumour).
- (C) $T \approx 8 \cdot 10^6$, $E \approx 1.6 \cdot 10^6$ (“dormant” tumour).
- (D) $T \approx 2.5 \cdot 10^8$, $E \approx 8 \cdot 10^5$.

The steady state (D) is a saddle node on a curve, the separatrix, which divides the phase space into two domains: Initial conditions at one domain result in uncontrolled tumour growth (stable steady state (B)) while at the second domain the tumour is eventually controlled by the immune system (stable steady state (C)). Steady state (A) is an unstable fixed point and expresses a tumour-free effector cell population. The number of fixed points as well as their stability depend on the parameter setting.

Table 1 Overview of the model parameters. We present values for constant parameters and ranges for parameters assumed to be heterogeneous

Quality	Human value	Kuznetsov's value	Unit	Interpretation	Reference for human values
σ	1400	$1.3 \cdot 10^4$	cells·day ⁻¹	tumour-independent production rate of effector cells	Alanio et al. (2010), Moon et al. (2007)
ρ	[0.01, 0.21]	const. (0.1245)	day ⁻¹	tumour-induced stimulation rate of effector cells	
η	$2.019 \cdot 10^5$	$2.019 \cdot 10^7$	cells	number of tumour cells where effector cell stimulation rate is half-maximal	
μ	$3.422 \cdot 10^{-10}$	equal	day ⁻¹ cells ⁻¹	tumour-induced inactivation rate of effector cells	Kuznetsov et al. (1994), Ladell et al. (2008)
δ	0.007	0.0412	day ⁻¹	inactivation rate of effector cells	
α	[0.01, 0.5]	const. (0.18)	day ⁻¹	tumour growth rate	
β	0	$2 \cdot 10^{-9}$	cells ⁻¹	inverse tumour-carrying capacity	
ν	$1.101 \cdot 10^{-7}$	equal	day ⁻¹ cells ⁻¹	effector induced elimination rate of tumour cells	Kuznetsov et al. (1994)
c	0.75	1		exponent in interaction terms of effector and tumour cells, corresponding to dim. of tumour surface	
E_{equ}	$2 \cdot 10^5$	$3.2 \cdot 10^5$	cells	tumour-free equilibrium state of effector cells	Alanio et al. (2010), Moon et al. (2007)
T_{diag}	[10^{10} , 10^{13}]	x	cells	tumour size at diagnose	
T_{rez}	10^{11}	x	cells	tumour size at relapse	
k_T	[0.01, 9.21]	x	day ⁻¹	tumour log cell kill due to chemotherapy	
k_E	[0.01, 1.6]	x	day ⁻¹	effector log cell kill due to chemotherapy	

Kuznetsov’s model is designed to express the interactions of tumour cells and immune cells in leukaemia for mice. We adapt this ODE-system to model tumour growth and therapy in human diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL).

2.2 ODE-Model for Immunogenic Diffuse Large B-Cell Lymphoma in Humans

In Kuznetsov’s model, the terms representing interaction of effector and tumour cells are linear in both. This is not adequate for large cell lymphoma as the contact of tumour and immune system is limited mainly to the tumour surface. Thus, the interaction of effector cells and tumour is proportional to the tumour surface which is proportional to $T^{2/3}$ by the following considerations: We treat the tumour as a sphere. Then the number of cells T is proportional to its volume: $T \propto r^3$ where r denotes the radius of the tumour. The tumour surface is proportional to $r^2 \propto T^{2/3}$. As B-cell-lymphomas grow in multiple tumour nodes, we set the exponent slightly larger than $\frac{2}{3}$. In the following, we denote it as c and set $c = 0.75$ (see also Table 1):

$$E \propto T^c, \quad c = 0.75.$$

Kuznetsov defines $\frac{1}{\beta} = 5 \cdot 10^8$ for the carrying capacity of the tumour. The human body comprises a cell number of the order of 10^{14} (Alberts et al. 2002). Thus, we estimate that Human B-cell lymphomas cannot exceed a size of 10^{14} , resulting in $\beta \approx 10^{-14}$. However, in order to estimate relapse times after therapy, the simulation of our model is stopped if a tumour cell number of about 10^{13} is exceeded. Since saturation is not achieved at this cell count, we can assume $\beta \approx 0$ for the purpose of treatment evaluation. This assumption implies an exponential tumour growth in the absence of immune controls. It appears to be justified for tumours in humans at time of diagnosis (see, e.g. Norton and Simon 1979; Mackillop 1990).

The modified differential equation (1) of interaction between effector and tumour cells now reads

$$\begin{aligned} \frac{dE}{dt} &= \sigma + \frac{\rho ET^c}{\eta + T^c} - \mu ET^c - \delta E, \\ \frac{dT}{dt} &= \alpha T - \nu ET^c. \end{aligned} \tag{2}$$

According to Skipper et al. (1970), we assume that a specific percentage of tumour is destroyed in each therapy cycle. We constructed biomathematical models of haematopoiesis under chemotherapy in the past showing that the loss of effector cells can also be explained by the destruction of a specific percentage of these cells in each chemotherapy cycle (Scholz et al. 2005). Hence, we added a first order loss term in our ODE model equations for the duration of one day after chemotherapy. The magnitude of reduction can be controlled by the parameters k_T for tumour cells and k_E for effector cells:

$$\begin{aligned} \frac{dE}{dt} &= \sigma + \frac{\rho ET^c}{\eta + T^c} - \mu ET^c - \delta E - k_E E \mathbf{1}_{CT}, \\ \frac{dT}{dt} &= \alpha T - \nu ET^c - k_T T \mathbf{1}_{CT}, \end{aligned}$$

$$\mathbf{1}_{\text{CT}} := \begin{cases} 1, & \text{for one day after chemotherapy application,} \\ 0, & \text{else.} \end{cases}$$

For the percentage of tumour cells p_T respectively effector cells p_E that were killed one day after chemotherapy, one obtains

$$p_T = 1 - e^{-k_T}, \quad p_E = 1 - e^{-k_E}.$$

The quantities p_T and p_E were used to illustrate the loss of cells due to single chemotherapy applications. Since the system is dominated by the direct cell kills shortly after chemotherapy application, the interaction between tumour and immune system can be neglected for estimating p_T and p_E .

The right-hand side of model equations is Lipschitz continuous only for T bounded away from zero. On the other hand, we are interested in solutions only for $T \geq 1$. If T becomes smaller than 1, we consider the tumour as extinct. Application of chemotherapy introduces jump discontinuities at discrete time points. But Lipschitz continuity is guaranteed at the time intervals between applications. This implies that the overall solution is piecewise smooth.

2.2.1 The Principle of Dose Intensification

We need to determine the strength of dose intensified therapies in relation to a standard therapy. In order to keep the model simple, we make the following assumptions: CHOP is set as standard therapy. The chemosensitivity k_T and effector toxicity k_E of any other therapy are determined by a non-linear dose-toxicity-relation:

$$\begin{aligned} k_T^{\text{Intensified CHOP}} &= k_T^{\text{CHOP}} \cdot D^{e_T}, \\ k_E^{\text{Intensified CHOP}} &= k_E^{\text{CHOP}} \cdot D^{e_E}. \end{aligned} \tag{3}$$

D denotes the relative total dose standardised to CHOP. The total dose of a chemotherapy regimen is calculated as a weighted sum of the single drug doses employed. In Hasenclever et al. (2001), we described a method to estimate relative weights of cytotoxic agents based on a meta-regression analysis of chemotherapy comparing randomised clinical trials. Using this approach, we obtain $D = 1.34$ for CHOEP-therapy. The parameters e_T and e_E describe the strength of toxicity increase by intensified doses for tumour cells and effector cells respectively. Values of e_T and e_E unequal to 1 express a non-linear dose-toxicity-curve as observed for haematotoxicity (Scholz et al. 2005).

2.3 Parameters for Human Diffuse Large B-Cell Lymphoma

We aim to parameterise our model for humans. Since direct measurements of parameters are hardly available, it is necessary to determine parameters using biological knowledge and heuristic “up-scaling” of parameters identified for mice. This will require some simplifications and assumptions. Only a few parameters were later determined by fitting model predictions to clinical data.

Assuming that the biological mechanisms of the immune system do not differ substantially between mice and humans, we adopt the values from Kuznetsov et al. (1994) for the tumour-induced inactivation rate of effector cells $\mu_{\text{mouse}} = \mu_{\text{human}} = 3.422 \cdot 10^{-10} \text{ day}^{-1} \text{ cells}^{-1}$ and the effector-induced elimination rate of tumour cells $\nu_{\text{mouse}} = \nu_{\text{human}} = 1.101 \cdot 10^{-7} \text{ day}^{-1} \text{ cells}^{-1}$. We assess the remaining parameters either by reasonable transformation of the values from Kuznetsov et al. (1994) or by taking values from other references.

The effector cell inactivation rate is reported as $\delta_{\text{mouse}} = 0.3743 \text{ day}^{-1}$ in Kuznetsov et al. (1994) which corresponds to a half life of $\frac{\ln(2)}{\delta_{\text{mouse}}} = 16$ days. The half life of different human CD8+ cell populations is in the order of 100 days (Ladell et al. 2008). Hence, we set $\delta_{\text{human}} = \frac{\ln(2)}{100} \approx 0.007 \text{ day}^{-1}$.

The production of effector cells σ is obtained by $\sigma = E_{\text{equ human}} \cdot \delta$ where $E_{\text{equ human}}$ is the number of specific effector cells for humans in equilibrium, i.e. absence of tumour. From Alanio et al. (2010) and Coulie et al. (2002), we get an estimate of $E_{\text{equ human}} \approx 2 \cdot 10^5$ cells. Hence, $\sigma = E_{\text{equ human}} \cdot \delta = 2 \cdot 10^5 \cdot 0.007 = 1400 \text{ cells} \cdot \text{day}^{-1}$. We obtain similar values by another reasoning: The human body volume is estimated as around 1000 times the murine volume, and thereby $E_{\text{equ human}} = E_{\text{equ mouse}} \cdot 1000$ cells. With a murine tumour-free equilibrium state of $E_{\text{equ mouse}} \approx 200$ cells (Blattman et al. 2002; Kedzierska et al. 2006; Moon et al. 2007), we finally obtain $E_{\text{equ human}} = 200 \cdot 1000 = 2 \cdot 10^5$ cells. Note that $E_{\text{equ mouse}}$ is markedly different from that originally assumed by Kuznetsov.

Interestingly, the ratio of the number of cells per clone to the number of clones specific for one antigen is different for mice and humans. It is 10/20 for mice and 5/40000 for humans (Alanio et al. 2010; Blattman et al. 2002). Thus, mice clones appear to have a lower specificity regarding antigens compared to humans. Hence, we assume that the increase of effector cells due to stimulation by tumour cells is more rapid in humans than in mice and that the saturation limit of effector cell turnover is reached earlier, i.e. $\eta_{\text{human}} = \eta_{\text{mouse}} \cdot 0.01 = 2 \cdot 10^5$ cells.

Some parameters are considered to be heterogeneous depending on the medical conditions of the patient or the dose intensity of the therapy. We only assess ranges for these parameters and fit distributions of them based on clinical data later (Sect. 3). Parameters assumed to be heterogeneous are the tumour growth rate α , the immunogenicity ρ , the tumour size at diagnosis T_{diag} and the effect of therapy on tumour cells k_T as well as on effector cells k_E . Later, this heterogeneity reflects the patient heterogeneity with respect to therapy outcome.

The tumour doubling time for malignant lymphoma is reported as around 29 days in Tubiana (1989). We fix an interval between 1.4 and 70 days for DL-BCL corresponding to a tumour growth rate α between 0.01 and 0.5 day^{-1} ($\alpha = \ln(2)/(\text{tumour doubling time in days})$). The immunogenicity ρ is assumed as 0.1245 day^{-1} in Kuznetsov et al. (1994). We choose $\rho \in [0.01, 0.21]$ to cover a large range of possible parameters. We choose an elimination rate p_T between 0.01 and 0.9999 per dose application to describe the observed spectrum of highly sensitive tumours as well as therapy-resistant tumours: $p_T \in [0.01, 0.9999] \Leftrightarrow k_T \in [0.01, 9.21]$. The toxicity of effector cells k_E is assumed to be lower as the chemosensitivity k_T , so we assume $p_E \in [0.01, 0.80] \Leftrightarrow k_E \in [0.01, 1.6]$.

Furthermore, we assume heterogeneity of the tumour size at diagnosis T_{diag} as we want to model different stages of disease. We get an idea about the cell counts in an

average large tumour by roughly estimating the number of tumour cells of a 200 ml sized tumour. The diameter of lymphocytes is reported in Abbas and Lichtman (2003) as about $10\ \mu\text{m}$

$$\text{number of tumour cells} = \frac{\text{tumour volume}}{\text{cell volume}} = \frac{200\ \text{ml}}{(10\ \mu\text{m})^3} = \frac{0.2\ \text{l}}{10^{-12}\ \text{l}} = 2 \cdot 10^{11}.$$

We thus suppose that T_{diag} is in the order of 10^{11} cells and varies between 10^{10} and 10^{13} cells. The same scale is valid for relapse sizes. However, relapse size can be assumed to have smaller variances due to closer surveillance after therapy. For simplicity, we set a fixed tumour size of 10^{11} cells for relapse.

Table 1 presents a summary of the values and meanings of all model parameters and quantities.

2.4 Qualitative Behaviour of the Model

We analyse the qualitative behaviour of the system without chemotherapy for the human parameters chosen in Table 1, i.e. we refer to parameters σ to c . Parameters T_{diag} to k_E refer to chemotherapy modelling only considered in Sect. 2.2. We analyse the steady states of the model described by Eq. (2). The steady states are determined by the nullclines $dE/dt = 0$, $dT/dt = 0$. Just like in model (1) there is a steady state at $T = 0$, $E = \frac{\sigma}{\delta}$, which can be described as the tumour-free equilibrium state of effector cells. This is also a special case as the first equation of (2) is not differentiable in $T = 0$. It is not possible to examine the stability of this steady state directly by determining the eigenvalues for the linearised system. However, we can deduce stability asymptotically. A steady state is stable if the Jacobian matrix \mathbf{J} of the linearised system has a negative trace and a positive determinant. The sign of $\text{disc}(\mathbf{J}) := \text{trace}(\mathbf{J})^2 - 4 \cdot \det(\mathbf{J})$ determines whether the point is a node or a spiral. The Jacobian matrix for the linearised system (2) reads

$$\mathbf{J}(E, T) = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} \\ a_{21} & a_{22} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{\rho T^c}{\eta + T^c} - \mu T^c - \delta & \left(\frac{\rho\eta}{(\eta + T^c)^2} - \mu\right)cET^{c-1} \\ -\eta T^c & \alpha - \nu cET^{c-1} \end{pmatrix}.$$

For $T \rightarrow 0$ and $\rho > \eta\mu$, it follows

$$a_{11} \rightarrow -\delta, \quad a_{12} \rightarrow \infty, \quad a_{21} \rightarrow 0, \quad a_{22} \rightarrow -\infty.$$

With

$$\text{trace}(\mathbf{J}) = a_{11} + a_{22} \rightarrow -\infty, \quad \text{and} \quad \det(\mathbf{J}) = a_{11}a_{22} - a_{12}a_{21} \rightarrow \infty,$$

we conclude that the steady state is stable and no saddle node. It holds that $\text{trace}(\mathbf{J}) = -\nu cET^{c-1} + o(T^{c-1})$ and $\det(\mathbf{J}) = \delta\nu cET^{c-1} - o(T^{c-1})$ where o is the Landau order symbol. This leads to

$$\text{disc}(\mathbf{J}) = (-\text{trace}(\mathbf{J}))^2 - 4 \cdot \det(\mathbf{J}) = (\nu cE)^2 T^{2c-2} - o(T^{2c-2}) > 0.$$

It follows that this steady state is a stable node. Note that the tumour-free equilibrium state is always stable here, while in Kuznetsov et al. (1994) the stability of this fixed point depends on the parameters.

Furthermore, we obtain the nullcline of T from the second equation of the system (2)

$$E = \frac{\alpha}{\nu} T^{1-c} \tag{4}$$

and therefore

$$\log(E) = \log(\alpha/\nu) + (1 - c) \log(T). \tag{5}$$

All remaining fixed points are located on a straight line with slope $1 - c$ on the logarithmic scale which intersects the $\log(E)$ -axis at $\log(\alpha/\nu)$. An increase of α shifts this straight line in $\log(E)$ -direction.

The nullcline of E is

$$E = \frac{\sigma(T^c + \eta)}{\mu T^{2c} + (\mu\eta + \delta - \rho)T^c + \delta\eta}. \tag{6}$$

The curves of the nullclines are shown in Fig. 2.

Substituting (4) into the first equation of (2) yields the fixed-point equation for T :

$$0 = C_0 + C_1 T^c + C_2 T + C_3 T^{(1+c)} + C_4 T^{(1-c)}, \tag{7}$$

where

$$\begin{aligned} C_0 &= \sigma\eta, & C_1 &= \sigma, & C_2 &= \frac{\alpha}{\nu}(\rho - \mu\eta - \delta), \\ C_3 &= -\frac{\alpha}{\nu}\mu, & C_4 &= -\frac{\alpha}{\nu}\delta\eta. \end{aligned}$$

Substitution of $Z = T^{\frac{1}{4}}$, for $c = 0.75$ we obtain a polynomial of degree 7:

$$0 = C_3 Z^7 + C_2 Z^4 + C_1 Z^3 + C_4 Z + C_0.$$

By applying Descartes’ rule of signs (Anderson et al. 1998), we are able to make statements regarding the number of positive roots. With

$$\begin{aligned} \text{sgn}(C_0) &= 1, & \text{sgn}(C_1) &= 1, & \text{sgn}(C_2) &= \pm 1, \\ \text{sgn}(C_3) &= -1, & \text{sgn}(C_4) &= -1, \end{aligned}$$

it follows that there are three changes of signs among the coefficients. This implies the existence of one or three positive roots. However, it is not possible to find an analytical solution of the real roots for general parameter values tumour growth rate α and immunogenicity ρ . Steady states were determined numerically using the statistical software package R (www.r-project.org, function “uniroot” in package “stats”). The function is based on the algorithm given in Brent (1973).

To illustrate model behaviour, we chose $\alpha = 0.18$ and $\rho = 0.1245$ according to Kuznetsov et al. (1994). The qualitative behaviour of the model is the same for the

Table 2 Numerical fix point analysis for $\alpha \in [0.01, 0.5]$, $\rho \in [0.01, 0.21]$. $\text{eig}(\mathbf{J})$ denotes the eigenvalues of the Jacobian matrix, $\text{sgn}(\text{eig}(\mathbf{J}))$ denotes the sign of the real parts of the eigenvalues

FP	$\min(E)$	$\max(E)$	$\min(T)$	$\max(T)$	$\text{eig}(\mathbf{J})$	$\text{sgn}(\text{eig}(\mathbf{J}))$	class
A	$2.00 \cdot 10^5$	$2.00 \cdot 10^5$	$3.78 \cdot 10^{-6}$	$2.37 \cdot 10^1$	real	alternating	saddle node
B	$1.66 \cdot 10^6$	$3.63 \cdot 10^8$	$1.11 \cdot 10^5$	$4.09 \cdot 10^7$	real & complex	positive	unstable node/focus
C	$1.84 \cdot 10^7$	$3.82 \cdot 10^9$	$1.62 \cdot 10^9$	$4.98 \cdot 10^{11}$	real	alternating	saddle node

range of possible values for α and ρ (not shown). Precise information about the number of distinct positive roots is given by Sturm's method (Stoer 1989). There are four sign changes of the Sturm sequence for $Z = 0$ and one sign change for $Z \rightarrow \infty$. It follows that there are three distinct real roots in $[0, \infty)$.

We get three numerical solutions for the steady states of Eq. (7) with $\alpha = 0.18$, $\rho = 0.1245$:

$$A := (E_1, T_1) = (2 \cdot 10^5, 2 \cdot 10^{-4}), \quad (8)$$

$$B := (E_2, T_2) = (3.74 \cdot 10^7, 2.74 \cdot 10^5), \quad (9)$$

$$C := (E_3, T_3) = (1.14 \cdot 10^9, 2.4 \cdot 10^{11}). \quad (10)$$

The nature of the equilibria can be determined by linearisation of the system. The steady states are characterised as follows:

A: saddle node, B: unstable node or focus, C: saddle node.

The system exhibits three steady states. Table 2 lists all steady states A, B, and C and corresponding ranges of E and T. Linearisation shows that the first steady state and the third steady state are always a saddle node and the second steady state is either an unstable node or an unstable focus.

The phase diagram of ODE (2) with the parameter values from Table 1 is illustrated in Fig. 2. It can be divided into two domains.

Tumour overgrows immune system: An initially small tumour population stimulates the immune system by increasing the effector cell population. By reaching a size large enough to weaken the immune system, the tumour depletes the effector cell population to 0.

Tumour eventually becomes extinct: There are two distinct dynamics here: Either a small tumour population becomes extinct immediately. Or, after an initial growth of both tumour cells and effector cells, the tumour is eliminated by the effector cells.

We can study the characteristics of the system by examining the nullclines (Eqs. (4) and (6)) in Fig. 2:

- **T-nullcline** (green line in Fig. 2): the tumour size increases for effector cell populations lying on the left of this straight line and decreases for effector cell populations lying on the right side of it.
- **E-nullcline** (blue curve in Fig. 2): the effector cell population increases in between the two blue curves. It decreases above the upper curve and below the lower curve.

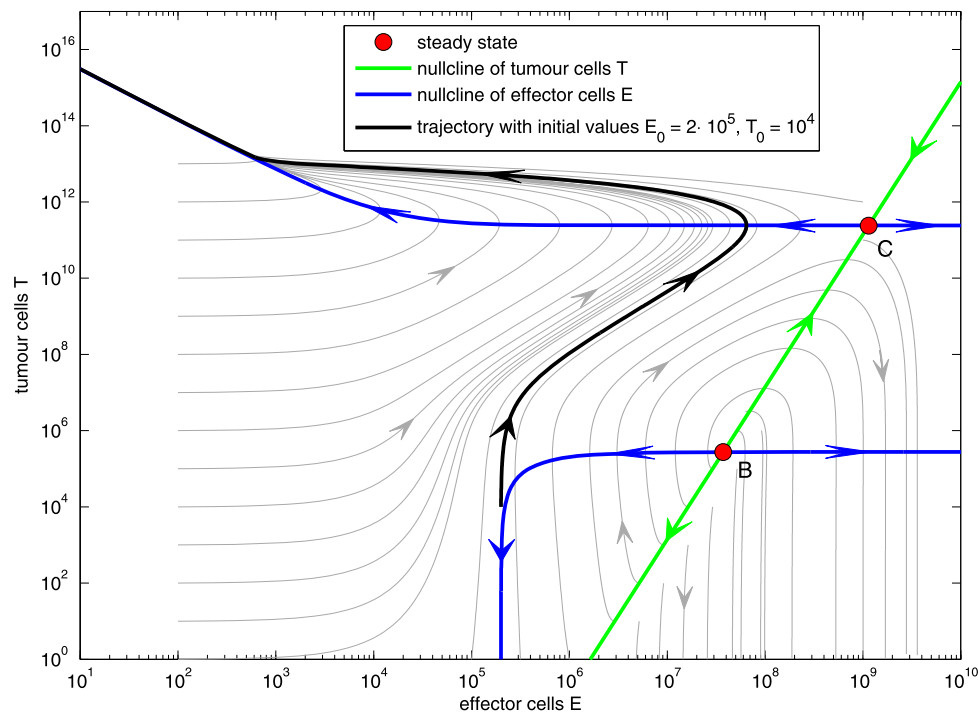


Fig. 2 Phase diagram on the logarithmic scale for tumour growth rate $\alpha = 0.18$, immunogenicity $\rho = 0.1245$ with nullclines and steady states. Steady state A is not shown. Also not shown is the tumour-free fixed point at $T = 0$ and $E = \sigma/\delta = 2 \cdot 10^5$. Except for the latter one, all steady states are unstable

Figure 3 illustrates the influence of the tumour growth rate α and the immunogenicity ρ on the system behaviour. Decreasing α respectively increasing ρ enlarges the domain where the tumour eventually is eliminated. Additionally the quantity of immunogenicity ρ determines the steepness of the effector cell curve: a higher ρ implies a steeper peak. Note that similar phase diagrams can be obtained by either increasing tumour growth velocity α or decreasing immunogenicity ρ . In the first case, the immune system has not enough time to react against the fast growing tumour, while in the second case the immune system is insufficiently stimulated.

3 Linking the Model to Clinical Data

In this section, we describe how the model is linked to clinical data in order to estimate unknown parameters of the model (see Sect. 2.3). The biological heterogeneity of patient populations is described by a joint distribution of five relevant model parameters: tumour growth velocity α , immunogenicity of the tumour ρ , size of the tumour T_{diag} , and chemosensitivity of tumour k_T as well as effector cells k_E . We aim to estimate this multi-dimensional distribution from survival data of randomised chemotherapy trials.

For this purpose, the ODE system is solved on a multi-dimensional hyper-cube parameter grid. Each grid point represents a constellation of the model parameters that were assumed to be heterogeneous in a patient population. For each grid point we determine whether the tumour growth reaches diagnosis volume and whether the

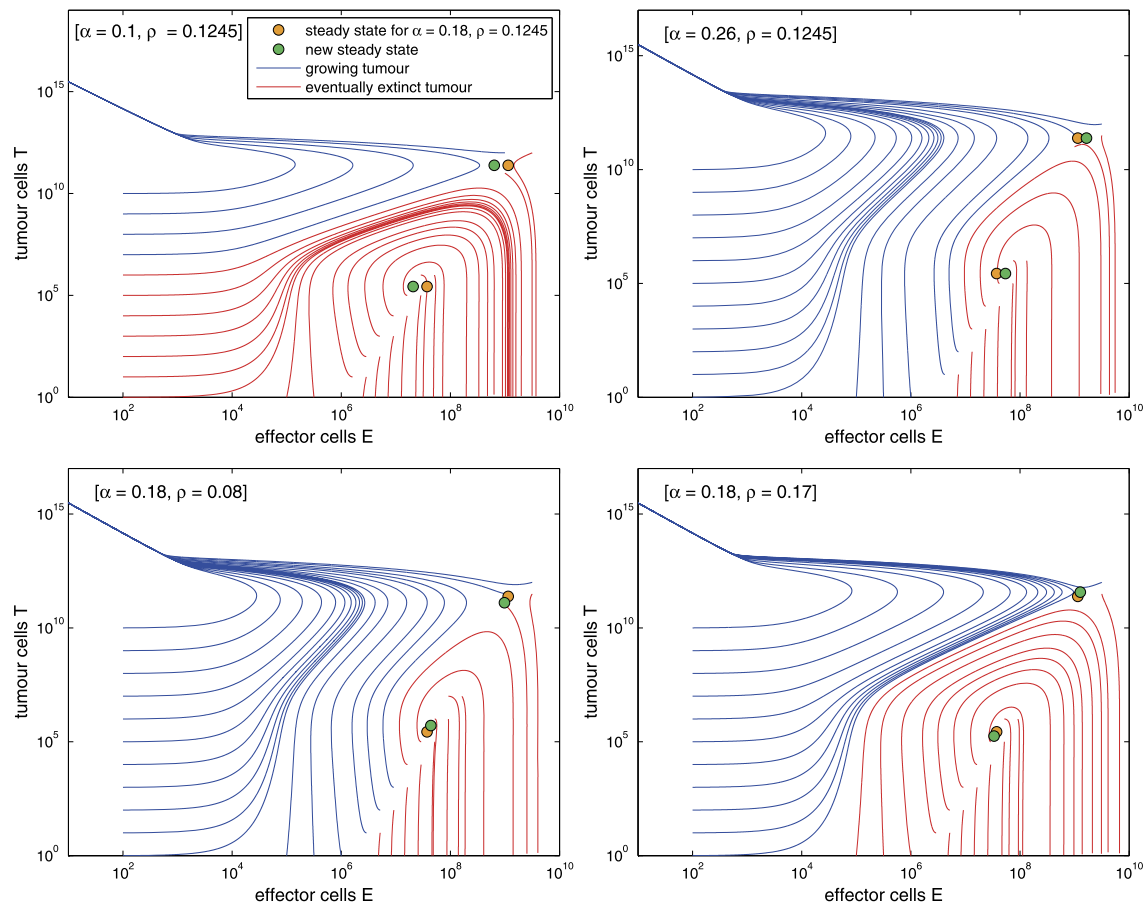


Fig. 3 We study dependence of qualitative model behaviour on settings of the parameters tumour growth rate α and immunogenicity ρ . Settings used by Kuznetsov et al. served as a basis ($\alpha = 0.18$, $\rho = 0.1245$). Phase diagrams for larger or smaller values are presented. Large tumour growth rate α as well as small immunogenicity ρ result in smaller areas of attraction for tumour elimination. Large ρ results in a steeper peak of E

tumour would be cured by the chemotherapy given. We also calculate the time of relapse if applicable.

