

Aus der Klinik für Hämatologie und Onkologie
(komm. Direktor: Prof. Dr. med. G. Wulf)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Zur Bedeutung von Zytokin- und
Zytokinrezeptorgenvariationen bei der
Graft-versus-Host Erkrankung nach
allogener Blutstammzelltransplantation:
Genpolymorphismen von IL6, IL22,
TLR4 und TLR9**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der

Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Katrin Mareike Kienast

aus

Oberhausen

Göttingen 2022

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

Betreuungsausschuss

Betreuer: Prof. Dr. med. G. Wulf

Ko-Betreuerin: Prof. Dr. H. Bickeböller

Prüfungskommission

Referent: Prof. Dr. med. G. Wulf

Ko-Referentin: Prof. Dr. H. Bickeböller

Drittreferent: Prof. Dr. Ralf Dressel

Datum der mündlichen Prüfung: 13.12.2022

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „Zur Bedeutung von Zytokin- und Zytokinrezeptorgenvariationen bei der Graft-versus-Host Erkrankung nach allogener Blutstammzelltransplantation: Genpolymorphismen von IL6, IL22, TLR4 und TLR9“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den 10.05.2022

.....

(Katrin Mareike Kienast)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	VI
1 Einleitung.....	1
1.1 Stammzelltransplantation	1
1.1.1 Konditionierungsregime.....	4
1.2 Graft-versus-Host Disease	5
1.2.1 Akute Graft-versus-Host Disease.....	7
1.2.2 Chronische Graft-versus-Host Disease	9
1.2.3 Risikofaktoren für das Auftreten einer Graft-versus-Host Disease	10
1.2.4 Prävention der Graft-versus-Host Disease	10
1.3 Interleukin 22	11
1.4 Interleukin 6	13
1.5 Toll-like Rezeptor 9	15
1.6 Zielsetzung dieser Arbeit	17
2 Material und Methoden	18
2.1 OncoArray.....	18
2.2 <i>Genome-wide Association Study (GWAS)</i>	18
3 Patientenkollektiv und Methoden	19
3.1 Patientenkollektiv.....	19
3.1.1 Auswahl des Patientenkollektivs.....	19
3.1.2 Datenerfassung.....	21
3.1.3 HLA-Übereinstimmung mit familiärer Empfänger-Spender-Beziehung.....	21
3.1.4 Ein- und Ausschlusskriterien	22
3.1.5 Einteilung der Schweregrade der akuten GvHD.....	22
3.1.6 Einteilung der Schweregrade der chronischen GvHD	23
3.2 Statistische Methoden	25
3.2.1 Deskriptive Statistik	25
3.2.2 Analytische Statistik.....	25
3.2.3 Modelldefinitionen.....	25
3.2.4 <i>Censoring Events</i>	26
3.2.5 Konkurrierende Risiken (<i>Competing Risks</i>).....	27
3.2.6 Hazard-Funktion	29
3.3 Cox-Proportionales-Hazard-Modell.....	29
3.3.1 Ursachenspezifisches Hazard-Modell.....	31
3.3.2 <i>Subdistribution</i> Hazard-Modell.....	31

3.3.3	Unterschiede zwischen ursachenspezifischem und subdistribution Hazard	33
3.4	AIC Modell (Akaike Information Criterion).....	34
3.5	Endgültige Modellierung	35
3.6	Modellbildung „Modelfit“	35
4	Ergebnisse.....	36
4.1	Deskriptive Statistik.....	36
4.1.1	Medianes Überleben.....	41
4.2	Einfluss der SNPs der jeweiligen Gene auf das Auftreten eines der Zielereignisse	42
4.2.1	Einfluss von <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> des IL6 auf das Auftreten einer aGvHD Grad III/IV.....	44
4.2.2	Einfluss von <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> des IL22 auf das Auftreten einer aGvHD Grad III/IV	49
4.2.3	Einfluss von <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> des TLR4 auf das Auftreten einer aGvHD Grad III/IV	53
4.2.4	Einfluss von <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> des TLR9 auf das Auftreten einer aGvHD Grad III/IV	57
5	Diskussion	60
5.1	SNPs des IL6 und ihr Zusammenhang mit dem Auftreten einer akuten schweren GvHD Grad III/IV.....	60
5.2	SNPs des IL22 und ihr Zusammenhang mit dem Auftreten einer akuten schweren GvHD Grad III/IV.....	62
5.3	SNPs des TLR4 und ihr Zusammenhang mit dem Auftreten einer akuten schweren GvHD Grad III/IV.....	63
5.4	SNPs des TLR9 und ihr Zusammenhang mit dem Auftreten einer akuten schweren GvHD Grad III/IV.....	65
5.5	Ausblick	67
6	Zusammenfassung	68
7	Anhang.....	70
7.1	Marker des IL6 Gens.....	70
7.2	Marker des IL22 Gens.....	75
7.3	Marker des TLR4 Gens	78
7.4	Marker des TLR9 Gens	78
8	Literaturverzeichnis	79