Distributions on the parameter grid will be chosen by the maximum entropy condition with a few moment constraints on means or variances (Jaynes 1957). The constraints comprise expectation and variance of immunogenicity ρ , tumour volume at diagnosis T_{diag} and chemosensitivity k_T as well as expectation of tumour growth rate α (see Table 4 below). A specific distribution of parameters implies a survival curve. An evolutionary algorithm is then used to fit the model prediction to data.

In summary, we parameterised the model by the following steps:

- (1) Simulation of all therapies on the discrete grid of parameter combinations.
- (2) Specification of moment constraints of distributions on the grid.
- (3) Determination of Maximum-Entropy probability distribution on the parameter grid fulfilling the moment constraints.
- (4) Determination of time-to-progression curves for specified therapies given the probability distribution on the parameter grid.
- (5) Optimisation of moment constraints to minimise differences between study data and survival curves predicted by the model.

Table 3 Clinical study overview

Study Name	Age	Study arms and 3-year EFS rates			
NHL-B2	61–75	6xCHOP-21 41.3	6xCHOP-14 54.2	6xCHOEP-21 45.5	6xCHOEP-14 46.0
RICOVER-60	61–80	6xCHOP-14 47.2	8xCHOP-14 53.0		

3.1 DLBCL Chemotherapy Studies Used for Model Calibration

Table 3 lists the studies used for model calibration with corresponding regimes, event-free survival rates (EFS), and some prognostic factors of the patient populations. EFS was defined as the time from the beginning of therapy to either disease progression, relapse, or death. The long-term standard chemotherapy for diffuse large B-cell lymphoma was 6xCHOP-21 which consists of six times cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone, given every 3 weeks (Fisher et al. 1993). In the NHL-B2 study (Pfreundschuh et al. 2004a,b), the effectiveness of two-weekly CHOP and intensified CHOP with etoposide relative to standard CHOP was investigated. The patient population comprised 689 patients aging between 61 and 75. It is observed in NHL-B2 that both, addition of etoposide and time intensification results in a better outcome, but that these factors are not additive. Moreover, CHOEP-14 is worse than CHOP-14, an effect considered as paradoxical here (see Fig. 1).

The RICOVER-60 trial was designed to compare six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without Rituximab (Pfreundschuh et al. 2008). 1,222 patients between 61 and 80 years were randomised. Since the effect of Rituximab is not modelled here, we only consider the six and eight cycles CHOP-14 EFS-curves of the treatment arms without Rituximab. Eight cycles of CHOP-14 result in a better outcome than six cycles of CHOP-14 (see Fig. 4).

3.2 Adjusting Different Studies with Similar Patients

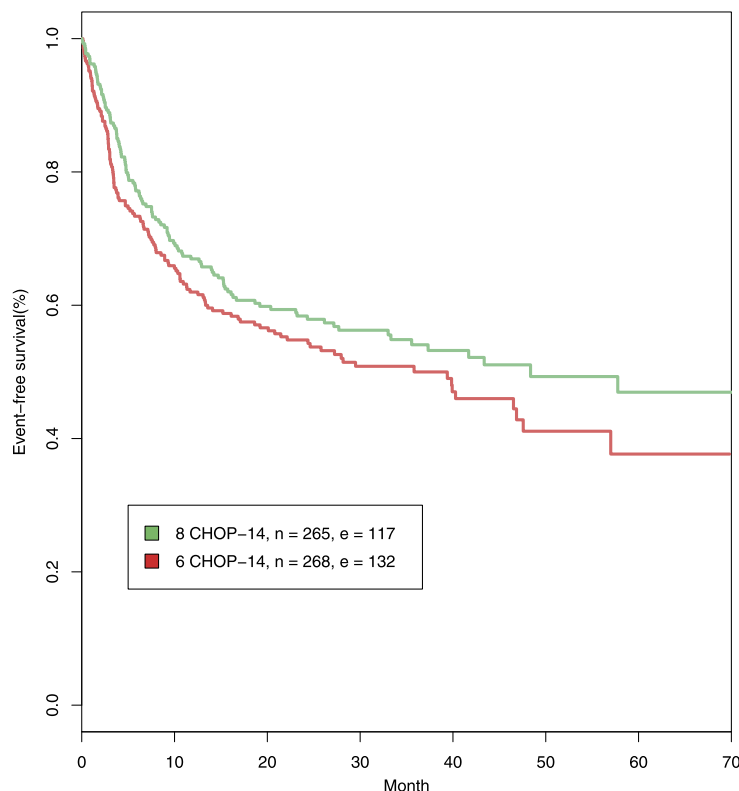
Patient characteristics are rather similar for RICOVER-60 and NHL-B2 after restricting the age range to 61–75 years. Thus, we assume the same parameter set for these two different studies. However, the EFS curves of six cycles of CHOP-14 differ slightly between the studies, probably due to differences in recruitment practice. To avoid estimation of a completely new parameter set for RICOVER-60, we adjust for this (random) study effect by introducing a parameter lhr that adapts the survival rates of NHL-B2 to RICOVER-60 assuming proportional hazard. This parameter needs to be fitted, also.

3.3 Modelling Patient-, Therapy-, and Study-Specific Heterogeneity of Parameters

Some parameters are considered as patient-, therapy-, or study-specific (see Table 4), defined as follows:

Patient-specific: These parameters differ between patients. A population distribution is assumed for these kind of parameters.

Fig. 4 Event-free survival in months for patients between 61 and 75 years from RICOVER-60. n and e indicate the number of patients and the number of events



Therapy-specific: The parameter value depends on the applied chemotherapeutic drugs and drug doses.

Study-specific: The parameter value varies for different studies with similar patient populations.

Tumour growth rate α , immunogenicity ρ and tumour volume at diagnosis T_{diag} are patient-specific while chemosensitivity k_T is patient- and therapy-specific. Chemotherapy toxicity to immune cells k_E is considered to be therapy-specific, but not patient-specific. Finally, the correction factor of hazard rates lhr between studies of the same population is study-specific. Plausible ranges of parameters were determined in Sect. 2.3. The standard deviation for tumour size at diagnose T_{diag} calculates to $SD(T_{\text{diag}}) = 0.042 \cdot E(T_{\text{diag}})$. This is based on a variation coefficient of 0.042 retrieved from log tumour volume data of the EuroNet-PHL-C1 study (personal communication D. Hasenclever).

3.3.1 Simulation of Chemotherapy

We simulate the application of chemotherapy for an arbitrary parameter combination in two steps: At first we determine if these parameters are *admissible*, i.e. we check whether a tumour grows to the diagnosable size of T_{diag} for a specific parameter combination $(\alpha, \rho, T_{\text{diag}})$ or whether it is suppressed by the immune system before it is clinically apparent. The parameter distribution to be estimated is restricted to this admissible set. We start with an initial condition of $T = 10^4$ and $E = \sigma/\delta = 2 \cdot 10^5$, which describes the immune equilibrium state. The exact choice of $T(0)$ is unimportant for model behaviour as long as one starts with a sufficiently small tumour, i.e. as long as the loss of effector cells due to presence of tumour represented

Table 4 Overview of fitted parameters and distributions for NHL-B2 and RICOVER-60. The heterogeneity of the parameters is either on a patient-level, therapy-level, or study-level (see text). The standard deviation for tumour growth rate α distribution is not explicitly specified but is a result of the maximum entropy condition

Fitted parameter distribution	Heterogeneity	Distribution parameters prescribed (constraints for max. ent.)	Fitted value	5/95 %-Percentile	Remark
Tumour growth rate α	patient specific	expectation	0.118	[0.039, 0.216]	fitted
		standard deviation	0.054		result of max. entr. cond.
Immunogenicity ρ	patient specific	expectation	0.078	[0.022, 0.145]	fitted
		standard deviation	0.038		fitted
log10(tumour volume T_{diag})	patient specific	expectation	11.31	[10.5, 12]	fitted
		standard deviation	0.47		est. from data
Chemosensitivity k_T	patient & therapy specific	expectation	2.36	[1.86, 3.0]	fitted
		standard deviation	0.31		fitted
Effector tox k_E	therapy specific	single parameter	0.48		fitted
dose exponent tum. cells e_T	therapy specific	single parameter	0.80		fitted
Dose exponent eff. cells e_E	therapy specific	single parameter	2.44		fitted
Prop. hazard factor lhr	study specific	single parameter	0.164		fitted

by parameter μ can be neglected compared to the natural degradation of effector cells represented by parameter δ . In case of a growing tumour, we determine the effector cell population E_{diag} if $T = T_{\text{diag}}$ is reached for the first time. In the second step, we simulate the therapy by starting at the initial condition $(T_{\text{diag}}, E_{\text{diag}})$ for each parameter combination $(\alpha, \rho, T_{\text{diag}}, k_T, k_E)$. Therapy regimes vary in the number of cycles (6 or 8), time between dose application (e.g. 2 or 3 weeks), and chemotherapy dose expressed by the dose-dependence of k_T and k_E (see Eq. (3)). For each therapy, we determine if and when relapse occurs. Thus, we obtain therapy results in form of time to event data.

3.4 Parametrisation of the Model

3.4.1 Discretisation of the Parameter Space

We discretise the ranges of the parameters by introducing grid points. Therapy simulation is performed on the grid for each parameter combination $(\alpha, \rho, T_{\text{diag}}, k_T, k_E)$. Altogether we consider $51(\alpha) \cdot 35(\rho) \cdot 7(T_{\text{diag}}) \cdot 41(k_T) \cdot 31(k_E)$ grid points in the five-dimensional space. For instance, we used the seven grid points $\{10^{10+i/2}, i =$

$0, \dots, 6$ as possible tumour sizes at diagnose T_{diag} . Density of the grid is chosen in dependence on the corresponding parameter sensitivity of the fitness function. If small changes of a parameter results in large differences of the fitness function, the grid was chosen finer to achieve a better approximation.

We implemented the simulation algorithm in MATLAB. The exact simulation settings are available on request.

3.4.2 Calculating the Maximum Entropy Probability Distribution

A four-dimensional distribution is assumed for the patient-specific tumour growth rate α , the immunogenicity ρ , the tumour size at diagnose T_{diag} and the chemosensitivity k_T . Thus, we assign a probability distribution to the four-dimensional simulation grid since k_E only depends on therapy.

We use the maximum entropy principle (Jaynes 1957; Kullback 1959) to determine probability distributions on the four-dimensional parameter grid. We specify certain moments (means, variances, see Table 4) and determine the unique probability distribution, which fulfils these constraints and has maximum entropy. Given our parameter ranges and data, the maximum entropy condition implies unimodal distributions on the parameter grid. This appears to be biologically plausible because sub-groups of patients with largely different biology are not described so far. We used the package `minxent` of R (Kapur and Kesavan 1992) to solve this variational problem.

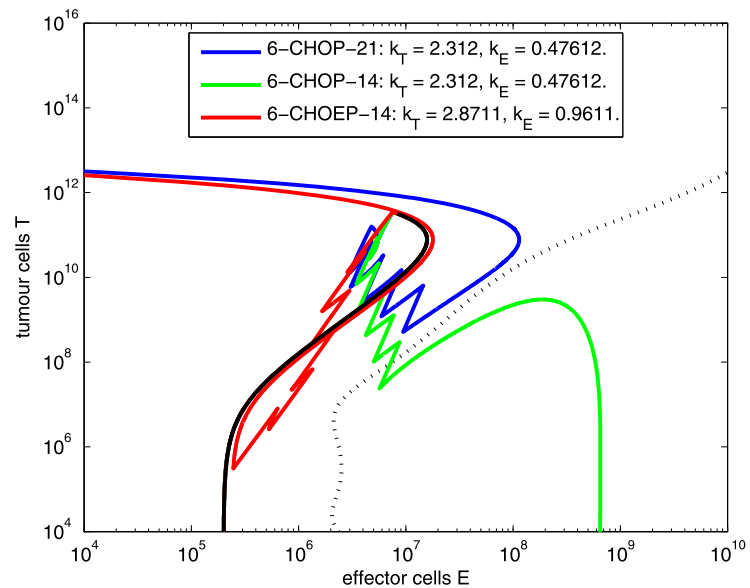
3.4.3 Computation of the Fitness Value

The fitness value measures the agreement of model and data as a function of the corresponding parameter distribution. To determine the fitness value, we use the time to event data and the probability of each parameter combination for any therapy to compute event-free survival rates. We obtain an EFS curve for each therapy by linear interpolation of the EFS-rates. We compare it to observed Kaplan–Meier estimates by computing the Euclidean distance for time points with a distance of 25 days between day 200 and 725. Time points earlier than 6 months after start of therapy were not considered due to reporting bias and toxic side effects during therapy. Time points greater than 25 months after start of therapy are influenced by late relapses not covered by our model. The fitness value is the sum of all of the above mentioned distances of the therapies considered.

3.4.4 Optimisation by Evolutionary Principle

An evolutionary algorithm is used to fit the model. The idea of evolutionary algorithms is based on the generation of new parameter sets by random variation of an existing parameter set with adapted step size and selection of a set with better fitness. Here, we estimate a parameter combination, which consists of moment constraints such as expectations and variances of the model parameters; see Table 4. A (1 + 5)-ES (Evolutionary Strategy) is used which means that 5 mutant parameter combinations are generated, which compete with their parent. For details about the concept of evolutionary algorithm, see e.g. Ashlock (2006), Schwefel (1984). The algorithm was implemented in R.

Fig. 5 Parameter setting where moderate intensification of CHOP-21 (CHOP-14) leads to cure, but stronger intensification results in relapse (CHOEP-14). The *black trajectory* describes tumour growth prior to therapy. *Coloured trajectories* correspond to different therapy regimens



4 Results

4.1 Qualitative and Quantitative Model Results

We estimated the parameters of Table 4 with the method presented in Sect. 3. We assumed the same parameter set for the patients of NHL-B2 and RICOVER-60 except for the log hazard factor used to adjust the differing survival curves.

The model gives a possible explanation of therapy effects observed in NHL-B2 as illustrated in Fig. 5. The course of 6 cycles CHOP-14/21 and CHOEP-14 is shown in the phase space of effector and tumour cells for a typical parameter combination. Here, standard 6 cycles CHOP-21 is insufficient to eliminate the tumour. Time reduction between dose application pushes the course below the separatrix and results in complete elimination of tumour cells. Both time and dose intensification results in an even smaller number of tumour and effector cells. However, it is above the separatrix, and thus finally results in relapse.

Marginal distributions of the parameters are shown in Fig. 6. The asymmetric shape of the distribution is a result of restricting parameters to admissible parameter sets.

Parameters can be read from Table 5: The expected tumour growth rate α was estimated to be 0.118, which corresponds to a potential tumour doubling time of 5.88 days. The standard deviation is 0.054. 90 % of values are between 0.039 (doubling time 17.6 days) and 0.216 (doubling time 3.2 days). The immunogenicity ρ has an expected value of 0.078. The expected tumour load T_{diag} is 11.31 on log10-scale. The expected chemosensitivity k_T is 2.36, which implies a tumour kill of 90.6 % per shot. 90 % of values are between 1.86 (84.3 % kill per shot) and 3.00 (95.0 % per shot). The effector toxicity k_E is 0.48 resulting in a kill of 37.9 % effector cells per shot. These values indicate that the grid is chosen adequately as the values are not located on the edge of the grid. The toxicity exponent for intensified therapies (see Eq. (3)) is 0.80 for tumour cells and 2.44 for effector cells leading to an expected cell kill of 95.0 %, respectively, and 62.2 % for intensified Etoposide therapies. Note

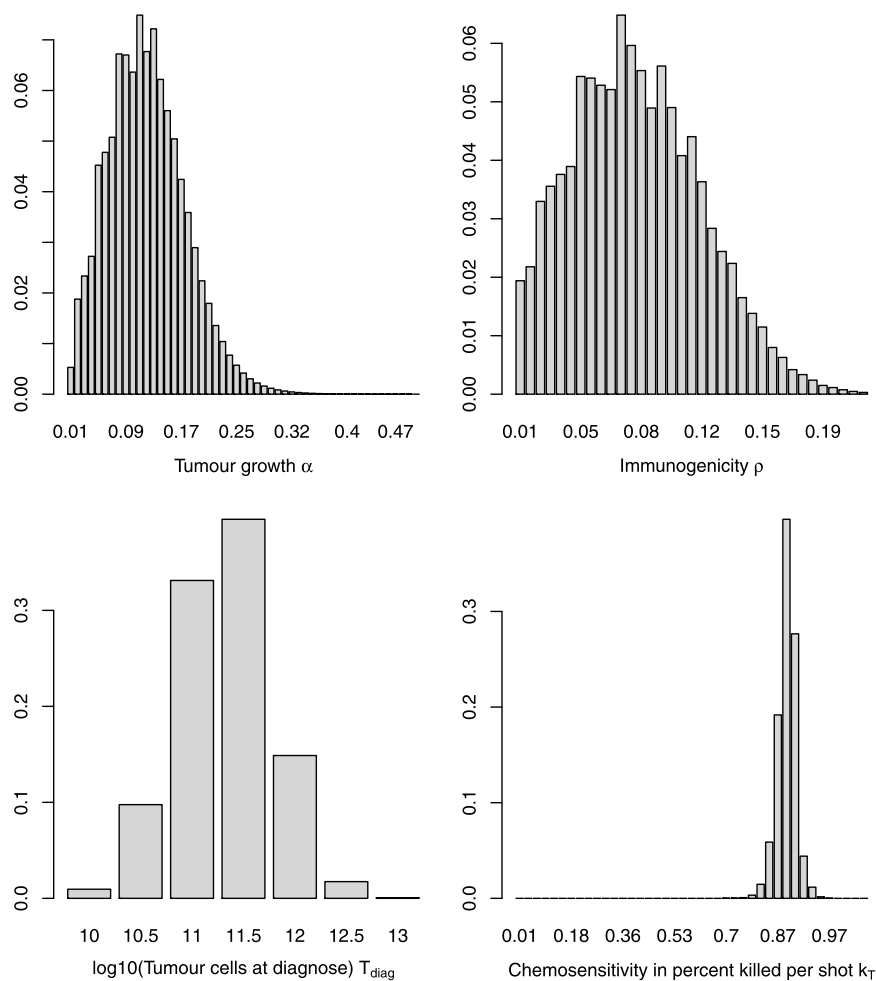


Fig. 6 Marginal distribution densities of tumour growth rate α (top left), immunogenicity ρ (top right), tumour volume T_{diag} (bottom left), and chemosensitivity k_T (bottom right)

that it is much higher for effector cells than for tumour cells. Finally, the proportional hazard factor lhr to adjust the RICOVER-60 survival data to NHL-B2 is 0.164.

Fitted survival curves are shown in Fig. 7. We also displayed the log hazard ratios of all combinations of treatment arms for each study against the log hazard ratios of the model-simulated survival curves (Fig. 8). We observed a good agreement of model and data within the time-frame of validity of the model. The model explains all therapy contrasts in the sense that the prediction is always in the confidence interval of the log hazard ratio of the data. In particular, the model reproduces paradoxical therapy effects: The outcome of CHOEP-14 is worse than that of CHOP-14 in NHL-B2.

It is common practice to distinguish between advanced and low states of the tumour. Figure 9 shows the distributions of tumour size of cured and relapsed patients populations. We observe as expected that relapsing tumours have higher average initial sizes than cured tumours (Fig. 9).

The sensitivity of each parameter is examined in Table 5. Parameters are sorted in descending order in dependence on sensitivity. We observe that parameters representing distribution means are more sensitive than parameters representing variances.

Table 5 We calculated univariate confidence intervals for parameter estimates by allowing 10 % deterioration of fitness value

Parameter	Interval	In percent
EXP(log10(tumour volume T_{diag}))	$[T_{diag} - 0.028; T_{diag} + 0.023]$	$[-0.3 \%; +0.2 \%]$
EXP(immunogenicity ρ)	$[\rho - 5 \cdot 10^{-4}; \rho + 6 \cdot 10^{-4}]$	$[-0.6 \%; +0.8 \%]$
EXP(tumour growth α)	$[\alpha - 9 \cdot 10^{-4}; \alpha + 7 \cdot 10^{-4}]$	$[-0.8 \%; +0.7 \%]$
EXP(chemosensitivity k_T)	$[k_T - 0.022; k_T + 0.025]$	$[-0.9 \%; +1.1 \%]$
effector toxicity k_E	$[k_E - 2 \cdot 10^{-4}; k_E + 0.013]$	$[-0.05 \%; +2.7 \%]$
CHOEP exponent eff. tox e_E	$[e_E - 0.141; e_E + 0.114]$	$[-5.8 \%; +4.7 \%]$
SD(immunogenicity ρ)	$[sd(\rho) - 0.003; sd(\rho) + 0.003]$	$[-6.9 \%; +7.1 \%]$
SD(log10(tumour volume) T_{diag})	$[sd(T_{diag}) - 0.041; sd(T_{diag}) + 0.030]$	$[-8.8 \%; +6.2 \%]$
CHOEP exponent chemosens e_T	$[e_T - 0.061; e_T + 0.078]$	$[-7.6 \%; +9.8 \%]$
SD(chemosensitivity k_T)	$[sd(k_T) - 0.069; sd(k_T) + 0.048]$	$[-22.5 \%; +15.6 \%]$
prop. hazard factor lhr	$[lhr - 0.048; lhr + 0.040]$	$[-29.1 \%; +24.1 \%]$

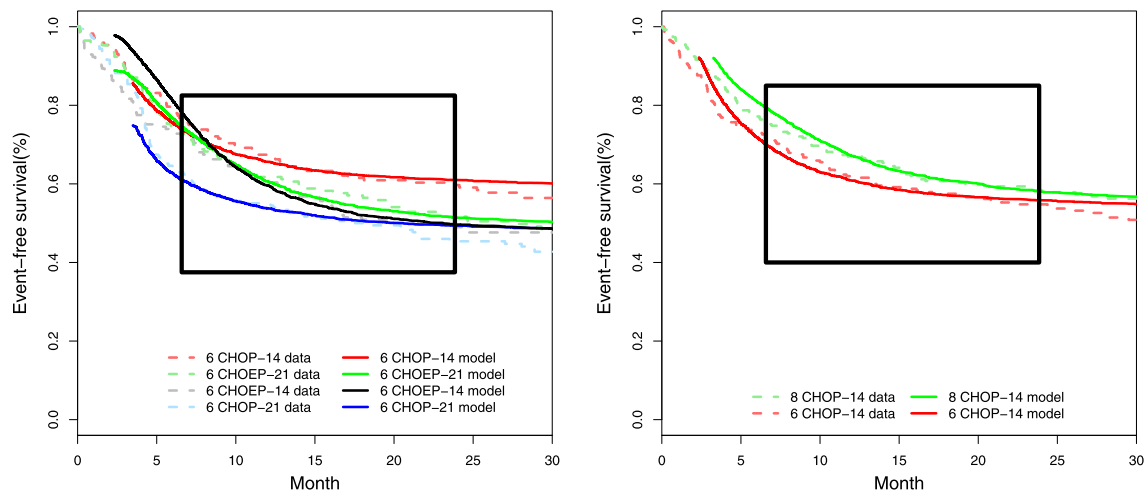


Fig. 7 Comparison of model and data for NHL-B2 (*left*) and RICOVER-60 (*right*). Model is fitted within the range between day 200 and day 725

4.2 Model Predictions

There is ongoing research regarding required number of cycles and the effect of time intervals between them. By our model, we aim at contributing to this discussion by systematically simulating 2, 4, 6, 8, and 10 cycles of CHOP with varying cycle duration (7 to 28 days) and predicting corresponding estimates of 2-years survival (Fig. 10). It turns out that two cycles are clearly insufficient and four cycles are sub-optimal, also. The gain achieved by more than six cycles is relatively small. Compared to CHOP-14, we predict only limited improvement of therapy by further time intensifications. Two-year survival clearly drops if therapy intervals are greater than 21 days.

Fig. 8 Pairwise log hazard ratios of the model vs. 95 %-confidence intervals of log hazard ratios of the data

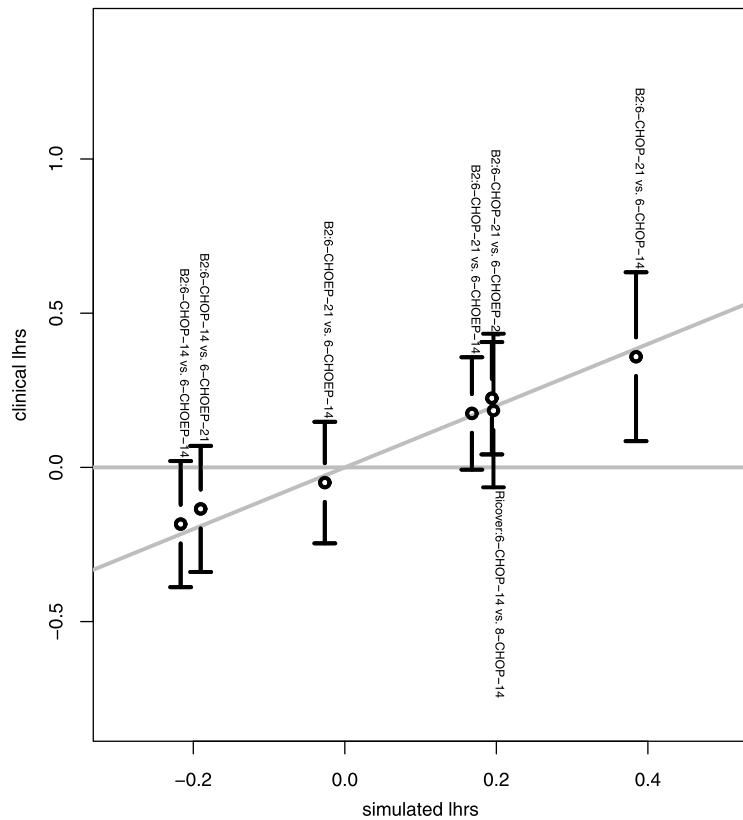
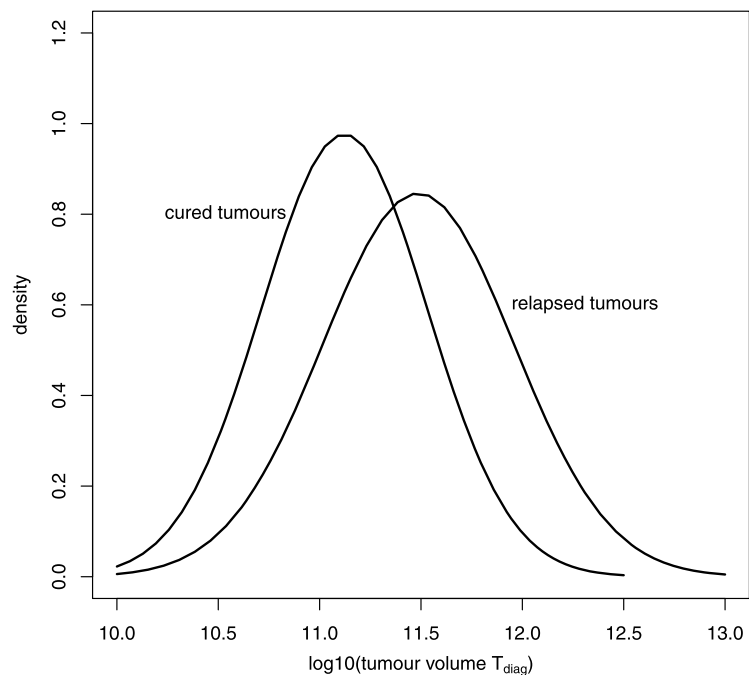


Fig. 9 Tumour load (T_{diag}) distributions of relapsed and cured tumours. A sample of $N = 10\,000$ was drawn from the fitted parameter distribution. Corresponding outcomes of six cycles CHOP-21 therapy were determined. A normal distribution was fitted to the initial tumour loads of cured and relapsed patients, respectively



Although there is uncertainty in model parameters, we observed that 2-year survival rates are robust against changing model parameters. This is illustrated by the therapies 6xCHOP-14, 6xCHOP-12 and 4xCHOP-14 simulated for upper and lower confidence limits of parameter predictions (Table 6).

Fig. 10 Prediction of 2-year EFS rates as a function of number of chemotherapy cycles and time between chemotherapy administration

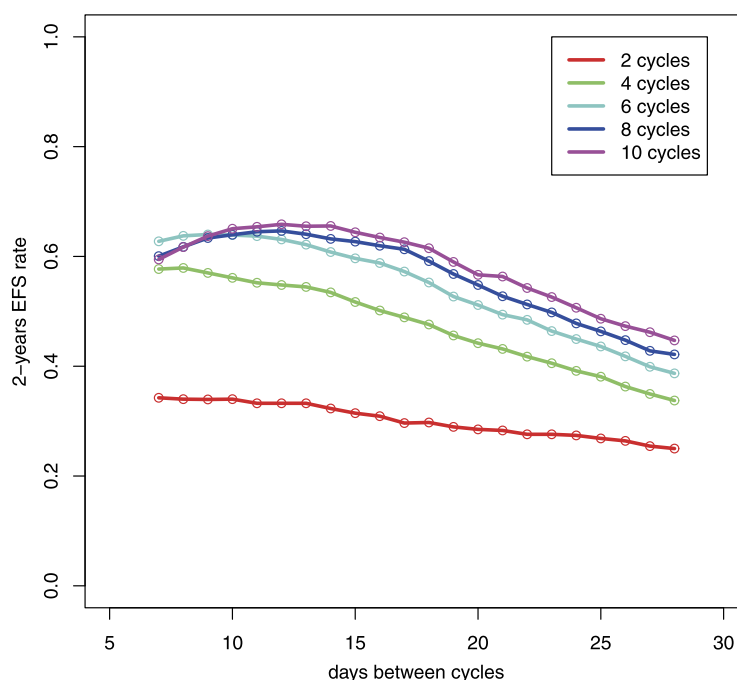


Table 6 Effect of parameter uncertainty on model predictions, we used upper and lower confidence bounds of parameters as presented in Table 5 and calculated maximal deviations from predicted 2-year-EFS

Study comparison	2-years-EFS	Min(2-years-EFS)	Max(2-years-EFS)
4-CHOP-14	0.53	0.52	0.54
6-CHOP-12	0.63	0.62	0.64
6-CHOP-14	0.61	0.60	0.62

5 Discussion

Models of tumour growth and chemotherapy induced tumour cell kill are typically incompatible with the notion that more intense therapy can be less effective. The NHL-B trial provides such an example. Therefore, we investigated the idea that the immune system is important to control remaining tumour cells. Paradoxical treatment outcomes can occur when intensive chemotherapy shuts down the immune system in the critical time window at the end of therapy.

Figure 5 illustrates that the simple ODE-system described here features paradoxical treatment effects. In addition, we linked our ODE-model to clinical data by describing latent patient heterogeneity by a distribution of specific model parameters. This distribution can be estimated from clinical trial data using an innovative method. Our model can be made quantitatively consistent with progression-free survival curves (Fig. 7) and observed treatment effects (Fig. 8) from several trials. The respective parameter estimates appear plausible.

Our approach relies on a number of simplifications and has some limitations, which we discuss in the following:

5.1 Alternative Models of Tumour and Immune Response

The model of tumour and immune system interaction in mice proposed by Kuznetsov et al. (1994) served as a backbone of our modelling. We use a modified and simplified version of it as a minimal model to address tumour growth and immune response. Numerous more complicated models were proposed. Gałach (2003) modified the model of Kuznetsov et al. (1994) by replacing the Michaelis–Menten form of the tumour induced immune stimulation term with a Lotka–Volterra term. An effect of time delay of the immune response was also introduced. Recently, the model was extended by Letellier et al. (2013). de Vladar and González (2004) assume a Gompertzian growth of the tumour population. The stimulation and loss of the immune system is modelled in a different way. However, model behaviour is similar to Kuznetsov's model. Sotolongo-Costa et al. (2003) proposed a model of periodical immunotherapy with cytokines on the basis of the model of Kuznetsov.

de Pillis et al. proposed much more detailed models of immune response differentiating between Natural Killer cells (NK cells), CD8+ cytotoxic T-cells and other lymphocytes (de Pillis et al. 2005, 2006; de Pillis and Radunskaya 2000). This results in ODE models with several equations modelling the dynamics of tumour cells, NK cells, CD8+T cells, other lymphocytic cells, immunotherapy drug concentration and chemotherapy drug concentration. Another detailed model of immune response considering the interactions of cancer cells, NK-cells, lymphokine-activated killer cells, cytotoxic T-cells, helper T-cells and B-cells was presented by Szymańska (2003). Kirschner and Panetta (1998) modelled the dynamics between tumours cells, effector cells, and the cytokine interleukin-2 (IL-2), which serves as a modulator of the immune stimulus. Arciero et al. (2004) extended this model by considering the tumour escape effect induced by TGF- β and corresponding siRNA treatment.

Page and Uhr (2005) proposed different models of tumour dormancy by explicitly modelling the dormant cell population. They neglected the effect of antigen-specific T-cells, but modelled the immune response by an equation describing the effect of antibodies in murine BCL1 lymphoma. A complex model with 10 ODEs and 3 additional equations describing several players of the immune response is given by De Boer and Hogeweg (1986). This model also covers all phenomena from uncontrolled tumour growth to tumour regression due to immune response.

So far, none of the models are designed to explain data of patients under chemotherapy. Dynamics of tumour load are not assessable for humans. Therefore, patient survival data are the only source for parameterising models for the human situation. Since these data are much less informative, we intentionally chose the simplistic version of Kuznetsov et al. (1994) as a basis of our modelling. This model is characterised by a single surrogate effect of the immune system, which best fits to the CD8+ cytotoxic T-cell population (Kuznetsov et al. 1994).

5.2 Modifications of the Kuznetsov Model

Instead of a logistic growth, we assumed an exponential growth term of the tumour since simulations of our model were usually stopped if a certain tumour amount is exceeded (relapse). At this volume, the growth is far below saturation, and thus, our

simplification is reasonable (Norton and Simon 1979). We assumed a “fractal” tumour dimension by applying an exponent c to the tumour load for terms describing the interaction of tumour and immune system. This is based on the observation that lymphoma grow in several lesions rather than in one compact node. The constant c is in between $2/3$ for single node tumours and 1 for disseminated disease. For simplicity, we assumed $c = 0.75$.

The modified model has a different attractor landscape as compared to Kuznetsov et al. (1994) for relevant parameter settings. It turns out that there are only two attractors, namely the tumour grows to infinity while the immune system becomes extinct or the tumour is eliminated and the immune system reaches its steady state. The latter one has the drawback that small amounts of tumour cells are automatically eliminated under specific parameter constellations. Thus, the model does not explain the development of a tumour in an early phase. Our ODE representation is more suitable for describing the effects at larger cell numbers neglecting stochastic effects of small cell numbers. The latter one would require a completely different approach, i.e. by constructing agent based models. For the same reason, with our model we cannot explain late relapses (after more than 2 years), which are probably caused by awaking dormant tumour cells not considered here. The original Kuznetsov model comprise parameter constellations for which there is a stable steady state of small tumour amounts controlled by a stimulated immune system. A possibility to cover this behaviour in our model would be to increase the exponent c to 1 for small tumours in Eq. (2).

5.3 Incorporating the Effects of Chemotherapy

Chemotherapy is introduced by a transient first-order loss of both tumour and immune cells for the duration of one day after chemotherapy application. The dependence of corresponding toxicity parameters on the drug or drug concentration was modelled by a simple power function of the effective dose of a drug introduced in Hasenclever et al. (2001). Alternatively, one has to model each single drug of a polychemotherapy system, which would increase the number of free parameters. Blood cell toxicity is also modelled by first-order loss and a power law dependence on drug concentration. Both assumptions proved adequate in models of haematopoiesis under chemotherapy (Scholz et al. 2005, 2006). We also considered alternative approaches to model the effect of chemotherapy on the immune system by assuming reductions of the production rate of effector cells σ or the rate of effector cell stimulation by the tumour ρ . However, in our hands, these scenarios do not result in paradoxical therapy effects (results not shown).

5.4 Identification of Model Parameters

Since Kuznetsov’s model was parameterised for the murine system, it was necessary to re-parameterise the model for patients. We retrieved parameter estimates or parameter ranges from the literature or set parameters to biologically or clinically plausible values.

To model heterogeneity of patients, we assumed that the parameters tumour growth velocity α , immunogenicity of tumour ρ , chemosensitivity of tumour k_T , and

volume at diagnosis T_{diag} can vary within a certain parameter range. We estimated the distribution of these patient specific parameters by fitting the predictions of our model to clinical survival data. We developed an innovative algorithm to solve this task: At first, we simulated a discrete grid of parameter values. Then we determined the maximum entropy distribution parameterised by certain moment constraints on the grid, which induces a survival curve. The agreement of survival curve and clinical data is optimised by evolutionary strategies. Kirkby et al. (2007) used a stochastic approach to fit their tumour model on clinical survival data. This is performed by drawing parameter values from assumed distribution families, comparing corresponding model results with clinical survival data and optimising the agreement with respect to the parameters of the distribution family. This approach was not feasible for our model in view of the computational burden induced by solving the differential equation system multiple times.

Only a few parameters with large impact on survival curves were determined by fitting model predictions to clinical data, namely expectation and variance of immunogenicity ρ , chemosensitivity of tumour k_T , tumour size at diagnosis T_{diag} , expectation of tumour growth velocity α , and the fixed value of chemosensitivity of immune cells k_E . In consequence, there is still considerable uncertainty regarding model parameters. We extensively analysed the sensitivity of model parameters when establishing the model. It turned out that baseline production of immune cells (σ) and Michaelis–Menten term (η) have a relatively small impact on model behaviour since they are only relevant for small tumour sizes. Similarly, for large tumour sizes, the second term of the first model equation is linear in E so that the fourth term (containing parameter δ) simply implies a shift of the distribution of immunogenicity (ρ). Rather than the single values, the quotient of the mutual destruction rates μ and ν is relevant. It has a larger impact on the quantitative model behaviour but the same results can be achieved by alternative distributions of the other model parameters (results not shown). Better data are required to remove the uncertainty of model parameters in the future. For example, time series data of different immune cell fractions and surrogate markers of tumour load would be helpful.

In general, we considered both means and standard deviations as moment constraints of our multidimensional parameter distribution. Our sensitivity analysis revealed that our mean estimates are substantially better determined than those of the standard deviations. We assumed no (prior) correlation between parameters. However, due to the restriction to admissible parameter sets (compare Sect. 3.3), large values of immunogenicity ρ imply large values of tumour growth velocity α (see Fig. 3). Thus, we decided to drop a moment constraint regarding variance of tumour growth velocity α . As a biological consequence of these considerations, we predict that quickly proliferating tumours are better detected by the immune system which can be explained by a generally higher metabolic activity of tumour cells resulting in higher production rates of cytokines.

5.5 Parameter Estimates are Biologically Plausible

The mean tumour doubling time was estimated as about 6 days with 90 % of values between 3 and 18 days. It is well known that aggressive non-Hodgkin's lymphoma

are highly proliferating with a tumour doubling time between 24 hours and about 30 days in dependence on the histologic subtype (Frolund et al. 2011; Lang et al. 1980; Tubiana 1989). The standard deviation of tumour growth α 0.054 is rather large referred to our grid. This is also plausible as the patient collective of NHL-B2 is heterogeneous (lactate dehydrogenase levels (LDH) normal and greater than normal, complete range of the International Prognostic Index is covered). The tumour stimulation rate of effector cells $\rho = 0.078$ is difficult to interpret as it comprises many aspects of the immune system. However, it is in the same order of magnitude compared to Kuznetsov's estimate of 0.1245 for mice. The expected tumour volume at diagnose T_{diag} is $10^{11.31}$. This fits well to our understanding because in this magnitude the turnover of effector cells is also high, i.e. the tumour becomes symptomatic.

5.6 Limitations in the Fit to Clinical Outcomes

Within the time-frame used for model fitting, parameter estimates resulted in a good agreement of model and survival data of the two randomised clinical trials NHL-B2 and RICOVER-60 comprising five different chemotherapy regimens (Pfreundschuh et al. 2004b, 2008). Predicted hazard ratios between therapy options were in agreement with the observed data, i.e. the paradoxical therapy effects are explained by the model. On the other hand, we have to acknowledge that our model is invalid during therapy possibly due to reporting bias of progresses and toxic side effects under therapy. Additionally, our model cannot explain late relapses, which probably would require introducing elements of stochasticity to model dynamics of residual disease. Note that our equations are only valid for larger cell populations.

5.7 Model Prediction and Outlook

To demonstrate practical use of our model, we performed simulations of modified CHOP regimens by varying therapy intervals and number of cycles. We predicted for example that six cycles of CHOP-14 are necessary for reasonable cure rates. There is only limited potential to improve therapy by further time-intensifications and increasing number of cycles. Results are robust against the uncertainty of our parameter estimates.

Many more predictions are possible, especially with respect to stratified therapies in dependence on patient characteristics. We aim to elaborate this issue and possible clinical consequences in the near future. However, translation of model insights into clinical practice is challenging since there are no well established correlates of model parameters with clinical data. One can only speculate at the moment whether for example LDH is a surrogate marker of tumour growth α and that stage of disease is a surrogate marker of tumour size T_{diag} . We also have to acknowledge that we do not have a surrogate marker for immunogenicity since detailed immune statuses of patients are hardly available. A model extension to account for immunotherapy based on the CD20+ antibody Rituximab is also a work in progress.

Acknowledgements K.R. was funded by a grant of the Federal Ministry of Education and Research of the Federal Republic of Germany ("Haematosys", BMBF/PTJ0315452A). M.S. was funded by LIFE—Leipzig Research Center for Civilization Diseases, University of Leipzig. LIFE is funded by means of

the European Union, by the European Regional Development Fund (ERDF), and by means of the Free State of Saxony within the framework of the excellence initiative. We thank the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (Michael Pfreundschuh, chairman) for the kind permission to use the clinical trial data.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License which permits any use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and the source are credited.

References

- Abbas, A. K., & Lichtman, A. H. (2003). *Cellular and molecular immunology* (7th ed.). Philadelphia: Saunders.
- Abe, R., Ogawa, K., Maruyama, Y., Nakamura, N., & Abe, M. (2007). Spontaneous regression of diffuse large B-cell lymphoma harbouring Epstein-Barr virus: a case report and review of the literature. *J. Clin. Exp. Hematop.*, *47*(1), 23–26.
- Alanio, C., Lemaitre, F., Law, H. K., Hasan, M., & Albert, M. L. (2010). Enumeration of human antigen specific naive CD8+ T cells reveals conserved precursor frequencies. *Blood*, *115*, 3718–3725.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). *Molecular biology of the cell* (4th ed.). London: Taylor & Francis.
- Anderson, B., Jackson, J., & Sitharam, M. (1998). Descartes' rule of signs revisited. *Am. Math. Mon.*, *105*, 447–451.
- Arciero, J. C., Jackson, T. L., & Kirschner, D. E. (2004). A mathematical model of tumour-immune evasion and siRNA treatment. *Discrete Contin. Dyn. Syst.*, *4*(1), 39–58.
- Ashlock, D. (2006). *Evolutionary computation for modeling and optimization*. Berlin: Springer.
- Bishop, M., Dean, R., Steinberg, S., Odom, J., Pavletic, S., Chow, C., Pittaluga, S., Sportes, C., Hardy, N., Gea-Banacloche, J., Kolstad, A., Gress, R., & Fowler, D. (2008). Clinical evidence of a graft-versus-lymphoma effect against relapsed diffuse large B-cell lymphoma after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *Ann. Oncol.*, *19*, 1935–1940.
- Blattman, J. N., Antia, R., Sourdive, D. J., Wang, X., Kaech, S. M., Murali-Krishna, K., Altman, J. D., & Ahmed, R. (2002). Estimating the precursor frequency of naive antigen-specific CD8 T cells. *J. Exp. Med.*, *195*(5), 657–664.
- Brent, R. (1973). *Algorithms for minimization without derivatives*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall.
- Cole, W. H. (1974). Spontaneous regression of cancer: the metabolic triumph of the host? *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, *230*, 111–141.
- Coté, T. R., Biggar, R. J., Rosenberg, P. S., Devesa, S. S., Percy, C., Yellin, F. J., Lemp, G., Hardy, C., Geodert, J. J., & Blattner, W. A., & the AIDS/Cancer Study Group (1997). Non-Hodgkin's lymphoma among people with AIDS: incidence, presentation and public health burden. *Int. J. Cancer*, *73*, 645–650.
- Coulie, P. G., Karanikas, V., Lurquin, C., Colau, D., Connerotte, T., Hanagiri, T., Van Pel, A., Lucas, S., Godelaine, D., Lonchay, C., Marchand, M., van Baren, N., & Boon, T. (2002). Cytotoxic T-cell responses of cancer patients vaccinated with a MAGE antigen. *Immunol. Rev.*, *188*, 33–42.
- De Boer, R. J., & Hogeweg, P. (1986). Interactions between macrophages and T-lymphocytes: tumour sneaking through intrinsic to helper T cell dynamics. *J. Theor. Biol.*, *120*, 331–351.
- de Pillis, L. G., & Radunskaya, A. E. (2000). A mathematical tumour model with immune resistance and drug therapy: an optimal control approach. *J. Theor. Med.*, *3*, 79–100.
- de Pillis, G. L., Radunskaya, A. E., & Wiseman, C. L. (2005). A validated mathematical model of cell-mediated immune response to tumour growth. *Cancer Res.*, *65*, 7950–7958.
- de Pillis, L. G., Gu, W., & Radunskaya, A. E. (2006). Mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors: modeling, applications and biological interpretations. *J. Theor. Biol.*, *238*, 841–862.
- de Vladar, H. P., & González, J. A. (2004). Dynamic response of cancer under the influence of immunological activity and therapy. *J. Theor. Biol.*, *227*, 335–348.
- DeVita, V. J., Canellos, G., Chabner, B., Schein, P., Hubbard, S., & Young, R. (1975). Advanced diffuse histiocytic lymphoma, a potentially curable disease. *Lancet*, *1*, 248–250.
- Dodero, A., Spina, F., Narni, F., Patriarca, F., Cavattoni, I., Benedetti, F., Ciceri, F., Baronciani, D., Scimè, R., Pogliani, E., Rambaldi, A., Bonifazi, F., Dalto, S., Bruno, S., & Corradini, P. (2012). Allogeneic

- transplantation following a reduced-intensity conditioning regimen in relapsed/refractory peripheral T-cell lymphomas: long-term remissions and response to donor lymphocyte infusions support the role of a graft-versus-lymphoma effect. *Leukemia*, 26, 520–526.
- Engel, P. A., & Lee, C. (2009). Sudden appearance and spontaneous regression of diffuse large B cell lymphoma in a man with a broken arm. *BMJ Case Reports*, 1–9.
- Fisher, R. I., Gaynor, E. R., Dahlborg, S., Oken, M. M., Grogan, T. M., Mize, E. M., Glick, J. H., Coltman, C. A. Jr., & Miller, T. P. (1993). Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.*, 328, 1002–1006.
- Frolund, U. C., Nielsen, S. L., & Hansen, P. B. (2011). Burkitt lymphoma is a highly malignant tumour with a doubling time of twenty-four hours. *Ugeskr. Laeger*, 173, 2714–2718.
- Gałach, M. (2003). Dynamics of the tumour—immune system competition—the effect of time delay. *Int. J. Appl. Math. Comput. Sci.*, 13(3), 395–406.
- Hasenclever, D., Brosteanu, O., Gerike, T., & Loeffler, M. (2001). Modelling of chemotherapy: the effective dose approach. *Ann. Hematol.*, 80, 89–94.
- Iwatani, T., Kawabata, H., Miura, D., Ota, Y., & Ohashi, K. (2011). Complete spontaneous regression of primary diffuse large B-cell lymphoma of the breast. *J. Clin. Oncol.*, 29(5), 113–115.
- Jaynes, E. T. (1957). Information theory and statistical mechanics. *Phys. Rev.*, 106(4), 620–630.
- Kapur, J., & Kesavan, H. (1992). *Entropy optimization principle with applications*. San Diego: Academic Press.
- Kedzierska, K., Day, E. B., Pi, J., Heard, S. B., Doherty, P. C., Turner, S. J., & Perlman, S. (2006). Quantification of repertoire diversity of influenza-specific epitopes with predominant public or private TCR usage. *J. Immunol.*, 177, 6705–6712.
- Kirkby, N. F., Jefferies, S. J., Jena, R., & Burnet, N. G. (2007). A mathematical model of the treatment and survival of patients with high-grade brain tumours. *J. Theor. Biol.*, 245, 112–124.
- Kirschner, D., & Panetta, J. C. (1998). Modeling immunotherapy of the tumour—immune interaction. *J. Math. Biol.*, 37, 235–252.
- Kullback, S. (1959). *Information theory and statistics*. New York: Wiley.
- Kuznetsov, V. A., Makalkin, I. A., Taylor, M. A., & Perelson, A. S. (1994). Nonlinear dynamics of immunogenic tumors: parameter estimation and global bifurcation analysis. *Bull. Math. Biol.*, 56(2), 295–321.
- Ladell, K., Hellerstein, M. K., Cesar, D., Busch, R., Boban, D., & McCune, J. M. (2008). Central memory CD8+ T cells appear to have a shorter lifespan and reduced abundance as a function of HIV disease progression. *J. Immunol.*, 180, 7907–7918.
- Lang, W., Kienzle, S., & Diehl, V. (1980). Proliferation kinetics of malignant non-Hodgkin's lymphomas related to histopathology of lymph node biopsies. *Virchows Arch., A.*, 389, 397–407.
- Letellier, C., Denis, F., & Aguirre, L. (2013). What can be learned from a chaotic cancer model? *J. Theor. Biol.*, 322, 7–16.
- Lim, I. G., & Bertouch, J. V. (1988). Remission of lymphoma after drug withdrawal in rheumatoid arthritis. *Med. J. Aust.*, 177, 500–507.
- Mackillop, W. (1990). The growth kinetics of human tumours. *Clin. Phys. Physiol. Meas.*, 11, 121–123.
- Mariette, X., Cazals-Hatem, D., Warszawski, J., Liote, F., Balandraud, N., & Sibilia, J. (2002). Lymphomas in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate: a 3-year prospective study in France. *Blood*, 99(11), 3909–3915.
- Mohsin, N., Budruddin, M., Kamble, P., Khalil, M., Pakkyarra, A., Jha, A., Mohammed, E., Ahmed, H., Ahmed, J., Thomas, S., Campistol, J., & Daar, A. (2007). Complete regression of cutaneous B-cell lymphoma in a renal transplant patient after conversion from cyclosporin to sirolimus. *Transplant. Proc.*, 39, 1267–1271.
- Moon, J. J., Chu, H. H., Pepper, M., McSorley, S. J., Jameson, S. C., Kedl, R. M., & Jenkins, M. K. (2007). Naïve CD4+ T cell frequency varies for different epitopes and predicts repertoire diversity and response magnitude. *Immunity*, 27, 203–213.
- Nalesnik, M. A., Jaffe, R., Starzl, T. E., Demetris, A., Porter, K., Burnham, J. A., Makowka, L., Ho, M., & Locker, J. (1988). The pathology of posttransplant lymphoproliferative disorders occurring in the setting of cyclosporine A-Prednisone immunosuppression. *Am. J. Pathol.*, 133(1), 173–192.
- Niitsu, N., Okamoto, M., Nakamine, H., & Hirano, M. (2010). Clinicopathologic correlations of diffuse large B-cell lymphoma in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. *Cancer Sci.*, 101(5), 3909–3913.