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: konkurrierenden Risiken (Competing Risks).....	28
Abbildung 2: Verteilung der Grunderkrankungen	36
Abbildung 3: Häufigkeitsentwicklung der Stammzelltransplantationen im Zeitraum von 2001 bis 2016.	37
Abbildung 4: Gesamtüberleben nach allogener Stammzelltransplantation, aufgetrennt nach dem Schweregrad der akuten Graft-versus-Host Disease anhand einer Kaplan-Meier-Schätzkurve... ..	39
Abbildung 5: Darstellung aller Marker des Gens IL6.....	44
Abbildung 6: Darstellung aller Marker des Gens IL22.....	50
Abbildung 7: Darstellung aller Marker des Gens TLR4.....	54
Abbildung 8: Darstellung aller Marker des Gens TLR9.....	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Darstellung der Krankheitsentitäten.....	20
Tabelle 2: Ausmaß der Organbeteiligung und Einteilung der Schweregrade der akuten GvHD anhand des Glucksberg-Scores und des IBMTR Severity Index.....	23
Tabelle 3: NIH Global Severity of Chronic GvHD aus Jagasia et al. 2015.....	24
Tabelle 4: Demografische und klinische Parameter der Patienten vor und nach der Transplantation.....	39
Tabelle 5: Übersicht über die Schätzungen der untersuchten Marker. Insgesamt wurden 43 SNPs untersucht.	43
Tabelle 6: Schätzung der Effektstärke des Markers rs10950917.....	45
Tabelle 7: Schätzung der Effektstärke des Markers rs6969502.....	46
Tabelle 8: Schätzung der Effektstärke des Markers rs7782803.....	47
Tabelle 9: Schätzung der Effektstärke des Markers rs7776857.....	47
Tabelle 10: Schätzung der Effektstärke des Markers rs1800795.....	49
Tabelle 11: Schätzung der Effektstärke des Markers rs4719709.....	49
Tabelle 12: Schätzung der Effektstärke des Markers rs78734483.....	51
Tabelle 13: Schätzung der Effektstärke des Markers rs4913281.....	52
Tabelle 14: Schätzung der Effektstärke des Markers rs4913426.....	53
Tabelle 15: Schätzung der Effektstärke des Markers rs13377780.....	53
Tabelle 16: Schätzung der Effektstärke des Markers rs11536869.....	55
Tabelle 17: Schätzung der Effektstärke des Markers rs1360094.....	55
Tabelle 18: Schätzung der Effektstärke des Markers rs11536878.....	56
Tabelle 19: Schätzung der Effektstärke des Markers rs11536879.....	56
Tabelle 20: Schätzung der Effektstärke des Markers rs4837496.....	57
Tabelle 21: Schätzung der Effektstärke des Markers rs11715391.....	59
Tabelle 22A: Marker rs10155981.....	70
Tabelle 23A: Marker rs35610689.....	70
Tabelle 24A: Marker rs10499563.....	70
Tabelle 25A: Marker rs1476483.....	71
Tabelle 26A: Marker rs1524104.....	71
Tabelle 27A: Marker rs1524105.....	71
Tabelle 28A: Marker rs2069844.....	72
Tabelle 29A: Marker rs2905325.....	72
Tabelle 30A: Marker rs4722167.....	72
Tabelle 31A: Marker rs6461662.....	73
Tabelle 32A: Marker rs6461666.....	73
Tabelle 33A: Marker rs6949149.....	73
Tabelle 34A: Marker rs6969927.....	74
Tabelle 35A: Marker rs7793526.....	74
Tabelle 36A: Marker rs7796691.....	74
Tabelle 37A: Marker rs7808122.....	75
Tabelle 38A: Marker rs1476482.....	75
Tabelle 39A: Marker rs11177140.....	75
Tabelle 40A: Marker rs17700390.....	76
Tabelle 41A: Marker rs 2227478.....	76
Tabelle 42A: Marker rs4913287.....	76
Tabelle 43A: Marker rs4913432.....	77
Tabelle 44A: Marker rs756213.....	77

Tabelle 45A: Marker rs7296489	77
Tabelle 46A: Marker rs2737191	78
Tabelle 47A: Marker rs11717383	78
Tabelle 48A: Marker rs7618915	78

Abkürzungsverzeichnis

δ	Delta
AA	Aplastische Anämie
aGvHD	Akute Graft-versus-Host Disease
AIC	Akaike Information Criterion
AILD	Angioimmunoblastische Lymphadenopathie
AILT	Angioimmunoblastisches T-Zell-Lymphom
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
APC	Antigen präsentierende Zellen
ATG	Antithymozytenglobulin
B-Zellen	B-Lymphozyten
BCL	B-Zell Lymphom
BU	Busulphan
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
cGvHD	Chronische Graft-versus-Host Disease
CLC	<i>Cardiotrophin-like Zytokin</i>
CLL	Chronisch lymphatische Leukämie
CML	Chronisch myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalievirus
CNTF	<i>Ciliary Neurotrophic Factor</i>
CRP	C-reaktives Protein
CT-1	Cardiotrophin-1
CY	Cytarabin
DLBCL	Diffuses großzelliges B-Zell Lymphom
DNA	Desoxyribonukleinsäure
<i>EBMT-Score</i>	<i>European Group for Blood and Marrow Transplantation Score</i>
EBV	Epstein-Barr-Virus
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
EFS	<i>Event-free Survival</i>
etc.	Et cetera
FCL	Kutanes follikuläres zentrales Lymphom
<i>FtoM</i>	<i>Female to Male</i>
<i>G-CSF</i>	<i>Granulocyte-Colony Stimulating Factor</i>
GIST	Gastrointestinaltrakt
<i>GM-CSF</i>	<i>Granulocyte Macrophage Colony-stimulating Factor</i>
<i>GvHD</i>	<i>Graft-versus-Host Disease</i>
<i>GvL-Effekt</i>	<i>Graft-versus-Leukemia Effect</i>
GWAS	Genomweite Assoziationsstudie
Gy	Gray
HLA	Humanes Leukozyten-Antigen
HR	<i>Hazard Ratio</i>
<i>IBMTR</i>	<i>International Bone Marrow Transplant Registry</i>
IFN g	Interferon gamma
Ig	Immunglobulin

IL	Interleukin
IL22R	Interleukin 22-Rezeptor
iv.	Intravenös
Jak	Januskinase
KG	Körpergewicht
KM	Knochenmark
KOF	Körperoberfläche
<i>LIF</i>	<i>Leukemia Inhibitory Factor</i>
LPS	Lipopolysaccharide
MAC	Myeloablative Konditionierung
<i>Map</i>	<i>Mitogen Activated Protein</i>
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MF	Myelofibrose
<i>MHC</i>	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
MM	Multipl. Myelom
<i>MRD</i>	<i>Matched Related Donor</i>
MS	Microsoft
<i>MUD</i>	<i>Matched Unrelated Donor</i>
<i>NA</i>	<i>Not Available</i>
<i>NCBI</i>	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
<i>nF-kB</i>	<i>Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells</i>
NHL	Non-Hodgkin Lymphom
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NMA	Nicht-myeloablative Konditionierung
<i>NPM</i>	<i>Non-preceded Mortality</i>
OSM	Oncostatin M
<i>OVS</i>	<i>Overall Survival (Gesamtüberleben)</i>
PAMPs	Pathogen-assoziierte molekulare Muster
Pat.	Patient
PBSCT	Periphere Blutstammzelltransplantation
PMF	Primäre Myelofibrose
PTCL	Peripheres T-Zell Lymphom
RIC	Reduced Intensity Conditioning (dosisreduzierte Konditionierung)
rs-Nummer	Reference Sequence-Nummer
RTC	Reduzierte Toxizität
sAA	Schwere aplastische Anämie
<i>sHR</i>	<i>Subdistributional Hazard Ratio</i>
<i>SNP</i>	<i>Single Nucleotide Polymorphism (Einzelnukleotid Polymorphismus)</i>
<i>STAT</i>	<i>Signal Transducers and Activators of Transcription</i>
SZT	Stammzelltransplantation
T-LBL	T-lymphoblastisches Lymphom
T-Zellen	T-Lymphozyten
TBI	Total Body Irradiation (Ganzkörperbestrahlung)
TGF-beta	<i>Transforming Growth Factor beta</i>
TH1	T-Helfer-Zellen Typ 1
TH2	T-Helfer-Zellen Typ 2
TLI	Gesamte lymphatische Bestrahlung