- Norton, L., & Simon, R. (1979). New thoughts on the relationship of tumour growth characteristics to sensitivity to treatment. In *Methods in cancer research* (Vol. 17, pp. 53–90). San Diego: Academic Press.
- Page, K. M., & Uhr, J. W. (2005). Mathematical models of cancer dormancy. *Leuk. Lymphoma*, *46*(3), 313–324.
- Pfreundschuh, M., Trümper, L., Kloess, M., Schmits, R., Feller, A. C., Rudolph, C., Reiser, M., Hossfeld, D. K., Metzner, B., Hasenclever, D., Schmitz, N., Glass, B., Rube, C., & Löffler, M. (2004a). Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas: results of the NHL-B1 trial of the DSHNHL. *Blood*, *104*(3), 626–633.
- Pfreundschuh, M., Trümper, L., Kloess, M., Schmits, R., Feller, A. C., Rube, C., Rudolph, C., Reiser, M., Hossfeld, D. K., Eimermacher, H., Hasenclever, D., Schmitz, N., & Löffler, M. (2004b). Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood*, *104*(3), 634–641.
- Pfreundschuh, M., Schubert, J., Ziepert, M., Schmits, R., Mohren, M., Lengfelder, E., Reiser, M., Nickenig, C., Clemens, M., Peter, N., Bokemeyer, C., Eimermacher, H., Ho, A., Hoffmann, M., Mertelsmann, R., Trümper, L., Balleisen, L., Liersch, R., Metzner, B., Hartmann, F., Glass, B., Poeschel, V., Schmitz, N., Ruebe, C., Feller, A. C., & Loeffler, M. (2008). Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol.*, *9*, 105–116.
- Scholz, M., Engel, C., & Loeffler, M. (2005). Modelling human granulopoiesis under polychemotherapy with G-CSF support. *J. Math. Biol.*, *50*, 397–439.
- Scholz, M., Engel, C., & Loeffler, M. (2006). Model-based design of chemotherapeutic regimens that account for heterogeneity in leucopenia. *Br. J. Haematol., Suppl.*, *132*, 723–735.
- Schwefel, H. (1984). Evolution strategies: a family of nonlinear optimization techniques based on imitating some principles of organic evolution. *Ann. Oper. Res.*, *1*, 65–167.
- Skipper, H. E., Schabel, F. M. J., Mellet, B., Montgomery, J. A., Wilkoff, L. J., Lloyd, H. H., & Brockman, R. W. (1970). Implications of biochemical, cytokinetic, pharmacologic and toxicologic relationships in the design of optimal therapeutic schedules. *Cancer Chemother. Rep.*, *54*(6), 431–450.
- Sotolongo-Costa, O., Molin, L. M., Perez, D. R., Antoranz, J., & Reyes, M. C. (2003). Behavior of tumors under nonstationary therapy. *Phys. D, Nonlinear Phenom.*, *178*, 242–253.
- Stoer, J. (1989). *Numerische Mathematik I* (5th ed.). Berlin: Springer, s. 277.
- Szymańska, Z. (2003). Analysis of immunotherapy models in the context of cancer dynamics. *Int. J. Appl. Math. Comput. Sci.*, *13*(3), 407–418.
- Tubiana, M. (1989). Tumor cell proliferation kinetics and tumour growth rate. *Rev. Oncol.*, *2*, 113–121.
- Wang, H., Wu, D., Xiang, H., Chen, A., & Liu, J. (2010). Pulmonary non-Hodgkin's lymphoma developed during long-term methotrexate therapy for rheumatoid arthritis. *Rheumatol. Int.*, 1–4.
- Watari, J., Saitoh, Y., Fujiya, M., Nakamura, K., Inaba, Y., Okamoto, K., Tanabe, H., Yasuda, A., Miyokawa, N., & Kohgo, Y. (2005). Spontaneous remission of primary diffuse large B-cell gastric lymphoma. *J. Gastroenterol.*, *40*(4), 414–420.

Kapitel 3

Das Modell mit kombinierter Chemo- und Immuntherapie

Publikation 2: 'Modelling combined chemo- and immunotherapy of high-grade non-Hodgkin lymphoma'

Leuk Lymphoma (2015): zur Veröffentlichung akzeptiert und online abrufbar.
DOI 10.3109/10428194.2015.1110746

Rösch K, Scholz M, Hasenclever D

Im Rahmen dieser Publikation wurde das biomathematische Chemotherapiemodell durch die Implementierung der Immuntherapie mit Rituximab erweitert. Das Modell wurde an Studien von älteren aNHL Patienten angepasst und mit der Vorhersage von sechs anderen Studien validiert. Ziel ist wiederum die Vorhersage von Ergebnissen verschiedener CHOP-Rituximab-Varianten (Zeitliche Verabfolgung, Dosisanzahl, Dosisstärke).

3.1 Struktur des Modells

Die Erweiterung des Therapiemodells um die Komponente der Immuntherapie stützt sich auf ein pharmakokinetisches Rituximabmodell von Müller et al [68]. Dieses Modell ermöglicht die Simulation zeitlicher Verläufe von Serumkonzentrationen von Rituximab in Abhängigkeit der Dosisstärken und Zeitpunkte der Applikation. Die Wirkung von Rituximab fokussiert sich in dieser Arbeit auf die Annahme von zwei Effekten: Erstens werden abhängig von Rituximab-Konzentration Tumorzellen direkt zerstört. Zweitens wird die tumorinduzierte Rekrutierung der Effektorzellen über einen festgelegten Zeitraum stärker stimuliert. Dies wirkt sich folgendermaßen im Differentialgleichungssystem des Modells aus:

$$(3.1) \quad \frac{dE}{dt} = \sigma + \rho \cdot (1 + f_{Rit} \cdot \chi_{Rit}) \cdot \frac{ET^c}{\eta + T^c} - \mu ET^c - \delta E - k_E \chi_{CT} E,$$

$$(3.2) \quad \frac{dT}{dt} = \alpha T - \nu ET^c - k_T \chi_{CT} T - k_{Rit} C_{Rit} T.$$

Die Rekrutierungsrate ρ der Effektorzellen durch Tumorzellen wird um den Faktor f_{Rit} erhöht. χ_{Rit} ist die charakteristische Rituximabfunktion, welche 1 vom ersten Tag der

Rituximabgabe bis 100 Tage nach der letzten Injektion ist. C_{Rit} ist die Rituximab-Konzentration im Blutserum nach [68], k_{Rit} die Rate der Zerstörung von Tumorzellen durch Rituximab.

3.2 Parametrisierung des Modells

Durch die Implementierung der Immuntherapie in das Modell müssen zwei zusätzliche Parameter angepasst werden: die Stärke der Tumortoxizität k_{Rit} und der Immunstimulation f_{Rit} von Rituximab. Dazu werden zunächst alle Modellparameter ohne Rituximab-Therapie geschätzt wie in der vorherigen Publikation beschrieben. Man erhält eine Wahrscheinlichkeitsverteilung auf den Modellparametern Tumorstadium α , Immunogenität ρ , Tumorzellen bei Diagnose T_{diag} und Chemosensitivität k_T . Zur Anpassung der Rituximab-Parameter wird eine Stichprobe aus dieser Wahrscheinlichkeitsverteilung gezogen. Auf dieser Stichprobe werden Rituximabtherapien mit möglichen Werten der Rituximabparameter simuliert. Die so erhaltenen modellbasierten Überlebenskurven werden an klinische Überlebenskurven angepasst, indem Parameterwerte gewählt werden, bei denen der Abstand zwischen den Kurven minimal wird.

Die Parameter wurden mit den Studien NHL-B2 und RICOVER-60 für ältere Patienten mit aggressiven Lymphomen angepasst. Zur Validierung werden sechs weitere Studien verwendet. Eine Übersicht aller verwendeten Studien findet man in der Publikation.

3.3 Ergebnisse

Das Modell reproduziert Überlebenskurven aus den klinischen Studien NHL-B2 und RICOVER-60. Therapiekontraste dieser beiden Studien werden vom Modell korrekt wiedergegeben. Für die Rituximab Parameter ergibt sich eine starke Stimulierung des Immunsystems und eine geringe direkte Zerstörung von Tumorzellen durch Rituximab bei älteren Patienten. Die Erhöhung der Effektorzellrekrutierungsrate ρ durch Rituximab verschiebt die Separatrix im Phasenraum nach links (siehe Kapitel 2). Dies bedeutet eine Vergrößerung des Einzugsbereiches, indem der Tumor vom Immunsystem zerstört wird. Dadurch kommt es bei Rituximab-Gabe auch bei unveränderter CHOP-Therapie öfter zu einer Heilung des Tumors.

Zur Validierung der Ergebnisse wurden Überlebenskurven aus sechs weiteren Studien mit den modellbasierten Überlebenskurven verglichen. Es gab im Allgemeinen eine gute Übereinstimmung zwischen Log-Hazard-Raten und Überlebenskurven des Modells und der klinischen Daten. Einzelne Abweichungen zwischen Studienergebnissen und Modellsimulationen wurden diskutiert.

3.4 Vorhersagen

Mit dem angepassten Modell wurden Vorhersagen von Überlebensraten bezüglich der Auswirkungen veränderter Verabfolungen von CHOP und Rituximab gemacht. Zuerst wurde der Therapieplan von Rituximab festgesetzt auf 8 Dosen Rituximab in 21-tägigen Intervallen. CHOP wurde bezüglich Zyklenanzahl und Intervalllänge zwischen den Zyklen

variiert. 6 Zyklen CHOP in 14-tägigen Abständen erwies sich als nahezu optimal, wobei bei Reduzierung der Zyklenanzahl eine Verschlechterung der Heilungsraten zu beobachten war.

Danach wurden 6 Dosen CHOP in 14-tägigen Intervallen fixiert und die Rituximab-Gabe bezüglich Anzahl der Dosen und Intervalllänge variiert. Laut Vorhersage ist die Länge der Intervalle kaum relevant. Eine Erhöhung der Zyklenzahl von Rituximab auf mehr als 8 lässt nur noch geringe Verbesserungen der Heilungsraten erwarten.

ORIGINAL ARTICLE: RESEARCH

Modeling combined chemo- and immunotherapy of high-grade non-Hodgkin lymphoma

Katja Rösch^{a,b}, Markus Scholz^{a,b} and Dirk Hasenclever^a

^aInstitute for Medical Informatics, Statistics and Epidemiology, University of Leipzig, Leipzig, Germany; ^bLIFE Research Center for Civilization Diseases, University of Leipzig, Leipzig, Germany

ABSTRACT

Moderate, but not massive intensification of CHOP-21 improves outcome in aggressive non-Hodgkin lymphoma. Adding immunotherapy with Rituximab was a break-through, but levels differences in chemotherapy. Ongoing trials attempt to optimize R-CHOP type regimens. We present a mathematical model of chemo-immunotherapy to explain published and aiming at predicting future trials comparing R-CHOP variants. We hypothesize that, for cure, the immune system must dominate residual tumor cells at the end of treatment. Chemotherapy reduces both tumor and immune cells. Rituximab immunotherapy boosts the immune response. We translate this reasoning into a differential equations model. Model parameters are estimated using data of randomized clinical trials in elderly patients. The model explains observed hazard ratios between treatments. It explains why too intense chemotherapy could be detrimental. The model is validated predicting six published independent studies. As an application, we varied treatment schedules and predict that current R-CHOP variants have only limited optimization potential.

ARTICLE HISTORY

Received 2 June 2015
Revised 27 September 2015
Accepted 14 October 2015

KEYWORDS

Biomathematical model,
chemotherapy, lymphoma,
Rituximab

Introduction



Chemotherapy for highly malignant non-Hodgkin lymphoma


Three weekly CHOP-21 chemotherapy was the historical standard treatment [1] for highly malignant (aggressive) non-Hodgkin lymphoma (aNHL). Early attempts with massive treatment intensification were frustrated by the National Priority Study [2], showing that three intense experimental chemotherapies are not better than CHOP-21. The German high-grade non-Hodgkin lymphoma study group (DSHNHL) systematically investigated moderate intensifications of six cycles of CHOP-21: Adding etoposide increased event-free survival rates for elderly as well as for younger patients [3,4]. Reducing cycle length from 21 to 14 days or increasing number of cycles from 6 to 8 was advantageous for elderly patients [3,5]. Thus, moderately time- or dose-intensified CHOP-21 variants improve outcome. In contrast, double-intensified CHOEP-14 was inferior to CHOP-14 in elderly patients [3] despite adequate treatment delivery. In younger patients, double dose-intensified therapy (High-CHOEP-21) failed to improve outcome [6].

Thus, there is a saturation limit to chemotherapy treatment intensification.

Immunotherapy with Rituximab for highly malignant non-Hodgkin lymphoma

Combining chemotherapy and immunotherapy with the monoclonal antibody Rituximab led to a paradigmatic change in lymphoma therapy [5,7,8]. Rituximab destroys malignant (but also normal) B-cells that have CD20 on their surface in the following ways: Rituximab binds on the surface of the tumor cells and activates the complement cascade which induces phagocytosis (complement-dependent cytotoxicity, CDC) [9,10]. It activates effector cells by stimulating the complement system (complement-dependent cellular cytotoxicity) [11] and it makes the tumor cells visible for immune effector cells bearing Fc receptors for antibody coated tumor cells (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity ADCC) [9,10]. Finally, it induces direct apoptosis of tumor cells [9,10]. Rituximab may also amplify the effect of chemotherapy by down-regulation of anti-apoptotic IL-10 loops and Bcl-2 [10,12–14].

CONTACT Dirk Hasenclever  dirk.hasenclever@imise.uni-leipzig.de  Institute for Medical Informatics, Statistics & Epidemiology (IMISE), University of Leipzig, Härtelstraße 16-18, 04107 Leipzig, Germany

 Supplemental data for this article can be accessed at <http://dx.doi.org/10.3109/10428194.2015.1110746>.

© 2015 Taylor & Francis

In clinical practice, Rituximab seems to level formerly observed differences between CHOP variants: The advantage of eight over six cycles CHOP-14 in elderly patients disappears with addition of Rituximab [5]. Several studies failed to show superiority of intensified R-CHOP regimens over R-CHOP-21 [8,15,16]. Ongoing research focuses on the optimal combination of chemo- and immunotherapy and optimization of Rituximab schedules [17,18].

A model of chemo- and immunotherapy to explain and predict trial results

We already published a simple mathematical model of the effect of chemotherapy on a tumor under the attack of an immune response [19]. We also developed a method to estimate model parameters from Event free survival (EFS) data of comparable patient populations. Here, we extend our model to include Rituximab immunotherapy and apply it on studies investigating CHOP variants with and without Rituximab.

We focus on studies in elderly aNHL patients (>60 years) which include all IPI scores, because a sufficient number of studies are available or ongoing for this group of patients allowing to parametrize our model.

In the present paper, we parameterize our model based on two randomized four-arm studies of the DSHNHL (NHL-B2 and RICOVER). We validate the model by predicting outcomes of six other studies. We explore the potential of combining Rituximab schedules with CHOP variations.

Materials and methods

Outline of main model ideas

A growing immunogenic tumor triggers a specific immune response mainly mediated by cytotoxic T-cells and natural killer cells. Tumor and immune effector cells fight until one side is dominated. Indeed, aNHL is known to be immunogenic: Patients under immunosuppression after organ transplant [20] or treated with methotrexate for rheumatoid arthritis [21–24] have an increased lymphoma risk. These lymphomas frequently regress spontaneously when immunosuppression is stopped [25].

For cure, the effector cells must dominate the residual tumor cells at the end of treatment. Intensified chemotherapy leads to both, higher tumor and effector cell kill – possibly such that the balance is paradoxically tipped in favor of the lymphoma [compare Fig. 1]. This explains that more intense treatment can lead to inferior results.

Beside a moderate direct cell kill, Rituximab immunotherapy boosts the immune response. We translate this reasoning into a differential equations model.

Model

We present our former model in brief. Justifications, extensive discussion and mathematical details can be found elsewhere [19]. The core model consists of a system of two ordinary differential equations (ODE) for the number of tumor cells T and a surrogate number of immune effector cells E . The equations describe the dynamics of tumor T , respectively, immune system E caused by interactions of a growing tumor, a triggered anti-tumor immune response and the effect of chemotherapy on both.

For the dynamics of tumor cells, the equation is as follows:

$$\frac{dT}{dt} = \alpha T - \nu ET^c - k_T T \cdot \text{Dose}^{\theta_T} \cdot 1_{CT}. \quad (1)$$

The tumor shows exponential growth with growth rate α in the absence of immune effector cells or chemotherapy (first term).

Tumor cells may be killed with rate ν when encountered by effector cells (second term). We assume that the encounter of effector and tumor cells takes place mainly on the outside surface of tumor nodules. The exponent c accounts for the shape of the tumor varying between a single node ($c = 2/3$) and a leukemia-like totally disseminated lymphoma ($c = 1$). We assume $c = 0.75$ (multiple nodules) in the following.

Chemotherapy kills tumor cells according to the chemosensitivity of the tumor cells k_T while delivered (third term). The chemotherapy effect is assumed to last one day for each application. This is modeled by the characteristic function 1_{CT} , which equals one on each day chemotherapy is given and zero else. Dose represents the relative strength of chemotherapy cell kill. It equals 1 for CHOP, 1.34 for CHOEP and 1.8 for High-CHOEP regimen. These relative values are derived from the effective dose model [26] parameterized by a meta-analysis of chemotherapy comparing trials. The parameters θ_T as well as θ_E (in the following equation) describe non-linearity in the relation of dose and kill rates.

The dynamics of effector cells reads as follows:

$$\frac{dE}{dt} = \alpha + \rho \frac{ET^c}{\eta + T^c} + \delta E - \mu ET^c - k_E E \cdot \text{Dose}^{\theta_E} \cdot 1_{CT}. \quad (2)$$

At first, there is a constant influx σ of effector cells battling the tumor. The second (Michaelis–Menten) term describes the stimulation of the production of specific effector cells due to the presence of the tumor with immunogenicity ρ ; η is the number of tumor cells at

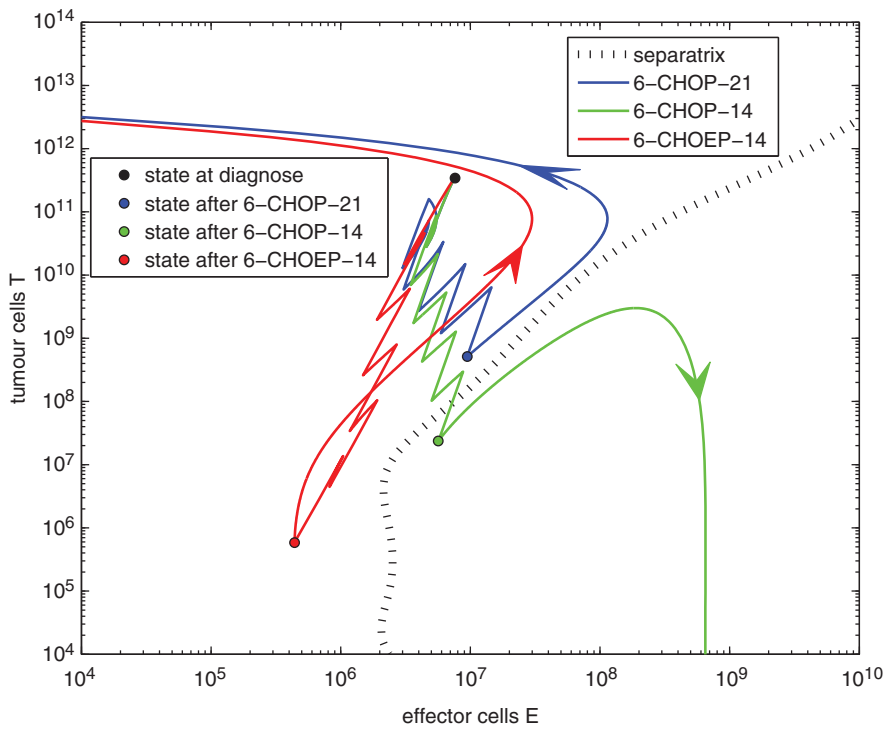


Figure 1. Phase diagram illustration of model behavior without considering Rituximab: System states are depicted in an E versus T plane. A separatrix (black dotted) separates states leading to cure (below the separatrix), in which the immune cells eliminate tumor cells, and states leading to relapse, from which the tumor dominates the immune system. Time courses under three chemotherapy regimen are shown illustrating that too intense treatment can lead to relapse despite a higher net cell kill. While 6xCHOP-21 and the most intense 6xCHOEP-14 both result in relapse, the patient would be cured under 6xCHOP-14 due to the lesser degree of toxicity on the effector cells.

which the effector cell stimulation rate is half-maximal. Effector cells die at a rate δ or may be killed in combat with rate μ when encountering tumor cells. Chemotherapy reduces effector cells according to the chemosensitivity of the effector cells k_E .

Model parameters

Several model-parameters are treated as constants. Values are determined from the literature possibly scaling up from mice to humans. The tumor growth velocity α , immunogenicity ρ , chemosensitivity of tumor k_T respective CHOP and the initial tumor burden at diagnosis T_{diag} are assumed to vary between patients explaining observed differences in therapy outcome. We postulate a distribution of these parameters within each study population. Population-specific distributions of parameters and other unknown parameters can be estimated from event-free survival curves observed in clinical trials (see the section “Model simulation”; see also [19] for further mathematical details). An overview of fixed parameter settings as well as ranges of parameters assumed to be heterogeneous between patients is provided in Supplemental Table S1.

Incorporating Rituximab into the model

We adopt a published Rituximab pharmacokinetic model [27]. Thereby we can simulate dynamics of Rituximab concentration C_{Rit} for arbitrary dosing and timing schedules of Rituximab [see Supplemental Fig. S1].

The therapy effect of Rituximab is modeled as a concentration-dependent additional direct tumor cell kill with rate k_{Rit} . Effector cells remain unaffected by this direct kill.

$$\frac{dT}{dt} = \alpha T - vET^c - k_T T \cdot \text{Dose}^{\theta_T} \cdot 1_{CT} - k_{\text{Rit}} C_{\text{Rit}} T. \quad (1')$$

Moreover, Rituximab is modeled by increasing the production of tumor-specific immune cells ρ by a factor f_{Rit} :

$$\frac{dE}{dt} = \sigma + \rho(1 + f_{\text{Rit}} \cdot 1_{\text{Rit}}) \cdot \frac{ET^c}{\eta + T^c} - \delta E - \mu ET^c - k_E E \cdot \text{Dose}^{\theta_E} \cdot 1_{CT}, \quad (2')$$

where 1_{Rit} is equal to 1 from the first Rituximab application up to 100 days after the last Rituximab injection independent of the Rituximab concentration C_{Rit} .

Both effects modeled are consistent with known biology. Regarding clinical outcome, a direct cell kill is needed to explain short-term responses with Rituximab monotherapy in relapsed aNHL [28]. The immune stimulation is needed to explain the attenuation of chemotherapy effects when Rituximab is added.

Model simulation

Detailed information on model simulation and fitting is provided in the supplement material and [19]. In brief, the differential equation system is initialized with a small tumor load and immune system at steady state. When a certain tumor load is reached, we simulate different therapies by specifying corresponding therapy parameters (chemotherapy toxicities k_T and k_E , Rituximab efficacy k_{Rit} and f_{Rit}) and schedules (cycle number, cycle duration, Rituximab schedule). Time to relapse is determined when a certain volume of the tumor is exceeded during or after therapy. This procedure is performed for a large set of possible model parameters representing patient heterogeneity. A study population is represented by a distribution on this set of model parameters. Sampling from this distribution generates survival data.

Unknown parameters of the model can be fitted minimizing the distance between observed and simulated EFS curves using an evolution algorithm explained in detail in Ref. [19]. Exact timing of early progression is prone to error, and late relapses are not covered by the model. Thus, we focused our parameter fitting on the time interval between day 200 and day 725 after start of therapy. In general, we considered EFS curves. If EFS is not available, progression free survival was used.

Clinical studies analyzed

Table I details the studies considered here. Individual patient data were made available by the DSHNHL for the studies NHL-B2, RICOVER, SMARTE-R and DENSE-R.

Table I. Clinical studies on CHOP/R-CHOP variants in unselected elderly patients (age over 60 years; including all International prognostic Index IPI risk groups).

Study name	Regimen	# Cycles	Intervals (days)	Rituximab	Rituximab schedule	Patient characteristics	Reference
NHL-B2	CHOP vs. CHOEP	6	21 vs. 14	No	–	61–75 years	[3]
RICOVER-60	CHOP	6 vs. 8	14	Y vs. N	8xR-14	61–80 years ^a	[5]
LNH98-5	CHOP	8	21	Y vs. N	8xR-21	60–80 years	[7]
LNH03-6B	CHOP	8	21 vs. 14	Yes	8xR-21/14	60–80 years	[16]
Cunningham et al.	CHOP	6 vs. 8	21 vs. 14	Yes	8xR-21/14	>60 years subgroup	[15]
Habermann et al.	CHOP	6/8	21	Y vs. N	[-7, -3, 40, 82, 124]	60–92 years	[29]
DENSE-R	CHOP	6	14	Yes	[0, 1, 4, 8, 15, 22, 29, 43, 57, 71, 85, 99]	61–80 years	[17]
SMARTE-R	CHOP	6	14	Yes	[-4, -1, 10, 29, 57, 99, 155, 239]	61–80 years	[18]

^aOnly the subgroup of age <75 years was considered here to improve comparability with NHL-B2.

A percentage of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) in these patients is in between 71% and 80%.

For the other studies, hazard ratios were abstracted from the publications and EFS curves were retrieved from publications using “Ycasd” [29].

NHL-B2 and RICOVER feature a four arm full-factorial design. They are sufficient to parameterize the model as they provide information on dose escalation (addition of Etoposide), dose densification (14 day instead of 21 day cycles), number of cycles (6 vs 8) and the effect of Rituximab. We estimated model parameters from these studies by fitting the predictions of the model to the survival data as explained above.

We validated the model predicting outcomes in four published randomized studies: LNH98-5, LNH03-6B, Cunningham et al. and Habermann et al. One scaling parameter was used to account for differences in study populations.

The study of Cunningham et al. also included patients under the age of 60. We here consider the treatment effects in patients 60–65 years as well as >65 years from a sub-group analysis provided in the paper.

The study of Ref. [30] has a complex design since application of six or eight cycles of chemotherapy as well as Rituximab dosing depend on the results of staging after four and six cycles. We simplified the study design in our simulation by simulating six cycles R-CHOP 21 for all patients (46% of the patients received six cycles, 33% more than six, 20% less than six). Only arms without Rituximab maintenance were modeled.

DENSE-R and SMARTE-R are single arm phase II studies investigating different Rituximab schedules. In the respective publications, the 6xR-CHOP-14 arm from RICOVER was considered adequate as comparator.

Results

Qualitative model behavior

The basic differential equation model (see “Materials and methods”) for the joint time course of tumor and

immune effector cells has two eventual fates after end of therapy: Either tumor cells dominate the immune response, then the tumor grows without limit, while the number of effector cells battling the tumor tends to zero. Alternatively, effector cells successfully eliminate the tumor completely, i.e. the patient is cured. Thereafter, immune cells return to their tumor-free steady state (not shown).

Whether cure occurs, depends on the number of tumor cells T and effector cells E at the end of therapy. Fig. 1 shows an E versus T phase diagram for a possible parameter constellation of a patient. A separatrix divides the quadrant into states of relapse and those resulting in cure. Successful treatment is achieved if and only if the patient status after therapy is below the separatrix. The figure shows that the patient relapses under 6xCHOP-21 but is cured after 6xCHOP-14. The patients also relapse after 6xCHOEP-14 although this regimen results in the lowest amount of residual tumor cells after therapy. Thus, the model features paradoxical treatment behavior allowing a more intense therapy to be detrimental.