TLR	Toll-like Rezeptor
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor-alpha
TRT	Transplantationsbedingte Toxizität
Tx	Transplantation

1 Einleitung

Diese Arbeit untersucht mögliche Assoziationen der Ausprägung einer Graft-versus-Host Disease (GvHD) nach allogener Stammzelltransplantation mit dem Vorliegen genetischer Polymorphismen, die als molekulare Prädiktoren dienen könnten. Ziel dieser Dissertation ist es, molekulare Prädiktoren zu identifizieren, die prognostische oder prädiktive Faktoren in der Vorhersage einer akuten GvHD Grad III/IV sein können, speziell in genetischen Polymorphismen der Zytokin- und Zytokinrezeptorgene IL6, IL22, TLR4 und TLR9.

1.1 Stammzelltransplantation

Die Stammzelltransplantation (SZT) ist ein therapeutisches Verfahren in kurativer Intention für Patienten mit hämatologischen Erkrankungen. Man unterscheidet zwischen autologen und allogenen Stammzelltransplantationen. Bei der autologen SZT werden körpereigene Zellen aufbereitet und nach einer Hochdosismotherapie dem Patienten zurück infundiert. Dies wird v.a. in der Therapie des Multiplen Myeloms, der malignen Lymphome und der rezidierten Keimzelltumore eingesetzt (Buchholz und Ganser 2009). Die allogene Stammzelltransplantation zeichnet sich dadurch aus, dass körperfremde Zellen, also Zellen von einer verwandten oder nicht-verwandten weiteren Person, nach einer Hochdosismotherapie infundiert werden. Dies wird primär bei Leukämien eingesetzt. Patienten, die sich einer allogenen Stammzelltransplantation unterziehen, erhalten neben hämatopoetischen Stammzellen auch andere Zellen, wie z. B. alloreaktive T-Zellen des Spenders (Martínez-Laperche et al. 2018). Heutzutage ist die SZT eine Standardbehandlung von Erkrankungen des Knochenmarks und des Immunsystems. Eine große Rolle in der Auswahl der Patienten für eine allogene SZT spielen krankheits- und patientenspezifische Faktoren. Sowohl bei der Akuten Myeloischen Leukämie (AML) als auch bei der Akuten Lymphatischen Leukämie (ALL) ist es möglich, Risikofaktoren zu identifizieren, die bei alleiniger Chemotherapie mit einem schlechten Therapieergebnis assoziiert sind. Durch eine SZT kann die Heilungschance solcher Leukämien von 0 – 20 % auf 30 – 60 % erhöht werden (Buchholz und Ganser 2009).

Die Suche eines passenden Spenders erfolgt nach der Indikationsstellung. Verwandte Spender (*matched related donor*, MRD), z. B. Geschwister, werden gegenüber nicht-

verwandten Spendern (*matched unrelated donor*, MUD) bevorzugt. Idealerweise findet man einen Spender, der einen kompatiblen Genotyp in den untersuchten HLA-Loci zu dem Patienten aufweist (Flomenberg et al. 2004). Bei der HLA-Typisierung werden verschiedene Klassen des *Major Histocompatibility Complex* (MHC) untersucht. Der MHC, auch *Human Leukocyte Antigen* (HLA) System genannt, ist ein Komplex, der polymorph, multigen und multiallel ist und eine zentrale Rolle in zell- und immunvermittelten Antworten spielt. Der MHC ist auf dem kurzen Arm des Chromosoms 6 in der Position p21 lokalisiert. Vor allem Klasse I und Klasse II HLA sind Zelloberflächenmoleküle, die die T-Zell-Erkennung und die Histokompatibilität kontrollieren. HLA Klasse I-Moleküle (HLA-A, HLA-B und HLA-C) haben eine breite Verteilung und werden auf nahezu allen kernhaltigen Zellen gefunden. HLA Klasse II-Moleküle (HLA-DP, HLA-DQ und HLA-DN) werden auf Zellen des Immunsystems exprimiert, unter anderem auf B-Zellen, aktivierten T-Zellen und Makrophagen. CD4⁺ T-Zellen erkennen fremde Antigene über die Präsentation von HLA-Molekülen der Klasse II. Die Struktur der MHC Klasse II-Moleküle ähnelt sehr der Struktur der Klasse I-Moleküle. Falls es nicht möglich ist, einen Spender mit einem identischen Genotyp zum Empfänger zu finden, spricht man von einem HLA-Mismatch. Eine SZT kann auch bei einem HLA-Mismatch durchgeführt werden, jedoch ist diese mit einem erhöhten Komplikations- und Rezidivrisiko verbunden (Petersdorf 2013). In 2016 beschrieben Kekre et al. ein schlechteres Gesamtüberleben bei Mismatches der HLA-A-, HLA-B- und HLA-C-Loci. Andererseits war ein Mismatch auf HLA-DQ oder DPB1 nicht mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert (Kekre et al. 2016).

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, die Stammzellen des Spenders zu gewinnen. Zum einen können die Stammzellen direkt mittels Knochenmarkpunktion aus dem Knochenmark entnommen werden. Eine weitere und heutzutage häufiger genutzte Variante ist die periphere Blutstammzelltransplantation (PBSCT). Um ausreichend Zellen aus dem Blut des Spenders zu sammeln, wird üblicherweise das Hormon G-CSF verabreicht. G-CSF stimuliert die Freisetzung von Stammzellen aus dem Knochenmark. Diese können dann mittels Stammzellapherese aus dem peripheren Blut des Spenders gewonnen werden. G-CSF mobilisierte PBSCTs gehen, verglichen mit Knochenmarktransplantationen, in HLA-kompatiblen Geschwister-Allotransplantationen mit einem schnelleren Engraftment und einer geringeren Rate an infektiösen Komplikationen einher (Mohty et al. 2002). Mobilisierte PBSCTs beschleunigen die hämatologische Erholung. Dadurch, dass die Zellen sich vor Tag +21 erholen können, wird die Phase der Neutropenie deutlich

verkürzt und somit auch das Risiko, an einer Infektion zu erkranken. Prinzipiell sind auch andere Verfahren, wie z. B. die Verwendung von Stammzellen aus Nabelschnurvenenblut, möglich.

Zur Vorbereitung (Konditionierung) des Patienten vor einer Stammzelltransplantation erfolgt eine Hochdosistherapie mit, je nach Protokoll, alleiniger intensiver Chemotherapie oder kombinierter Ganzkörperbestrahlung (TBI) und Chemotherapie. Aus theoretischer Sicht besteht die Konditionierung aus zwei Komponenten. Zum einen aus der Myelodepletion, die die Stammzellen des Empfängers angreift und im besten Fall eradiziert. Und zum anderen aus der Lymphodepletion, die das lymphatische System des Empfängers angreift und vernichtet (Nagler und Shimoni 2019). Bei älteren oder multimorbiden Patienten, die nicht für eine Standardkonditionierung infrage kommen, kann eine dosisreduzierte Konditionierung (RIC) mit weniger Toxizität durchgeführt werden (Slavin et al. 1998).

Die Stammzellen des Spenders wandern nach der Infusion in die Räume des Knochenmarks, siedeln sich dort an und beginnen mit der Hämatopoese. Es dauert durchschnittlich ca. drei Wochen, bis sich die Blutbildung regeneriert hat. In der Zwischenzeit befindet sich der Patient in Aplasie, da durch die Konditionierung die eigene Blutbildung zerstört wurde. Aufgrund der Agranulozytose ist der Patient deutlich anfälliger für bakterielle und mykotische Infekte bis hin zur Sepsis.

Zusammen mit Knochenmarkstammzellen werden auch Immunzellen des Spenders transplantiert, u. a. alloreaktive CD8⁺ und CD4⁺-T-Zellen und natürliche Killerzellen (NK-Zellen) (Chang et al. 2018). Sie identifizieren Zellen des Empfängers als fremd und haben zytolytische Effekte. Die Fähigkeit der Spenderimmunzellen, die malignen Zellen des Empfängers durch Aktivierung von Pathways der adaptierten Immunantwort zu eliminieren, nennt man Graft versus Leukemia-Effekt (GvL) (Henden und Hill 2015). Die T-Zellen fördern das Engraftment der hämatopoetischen Stammzellen, die Rekonstitution der Immunität und vermitteln den GvL-Effekt, welcher ein Rezidiv verhindern kann (Martínez-Laperche et al. 2018). Das Erkennen von gesundem Gewebe als fremd durch Spenderimmunzellen, und die damit einhergehende zytotoxische Reaktion gegen den Wirtsorganismus, bezeichnet man als Graft-versus Host-Reaktion (GvHD). Eine GvHD erhöht die Morbidität und Mortalität nach allogener SZT relevant (Aziz et al. 2020).

1.1.1 Konditionierungsregime

Die Konditionierungstherapie zur Reduktion der pathologischen Zellen des Empfängers kann nach verschiedenen Schemata durchgeführt werden.

Einige der Komponenten sind myeloablativ wirksam, wie z. B. Melphalan oder Busulfan, während andere, wie Fludarabin oder Cytarabin, eher der Lymphodepletion dienen. Zudem kann im Rahmen der Konditionierung eine Ganzkörperbestrahlung (TBI) erfolgen. In seltenen Fällen kommen auch andere Formen der Radiotherapie, wie eine gesamte lymphatische Bestrahlung (TLI), zur Anwendung. Alternativ werden auch Konditionierungsschemata mit alleiniger Chemotherapie angewendet.

Nicht nur die Medikamente, sondern auch die Anwendungsdauer und die Dosierung variieren in den verschiedenen Konditionierungsprotokollen. Auch der Stammzellspender spielt eine große Rolle bei der Wahl des Protokolls. Bei einer autologen SZT besteht das Konditionierungsregime üblicherweise nur aus Chemo- und/oder Strahlentherapie. Bei einer Fremdspendertransplantation hingegen beinhaltet die Konditionierung fast immer zusätzlich auch eine zytoreduktive Immuntherapie, z. B. mit Antithymozytenglobulin (ATG).

Die am häufigsten verwendeten Schemata sind/waren (Socie et al. 2001):

1. CY/TBI
Ganzkörperbestrahlung 12 Gy
iv. Cyclophosphamid 60mg/kg x 2 Tage
2. BU/CY
Busulfan 4 mg/kg x 4 Tage
Cyclophosphamid 60 mg/kg x 2 Tage

Allerdings ist die myeloablative Konditionierung (MAC) mit einer signifikanten organ- und transplantationsbedingten Toxizität (TRT) assoziiert. Dadurch wird die allogene SZT auf Patienten in guter medizinischer Verfassung in der Regel bis zu einem Alter von 55 Jahren limitiert. In den letzten beiden Jahrzehnten wurden drei Konditionierungsregimes entwickelt: die nicht-myeloablative Konditionierung (NMA), die Konditionierung mit reduzierter Intensität (RIC) und die Konditionierung mit reduzierter Toxizität (RTC). Sie alle haben das Ziel, die organ- und transplantationsbedingte Mortalität zu reduzieren, gleichzeitig aber den antimaligen Effekt zu bewahren. Dies ermöglicht auch älteren Patienten mit multiplen Vortherapien oder vorhandenen Komorbiditäten eine allogene SZT zu durchlaufen (Slavin et al. 1998) (Luger et al. 2012). Die dosisreduzierte Konditionierung soll das Malignom nicht eradizieren, sondern das Immunsystem weitgehend

zurückdängen um eine Transplantation und die Induktion von GvL als primäre Behandlung zu ermöglichen (Nagler und Shimoni 2019).