In the model, immunotherapy with Rituximab has a moderate direct tumor cell kill, but mainly increases the production of tumor-specific immune effector cells. Fig. 2 shows that this translates into a shift of the

separatrix toward the left. While the patient presented at Fig. 2 relapses rapidly with 6xR-CHOP-21, and after initial response, also after 6xCHOP-14, he would be cured under 6xR-CHOP-14.

Model fit to NHL-B2 and RICOVER

The model was parameterized using data of NHL-B2 and RICOVER. For model parameter estimates see Table SII in the Supplement. The model achieves a reasonable fit in the training set of studies (see Fig. 3 for RICOVER, results for NHL-B2 can be found in Fig. 7 of [19]). Moreover, the model correctly explains all 12 treatment contrasts possible for NHL-B2 and RICOVER [Fig. 4].

Model validation

Fig. 5 plots the observed versus the predicted log hazard ratios of six additional trials not used for parameter fitting.

The model well explains the contrasts of the two randomized studies LNH98-5 and Habermann et al. comparing CHOP versus R-CHOP regimens. Two studies (LNH03-6B, Cunningham et al.) investigate whether the benefit from CHOP-14 over CHOP-21 ($lhr = 0.36$ seen in

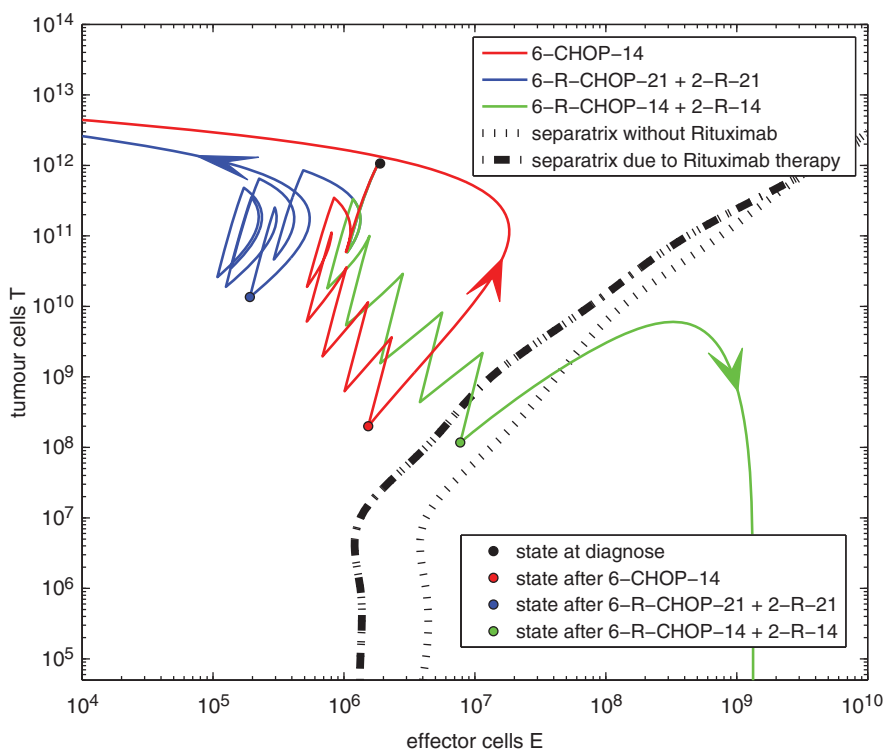


Figure 2. Phase diagram illustration of model behavior with considering Rituximab: System states are depicted in an E versus T plane. Separatrices without (black dotted) and with Rituximab (black dashed, shifted to the left) are shown. Time courses under three chemotherapy regimen are shown: A patient with this set of parameters would experience only a minor response after 6xR-CHOP-21, a relapse after 6xCHOP-14, but cure with 6xR-CHOP-14.

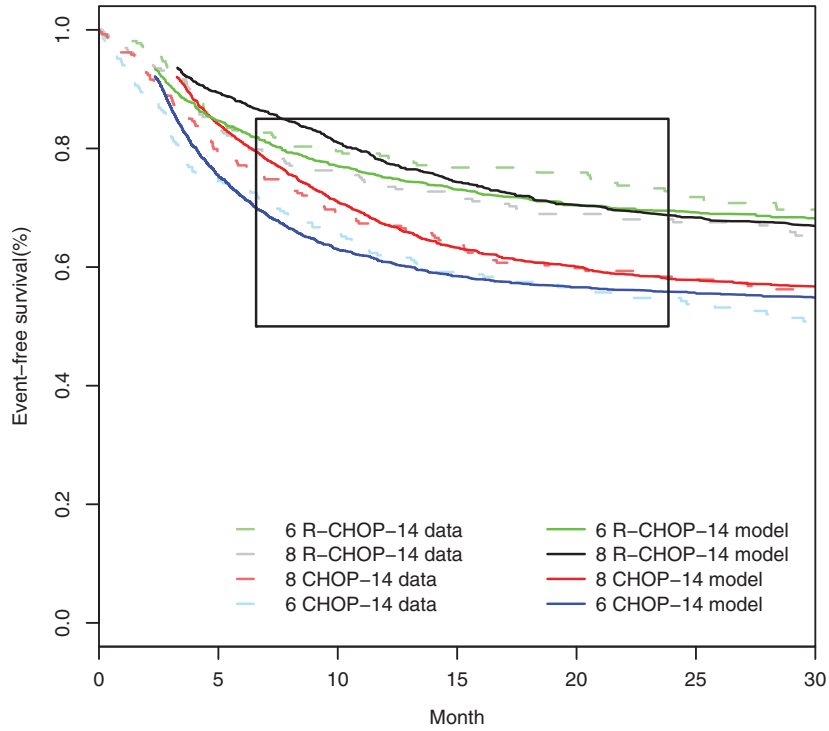


Figure 3. Observed EFS curves (dashed) for the four trial arms in RICOVER compared with the model fit (solid). The black box focuses on the time range on which the fit was performed.

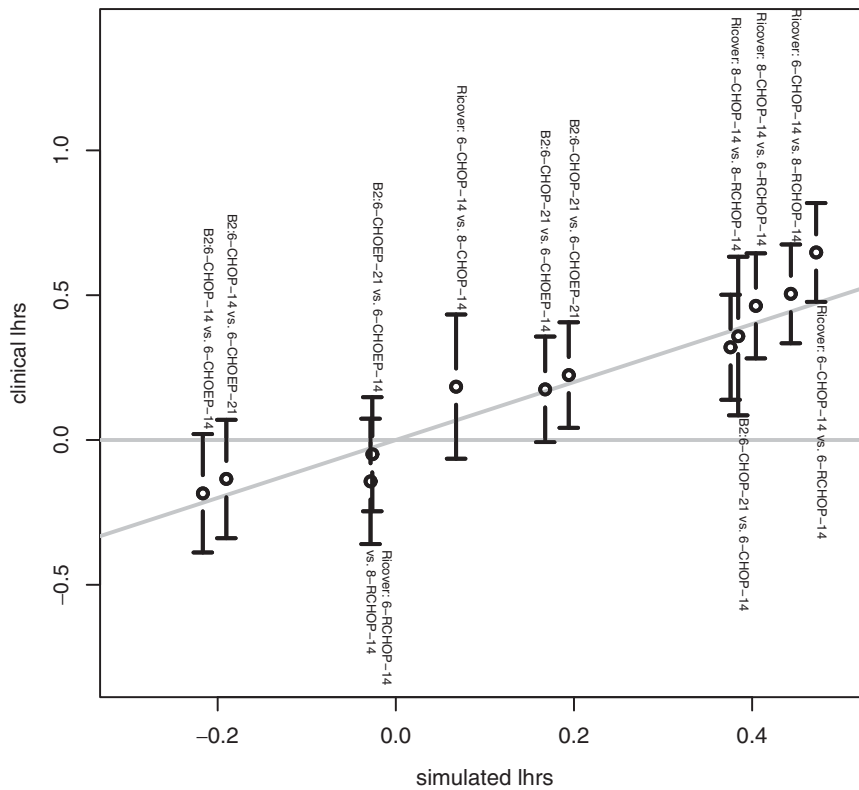


Figure 4. Pairwise log hazard ratios (at 24 months) predicted by the model versus 95% confidence intervals of the observed log hazard ratios for all randomized contrasts in NHL-B2 and RICOVER. A good agreement between predicted hazard ratios and corresponding estimates from clinical trials can be observed. The fit is excellent with the model predictions (on the diagonal) cutting the center regions of the confidence intervals.

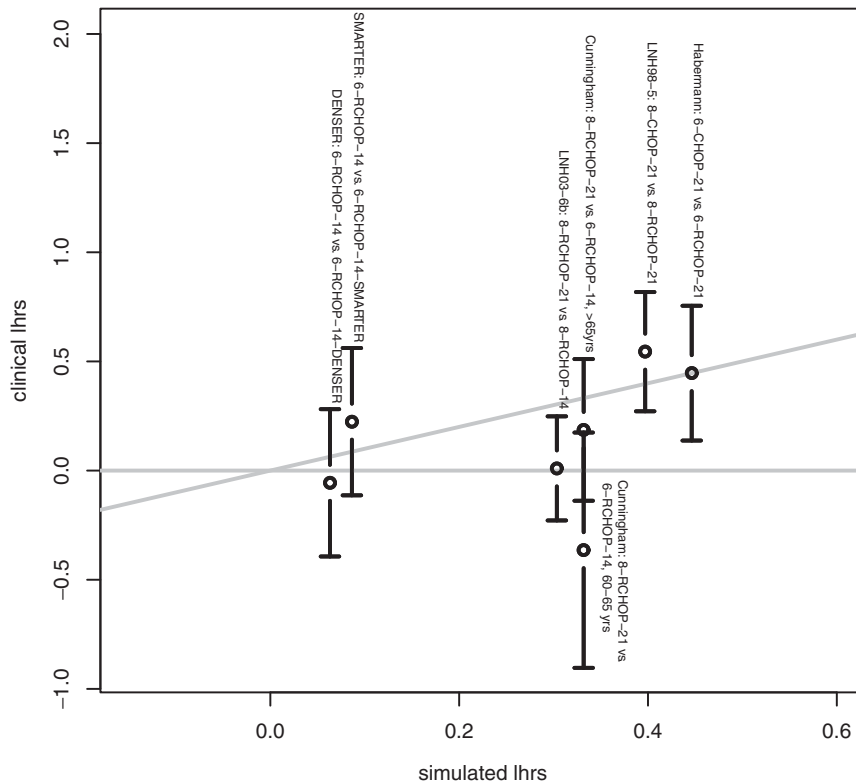


Figure 5. Model validation – observed versus predicted log hazard ratios of six published trials. The study of Cunningham et al. is represented twice with their age subgroup analyses 60–65 and over 65 years of age.

NHL-B2) persists when combined with Rituximab with negative result. While the results of Cunningham et al. in the subgroup of patients over 65 years are consistent with the model, LNH98-5 did not confirm the superiority of R-CHOP-14 over R-CHOP-21 predicted by the model (see “Discussion”).

SMARTE-R and DENSE-R are single-arm trials compared with 6xR-CHOP-14 of RICOVER. The aim was to improve Rituximab schedule. Corresponding time courses of Rituximab concentration according to the pharmacokinetic model of [27] are depicted in Fig. S1. Both contrasts are well explained by the model. The model predicts that the immune-stimulatory effect of Rituximab is more important than the direct cell kill, i.e. longer duration of immune stimulation in SMARTE-R is slightly better than higher peak concentrations in DENSE-R.

Predictions regarding alternative R-CHOP regimen for elderly patients

We used our model to make clinically relevant predictions regarding alternative CHOP-like chemotherapies and Rituximab schedules [see Fig. 6]. First, we kept Rituximab scheduling fixed at eight doses with time distance of 21 days and varied CHOP treatment

regarding time distance and number of cycles. Results showed that 6xR-CHOP-14 is close to optimal but can also not be reduced to a lower number of cycles without worsening the overall outcome.

Then, we kept 6xCHOP-14 constant and varied the scheduling of Rituximab. While time distance between Rituximab applications appears to be irrelevant, only small improvements can be expected for higher number of Rituximab applications.

Discussion

In the past, the major resource for therapy improvements of aNHL was dose densification made possible by extended supportive care such as G-CSF applications. However, these intensifications were only partly successful [3–6]. The introduction of the monoclonal B-cell antibody Rituximab added a new therapy option and ongoing studies pursue to find the best Rituximab and chemotherapy schedule [5,7,15,16,30–33].

Here, we developed a biomathematical model of combined immune-chemotherapy for high-grade B-cell lymphoma (mainly DLBCL) in order to predict yet untested therapy regimen. This would allow us to generate hypotheses regarding promising scenarios. Hence, it is our major intention to go beyond theoretical

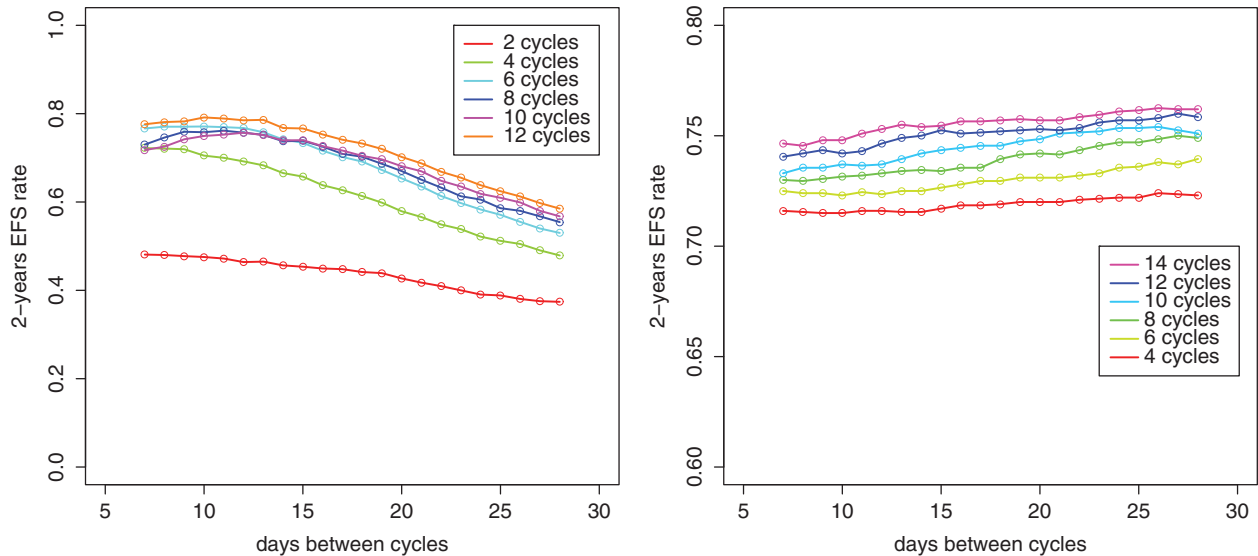


Figure 6. Model predictions of modified schedules of R-CHOP variants in elderly patients. In the left figure, CHOP schedule is varied between time distance of 7–28 days or number of injections between 2 and 12. Rituximab is given eight times every 21 days. In the right figure, only scheduling of Rituximab therapy is varied between time distance of 7–28 days or number of injections between 4 and 14. Chemotherapy is kept fixed at 6xCHOP-14.

or pre-clinical models of the interactions of tumor and immune system proposed by other groups [34–45]. To our knowledge, this is the first attempt to directly explain outcomes of clinical chemotherapy trials by mechanistic modeling.

Our model was constructed as an extension of a model of lymphoma chemotherapy proposed recently by us [19]. Here, we added the effect of immune therapy represented by Rituximab applications and applied the model to a broad range of clinical scenarios regarding elderly aNHL patients. The model is based on a set of biologically plausible assumptions regarding the tumor growth, immune reaction, interaction of tumor and immune system and effects of immune-chemotherapy thereon. These assumptions are translated into ordinary differential equations of the tumor, the immune response and the strength of chemo- and Rituximab therapy according to their schedules. We account for Rituximab pharmacokinetics by attaching a model recently proposed by Muller et al. [26]. The pharmacokinetic parameters of this model were pooled over sex and weight. Considering sex and other risk factors of therapy outcome in our model requires estimation of separate parameter distributions which is planned for a later version of our model.

Several mechanisms of action are described for Rituximab [9–14,45,46] and it is still unclear which of these mechanisms are most important. To model Rituximab, it was necessary to simplify this biological complexity. For our model, we assumed that Rituximab results in both, a direct cell kill and an increased recruitment of specific immune cells which would fit to

CDC. According to our simulations, both mechanisms are required to model Rituximab therapy but parameters of direct cell kill and immune-stimulation can be compensated by each other to some extent (results not shown). From the model perspective, increased recruitment of immune cells (CDC) can hardly be distinguished from more effective tumor cell kill (ADCC). A number of other issues of Rituximab action and immune response are not considered in our model such as antigen related response, contribution of different immune cell fractions such as cytotoxic T-cells and natural killer cells and pharmacokinetic differences between patients. Better data such as time series of T-cell status during and after therapy are required to build a more comprehensive model of immune response and Rituximab treatment. Moreover, Rituximab also destroys normal CD20+ B-cells which is not considered in our model. As the immune response to aNHL is mainly mediated by cytotoxic T-cells and natural killer cells, we believe that this effect can be neglected here [45–50].

A major challenge of our modeling efforts is to parametrize our model on the basis of clinical trial data. The model describes dynamics of tumor growth and immune response but both, tumor load and immune status are typically not available as time courses over therapy. First attempts to quantify tumor load via imaging techniques were introduced into clinical trials (Hasenclever, personal communication) and surrogate markers of tumor load such as LDH are discussed [51]. Both would help us greatly to improve our modeling, but, in view of their costs and efforts, it cannot be expected that such data will be available to significantly

support modeling attempts in the near future. Similarly, detailed cytometric data (such as cytotoxic T-cell fractions) are required to assess immune cell status during therapy. So far mainly leukocyte data of patients are available which are not informative for our purposes.

The only source of information regarding state variables of our model is patient's event free or progression free survival data which, however, provide only limited qualitative information regarding tumor dynamics. Furthermore, these endpoints are influenced by other factors rather than tumor size. Tumor control would be a most useful endpoint but is less frequently available. Finally, survival data are typically biased especially during therapy (reporting bias). In view of this bias, we did not consider the first 6 months after start of the therapy when comparing our model results with clinical data. Since our model addresses dynamics of tumor and immune system during and after therapy, late relapses possibly caused by transient tumor dormancy also cannot be explained. Therefore, we decided to compare our model results with clinical survival data only within a period of 6–24 months.

Parameters of the model were determined by biological considerations as far as possible and by fitting model predictions to clinical survival data. Since parameters may depend on individual patient conditions, we assumed distributions rather than fixed values for some of the model parameters. Corresponding expectations and variances were determined by optimizing the agreement of model derived survival curves and observed clinical data. Details of this approach are explained in Ref. [19]. This approach also allows us explaining differences between groups of patients by differences in parameter distributions. Indeed, while considering the group of elderly aNHL patients in the present paper, the model can also be parametrized for other subgroups of patients such as younger patients if sufficient therapy contrasts are available (data not shown).

For elderly aNHL patients, we established a model parameter set on the basis of two randomized chemotherapy trials of the DSHNHL considering CHOP-like chemotherapies of DLBCL patients. Fitting resulted in a good agreement of model prediction and observed survival data. To validate the model, we retrieved additional data of six other studies from the literature.

Although all chemotherapies considered used the same CHOP and Rituximab dosing, there are subtle differences between studies due to sampling errors, recruitment bias, age and IPI distribution, percentage of other lymphoma subtypes, additional supportive treatment (growth factors, additional radiotherapy) and degree of therapy adherence or differences in healthcare

systems if studies of different countries are considered. Therefore, we focused on explaining therapy contrasts rather than exact shapes of survival curves.

8xR-CHOP-21 versus 8xR-CHOP-14 studied in the LNH03-6B trial of the GELA [16] was over-estimated by our model. In this study, an advantage of the 8xR-CHOP-21 arm was observed for the first 3 years after therapy. In contrast, our model predicts the opposite. However, the 8xR-CHOP-14 arm was affected by considerable dose erosions which we could not model. After amendment of G-CSF supportive therapy, the survival curves of the two arms become more similar indicating that after amendment the 8xR-CHOP-14 arms had an advantage as predicted by our model (see also comments of Pfreundschuh [31]). Therefore, we do not think that our model is invalidated by this study.

In the study of Cunningham et al. [15] 8xR-CHOP-21 and 6xR-CHOP-14 performed similar (trend toward better outcome of 6xR-CHOP-14 if pooled over age groups), while our model predicts a small advantage of 6xR-CHOP-14. A reason could be that in this study, younger and elderly patients as well as different IPI risk groups were mixed. Moreover, a percentage of patients with additional radiotherapy are much lower than in NHL-B2 or RICOVER used to fit our model. While the therapy effect in the subgroups of younger patients <60 years and elderly patients >65 years is in agreement with our model prediction (i.e. showing advantage of 6xR-CHOP-14), this does not apply for the subgroup of 60–65 years showing the opposite. On the one hand, this appears to be counter-intuitive. On the other hand, the subgroup of 60–65 years is rather small in Cunningham et al. (about $N = 200$ patients compared to >400 in the subgroup of elderly and younger patients) and corresponding confidence intervals are large. Since the pooled effect is in agreement with our model prediction, we conclude that our model is in rough agreement with the findings of Cunningham et al. In summary, we acknowledge that the agreement of model and validation data sets is not as perfect as for the training data sets but still reasonable. We also like to mention that studies of the DSHNHL are generally better explained by the model which could be explained by higher comparability with the trials used for parameter fitting (i.e. with respect to usage of radiotherapy, or effects of healthcare system).

Despite of the generally good agreement of model and data there are still considerable uncertainties regarding model parameters due to the still limited database. According to our sensitivity analyses, expectation of tumor size at diagnosis, immunogenicity, tumor growth rate and chemosensitivity are relatively well established. In contrast, parameters regarding variances of model parameters could not be estimated with high

precision [19]. Among parameters regarding Rituximab action, the immune-stimulatory effect could be estimated with considerably higher precision than the direct cell kill. Summarizing these issues, more validation scenarios are required to consolidate our parameter settings.

Finally, we demonstrated how the model can be used in principle to make clinically relevant predictions regarding the outcome of alternative chemotherapy and Rituximab schedules. To elaborate the relative performance of chemo- and immunotherapy, we simulated eight applications of Rituximab with time distance 21 days and different schedules of CHOP treatment [Fig. 6 on the left]. We also analyzed the potential of modified Rituximab schedules by simulating 6xCHOP-14 with 4–14 doses of Rituximab and varying distances between applications [Fig. 6 on the right]. Results suggest that there is only limited potential for therapy improvements compared to the current therapy standard. We believe that such predictive models are strongly required since it is impossible from ethical, practical, temporal and financial point of view to optimize the large variety of available therapy parameters (kind, dosing and timing of chemo/immunotherapy, risk-specific treatment) solely on the basis of clinical trials. Model simulations could be used to generate hypotheses here. But, due to the simplistic nature of the models, clinical trials are required to validate these predictions.

We conclude that our model explains observed paradoxical therapy effects in lymphoma disease by the simple assumption of a relevant anti-tumor effect of the immune system. Heterogeneity of therapy outcomes can be traced back to heterogeneity of a few model parameters whose distribution can be estimated on the basis of clinical survival data. Effects of Rituximab treatment were successfully explained assuming a direct cell kill and improved immunogenicity. In principle, the model can be applied to any chemotherapy regimen and risk group for which there is a sufficiently large database allowing to estimate corresponding parameters. The model can be used to generate hypotheses regarding yet untested therapy options but requires further validation in clinical trials.

Acknowledgement

K.R. was funded by a grant of the Federal Ministry of Education and Research of the Federal Republic of Germany ("Haematosys", BMBF/PTJ0315452A). KR, MS were funded by LIFE - Leipzig Research Center for Civilization Diseases, University of Leipzig. LIFE is funded by means of the European Union, by the European Regional Development Fund (ERDF) and by means of the Free State of Saxony within the framework of the excellence initiative. The project was also supported by Deutsche Krebshilfe (grant number: 110884).

We thank the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (Michael Pfreundschuh, chairman) for the kind permission to use the clinical trial data.

Potential of conflict of interest: Disclosure forms provided by the authors are available with the full text of this article at <http://dx.doi.org/10.3109/10428194.2015.1110746>

The authors declare that they have no competing interests.

References

- [1] DeVita VT, Hubbard SM, Young RC, et al. The role of chemotherapy in diffuse aggressive lymphomas. *Semin Hematol* 1988; 25: 2–10.
- [2] Fisher RI, Gaynor ER, Dahlborg S, et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *New Engl J Med* 1993; 328: 1002–1006.
- [3] Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M, et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood* 2004; 104: 634–641.
- [4] Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M, et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas: results of the NHL-B1 trial of the DSHNHL. *Blood* 2004; 104: 626–633.
- [5] Pfreundschuh M, Schubert J, Ziepert M, et al. Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol* 2008; 9: 105–116.
- [6] Pfreundschuh M, Zwick C, Zeynalova S, et al. Dose-escalated CHOEP for the treatment of young patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma: II. Results of the randomized high-CHOEP trial of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Ann Oncol* 2008; 19: 545–552.
- [7] Coiffier B, Lepage E, Brière J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *New Engl J Med* 2002; 24: 235–242.
- [8] Pfreundschuh M, Trümper L, Osterborg A, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol* 2006; 7: 379–391.
- [9] Okroj M, Osterborg A, Blom AM. Effector mechanisms of anti-CD20 monoclonal antibodies in B cell malignancies. *Cancer Treat Rev* 2013; 39: 632–639.
- [10] Plosker GL, Figgitt DP. Rituximab: a review of its use in non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia. *Drugs* 2003; 63: 803–843.
- [11] Harjunpaa A, Junnikkala S, Meri S. Rituximab (anti-CD20) therapy of B-cell lymphomas: direct complement killing is superior to cellular effector mechanisms. *Scand J Immunol* 2000; 51: 634–641.

- [12] Jazirehi AR, Huerta-Yepez S, Cheng G, Bonavida B. Rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) inhibits the constitutive nuclear factor- κ B signaling pathway in non-Hodgkin's lymphoma B-cell lines: role in sensitization to chemotherapeutic drug-induced apoptosis. *Cancer Res* 2005; 65: 264–276.
- [13] Alas S, Emmanouilides C, Bonavida B. Inhibition of interleukin 10 by rituximab results in down-regulation of bcl-2 and sensitization of B-cell non-Hodgkin's lymphoma to apoptosis. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 709–723.
- [14] Chow KU, Sommerlad WD, Boehrer S, et al. Anti-CD20 antibody (IDEC-C2B8, rituximab) enhances efficacy of cytotoxic drugs on neoplastic lymphocytes in vitro: role of cytokines, complement, and caspases. *Haematologica* 2002; 87: 33–43.
- [15] Cunningham D, Hawkes EA, Jack A, et al. Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14-day versus 21-day cycles. *Lancet* 2013; 381: 1817–1826.
- [16] Delarue R, Tilly H, Mounier N, et al. Dose-dense rituximab-CHOP compared with standard rituximab-CHOP in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (the LNH03-6B study): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 525–533.
- [17] Murawski N, Pfreundschuh M, Zeynalova S, et al. Optimization of rituximab for the treatment of DLBCL (I): dose-dense rituximab in the DENSE-R-CHOP-14 trial of the DSHNHL. *Ann Oncol* 2014; 25: 1800–1806.
- [18] Pfreundschuh M, Held G, Zeynalova S, et al. Improved outcome of elderly poor-prognosis DLBCL patients with 6xCHOP-14 and 8 applications of rituximab (R) given over an extended period: results of the SMARTE-R-CHOP-14 trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Blood* 2011; 118: 272–273.
- [19] Roesch K, Hasenclever D, Scholz M. Modelling lymphoma therapy and outcome. *Bull Math Biol* 2014; 76: 401–430.
- [20] Nalesnik MA, Jaffe R, Starzl TE, et al. The pathology of posttransplant lymphoproliferative disorders occurring in the setting of cyclosporine A-prednisone immunosuppression. *Am J Pathol* 1988; 133: 173–192.
- [21] Lim IGS, Bertouch JV. Remission of lymphoma after drug withdrawal in rheumatoid arthritis. *Med J Austr* 1988; 177: 500–507.
- [22] Mariette X, Cazals-Hatem D, Warszawki J, et al. Lymphomas in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate: a 3-year prospective study in France. *Blood* 2002; 99: 3909–3915.
- [23] Wang H, Wu D, Xiang H, et al. Pulmonary non-Hodgkin's lymphoma developed during long-term methotrexate therapy for rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 2012; 32: 3639–3642.
- [24] Niitsu N, Okamoto M, Nakamine H, et al. Clinicopathologic correlations of diffuse large B-cell lymphoma in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. *Cancer Sci* 2010; 101: 3909–3913.
- [25] Mohsin N, Budruddin M, Kamble P, et al. Complete regression of cutaneous B-cell lymphoma in a renal transplant patient after conversion from cyclosporin to sirolimus. *Transplant Proc* 2007; 39: 1267–1271.
- [26] Hasenclever D, Brosteanu O, Gerike T, et al. Modelling of chemotherapy: the effective dose approach. *Ann Hematol* 2001; 80: 89–94.
- [27] Muller C, Murawski N, Wiesen MH, et al. The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL. *Blood* 2012; 119: 3276–3284.
- [28] Tobinai K, Igarashi T, Itoh K, et al. Japanese multicenter phase II and pharmacokinetic study of rituximab in relapsed or refractory patients with aggressive B-cell lymphoma. *Ann Oncol* 2004; 15: 821–830.
- [29] Gross A, Schirm S, Scholz M. Ycasd – a tool for capturing and scaling data from graphical representations. *BMC Bioinform* 2014; 15: 219.
- [30] Habermann TM, Weller EA, Morrison VA, et al. Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3121–3127.
- [31] Pfreundschuh M, Kuhnt E, Trumper L, et al. CHOP-like chemotherapy with or without rituximab in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: 6-year results of an open-label randomised study of the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol* 2011; 12: 1013–1022.
- [32] Pfreundschuh M. CHOP intensification: not yet state of the art. *Lancet Oncol* 2013; 14: 445–447.
- [33] Pfreundschuh M, Muller C, Zeynalova S, et al. Suboptimal dosing of rituximab in male and female patients with DLBCL. *Blood* 2014; 123: 640–646.
- [34] Arciero JC, Jackson TL, Kirschner DE. A mathematical model of tumor-immune evasion and siRNA treatment. *Discrete Contin Dynam Syst* 2004; 4: 39–58.
- [35] De Boer RJ, Hogeweg P. Interactions between macrophages and T-lymphocytes: tumor sneaking through intrinsic to helper T cell dynamics. *J Theor Biol* 1986; 120: 331–351.
- [36] de Pillis LG, Gu W, Radunskaya AE. Mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors: modeling, applications and biological interpretations. *J Theor Biol* 2006; 238: 841–862.
- [37] de Vladar HP, González JA. Dynamic response of cancer under the influence of immunological activity and therapy. *J Theor Biol* 2004; 227: 335–348.
- [38] Gałach M. Dynamics of the tumor – immune system competition – the effect of time delay. *Int J Appl Math Comput Sci* 2003; 13: 395–406.
- [39] Kirkby NF, Jefferies SJ, Jena R, et al. A mathematical model of the treatment and survival of patients with high-grade brain tumours. *J Theor Biol* 2007; 245: 112–124.
- [40] Kirschner D, Panetta JC. Modeling immunotherapy of the tumor – immune interaction. *J Math Biol* 1998; 37: 235–252.
- [41] Kuznetsov VA, Makalkin IA, Taylor MA, et al. Nonlinear dynamics of immunogenic tumors: parameter estimation and global bifurcation analysis. *Bull Math Biol* 1994; 56: 295–321.
- [42] Letellier C, Denis F, Aguirre LA. What can be learned from a chaotic cancer model? *J Theor Biol* 2013; 322: 7–16.
- [43] Page KM, Uhr JW. Mathematical models of cancer dormancy. *Leukemia Lymphoma* 2005; 46: 313–324.

- [44] Sotolongo-Costa O, Molin LM, Perez DR, et al. Behavior of tumors under nonstationary therapy. *Physica D Nonlinear Phenom* 2003; 178: 242–253.
- [45] Szymańska Z. Analysis of immunotherapy models in the context of cancer dynamics. *Int J Appl Math Comput Sci* 2003; 13: 407–418.
- [46] Monson NL, Cravens P, Hussain R, et al. Rituximab therapy reduces organ-specific T cell responses and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *PLoS One* 2011; 6: e17103.
- [47] Saville MW, Benyunes MC, Multani PS. No clinical evidence for CD4+ cell depletion caused by rituximab. *Blood* 2003; 102: 408; author reply 408–409.
- [48] Kim R, Emi M, Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology* 2007; 121: 1–14.
- [49] Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 2002; 3: 991–998.
- [50] Ansell SM, Stenson M, Habermann TM, et al. Cd4+ T-cell immune response to large B-cell non-Hodgkin's lymphoma predicts patient outcome. *J Clin Oncol* 2001; 19: 720–726.
- [51] Lippman SM, Spier CM, Miller TP, et al. Tumor-infiltrating T-lymphocytes in B-cell diffuse large cell lymphoma related to disease course. *Mod Pathol* 1990; 3: 361–367.
- [52] Koberle M, Muller K, Kamprad M, et al. Monitoring disease progression and therapeutic response in a disseminated tumor model for non-Hodgkin lymphoma by bioluminescence imaging. *Mol Imaging* 2015; 14: 400–413.

Kapitel 4

Zusätzliche Ergebnisse

In diesem Kapitel werden weitere Ergebnisse vorgestellt, die nicht veröffentlicht wurden und die Publikationen ergänzen. In diesen wurde das Modell bisher ausschließlich auf Daten von älteren Patienten sämtlicher IPI-Risikogruppen angewendet. Im ersten Abschnitt dieses Kapitels wird das Modell nun zusätzlich auf die Risikogruppe der jungen Patienten mit guter Prognose angepasst. Es werden Parameter für dieses Kollektiv geschätzt und die Anpassung der Überlebenskurven des Modells an klinische Daten dargestellt und bewertet.

Im zweiten Abschnitt wird anhand eines Beispiels demonstriert, wie man messbare Risikofaktoren als Surrogatmarker für Modellparameter nutzen kann. Dadurch werden Vorhersagen für verschiedene Risikogruppen innerhalb eines Kollektivs mit dem gleichen Parametersatz möglich. Dies wird anhand der SMARTE-R und DENSE-R Studien illustriert.

Studienname	Regime	#Zyklen	Intervalle	Rituximab	Rituximab Therapieplan	Quellenangabe
NHL-B1	CHOP vs. CHOEP	6	21 vs. 14	Nein	-	[46]
High-CHOEP	CHOEP vs. H-CHOEP	6	21	Nein	-	[47]
MInT	CHO(E)P	6	21	J vs. N	6xR-21	[51]

Tabelle 4.1: Klinische Studien mit CHOP/R-CHOP Variationen für jüngere Patienten mit guter Prognose (18-60 Jahre, Altersadaptierter IPI 0-1). Bei NHL-B1 wurde der Effekt von Etoposid (CHOP vs CHOEP) und die Verkürzung der Intervalle zwischen den Dosen von 21 Tagen auf 14 Tagen untersucht. High-CHOEP-Studie testet eine nochmals dosisintensivierte CHOEP-Therapie (H-CHOEP) auf ihre Wirksamkeit gegenüber CHOEP. In der MInT-Studie wurde der Effekt von Rituximab auf CHOP oder CHOEP-Therapie untersucht.

4.1 Parameterschätzung bei jungen Patienten mit guter Prognose

4.1.1 Methodik

Das Modell wurde an klinische Daten junger Patienten mit guter Prognose (18-60 Jahre, Altersadaptierter IPI 0-1) angepasst. Tabelle 4.1 gibt einen Überblick über die dazu verwendeten Studien. Der Aufbau und die Ergebnisse dieser Studien wurden bereits in Kapitel Abschnitt 1.2.3 ausgeführt. Es wurde analog zu der Anpassung an Studien mit älteren Patienten verfahren: Zuerst erfolgte eine Anpassung des Modells an NHL-B1 und High-CHOEP ohne Immuntherapie. Danach wurden die Rituximab-Parameter mithilfe der Therapiearme mit Rituximab der MInT-Studie geschätzt.

4.1.2 Ergebnisse

Einen Überblick des geschätzten Parametersatzes findet man in Tabelle 4.2. Hier sind auch nochmals die Parameterwerte für das Kollektiv der älteren Patienten aufgeführt. Beim Vergleich der beiden Parametersätze lässt sich folgendes feststellen: Die mittlere Tumorstadiumsgeschwindigkeit ist bei den jüngeren Niedrigrisiko-Patienten langsamer. Die mittlere Immunogenität ist ähnlich, die Varianz der Immunogenität ist jedoch höher. Die Tumorstadiumsgröße ist im Durchschnitt kleiner. Chemosensitivität und Effektorzelltoxizität sind bei jungen Patienten mit niedrigem Risiko ebenfalls geringer. Der Dosisexponent bei Gabe von Etoposid ist hingegen höher als bei älteren Patienten. Die Varianz der Chemosensitivität ist ebenfalls höher. Außerdem ist bei den jüngeren Patienten der direkte Zellkill durch Rituximab wichtiger als dessen Immuneffekt. Dies steht im Gegensatz zu den geschätzten Rituximab-Parametern für ältere Patienten, bei denen der Immuneffekt entscheidend ist.

Abbildung 4.1 zeigt die vorhergesagten Log-Hazard-Ratios (LHRs) des Modells in Abhängigkeit der gemessenen 95%-Konfidenzintervalle der klinischen LHRs. Das Modell erklärt alle Behandlungskontraste innerhalb der einzelnen Studien korrekt. In Abbildung 4.2 werden simulierte Überlebenskurven mit klinischen EFS-Kurven von NHL-B1 (links) sowie High-CHOEP (rechts) verglichen. Abbildung 4.3 zeigt die simulierten Überlebenskurven gegenüber den klinischen Kurven von MInT. Die Anpassung des Modells an die Daten ist sehr gut. Der Effekt des Angleichens der Chemotherapiearme durch Rituximab wird durch das Modell reproduziert, d.h. die Überlegenheit von CHOEP gegenüber CHOP in MInT verschwindet beim Hinzufügen von Rituximab zu beiden Therapiearmen.

4.1.3 Schlussfolgerung

Parameterschätzungen für jüngere Patienten mit guter Prognose resultieren in einer guten Übereinstimmung zwischen Modell und Überlebensdaten für alle Szenarien und eine ausgezeichnete Wiedergabe der Therapiekontraste. Parameterwerte sind biologisch plausibel, auch im Vergleich zu den Werten für ältere Patienten der NHL-B2-Studie [46, 45]: So wurde für jüngere Patienten mit guter Prognose kleinere Tumorstadiumsgrößen vorhergesagt, was in Übereinstimmung mit einem niedrigerem IPI der jüngeren Patienten gegenüber

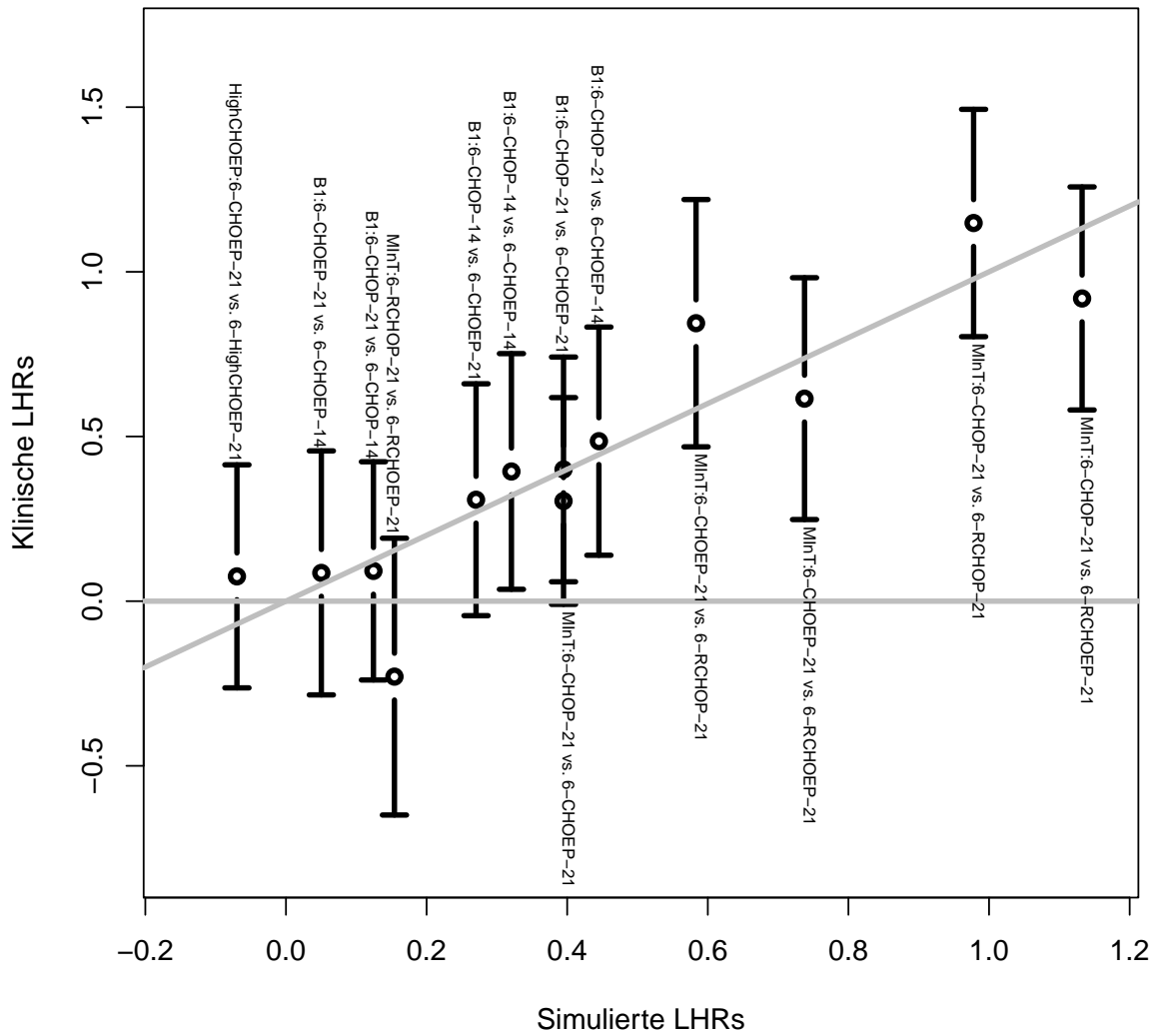


Abbildung 4.1: Log-Hazard-Ratios (LHRs) des Modells vs. 95%-Konfidenzintervalle der klinischen LHRs für jüngere Patienten mit und ohne Rituximab. Dargestellt sind die paarweisen Therapiekontraste der 2-Jahres-Überlebensraten.

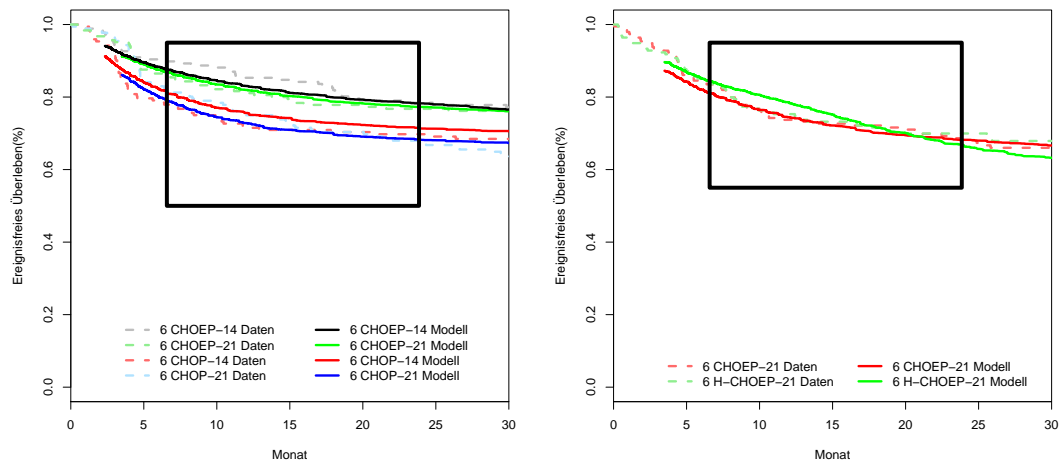


Abbildung 4.2: Vergleich der Modellkurven mit Kaplan-Meier-Kurven des ereignisfreien Überlebens von NHL-B1 (links) und High-CHOEP (rechts). Die Anpassung des Modells erfolgte zwischen Tag 200 und Tag 725 (schwarzes Rechteck).

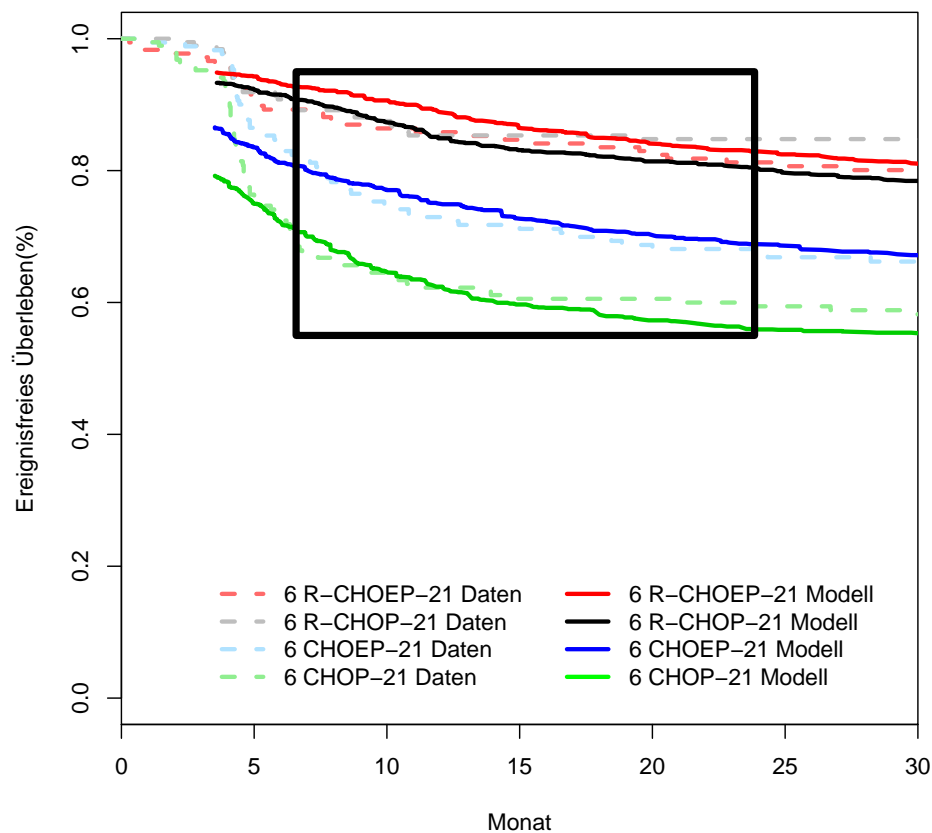


Abbildung 4.3: Vergleich der Modellkurven mit ereignisfreien Überlebenskurven der MInT-Studie.

Modellparameter	Verteilungsparameter zentile	Wert alte Pat.	5/95%-Per- zentile	Wert junge Pat.	5/95%-Per- zentile
Tumorstamm- geschwindigkeit α	Erwartungswert	0.118	[0.039, 0.216]	0.084	[0.020, 0.196]
	Standardabweichung	0.054		0.060	
Immunogenität ρ	Erwartungswert	0.078	[0.022, 0.145]	0.079	[0.010, 0.192]
	Standardabweichung	0.038		0.060	
log10(Tumor- größe T_{diag})	Erwartungswert	11.315	[10.5, 12]	10.591	[10.0, 11.5]
	Standardabweichung	0.473		0.443	
Chemosensitivität k_T	Erwartungswert	2.363	[1.856, 2.996]	1.030	[0.167, 2.060]
	Standardabweichung	0.307		0.595	
Effektortoxizität k_E	einzelner Parameter	0.476		0.189	
Dosisexponent Tumorzellen e_T	einzelner Parameter	0.799		1.792	
Dosisexponent Effektorzellen e_E	einzelner Parameter	2.438		3.061	
Tumorzellkill Rituximab k_{Rit}	einzelner Parameter	$0.6 \cdot 10^{-4}$		$3 \cdot 10^{-4}$	
Immunstimulation Rituximab f_{Rit}	einzelner Parameter	0.3		0.05	

Tabelle 4.2: Parametersätze des Modells für ältere Patienten über alle Risikogruppen und junge Patienten mit niedrigem Risiko. Parameter sind entweder einzelne Parameter des Modells oder Lageparameter einer Verteilungsfunktion.

den älteren Patienten ist. Tumorwachstumsgeschwindigkeit, Chemosensitivität und Effektorzelltoxizität wurden für diese Gruppe niedriger geschätzt. Dies kann durch weniger aggressive Tumorentitäten und eine verbesserte Verstoffwechslung von Medikamenten erklärt werden [12]. Einer geringere Effektorzelltoxizität ist auch im Einklang damit, dass Alter ein Risikofaktor für das Auftreten von hämotoxischen Nebenwirkungen bei Chemotherapie ist [69]. Der Dosisexponent bei Gabe von Etoposid ist bei jüngeren Patienten höher als bei älteren Patienten. Dies passt zu den Ergebnissen der NHL-B Studien, bei denen das Hinzufügen von Etoposid zu einer signifikanten Therapieverbesserung für junge Patienten mit guter Prognose führte, während bei älteren Patienten 14-tägiges CHOP überlegen war und als Standard Chemotherapie eingesetzt wird [46, 45]. Für jüngere Patienten mit guter Prognose wiederum hatten Intervallverkürzungen einen eher geringen Effekt. Dies ist vermutlich auf langsamer wachsende Tumore zurückzuführen [46]. Für die geschätzten Rituximab-Parameter wurde eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt. Beide Parameter können sowohl für alte als auch für junge Patienten mit hoher Genauigkeit geschätzt werden (Ergebnisse nicht gezeigt). Die Ergebnisse des Modells für jüngere Patienten sind somit plausibel und passen zu den Daten. Allerdings sind weitere Validierungsszenarien nötig, um die angepassten Parametersätze zu konsolidieren, bevor eine Verwendung des Modells zur Vorhersage von Ergebnissen neuer klinischer Studien für diese Patientengruppe erfolgen kann.

4.2 Vorhersagen unter Berücksichtigung von Risikofaktoren

4.2.1 Methodik

Messbare klinische Risikofaktoren können als Hinweise für nicht messbare Modellparameter dienen. Dies wird anhand des Modellparameters Tumorgröße bei Diagnose T_{diag} demonstriert, welcher durch den Surrogatmarker IPI erfasst werden soll. Zur Validierung dienen die beiden Rituximab-intensivierten Phase-II-Studien SMARTE-R [56] und DENSE-R [55], die rituximabintensiviertes 6-mal CHOP-14 mit dem 6-mal R-CHOP-14-Arm der RICOVER-60-Studie vergleichen (siehe Kapitel Abschnitt 1.2.3). Das Patientenkollektiv der SMARTE-R und DENSE-R Studien wurde dazu in Untergruppen von niedrigem IPI (1-2) und hohem IPI (3-5) unterteilt. Für diese Gruppen wurden die EFS-Kurven bestimmt. Diese sind in Abbildung 4.4 dargestellt.

Die Stichprobe, welche aus der Wahrscheinlichkeitsverteilung des Modellparameter α , ρ , T_{diag} und k_T zur Anpassung der Rituximab-Parameter gezogen wurde (siehe Kapitel 3), wird in kleine (Anzahl $T < 10^{11.5}$) und große $T \geq 10^{11.5}$ initiale Tumorlasten T_{diag} unterteilt und für die jeweiligen Untergruppen Überlebenskurven generiert. Diese werden mit den EFS-Kurven der klinischen Studien verglichen, wobei kleines Tumolvolumen mit niedrigem IPI assoziiert ist.

4.2.2 Ergebnisse

Der Vergleich von modellbasierten und klinischen Überlebenskurven ist in Abbildung 4.4 dargestellt. Für kleine Tumorgrößen gibt es keine Unterschiede zwischen den Simulationen

des Standardarms 6-mal R-CHOP-14 und dem intensivierten DENSE-R- oder SMARTE-R-Arm. Bei DENSE-R gilt dies auch für große Tumorgrößen. Eine leichte Verbesserung im EFS wird beim intensivierten SMARTE-R Arm für große Tumorgrößen beobachtet, welche im Modell 3.5% beträgt. Dies stimmt mit den Ergebnissen der klinischen Studien überein, bei denen lediglich für hohen IPI in SMARTE-R eine Überlegenheit des Rituximab-intensivierten Arms gegenüber des Standardarms beobachtet werden konnte. Laut Modell sind also durch Rituximab-intensivierte Therapieschemas wie SMARTE-R und DENSE-R höchstens leichte Verbesserungen im Überleben zu erwarten.

4.2.3 Schlussfolgerung

In diesem Abschnitt wurde versucht, die messbare Größe IPI als Proxy für den Modellparameter Tumorgröße bei Diagnose zu nutzen. Bei der Validierung durch die SMARTE-R- und DENSE-R-Studien funktioniert dieser Surrogatmarker gut. Auch wenn das bloße Betrachten von Abbildung 4.4 eine Überlegenheit des DENSE-R-Arms gegenüber der Standardtherapie für niedriges IPI vermuten lässt, wird nur bei SMARTE-R für hohes IPI ein nennenswerter Effekt gemessen. Dies ist in Übereinstimmung mit den Vorhersagen des Modells. Die Bedeutung des IPI kommt dem Parameter Tumorgröße am nächsten, da die IPI-Faktoren LDH-Konzentration, Tumorstadium und Extranodalbefall mit großem Tumolvolumen assoziiert sind [70]. Für andere Parameter des Modells ist es hingegen schwieriger vergleichbare messbare klinische Größen zu finden. Dieses Problem wird im nächsten Kapitel noch genauer diskutiert.