1.1.1.1 EBMT-Score

Der EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation) Risikoscore bietet ein einfaches Instrument, um die Chancen und Risiken der hämatopoetischen Stammzelltransplantation für einen Patienten vor einer SZT zügig zu bewerten. Fünf Faktoren, nämlich das Alter des Patienten, das Stadium der Erkrankung, der Zeitpunkt der Diagnosestellung, der Spendertyp und das Geschlecht des Empfängers bestimmen das Risiko für den Patienten. Die einzelnen Risikofaktoren werden mit einer Punktzahl von 0 bis höchstens 2 belegt. Der Score gilt für alle erworbenen hämatologischen Erkrankungen, für allogene und autologe Stammzelltransplantationen (Score 0–5) und ist unabhängig von der Art der SZT. Er gilt sowohl für die Standardkonditionierung als auch für die Konditionierung mit reduzierter Intensität. So kann ermittelt werden, dass die Überlebensrate bei älteren Patienten, die nach einem langen Zeitraum im fortgeschrittenen Krankheitsstadium und mit einem nicht übereinstimmenden Spender transplantiert wurden, deutlich geringer ist, als bei jüngeren Patienten, die in einem frühen Stadium mit einem passenden Spender transplantiert wurden. Zusätzliche Risikofaktoren, wie der Performance Score, der CMV-Serostatus oder die Zytokin-Polymorphismen beeinflussen die Vorhersage in unterschiedlichem Maße, abhängig von der Risikolage des Patienten. Durch diese risikoadaptierte, individualisierte Strategie ist eine vergleichende Bewertung der spezifischen Krankheit, des Krankheitsrisikos des Patienten und des globalen Prätransplantationsrisikos möglich und sollte die Entscheidung zwischen SZT und einem Ansatz ohne Transplantation leiten (Gratwohl 2012).

1.2 Graft-versus-Host Disease

Die Graft-versus-Host Disease (GvHD) ist eine Multisystemerkrankung, die eine häufige Komplikation nach allogener Stammzelltransplantation darstellt. Bei 30-60% der Patienten entsteht eine akute GvHD (aGvHD) nach allogener SZT, davon sterben 15-30% dieser Patienten aufgrund der GvHD (Ferrara et al. 2009). Auf der anderen Seite haben Patienten, die keine GvHD entwickeln, ein höheres Risiko, ein Rezidiv zu bekommen (Aziz et al. 2020).

GvHD tritt ein, wenn Immunzellen von einem nicht identischen Spender (Graft) den Empfänger (Host) als fremd erkennen und dadurch eine Immunreaktion auslösen, die den Empfänger erkranken lässt. Transplantierte naive und aus dem Knochenmark kommende T-Zellen zerstören das Gewebe des Empfängers. Die Mechanismen ähneln denen, die die Zerstörung maligner Zellen erlauben. Finale Konsequenzen des GvHD-Prozesses sind Angriffe auf das Empfängergewebe in variierender Ausprägung der klinischen Schwere. Erstmals hat R.E. Billingham drei notwendige Faktoren für das Auftreten einer GvHD beschrieben. Als erste Voraussetzung für eine GvHD müssen genügend immunkompetente Zellen im Transplantat enthalten sein. Zweitens muss der Empfänger Oberflächenantigene exprimieren, die dem Spender fehlen. Als dritte Voraussetzung darf das Immunsystem des Empfängers nicht in der Lage sein, eine effektive Immunantwort gegen die transplantierten Zellen zu generieren (Billingham 1966).

Die Manifestationsorte und der Schweregrad der GvHD sind sehr variabel und werden von der Menge infundierter T-Zellen (v.a. CD 8+ T-Zellen) und der Anzahl und Ausprägung der HLA-Inkompatibilitäten beeinflusst. Proinflammatorisch wirkende Zytokine haben einen direkten Effekt auf die GvHD-Zielgewebe. Einer der wichtigsten Risikofaktoren einer GvHD ist der Grad an HLA-Übereinstimmung. Da jedoch auch HLA-identische Patienten eine akute und chronische GvHD entwickeln, muss es noch andere, nicht HLA-basierte Faktoren geben.

GvHD wird klassischerweise in eine akute und in eine chronische Form, basierend auf dem Zeitpunkt des Auftretens, unterteilt. Als Cut-off-Wert einer aGvHD nimmt man 100 Tage, die Zeit danach wird als cGvHD eingeteilt. Es hat sich jedoch gezeigt, dass dies nicht ausreichend zu sein scheint, da sich die klinische Symptomatik einer aGvHD auch noch nach mehr als 100 Tagen manifestieren kann und eine cGvHD schon vor Ablauf von 100 Tagen vorliegen kann. Daher wurde eine neue Nomenklatur erstellt, in der man dazu übergegangen ist, vermehrt auf die Symptome als auf den Zeitpunkt zu achten, um eine akute von einer chronischen GvHD zu unterscheiden. Hier wird die GvHD unterteilt in (Filipovich et al. 2005):

- Klassische akute GvHD:
Auftreten der Symptome innerhalb der ersten 100 Tage nach allogener SZT
- Persistierende late onset aGvHD:
Auftreten der Symptome einer aGvHD nach mehr als 100 Tagen ohne Symptome einer cGvHD

- Klassische chronische GvHD:
Auftreten der Symptome jederzeit nach einer allogenen SZT. Die Symptomatik muss zu einer cGvHD passen und darf keine Zeichen einer aGvHD zeigen.
- Overlap-Syndrom:
Patienten, bei denen jederzeit nach allogener SZT Symptome einer akuten und einer chronischen GvHD auftreten können; sie wird auch acute on chronic genannt.

1.2.1 Akute Graft-versus-Host Disease

Die aGvHD ist eine häufige Komplikation nach allogener SZT und tritt klassischerweise in der frühen Posttransplantationsphase auf. Frühere Definitionen gaben vor, dass das Auftreten der Symptomatik innerhalb von hundert Tagen passieren muss, um als aGvHD gewertet zu werden. Heutzutage unterscheidet man die akute von der chronischen GvHD eher an der klinischen Symptomatik und nicht am Zeitpunkt des Auftretens (Vigorito et al. 2009). Sie wird in vier Schweregrade unterteilt. Während die Grade eins und zwei einer leichten bzw. milden GvHD entsprechen, sind die Schweregrade drei und vier mit einer schweren GvHD zu vereinbaren und potenziell lebensbedrohlich. Haut, Gastrointestinaltrakt und Leber sind die Hauptzielorgane der aGvHD. An der Haut manifestiert sich die GvHD zumeist als makulopapulöses Exanthem mit Erythrodermie, das je nach Schweregrad variiert. Bei einer Haut GvHD Grad eins zeigt sich der Ausschlag nur an wenigen Körperteilen, wie z. B. im Nacken, an den Ohren oder Handinnenflächen. Er kann Juckreiz und Schmerzen verursachen. Bei einer Hautbeteiligung Grad vier ist das gesamte Integument betroffen und die Haut bildet bullöse Läsionen, die an ein Steven-Johnson-Syndrom erinnern (Jacobsohn und Vogelsang 2007). Auch die Schleimhäute (oral, genital, anal und okulär) können betroffen sein. Die orale GvHD kann sich z. B. als schmerzhafte Mukositis manifestieren.

Im Gastrointestinaltrakt (GIST) kann sich die GvHD sowohl im oberen als auch im unteren Gastrointestinaltrakt manifestieren. Die typische klinische Symptomatik sind meist wässrige, sekretorische Diarrhoen in Verbindung mit schmerzhaften abdominellen Krämpfen. Durch den Flüssigkeitsverlust sowie die Translokation intestinaler Bakterien sind die Patienten häufig akut gefährdet, eine Malabsorption mit ausgeprägtem Gewichtsverlust zu erleiden. Je nach klinischer Symptomatik sollte bei einer Darmbeteiligung eine histologische Sicherung aus dem oberen oder unteren Gastrointestinaltrakt erfolgen. Im unteren Gastrointestinaltrakt ist die GvHD vermehrt im terminalen Ileum zu finden (Kreisel et al. 2012). Histologisch lassen sich apoptotische Zellen, Kryptenabszesse und ein Verlust des Oberflächenepithels nachweisen (Lerner et al. 1974).

Die akute GvHD der Leber äußert sich charakteristischerweise durch einen Bilirubinanstieg, dessen Höhe auch ein Einteilungsmarker für den Schweregrad einer Leber GvHD ist (Bilirubin >15mg/dl bei Grad IV) (Jacobsohn und Vogelsang 2007). Wenn eine isolierte Leberwerterhöhung besteht und/oder die initiale Therapie mit Immunsuppressiva nicht zu einer Besserung der Symptome führt, ist eine Biopsie indiziert. Histologische Kriterien einer Leber GvHD sind u. a. eine lobuläre Hepatitis, eine Cholestase, Apoptosen der Gallengangsepithelien und periduktale lymphozytäre Infiltrationen (Ziemer et al. 2014).

Die „Gesamtschwere“ der GvHD wird durch den Grad der Beteiligung der Haut, der Leber und des Gastrointestinaltraktes bestimmt. Die Schweregrade der individuellen Organbeteiligung werden kombiniert, um einen übergreifenden Schweregrad zu erstellen, der prognostisch signifikant ist.

Bei der akuten GvHD handelt es sich also um eine überschießende Immunreaktion, die durch die infundierten Spenderlymphozyten verursacht wird. Man kann die Entstehung der akuten GvHD in drei Phasen einteilen (Ferrara et al. 2009):

Die initiale Phase wird durch die Gewebeschädigung und den damit einhergehenden Verlust der Schutzbarriere (vor allem im GIST) getriggert. Es kommt zu einer Aktivierung der Antigen-präsentierenden Zellen (Antigen Presenting Cells, APC). Dies geschieht zum einen durch die Grunderkrankung und zum anderen durch das Konditionierungsregime vor der SZT. Durch die Gewebeschädigung werden vermehrt proinflammatorische Zytokine, wie z. B. Interleukin-1 (IL-1), IL6, TNF- α und Interferon- γ ausgeschüttet (Martínez-Laperche et al. 2018). Die dysregulierte Freisetzung von Zytokinen kann zu einer erhöhten Expression von Adhäsionsmolekülen, MHC-Antigenen und kostimulatorischen Molekülen auf der Oberfläche von Empfänger-APCs führen.

T-Zellen und Antigen-präsentierende Zellen definieren die zweite Phase der aGvHD. Die Antigen-präsentierenden Zellen von Spender und Empfänger, genauso wie inflammatorische Zytokine, stimulieren die Aktivierung von Spender T-Zellen. Es kommt zur Proliferation und Differenzierung der T-Zellen zu Effektorzellen. In dieser Aktivierungsphase spielen Minor-Histokompatibilitätsantigene eine zentrale Rolle, insbesondere im Rahmen von HLA-matched Geschwister-Transplantationen. Regulatorische T-Zellen sind in der Lage, die Proliferation von T-Zellen zu unterdrücken.

Eine Vielzahl von komplexen Mechanismen ist in die dritte Phase der akuten GvHD involviert. Sie sind für die Organdysfunktion und Gewebeschädigung verantwortlich. Es kommt zu einer komplexen Kaskade von sowohl zellulären Mediatoren als auch löslichen

inflammatorischen Mediatoren wie z. B. TNF- α , IFN- γ und IL-1, die in eine Gewebeschädigung resultieren (Martínez-Laperche et al. 2018). Hohe TNF- α -Spiegel sind mit einer erhöhten Inzidenz von GvHD bei Empfängern von Knochenmarktransplantationen assoziiert. Diese allogene Wechselwirkung bei der Einstellung der Zytokindysregulation führt zu der für eine akute GvHD charakteristischen Gewebeschädigung.

Spender-T-Zellen spielen also eine zentrale Rolle in der akuten GvHD. Die T-Zell-Depletion des Spendertransplantats verhindert bzw. vermindert zwar das Ausbrechen einer GvHD, ist aber gleichzeitig auch mit erhöhten Rezidivraten und infektiösen Komplikationen assoziiert (Ho 2011).

1.2.2 Chronische Graft-versus-Host Disease

Die chronische GvHD ist eine schwerwiegende und häufige Komplikation nach allogener Stammzelltransplantation. Sie tritt bei 30-70 % der Patienten auf. Traditionell wird die cGvHD durch den Zeitpunkt des Auftretens von einer aGvHD unterschieden. Heutzutage wird die GvHD jedoch eher anhand der klinischen Symptomatik differenziert (Jagasia et al. 2015). Die klinische Symptomatik präsentiert sich fast ausschließlich innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation und kann auf ein Organ beschränkt bleiben oder sich auf mehrere Organe ausbreiten. Dadurch kann die Lebensqualität des Patienten erheblich eingeschränkt werden. Auf der anderen Seite ist die cGvHD auch mit einer selteneren Rezidivrate assoziiert.