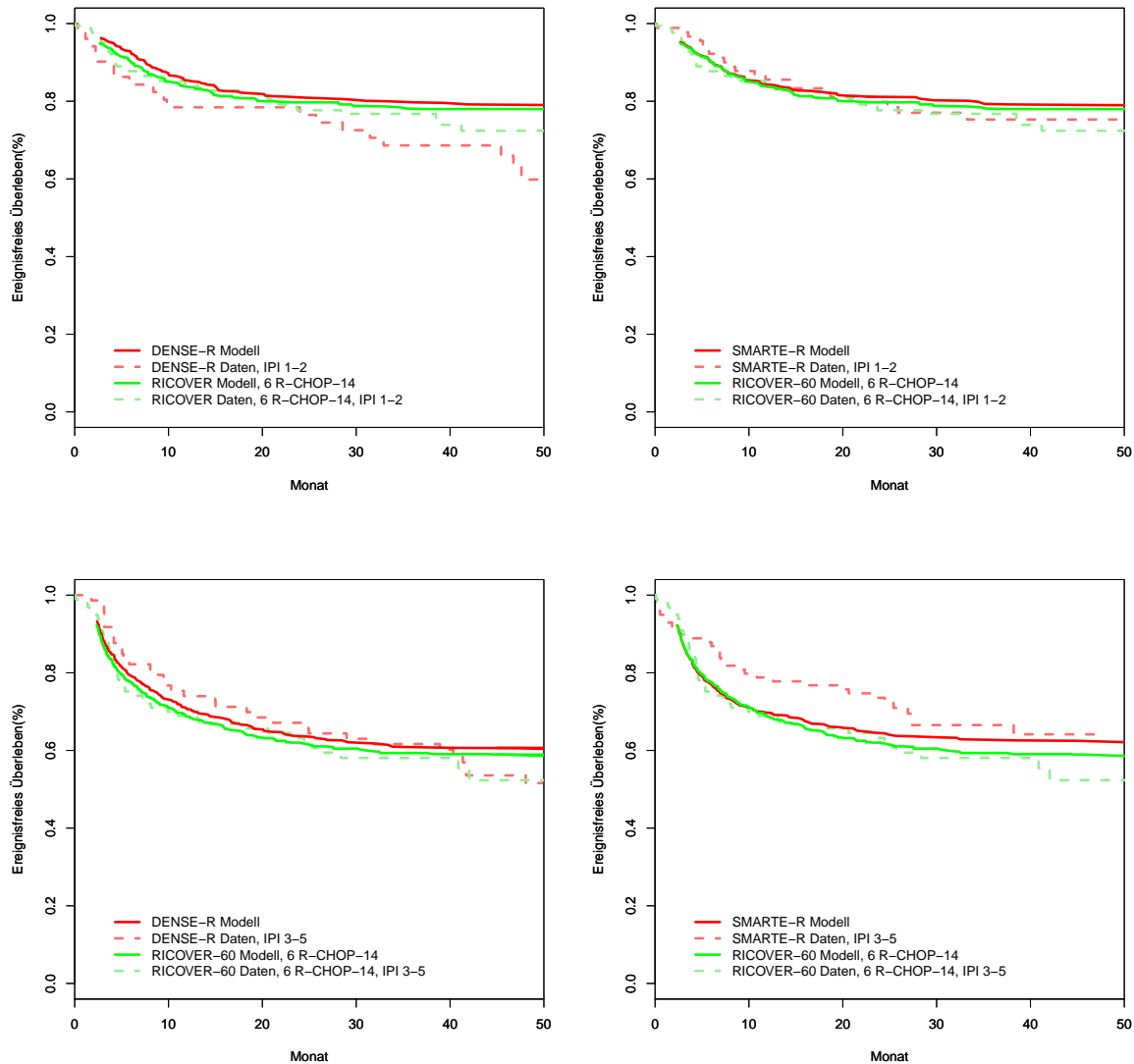


Abbildung 4.4: Vergleich der simulierten Überlebenskurven mit den klinischen EFS-Kurven von DENSE-R und SMARTE-R. Dargestellt sind DENSE-R mit niedrigem IPI (entspricht kleinem Tumervolumen) (links oben), DENSE-R mit hohem IPI (entspricht großem Tumervolumen) (links unten), SMARTE-R mit niedrigem IPI (rechts oben) sowie SMARTE-R mit hohem IPI (rechts unten). RICOVER-60 dient in den einarmigen Phase-II-Studien SMARTE-R und DENSE-R als (nicht randomisierte) Kontrollgruppe.

Kapitel 5

Diskussion und Ausblick

Die Zusammensetzung einer wirkungsvollen Immunchemotherapie wurde für aggressive Non-Hodgkin-Lymphome in zahlreichen klinischen Studien untersucht. Dabei haben sich Dosisintensivierungen zunächst als wirkungsvoll erwiesen. Jedoch traten vermehrt Effekte auf, bei denen massive Dosierungen zu einer Verschlechterung im ereignisfreien Überleben führten. Die Einführung von Rituximab war ein Durchbruch bei der Behandlung CD20-positiver B-Zell-Lymphome, scheint jedoch eine Abschwächung der bestehenden Unterschiede zwischen einzelnen Chemotherapievarianten zu bewirken. Um diese Phänomene zu erklären und Vorhersagen für neue geplante Studien prognostizieren zu können, wurde im Rahmen dieser Arbeit ein biomathematisches Modell des Tumorwachstums und der Tumor-Immun-Interaktion entwickelt. Unter der Annahme eines immunogenen Tumors wurde die Dynamik der Tumor- und Immunzellzahlen in einem Differentialgleichungssystem beschrieben. Für einige Parameter des Modells wurden Wahrscheinlichkeitsverteilungen angenommen. Die Parameter dieser Verteilungen wurden mithilfe statistischer Methoden aus klinischen Daten geschätzt. Das Modell wurde dadurch an Überlebenskurven von bestimmten Patientenkollektiven angepasst und kann nun Überlebensraten von neuen Therapievarianten vorhersagen.

Die Diskussion der Ergebnisse dieser Arbeit erfolgte bereits ausführlich in den Publikationen. Hier wird kurz darauf eingegangen, welche Limitationen das Modell hat und wie es weiterentwickelt werden könnte, um diese zu überwinden. Außerdem wird in einem Ausblick diskutiert, welche Bedeutung das Modell in Zukunft bei der Planung klinischer Studien haben kann und welche Voraussetzungen dafür erfüllt sein müssen.

Limitationen des Modells

Das Auftreten später Rezidive nach mehr als drei Jahren bei aNHL wird durch das Modell nicht erklärt. Solche Dynamiken residueller Krankheiten können neben dem Einführen von Elementen der Stochastizität auch prinzipiell über einfache Anpassungen der Parameterwerte modelliert werden. Haben beispielsweise nach einer Therapie einige wenige Tumorzellen überlebt, so bilden diese Zellen keinen großen Knoten mehr. Ein Aufeinandertreffen mit Effektorzellen erfolgt dann für alle Tumorzellen mit der gleichen Wahrscheinlichkeit. Dies würde im Differentialgleichungssystem eine Erhöhung des Exponenten bei der Tumor-Effektor-Zellinteraktion von $c = 0.75$ zu $c = 1$ implizieren (siehe Kapitel 2). Diese kleine Änderung bewirkt eine Veränderung im Verhalten des dynamischen Systems

(Bifurkation): Der Fixpunkt bei $T = 0$ wird instabil und es entsteht ein stabiler Fixpunkt bei kleinen Tumorzellzahlen und leicht erhöhten Effektorzellzahlen. Dieser kommt dem medizinischen Zustand des 'schlafenden' ('dormant') Tumors sehr nahe. Darunter versteht man Tumorzellen, die über viele Jahre im Körper überleben und dabei inaktiv sind oder von Immunzellen unter Kontrolle gehalten werden. Bei geringfügigen Schwankungen bestimmter Modellparameter (z.B. der Eliminationsrate μ der Effektorzellen durch die Tumorzellen) kann dieser Fixpunkt im Modell instabil werden. Dies wäre beispielsweise bei vorübergehender Supprimierung des Immunsystems der Fall. Die Tumorzellzahl steigt wieder an und es kommt zu einem Rezidiv. Diese sogenannten 'Durchschleich'-Effekte, ('sneaking through') treten auch beim Ursprungsmodell von Kuznetsov auf [67].

Das erstmalige Entstehen eines Tumors wird durch das Modell ebenfalls nicht dargestellt. Auch dieses Phänomenen kann durch geringe Parameteränderungen erklärt werden. Der Parameter ν gibt die Zerstörungsrate der Tumorzellen induziert durch Effektorzellen an. Wird dieser Parameter klein genug gewählt, entsteht aus dem stabilen Fixpunkt bei $T=0$ ein instabiler Fixpunkt. Dadurch würde auch eine einzige Tumorzelle zu einem großen Tumor heranwachsen. Möglich ist dies beispielsweise bei einer zeitweisen Schwächung des Immunsystems oder durch eine Maskierung der Tumorzellen, die dadurch von den Immunzellen zunächst nicht erkannt werden und sich ungehindert vermehren können. Werden diese Zellen schließlich doch von den Immunzellen entdeckt, ist es zu spät für eine erfolgreiche Bekämpfung.

Nach einer Chemotherapie ist die Anzahl der Immunzellen über längere Zeit reduziert. Dies ist nicht nur eine Folge der direkten Zerstörung von Immunzellen, sondern auch der verminderten Rekrutierung neuer Effektorzellen nach massiven Chemotherapiedosen, welche sich nur langsam erholt [27, 26]. Im Modell würden solche Effekte einer zeitweise gesenkte Immunstimulationsrate ρ oder auch Zufussrate σ entsprechen.

Um mögliche Interaktionen zwischen Modellparametern zu berücksichtigen, können bei der Schätzung der Verteilungsparameter zusätzliche Korrelationen eingeführt werden. Plausibel wäre beispielsweise eine Korrelation zwischen Tumorstadium α und Chemosensitivität k_T , da schnell wachsende Tumore im Allgemeinen chemosensitiver sind.

Rituximab wirkt bei aNHL auf verschiedenen Ebenen. Die Stärke der einzelnen Effekte wird in der aktuellen Forschung diskutiert (siehe Kapitel Abschnitt 1.2.2). Bei der Modellierung von Rituximab konnten nicht alle möglicherweise relevanten Effekte berücksichtigt werden. So wurde beispielsweise eine chemotherapieverstärkender Wirkung durch Rituximab beobachtet [38]. Diese könnte im Differentialgleichungssystem durch eine erhöhte Chemosensitivität in Abhängigkeit der Rituximabkonzentration im Blutserum modelliert werden. Zudem wird in einigen Studien eine Sättigung der Rituximabwirkung beobachtet [50], welche im Modell nicht berücksichtigt ist. Zeitlich abklingende Wirkungsfunktionen wären hier eine mögliche Erweiterung. Auch Resistenzmechanismen gegenüber Rituximab [38] könnten in das Modell integriert werden, beispielsweise durch Annahme von Wahrscheinlichkeitsverteilungen für die Modellparameter von Rituximab.

Die Anpassung des Modells an klinische Daten könnte durch die obigen Vorschläge einer zeitweise reduzierten Immunzellproduktion, das Einbauen von Parameterkorrelationen sowie der Modellierung weiterer Rituximabeigenschaften verbessert werden. Allerdings erhöht sich dabei auch immer die Anzahl der zu schätzenden Parameter, was ein komplizierteres Anpassungsverfahren impliziert. Es ist dann vor allem schwieriger, einen

global optimalen Parametersatz zu berechnen und ein Stagnieren in einem nur lokalen Optimum zu unterbinden. Die Parameterwerte sind dann mitunter nicht mehr eindeutig identifizierbar. Insofern ist immer abzuwägen, ob eine mögliche Erweiterung des Modells durch eine tatsächlich signifikante Verbesserung in der Anpassung gerechtfertigt werden kann.

Die Anwendung des Modells in der klinischen Praxis ist durch die begrenzte Verfügbarkeit von passenden Daten limitiert. Risikofaktoren, die man im klinischen Alltag misst, wie bspw. erhöhter LDH-Spiegel, schlechter Allgemeinzustand oder verschiedene Stadien der Krankheitsausbreitung haben kein direktes Analogon in Parametern des Modells. In Kapitel 4 wurde IPI als Surrogatmarker für Tumorgröße genutzt. Bei andere Parametern des Modells ist die Übertragung auf messbare klinische Faktoren schwieriger. Unter Immunogenität werden beispielsweise mehrere verschiedene Mechanismen zusammengefasst, die man nicht ohne weiteres als eine Größe messen kann. Im nächsten Abschnitt wird kurz darauf eingegangen welche Daten für eine bessere Anpassung und Weiterentwicklung des Modells hilfreich wären.

Ausblick

Die langfristige Verwendung des Modells bei der Planung klinischer Studien erfordert umfangreichere und genauere Daten. Diese sollten sich nicht nur auf Überlebensraten einzelner Patientenkollektive beschränken. Beispielsweise wären Messungen der Tumorentwicklung im Verlauf und nach Ende der Therapie wünschenswert. Mit diesen Daten könnten tumorspezifische Parameter wie Tumorgröße, Chemosensitivität und Wachstumsgeschwindigkeit besser bestimmt werden. Da die Erhebung solcher Daten äußerst aufwändig ist, könnte auch LDH als Surrogatmarker für Tumorverlauf in Betracht gezogen werden. Jedoch sind auch für LDH bisher kaum Verlaufsmessungen vorhanden. Die Erhebung eines genauen Zeitverlaufs von LDH ist machbar und wäre aus modellperspektivischer Sicht wünschenswert. Hilfreich wären außerdem die Erhebung von detaillierten zytometrischen Daten wie zytotoxische T-Zell-Raten zur Bestimmung des Immunzellstatus während der Therapie für einzelnen Patienten. Dadurch erhält man genauere Erkenntnisse über Schädigung und Erholung des Immunsystems unter Chemo- und Immuntherapie.

Die Immunogenität ist eine essenzielle Voraussetzung bei der Bekämpfung von aNHL, aber auch bei vielen weiteren Krebsarten. Deshalb sind die dargestellten Modellkonzepte der Tumor-Effektorzell-Interaktionen und der Chemotherapie nicht auf aNHL beschränkt. Prinzipiell ist eine Verallgemeinerung auf alle Tumorentitäten möglich bei denen eine Bekämpfung der Tumorzellen durch Immunzellen stattfindet. Insbesondere könnten andere Lymphomarten durch Parameteranpassungen modelliert werden. So könnten niedrigmaligne Lymphome, die sich vor allem durch langsames Wachstum und niedrige Chemosensitivität auszeichnen, mit den entsprechenden Parametermodifikationen modelliert werden.

Mit dem im Rahmen dieser Arbeit entwickelten biomathematischen Modell werden erstmals Ergebnisse aus klinischen Chemotherapiestudien direkt erklärt und beschrieben und Ergebnisse neuer Therapiekonzepte vorhergesagt. Die Planung neuer Studien ist allerdings ein komplizierter Prozess. Modellbasierte Vorhersagen können dabei einfließen und die Planung unterstützen, stellen dabei aber nur einen gewissen Teil dieses Prozesses dar. Viele Aspekte bei der Studienplanung - beispielsweise finanzielle Spielräume oder organi-

satorische Umstände - können in diesem bio-mathematischen Modell nicht berücksichtigt werden. Dieses Modell kann somit einen Beitrag zur Studienplanung leisten, seine Vorhersagen sind jedoch immer nur Vorschläge zur Verbesserung von Therapiekonzepten, welche in klinischen Studien validiert und immer im jeweiligen Gesamtkontext (der Realisierbarkeit) betrachtet werden müssen. Die Integration von systembiologischen Modellen in die Konzeption neuer klinischer Studien zur Optimierung von alten Therapiekonzepten und Erforschung neuer Therapieansätze ist deshalb ein langfristiger Prozess, der eine große zukünftige Herausforderung darstellt.

Kapitel 6

Zusammenfassung

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades:

Dr. rer. med.

Titel:

Biomathematische Modellierung von Chemo- und Immuntherapie bei aggressiven Non-Hodgkin-Lymphomen

Eingereicht von:

Dipl.-Math. Katja Rösch

Angefertigt am:

Institut für medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie der medizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Betreut von:

Prof. Dr. Markus Scholz

Datum der Einreichung:

April 2016

Zusammenfassung:

Moderate Intensivierungen der Chemotherapie CHOP verbesserte das ereignisfreie Überleben (EFS) für aggressive Non-Hodgkin-Lymphome. Massive Dosisverdichtungen führten jedoch zu Verschlechterungen der Überlebensraten. Die Einführung der Immuntherapie mit Rituximab war ein Durchbruch bei der Behandlung CD20-positiver B-Zell-Lymphome. Allerdings scheint Rituximab bestehende Unterschiede bei den Überlebensraten zwischen den einzelnen CHOP/ CHOEP-Therapievarianten aufzuheben. Mit klinischen Studien wird weiter an der Optimierung der R-CHOP-Schemata geforscht.

In dieser Promotionsarbeit wird die Hypothese aufgestellt, dass das Immunsystem eine entscheidende Rolle bei der Bekämpfung maligner Lymphomzellen spielt. Die Effektorzellen des Immunsystems erkennen und eliminieren Tumorzellen. Massive Therapien bewirken nicht nur die Zerstörung von Tumorzellen, sondern auch eine starke temporäre Supprimierung des Immunsystems.

Im Rahmen dieser Promotionsarbeit wurde ein biomathematisches Modell entwickelt, welches Ergebnisse aus klinischen Studien des aggressiven B-NHL erklären und interpretieren kann. Durch die Anpassung des Modells an klinische Daten können Vorhersagen über bisher ungetestete Therapieoptionen erzielt werden. Damit ist diese Arbeit die Erste, die Ergebnisse von klinischen Chemotherapie-Studien mit mechanistischer Tumormodellierung direkt erklärt, um den Ausgang ungetesteter Therapiekonzepte vorherzusagen. Die Resultate dieser Arbeit werden in zwei Publikationen präsentiert, die die Grundlage der Promotionsarbeit bilden. Die Ergebnisse sind im Folgenden in Thesenform zusammengefasst:

Die wichtigsten methodischen Ergebnisse der Arbeit sind:

1. Das Modell basiert auf einem Differentialgleichungssystem der Dynamik und Interaktion von Tumor- und Immuneffektorzellen unter Chemo- sowie Rituximabtherapie. Wichtige Komponenten des Modells sind ein exponentielles Tumorwachstum, die Stimulation der Rekrutierung von Effektorzellen durch Tumorzellen (Immunogenität), die gegenseitige Zerstörung von Tumor- und Effektorzellen sowie eine Zuflussrate von neuen Effektorzellen. Mit der Einführung einer fraktalen Dimension wird berücksichtigt, dass Tumor- und Effektorzellen hauptsächlich auf der Tumorbefläche miteinander in Kontakt kommen. Chemotherapie schädigt sowohl Tumoral als auch Effektorzellen. Rituximab induziert einerseits eine direkte Zerstörung von Tumorzellen, andererseits erhöht es die Immunogenität des Tumors in einem vorübergehenden Zeitraum.
2. Für das System wurden Parameter aus biologischen Daten bestimmt. Das Systemverhalten zeichnet sich durch zwei Szenarien abhängig vom Anfangszustand aus: Erstens die vollständige Zerstörung des Tumors durch Effektorzellen. Zweitens das Anwachsen des Tumors zu großen Knoten einhergehend mit der Zerstörung der Effektorzellen durch die Tumorzellen. Die Anzahl der Tumor- sowie Effektorzellen nach Ende der Immunchemotherapie entscheidet also über die Heilung des Patienten. Bei hohen Dosisstärken, Intervallverkürzungen oder Erhöhung der Zyklanzahl werden mehr Tumorzellen zerstört, gleichzeitig jedoch auch mehr Effektorzellen. Deren Anzahl ist unter Umständen so stark vermindert, dass sie den wieder anwachsenden residualen Tumor nicht mehr erfolgreich bekämpfen können. Es kommt zu einem Rezidiv. Damit wird durch das Modell der Nachweis erbracht, dass zu intensive Therapieverdichtungen aufgrund der starken Schädigung des Immunsystems prinzipiell schädlich sein können. Eine optimale Therapie zerstört also die größtmöglich Anzahl an Tumorzellen, ohne dabei die Immunzellen zu stark zu schädigen.
3. Zur Anpassung des Modells an die Daten wurde ein komplexer Algorithmus entwickelt. Aufgrund ihrer starken Varianz innerhalb der Patientenkollektive wurden für die Modellparameter Tumorwachstumsgeschwindigkeit, Immunogenität, Tumorgöße bei Diagnose sowie Chemosensitivität keine konstanten Werte gewählt, sondern Wahrscheinlichkeitsverteilungen angenommen. Für festgelegte Parameter der Wahrscheinlichkeitsverteilungen generiert das Modell für jede Therapievariante eine Überlebenskurve. Die Parameter der Verteilungen sowie andere Parameter des Modells werden an die Daten angepasst, indem der Abstand zwischen simulierten

Überlebenskurven und klinischen Überlebenskurven minimiert wird. Das Verfahren verfolgt dabei eine Evolutionsstrategie.

Die wichtigsten klinischen Ergebnisse der Arbeit sind:

1. In der ersten Publikation liegt der Schwerpunkt auf der Entwicklung des biomathematischen Modells ohne Rituximab und der Parametrisierung des Modells durch den entwickelten Algorithmus. Das Modell wurde an Überlebensdaten von älteren Patienten aus den klinischen Studien NHL-B2 und RICOVER-60 angepasst (vgl. Kapitel 2).
 - (a) Die Übereinstimmung der Überlebenskurven ist ausgezeichnet. Das Modell reproduziert Verbesserungen der Überlebensraten bei moderaten Therapieintensivierungen, sowie Verschlechterungen bei massiven Therapieverdichtungen. Durch die einfache Annahme einer Anti-Tumor-Wirkung des Immunsystems können also bei Variation einiger weniger Modellparameter paradoxe Therapieeffekte erklärt werden.
 - (b) Die geschätzten Parameter sind biologisch plausibel.
 - (c) Vorhersagen bezüglich der Variation von Zyklusanzahl und Intervalldauer von CHOP wurden ebenfalls simuliert. Das Modell prognostiziert nur geringe Effekte auf die Überlebensraten bei weiteren Intervallverkürzungen und Dosissteigerungen.
2. In der zweiten Publikation wurde das Modell durch die Immuntherapie mit Rituximab erweitert und an Überlebensdaten aus den klinischen Studien NHL-B2 und RICOVER-60 von älteren Patienten angepasst. Die Validierung der Anpassung erfolgte durch die Vorhersage der Ergebnisse sechs weiterer Studien bei älteren Patienten mit aggressiven Lymphomen (vgl. Kapitel 3).
 - (a) Simulierte und klinische Log-Hazard-Raten und Überlebenskurven stimmen im Allgemeinen gut überein, wobei wenige Abweichungen auftraten, die in der Publikation diskutiert werden. Das Modell erklärt also Überlebensdaten nach Immunchemotherapie mit Rituximab und insbesondere die Abschwächung von Unterschieden zwischen den Überlebensraten der verschiedenen Chemotherapien seit der Einführung von Rituximab.
 - (b) Vorhersagen für Variationen der Zyklusanzahl und Intervalllänge von CHOP oder Rituximab wurden für ältere Patienten gemacht. 6 Zyklen 14-tägiges CHOP wird als optimal prognostiziert. Die Intervalllänge bei (periodischer) Rituximabgabe wird als kaum relevant prognostiziert, eine Zyklusanzahl von 8 Rituximab wird als ausreichend vorhergesagt.
3. In einem weiteren Kapitel wurden nicht veröffentlichte zusätzliche Ergebnisse vorgestellt. Das Modell wurde erstens an klinischen Daten von jungen Patienten mit niedrigem Risiko angepasst. Zweitens wurden ein messbarer Risikofaktor als Surrogatmarker für einen Modellparameter benutzt um Vorhersagen für verschiedene Risikogruppen innerhalb eines Patientenkollektivs zu ermöglichen (vgl. Kapitel 4).

- (a) Für junge Patienten mit guter Prognose stimmen die Überlebensraten des Modells gut mit den klinischen Daten überein. Auch die Parameterwerte sind plausibel. Es sind jedoch weitere Studien zur Validierung der Modellanpassung nötig, bevor das Modell für diese Gruppe für Vorhersagen genutzt werden kann.
- (b) Die messbare Größe IPI dient als Surrogatmarker für Tumorgröße bei Diagnose. Die simulierten Überlebensraten des Modells für kleine und große Tumoren werden mit den ereignisfreien Überlebensraten der Studien DENSE-R und SMARTE-R für hohes und niedriges IPI verglichen. Wie in den Studien prognostiziert das Modell für Rituximab-intensivierte Schemata höchstens leichte Verbesserungen. Um zuverlässige Modellvorhersagen für spezielle Risikogruppen machen zu können, sind jedoch weitere klinische Daten zur Verbesserung der Anpassung nötig.

Das Modell kann auf jedes Patientenkollektiv und Chemotherapieregime bei aNHL angewendet werden unter der Voraussetzung der Verfügbarkeit von ausreichenden klinischen Daten. Mit Vorschlägen zur Therapieoptimierung kann es die Konzeption neuer klinischer Studien unterstützen und zielgerichteter ausrichten.