Auch wenn die Pathophysiologie nicht abschließend geklärt ist, geht man davon aus, dass Entzündung, humorale Immunität und Fibrosierung eine Rolle spielen. Hierbei scheint die Fibrosierung der Hauptmechanismus der Gewebeschädigung zu sein. Man weiß heute, dass die klinische Symptomatik auf einer komplexen Immunerkrankung beruht, an der sowohl Spender B- als auch T-Zellen beteiligt sind (Socie und Ritz 2014). Eine Hypothese könnte sein, dass die cGvHD einer Autoimmunerkrankung ähnlich ist, die potenziell jedes Organ betreffen kann. Häufig betroffen sind tatsächlich die Haut (Poikiloderma, Lichen-Planus Symptome, Hyperkeratose, Sklerose, Morphea-ähnliche Symptome), der Mund (Sklerose, Ulzera, Xerostomie), Augen (Keratokonjunktivitis sicca, Blepharitis), GI-Trakt (Ösophagusstrikturen, Übelkeit/Erbrechen, Diarrhoe), oberer Respirationstrakt (Dyspnoe, Husten, Bronchiolitis obliterans), die Haare (Alopezie), das weibliche Genitale (Vaginalstenose, Ulzerationen, Dysurie, Dyspareunie), das männliche Genitale (Ulzerationen, Fissuren, Urethralstenose), die Muskeln und Gelenke (Fasziitis,

Myositis, Gelenkversteifungen, Kontrakturen), Hämatopoese (Lymphopenie, Eosinophilie, Hypogammaglobulinämie, Thrombozytopenie) und andere (Serositis, Aszites, periphere Neuropathie, Myasthenia gravis, Raynaud-Syndrom) (Jagasia et al. 2015). Man kann die chronische GvHD in zwei Schweregrade einteilen: die limitierte und die extensive Form. Eine cGvHD mit milder Symptomatik kann häufig mit lokaler Therapie, z. B. mit topischen Steroiden, behandelt werden. Patienten, bei denen drei oder mehr Organe betroffen sind oder bei denen ein Organ schwer betroffen ist (Score >2), sollten mit systemischen Immunsuppressiva behandelt werden. Die Beteiligung von Leber (Hyperbilirubinämie) und/oder Dünndarm/Colon ist ein Risikofaktor für eine erhöhte Mortalität von cGvHD Patienten (Lee et al. 2003).

1.2.3 Risikofaktoren für das Auftreten einer Graft-versus-Host Disease

Obwohl Risikofaktoren für das Auftreten einer GvHD identifiziert werden konnten, gibt es keine verlässlichen Vorhersagen, wann und bei wem eine GvHD ausgelöst wird. Eine klinisch signifikante akute GvHD tritt bei Patienten nach allogener SZT auch trotz intensiver GvHD Prophylaxe mit immunsuppressiven Medikamenten auf. Die wichtigsten klinischen Faktoren, die mit einer GvHD assoziiert sind, schließen das Alter des Patienten, das Geschlecht von Spender und Empfänger (Risikofaktor: weiblicher Spender bei männlichem Empfänger, female to male), die Stammzellquelle, die GvHD-Prophylaxe, die bestehende Grunderkrankung und das Konditionierungsregime ein. Für die chronische GvHD spielt es außerdem eine Rolle, ob vorher eine akute GvHD aufgetreten ist (Martínez-Laperche et al. 2018). Andere, weniger gut erschlossene Risikofaktoren sind das Alter des Spenders, die EBV-Seropositivität des Spenders und ein spezieller HLA Haplotyp. Studien haben gezeigt, dass ein HLA-Mismatch und ein nicht-verwandter Spender ein größeres Risiko bergen, eine akute GvHD zu bekommen, während die Kombination aus weiblichem Spender und männlichem Empfänger einen größeren Einfluss auf das Auftreten einer chronischen GvHD hatte (Flowers et al. 2011).

1.2.4 Prävention der Graft-versus-Host Disease

Die Inzidenz der GvHD kann durch verschiedene Methoden, wie z. B. T-Zell Depletion und immunsuppressive Medikation, vermindert werden. GvHD wird hauptsächlich durch Spender-T-Zellen vermittelt. Daher ist das Eliminieren der T-Zellen aus dem Transplantat ein sehr effektiver Weg, um die Inzidenz der GvHD zu verringern. Dies kann entweder

durch eine ex vivo-Manipulation des Spender Transplantats (CD 43+ Selektion oder CD 3+ Depletion) oder durch eine in vivo-Depletion durch Gabe von T-Zell depletierenden Medikamenten an den Empfänger erfolgen. Regimes, die T-Zell depletierende Medikationen für den Empfänger beinhalten, haben jedoch ein erhöhtes Rezidivrisiko aufgrund eines Verlusts des GvL-Effektes, der durch T-Zellen vermittelt wird. Daher ist diese Art der Prophylaxe hauptsächlich für Patienten mit low-risk Erkrankungen, Patienten, die sich einer myeloablativen Konditionierung unterziehen oder die ein exzessives Risiko für eine GvHD haben, sinnvoll. An den meisten Kliniken ist eine Kombination aus einem Calcineurin Inhibitor und Methotrexat die Standard GvHD-Prophylaxe.

1.3 Interleukin 22

Interleukin 22 (IL22) ist ein Zytokin aus der Familie der Interleukine. Funktionen für IL22 wurden in zahlreichen Geweben identifiziert, darunter Darm, Lunge, Leber, Niere, Thymus, Bauchspeicheldrüse und Haut. Seine Produktion erfolgt überwiegend durch T-Zellen, Th17 Zellen, NKT-Zellen und neu beschriebene, angeborene Lymphoidzellen (ILCs) (Dudakov et al. 2015). Jedoch haben einige Studien auch vereinzelt myeloische und nicht-hämatopoetische Zellen beschrieben, die in der Lage zu sein scheinen, IL22 zu produzieren, einschließlich Makrophagen und Neutrophile. Da IL22 an Entzündungsstellen produziert wird, kann es eine physiologische Reaktion zur Reparatur lokaler Gewebeschäden vermitteln. Allerdings scheint es auch in einige entzündliche Prozesse involviert zu sein (Dudakov et al. 2015). Es gibt umfangreiche Hinweise darauf, dass IL22 den Schutz und die Regeneration von Epithelgeweben in experimentellen Modellen, wie z. B. in Hepatitis, Pankreatitis, und Kolitis, vermittelt (Sonnenberg et al. 2011) (Witte et al. 2010). IL22 kann jedoch auch die Expression von entzündungshemmenden Molekülen induzieren, einschließlich IL-1, IL6, IL-8, IL-11, G-CSF, GM-CSF und LPS-Bindungsproteine. Dies hat zu widersprüchlichen Schlussfolgerungen geführt, ob IL22 gewebeschützend oder pro-inflammatorisch ist, obwohl diese beiden Optionen sich gegenseitig nicht ausschließen: Die Stimulierung der Epithelzellen, die Proliferation und die Produktion von angeborenen antimikrobiellen Mitteln bei akuten Gewebeschäden kann schützend sein, während die chronische Überexpression von IL22 in einem ansonsten gesunden Gewebe zu einer Hyperproliferation, Produktion von Chemokinen und anderen entzündlichen Signalen führen könnte. Die molekularen Prozesse sind die gleichen, aber der Kontext bestimmt Schutz vs. Pathologie (Dudakov et al. 2015).