Abkürzungsverzeichnis

ADCC	Antikörper-abhängige zelluläre Zytotoxizität (antibody-dependent cellular cytotoxicity)
aNHL	aggressive Non-Hodgkin-Lymphome
B-NHL	B-Zell-Non-Hodgkin-Lymphom
CDC	Komplement-abhängige Zytotoxizität (complement-dependent cytotoxicity)
CDCC	Komplement-abhängige zelluläre Zytotoxizität (complement-dependent cellular cytotoxicity)
CHOP/CHOEP	Chemotherapie bestehend aus Cyclophosphamid (Cyclophosphamide), Doxorubicin (Hydroxydaunorubicin), Vincristin (Oncovin), Prednison (Prednisone) und optional Etoposid (Etoposide).
DLBCL	diffuses großzelliges B-Zell Lymphom (diffuse large B-cell lymphoma)
EFS	ereignisfreies Überleben (event-free survival)
IPI	Internationaler Prognostischer Index (International Prognostic Index)
LDH	L-Lactatdehydrogenase
LHR	Log-Hazard-Ratio
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom (Non-Hodgkin lymphoma)
R-CHOP	CHOP-Therapie mit Rituximab

Symbolverzeichnis

α	Wachstumsrate des Tumors
c	Exponent von T bei Interaktion mit E
C_{Rit}	Rituximab-Konzentration im Blutserum
χ_{CT}	charakteristische Chemotherapiefunktion
χ_{Rit}	charakteristische Rituximabfunktion
δ	Zerfallsrate der Effektorzellen
E	Anzahl der Effektorzellen
f_{Rit}	Stimulierungsrate der Effektorzellen durch Rituximab
η	Tumorlast bei halbmaximaler Stimulation der Effektorzellen
k_{Rit}	Eliminationsrate der Tumorzellen durch Rituximab
k_E	Effektorzelltoxizität der Chemotherapie
k_T	Chemosensitivität
μ	Eliminationsrate der Effektorzellen durch Tumorzellen
ν	Eliminationsrate der Tumorzellen durch Effektorzellen
ρ	Stimulierungsrate der Effektorzellen durch Tumorzellen
σ	Zuflussrate der Effektorzellen
T	Anzahl der Tumorzellen
T_{diag}	Tumorgröße bei Diagnose

Abbildungsverzeichnis

1.1	Vorgehensweise bei der biomathematischen Modellierung	9
2.1	Illustration des Modellverhaltens	14
4.1	Log-Hazard-Ratios für junge Patienten	65
4.2	Modellanpassung an Daten der Studien NHL-B1 und High-CHOEP	66
4.3	Modellanpassung an Daten der MInT-Studie	66
4.4	Modellanpassung an Daten der Studien SMARTE-R und DENSE-R nach Risikogruppe	70

Tabellenverzeichnis

4.1	Übersicht klinische Studien für junge Patienten mit guter Prognose	63
4.2	Übersicht der angepassten Modellparameter	67

Literaturverzeichnis

- [1] Ian Magrath. *The Non-Hodgkin's Lymphomas*. Arnold, 2nd edition, 1997.
- [2] Nikolaus Becker, Evelin Deeg, and Alexandra Nieters. Epidemiologische Fall-Kontrollstudie zur Ätiologie von Lymphomen. Technical Report 639, Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit, 2004.
- [3] Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter. *Molecular Biology of the Cell*. Taylor & Francis, 4th edition, 2002.
- [4] Patrick A. Treseler. The Pathology of Hodgkin's Disease. In *Malignant Lymphomas*, chapter 20, pages 330–355. BC Decker Inc, 2002.
- [5] The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. A Clinical Evaluation of the International Lymphoma Study Group Classification of Non-Hodgkin's Lymphoma. *Blood*, 89(11):3909–3918, 1997.
- [6] Joseph M. Connors. Non-Hodgkin lymphoma: the clinician's perspective - a view from the receiving end. *Modern Pathology*, 26:111–118, 2013.
- [7] Bertrand Coiffier. State-of-the-Art Therapeutics: Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*, 23(26):6387–6393, 2005.
- [8] Steven H. Swerdlow, Elias Campo, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jürgen Thiele, and James W. Vardiman. *WHO Classification of Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues*. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 4th edition, 2008.
- [9] Sandeep Gurbaxani, John Anastasi, and Elizabeth Hyjek. Diffuse Large B-Cell Lymphoma - More Than a Diffuse Collection of Large B Cells: An Entity in Search of a Meaningful Classification. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 133(7): 988–993, 2009.
- [10] M. Alma Rodriguez and Fernando Cabanillas. Prognostic Factors in Non-Hodgkin's Lymphoma. In *Malignant Lymphomas*, chapter 5, pages 84–93. BC Decker Inc, 2002.
- [11] Vicki A. Morrison. Non-Hodgkin's Lymphoma in the Elderly. In *Malignant Lymphomas*, chapter 16, pages 276–288. BC Decker Inc, 2002.
- [12] Catherine Thieblemont and Bertrand Coiffier. Lymphoma in Older Patients. *Journal of Clinical Oncology*, 25:1916–1923, 2007.

- [13] Michele W.L. Teng, Jeremy B. Swann, Catherine M. Koebel, Robert D. Schreiber, and Mark J. Smyth. Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer. *Journal of Leukocyte Biology*, 84(4):988–993, 2008.
- [14] Michael A. Nalesnik, Ronald Jaffe, Thomas E. Starzl, A.Jake Demetris, Kendrick Porter, Judith A. Burnham, Leonard Makowka, Monto Ho, and Joseph Locker. The Pathology of Posttransplant Lymphoproliferative Disorders Occurring in the Setting of Cyclosporine A-Prednisone Immunosuppression. *American Journal of Pathology*, 133(1):173–192, 1988.
- [15] Irwin G.S. Lim and James V. Bertouch. Remission of lymphoma after drug withdrawal in rheumatoid arthritis. *Medical Journal of Australia*, 177:500–507, 1988.
- [16] Xavier Mariette, Dominique Cazals-Hatem, Josiane Warszawski, Frédéric Liote, Nathalie Balandraud, and Jean Sibilia. Lymphomas in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate: a 3-year prospective study in France. *Blood*, 99(11):3909–3915, 2002.
- [17] Nozomi Niitsu, Masataka Okamoto, Hirokazu Nakamine, and Masami Hirano. Clinicopathologic correlations of diffuse large B-cell lymphoma in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. *Cancer Science*, 101(5):3909–3913, 2010.
- [18] Huiying Wang, Dandan Wu, Hua Xiang, Aifeng Chen, and Jin Liu. Pulmonary non-Hodgkin’s lymphoma developed during long-term methotrexate therapy for rheumatoid arthritis. *Rheumatology International*, 32(11):3639–3642, 2012.
- [19] N. Mohsin, M. Budruddin, P. Kamble, M. Khalil, A. Pakkyarra, A. Jha, E. Mohammed, H. Ahmed, J. Ahmed, S. Thomas, J.M. Campistol, and A. Daar. Complete Regression of Cutaneous B-Cell Lymphoma in a Renal Transplant Patient After Conversion From Cyclosporin to Sirolimus. *Transplantation Proceedings*, 39:1267–1271, 2007.
- [20] Timothy R. Côté, Robert J. Biggar, Philip S. Rosenberg, Susan S. Devesa, Constance Percy, Francis J. Yellin, George Lemp, Catherine Hardy, James J. Geodert, William A Blattner, and the AIDS/Cancer Study Group. Non-Hodgkins’s lymphoma among people with AIDS: incidence, presentation and public health burden. *International Journal of Cancer*, 73:645–650, 1997.
- [21] V.T. Jr. DeVita, G.P. Canellos, B. Chabner, P. Schein, S.P. Hubbard, and R.C. Young. Advanced diffuse histiocytic lymphoma, a potentially curable disease. *Lancet*, 1:248–250, 1975.
- [22] Deborah A. Thomas, Jorge Cortes, Carlos Bueso-Ramos, Hagop M. Kantarjian, and Fredrick B. Hagemeister. High-Grade Non-Hodgkin’s Lymphomas. In *Malignant Lymphomas*, chapter 10, pages 152–197. BC Decker Inc, 2002.
- [23] Howard E. Skipper, Frank M. Jr. Schabel, Bruce Mellet, John A. Montgomery, Lee J. Wilkoff, Harris H. Lloyd, and R. Wallace Brockman. Implications of biochemical, cytokinetic, pharmacologic and toxicologic relationships in the design of optimal therapeutic schedules. *Cancer Chemotherapy Reports*, 54(6):431–450, 1970.

- [24] Howard E. Skipper. Perspectives in Cancer Chemotherapy: Therapeutic Design. *Cancer Research*, 24:1295–1302, 1970.
- [25] Wyndham H. Wilson. Principles of chemotherapy. In *The Non-Hodgkin's Lymphomas*, chapter 28, pages 631–648. Arnold, 1997.
- [26] S. J. Vedel, D. Tholstrup, L. Kolte, J. Gaardbo, L. P. Ryder, A. Ersbøll, E. Albrecht-Beste, J. Jurlander, J. O. Nielsen, and S. D. Nielsen. Limited Impact of the Thymus on Immunological Recovery During and After Chemotherapy in Patients with Diffuse Large B-cell Lymphoma. *Scandinavian Journal of Immunology*, 69(6):547–554, 2009.
- [27] M. M. Mustafa, G. R. Buchanan, N. J. Winick, G.H. McCracken, I. Tkaczewski, M. Lipscomb, Q. Ansari, and M. S. Agopian. Immune recovery in children with malignancy after cessation of chemotherapy. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 20(5):451–457, 1998.
- [28] Mehmet Kantar, Nazan Çetingül, Sava? Kansoy, Necil Kütükçüler, and Güzide Ak-sub. Immune Deficiencies following Cancer Treatment in Children. *Journal of Tropical Pediatrics*, 49(5):286–290, 2003.
- [29] Christophe Borg, Isabelle Ray-Coquard, Irene Philip, Gilles Clapisson, Nathalie Bendriss-Vermare, Christine Menetrier-Caux, Catherine Sebban, Pierre Biron, and Jean-Yves Blay. CD4 lymphopenia as a risk factor for febrile neutropenia and early death after cytotoxic chemotherapy in adult patients with cancer. *Cancer*, 101(11):2675–2680, 2004.
- [30] Dirk Hasenclever. *Tumorwachstum und Wirkung von Chemotherapie: Ein mathematisches Modell zur Schätzung der Verteilung der Latenzzeiten und der Chemosensitivität in einem gegebenen Patientenkollektiv aus klinischen Daten*. PhD thesis, Universität zu Köln, 1995.
- [31] Guillaume Cartron, Hervé Watier, Josée Golay, and Philippe Solal-Celigny. From the bench to the bedside: ways to improve rituximab efficacy. *Blood*, 104(9):2635–2642, 2004.
- [32] Greg L. Plosker and David P. Figgitt. Rituximab: a review of its use in non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia. *Drugs*, 63(8):803–43, 2003.
- [33] Marcin Okroj, Anders Österborg, and Anna M. Blom. Effector mechanisms of anti-CD20 monoclonal antibodies in B cell malignancies. *Cancer Treatment Reviews*, 39(6):632–639, 2013.
- [34] A. Harjunpää, S. Junnikkala, and S. Meri. Rituximab (anti-CD20) therapy of B-cell lymphomas: direct complement killing is superior to cellular effector mechanisms. *Scandinavian Journal of Immunology*, 51(6):634–641, 2000.
- [35] Ali R. Jazirehi, Sara Huerta-Yepez, Genhong Cheng, and Benjamin Bonavida. Rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) inhibits the constitutive nuclear factor-kappaB signaling pathway in non-Hodgkin's lymphoma B-cell lines: role in

- sensitization to chemotherapeutic drug-induced apoptosis. *Cancer Research*, 65(1):264–276, 2005.
- [36] Steve Alas, Christos Emmanouilides, and Benjamin Bonavida. Inhibition of interleukin 10 by rituximab results in down-regulation of bcl-2 and sensitization of B-cell non-Hodgkin’s lymphoma to apoptosis. *Clinical Cancer Research*, 7(3):709–723, 2001.
- [37] Kai U. Chow, Wolf Daniel Sommerlad, Simone Boehrer, Bernd Schneider, Gernot Seipelt, Mathias Johannes Rummel, Dieter Hoelzer, Paris S. Mitrou, and Eckhart Weidmann. Anti-CD20 antibody (IDEC-C2B8, rituximab) enhances efficacy of cytotoxic drugs on neoplastic lymphocytes in vitro: role of cytokines, complement, and caspases. *Haematologica*, 87(1):33–43, 2002.
- [38] Bertrand Coiffier. Rituximab therapy in malignant lymphoma. *Oncogene*, 26:3603–3613, 2007.
- [39] Mario I. Vega, Sara Huerta-Yepaz, Hermes Garban, Ali Jazirehi, Christos Emmanouilides, and Benjamin Bonavida. Rituximab inhibits p38 MAPK activity in 2F7 B NHL and decreases IL-10 transcription: pivotal role of p38 MAPK in drug resistance. *Oncogene.*, 23(20):3530–3540, 2004.
- [40] M.A. Ghetie, M. Crank, S. Kufert, I. Pop, and E. Vitetta. Rituximab but not other anti-CD20 antibodies reverses multidrug resistance in 2 B lymphoma cell lines, blocks the activity of P-glycoprotein (P-gp), and induces P-gp to translocate out of lipid rafts. *Journal of immunotherapy*, 29(5):536–544, 2006.
- [41] Nancy L. Monson, Petra Cravens, Rehana Hussain, Christopher T. Harp, Matthew Cummings, Maria de Pilar Martin, Li-Hong Ben, Julie Do, Jeri-Anne Lyons, Amy Lovette-Racke, Anne H. Cross, Michael K. Racke, Olaf Stüve, Mark Shlomchik, and Todd N. Eagar. Rituximab therapy reduces organ-specific T cell responses and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis. *PLoS One*, 6(2):e17103, 2011.
- [42] M. Wayne Saville, Mark C. Benyunes, and Pratik S. Multani. No clinical evidence for CD4+ cell depletion caused by rituximab. *Blood*, 102(1):408–409, 2003.
- [43] Richard I. Fisher, Ellen R. Gaynor, Steve Dahlberg, Martin M. Oken, Thomas M. Grogan, Evonne M. Mize, John H. Glick, Charles A. Coltman Jr., and Miller Thomas P. Comparison of a Standard Regimen (CHOP) with Three Intensive Chemotherapy Regimens for Advanced Non-Hodgkin’s Lymphoma. *The New England Journal of Medicine*, 328:1002–1006, 1993.
- [44] H. Tilly, U. Vitolo, J. Walewski, W. Gomes da Silva, O. Shpilberg, M. André, M. Pfreundschuh, and M. Dreyling. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology*, 23:vii78–vii82, 2012.
- [45] Michael Pfreundschuh, Lorenz Trümper, Marita Kloess, Rudolf Schmits, Alfred C. Feller, Christian Rübe, Christian Rudolph, Marcel Reiser, Dieter K. Hossfeld, Hartmut Eimermacher, Dirk Hasenclever, Norbert Schmitz, and Markus Löffler. Two-

- weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood*, 104(3):634–641, 2004.
- [46] Michael Pfreundschuh, Lorenz Trümper, Marita Kloess, Rudolf Schmits, Alfred C. Feller, Christian Rudolph, Marcel Reiser, Dieter K. Hossfeld, Bernd Metzner, Dirk Hasenclever, Norbert Schmitz, Bertram Glass, Christian Rube, and Markus Loeffler. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas: results of the NHL-B1 trial of the DSHNHL. *Blood*, 104(3):626–633, 2004.
- [47] Michael Pfreundschuh, C. Zwick, Samira Zeynalova, U. Dührsen, K.-H. Pflüger, T. Vrieling, R. Mesters, H.-G. Mergenthaler, H. Einsele, M. Bentz, E. Lengfelder, L. Trümper, C. Rube, N. Schmitz, and M. Loeffler. Dose-escalated CHOEP for the treatment of young patients with aggressive non-Hodgkin’s lymphoma: II. Results of the randomized high-CHOEP trial of the German High-Grade Non-Hodgkin’s Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Annals of Oncology*, 19:545–552, 2008.
- [48] Michael Pfreundschuh, Joerg Schubert, Ziepert. Marita, Rudolf Schmits, Martin Mohren, Eva Lengfelder, Marcel Reiser, Christina Nickenig, Michael Clemens, Norma Peter, Carsten Bokemeyer, Hartmut Eimermacher, Anthony Ho, Martin Hoffmann, Roland Mertelsmann, Lorenz Trümper, Leopold Balleisen, Ruediger Liersch, Bernd Metzner, Frank Hartmann, Bertram Glass, Viola Poeschel, Norbert Schmitz, Christian Rube, Alfred C Feller, and Markus Loeffler. Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *The Lancet Oncology*, 9:105–116, 2008.
- [49] Bertrand Coiffier, Eric Lepage, Josette Brière, Raoul Herbrecht, Hervé Tilly, Reda Bouabdallah, Pierre Morel, Eric Van Den Neste, Gilles Salles, Phillipe Gaulard, Felix Reyes, and Christian Gisselbrecht. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *The New England Journal of Medicine*, 24:235–242, 2002.
- [50] Thomas M. Habermann, Edie A. Weller, Vicki A. Morrison, Randy D. Gascoyne, Peter A. Cassileth, Jeffrey B. Cohn, Shaker R. Dakhil, Bruce Woda, Richard I. Fisher, Bruce A. Peterson, and Sandra J. Horning. Rituximab-CHOP Versus CHOP Alone or With Maintenance Rituximab in Older Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*, 24(19):3121–3127, 2006.
- [51] Michael Pfreundschuh, Lorenz Trümper, Anders Österborg, Ruth Pettengell, Marek Trneny, Kevin Imrie, David Ma, Gill Devinder, Jan Walewski, Pier-Luigi Zinzani, Rolf Stahel, Stein Kvaloy, Ofer Shpilberg, Ulrich Jaeger, Mads Hansen, Tuula Lehtinen, Armando López-Guillermo, Claudia Corrado, Adriana Scheliga, Noel Milpied, Myriam Mendila, Michelle Rashford, Evelyn Kuhnt, and Markus Loeffler. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled

- trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *The Lancet Oncology*, 7: 379–391, 2006.
- [52] Laurie H. Sehn, Jane Donaldson, Mukesh Chhanabhai, Catherine Fitzgerald, Karamjit Gill, Richard Klasa, Nicol MacPherson, Susan O'Reilly, John J. Spinelli, Judy Sutherland, Kenneth S. Wilson, Randy D. Gascoyne, and Joseph M. Connors. Introduction of Combined CHOP Plus Rituximab Therapy Dramatically Improved Outcome of Diffuse Large B-Cell Lymphoma in British Columbia. *Journal of Clinical Oncology*, 23(22):5027–5033, 2005.
- [53] Richard Delarue, Hervé Tilly, Nicolas Mounier, Tony Petrella, Gilles Salles, Catherine Thieblemont, Serge Bologna, Hervé Ghesquières, Maya Hacini, Christophe Fruchart, Loïc Ysebaert, Christophe Fermé, Olivier Casasnovas, Achiel Van Hoof, Antoine Thyss, Alain Delmer, Olivier Fitoussi, Thierry Jo Molina, Corinne Haioun, and André Bosly. Dose-dense rituximab-CHOP compared with standard rituximab-CHOP in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (the LNH03-6B study): a randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 14(6):525–533, 2013.
- [54] David Cunningham, Eliza A. Hawkes, Andrew Jack, Wendi Qian, Paul Smith, Paul Mounce, Christopher Pocock, Kirit M. Ardesna, John A. Radford, Andrew McMillan, John Davies, Deborah Turner, Anton Kruger, Peter Johnson, Joanna Gambell, and David Linch. Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14-day versus 21-day cycles. *The Lancet*, 341(9880):1817–1826, 2013.
- [55] N. Murawski, M. Pfreundschuh, S. Zeynalova, V. Poeschel, M. Hänel, G. Held, N. Schmitz, A. Viardot, C. Schmidt, M. Hallek, M. Witzens-Harig, L. Trümper, T. Rixecker, and C. Zwick. Optimization of rituximab for the treatment of DLBCL (I): dose-dense rituximab in the DENSE-R-CHOP-14 trial of the DSHNHL. *Annals of Oncology*, 25(9):1800–1806, 2014.
- [56] Michael Pfreundschuh, Viola Poeschel, Samira Zeynalova, Mathias Hänel, Gerhard Held, Norbert Schmitz, Andreas Viardot, Martin H. Dreyling, Michael Hallek, Carsten Mueller, Martin H.J. Wiesen, Mathias Witzens-Harig, Lorenz Truemper, Ulrich Keller, Tanja Rixecker, Carsten Zwick, and Niels Murawski. Optimization of Rituximab for the Treatment of Diffuse Large B-Cell Lymphoma (II): Extended Rituximab Exposure Time in the SMARTE-R-CHOP-14 Trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group. *Journal of Clinical Oncology*, 32(36):4127–4133, 2014.
- [57] Michael Pfreundschuh, Carsten Müller, Samira Zeynalova, Evelyn Kuhnt, Martin H. J. Wiesen, Gerhard Held, Tanja Rixecker, Viola Poeschel, Carsten Zwick, Marcel Reiser, Norbert Schmitz, and Niels Murawski. Suboptimal dosing of rituximab in male and female patients with DLBCL. *Blood*, 123(5):640–646, 2013.
- [58] Christian Récher, Bertrand Coiffier, Corinne Haioun, Thierry Jo Molina, Christophe Fermé, Olivier Casasnovas, Catherine Thieblemont, André Bosly, Guy Laurent,

- Franck Morschhauser, Hervé Ghesquières, Fabrice Jardin, Serge Bologna, Christophe Fruchart, Bernadette Corront, Jean Gabarre, Christophe Bonnet, Maud Janvier, Danielle Canioni, Jean-Philippe Jais, Gilles Salles, and Hervé Tilly. Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03-2B): an open-label randomised phase 3 trial. *The Lancet*, 378(9806):1858–1867, 2011.
- [59] Norbert Schmitz, Maik Nickelsen, Marita Ziepert, Mathias Haenel, Peter Borchmann, Christian Schmidt, Andreas Viardot, Martin Bentz, Norma Peter, Gerhard Ehninger, Gottfried Doelken, Christian Ruebe, Lorenz Truemper, Andreas Rosenwald, Michael Pfreundschuh, Markus Loeffler, and Bertram Glass. Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03-2B): an open-label randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 13(12):1250–1259, 2012.
- [60] Jing Wang, Ping Zhan, Jian Ouyang, Bing Chen, Rongfu Zhou, and Yonggong Yang. Standard chemotherapy is superior to high-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation on overall survival as the first-line therapy for patients with aggressive non-Hodgkin lymphoma: a meta-analysis. *Medical Oncology*, 28(3):822–828, 2011.
- [61] Deutsche Studiengruppe für Hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome (DSHNHL). Strahlentherapie, 2015. URL <http://www.dshnhl.org/therapie/aggressives-b-zell-lymphom/strahlentherapie/>.
- [62] B. Coiffier, C. Haioun, N. Ketterer, A. Engert, H. Tilly, D. Ma, P. Johnson, A. Lister, M. Feuring Buske, J.A. Radford, R. Capdeville, V. Diehl, and F. Reyes. Rituximab (Anti-CD20 Monoclonal Antibody) for the Treatment of Patients With Relapsing or Refractory Aggressive Lymphoma: A Multicenter Phase II Study. *Blood*, 92(6):1927–1932, 1998.
- [63] Christian Gisselbrecht. Use of rituximab in diffuse large B-cell lymphoma in the salvage setting. *British journal of haematology*, 143(5):607–621, 2008.
- [64] Alejandro Martín, Eulogio Conde, Montserrat Arnan, Miguel A. Canales, Guillermo Deben, Juan M. Sancho, Rafael Andreu, Antonio Salar, Pedro García-Sánchez, Lourdes Vázquez, Sara Nistal, María-José Requena, Eva M. Donato, José A. González, Ángel León, Concepción Ruiz, Carlos Grande, Eva González-Barca, and María-Dolores Caballero. R-ESHAP as salvage therapy for patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma: the influence of prior exposure to rituximab on outcome. A GEL/TAMO study. *Haematologica*, 93(12):1829–1836, 2008.
- [65] Michael Pfreundschuh. CHOP intensification: not yet state of the art. *The Lancet Oncology*, 14(6):445–447, 2013.
- [66] Bertrand Coiffier. Which treatment for high-risk patients with DLBCL? *The Lancet Oncology*, 13(12):1180–1182, 2012.

- [67] Vladimir A. Kuznetsov, Iliya A. Makalkin, Mark A. Taylor, and Alan S. Perelson. Nonlinear dynamics of immunogenic tumors: parameter estimation and global bifurcation analysis. *Bulletin of Mathematical Biology*, 56(2):295–321, 1994.
- [68] Carsten Müller, Niels Murawski, Martin H. J. Wiesen, Gerhard Held, Viola Poeschel, Samira Zeynalova, Michael Wenger, Christina Nickenig, Norma Peter, Eva Lengfelder, Bernd Metzner, Tanja Rixecker, Carsten Zwick, Michael Pfreundschuh, and Marcel Reiser. The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL. *Blood*, 119(14):3276–3284, 2012.
- [69] A. Wunderlich, M. Kloess, M. Reiser, C. Rudolph, L. Truemper, S. Bittner, H. Schmalenberg, R. Schmits, M. Pfreundschuh, and M. Loeffler. Practicability and acute haematological toxicity of 2- and 3-weekly CHOP and CHOEP chemotherapy for aggressive non-Hodgkin’s lymphoma: results from the NHL-B trial of the German High-Grade Non-Hodgkin’s Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Annals of Oncology*, 14(6):881–893, 2003.
- [70] M. Köberle, K. Müller, M. Kamprad, F. Horn, and M. Scholz. Monitoring Disease Progression and Therapeutic Response in a Disseminated Tumor Model for Non-Hodgkin Lymphoma by Bioluminescence Imaging. *Molecular Imaging*, 14:400–413, 2015.

Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren.

Kaiserslautern, den 6. Juni 2017

.....
Katja Rösch

Danksagung

Ich danke Prof. Markus Scholz und Dr. Dirk Hasenclever für die engagierte Betreuung und umfangreiche Beratung bei der Anfertigung dieser Arbeit. Außerdem bedanke ich mich bei Prof. Markus Löffler für die weitreichende Unterstützung und die zahlreichen Anregungen, die diese Arbeit beeinflusst haben.

Mein Dank gilt meinen Kollegen am IMISE für die angenehme Arbeitsatmosphäre. Insbesondere danke ich Dr. Markus Kreuz für die wertvollen Kommentare und Anregungen diese Arbeit betreffend.

Ich danke der Deutschen Studiengruppe für hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome (DSH-NHL) für die Bereitstellung der klinischen Studiendaten und ihrer Hilfestellung bei deren Interpretation. Dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) danke ich für die Förderung dieser Arbeit und die Finanzierung meiner Stelle durch das Projekt 'Haematosys' (BMBF/PTJ0315452A). Weiterhin wurde diese Arbeit von LIFE (Leipziger Forschungszentrum für Zivilisationserkrankungen, Universität Leipzig) gefördert. LIFE wird im Rahmen der Exzellenzinitiative durch den Europäischen Fonds für Regionale Entwicklung (EFRE) der Europäischen Union sowie durch den Freistaat Sachsen finanziert. Außerdem möchte ich mich bei meiner Familie für die moralische Unterstützung bedanken. Insbesondere bedanke ich mich bei meinem Freund Matti und meiner Tochter Zoe und meinem Sohn Theo für ihre Geduld, meinem Vater für die konstruktiven Hinweise bei der Durchsicht des Manuskripts, sowie meiner Mutter Silvia für die Betreuung von Theo, während der ich diese Arbeit fertig stellen konnte.

Curriculum Vitae

Daten zum Autor

Name: Katja Schneider geb. Rösch
Akademischer Grad: Diplom-Mathematikerin
Anschrift: Kettelerstr. 14
67663 Kaiserslautern
Geburtsdatum: 27.07.1984
Geburtsort: Karl-Marx-Stadt (Chemnitz)
Familienstand: verheiratet, 3 Kinder

Ausbildung und Beruf

1995 - 2004 Hohenstaufen-Gymnasium Kaiserslautern
10/2004 - 10/2009 Studium der Angewandten Mathematik,
Technische Universität Bergakademie Freiberg
10/2008 - 01/2009 Praktikum am Fraunhofer-Institut für Techno-
und Wirtschaftsmathematik Kaiserslautern
12/2009 - 12/2015 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für
Medizinische Informatik, Statistik und
Epidemiologie (IMISE), Leipzig