Darüber hinaus wurde für IL22 auch eine Rolle in der Wirtsabwehr innerhalb von Barrieregewebe wie Darm, Mundschleimhaut, Haut und Lunge beschrieben.

Das IL22-Gen befindet sich auf Chromosom 12q15 und ist ein Mitglied der IL-10 Familie, die alle gemeinsame Merkmale in ihren Rezeptoren haben (Dumoutier et al. 2000). IL22R besteht aus zwei Untereinheiten: der gemeinsamen Untereinheit IL-10R2, die mit den Rezeptoren für IL-10, IL-26, IL-28 und IL-29 geteilt wird; und der Untereinheit IL22R1, die selbst auch eine IL-20R2-Untereinheit koppeln kann und die den Rezeptor für IL-20 und IL-24 bildet. IL-20 und IL-24 (zusätzlich zu IL-19) können auch durch einen anderen Rezeptorkomplex aus IL-20R1 und IL-20R2 signalisieren. Jeder dieser Rezeptoren signalisiert durch Komponenten des JAK-STAT-Signalwegs, obwohl es auch Hinweise darauf gibt, dass IL22 durch p38- und MAP-Kinase-Wege signalisieren kann. Obwohl die STAT-3-Phosphorylierung der primäre Vermittler der IL22-Signalisierung zu sein scheint, wurde auch die Phosphorylierung von STAT-1 und STAT-5 beobachtet. Die Phosphorylierung von STAT-3 bei Ligation des IL22-IL22R1-IL-10R2-Komplexes tritt am Tyrosinrückstand an Position 705 auf, es wurde jedoch auch festgestellt, dass ein Serinrückstand an Position 727 phosphoryliert wird, was die Transaktivierung erhöhen könnte (Lejeune et al. 2002). Dies ermöglicht die Rekrutierung der Jak-Signalmoleküle Jak1 und Tyk2 in den Rezeptorkomplex. Neben der STAT-Signalisierung wurde auch die IL22-Bindung gefunden, um die MAPK- und p38-Pfade zu aktivieren.

Die Rolle des IL22 in der GvHD ist immer noch umstritten und die Eigenschaften von IL22 produzierenden Zellen unklar. Es wird nach der Transplantation von inflammatorischen Spender CD4⁺ T-Zellen produziert. Th1- und Th17-Zellen präsentieren nicht nur klassische Zytokine wie IFN- γ oder IL-17, sondern tragen auch zur Freisetzung von IL22 bei einer GvHD bei. Die Anzahl IL22 produzierender CD4⁺ T-Zellen zeigte dynamische Veränderungen mit Entwicklung einer GvHD (Zhao et al. 2013). Spender-T-Zell-abgeleitetes IL22 verstärkt die kutane chronische GvHD signifikant. Sowohl IL22 als auch IL-17 vermittelt die kutane GvHD. Durch IL22 Hemmung konnte die Th17-induzierte chronische GvHD in präklinischen Studien abgeschwächt werden. Hohe Konzentrationen der IL17A und IL22 Expression sind in der Haut von GvHD Patienten nach allogener SZT vorhanden (Gartlan et al. 2018).

Zusammenfassend hat IL22 eine Vielzahl von Funktionen, allem voran die trophische Wirkung auf nicht-hämatopoetische Zellen, insbesondere Epithelzellen. IL22 ist an der Regeneration und Pathologie von Epithelzellen in mehreren Organen beteiligt, je nach Kontext und/oder Zytokinmilieu.

1.4 Interleukin 6

Interleukin6 (IL6) ist eine Signalsubstanz des Immunsystems und gehört zur Gruppe der proinflammatorischen Zytokine. Es spielt eine entscheidende Rolle in der angeborenen, unspezifischen Immunantwort und stellt außerdem einen wichtigen Vermittler zwischen spezifischer und unspezifischer Immunantwort dar. Die Produktion von IL6 erfolgt hauptsächlich durch B-Zellen, regulierende T-Zellen, Monozyten und dendritische Zellen (Masetti et al. 2015). Durch IL6 kommt es zur Differenzierung von B- und T-Zellen und auch zu einer Aktivierung der T-Zellen. Darüber hinaus fördert IL6 die spezifische Differenzierung naiver CD4+ T-Zellen und erfüllt damit eine wichtige Funktion bei der Verknüpfung von angeborener und erworbener Immunantwort. Es hat sich gezeigt, dass IL6 in Kombination mit dem transformierenden Wachstumsfaktor (TGF-beta) für die Th17-Differenzierung von naiven CD4+ T-Zellen unverzichtbar ist (Korn et al. 2009). Es wurde weiter gezeigt, dass IL6 auch die T-follikuläre Helfer-Zell-Differenzierung sowie die Produktion von IL-21 fördert, dass insbesondere die Immunglobulin (Ig) Synthese und IgG4-Produktion reguliert (Jordan et al. 2017). IL6 induziert auch die Differenzierung von CD8+ T-Zellen in zytotoxische T-Zellen (Okuda et al. 1998). Des Weiteren regt es die Differenzierung von hämatopoetischen Vorläuferzellen im Knochenmark an. Zusammen mit TNF-alpha wirkt es auch fiebererzeugend und bewirkt die Synthese verschiedener Faktoren des unspezifischen Immunsystems, z. B. regt es die Ausschüttung von Cortisol und die Synthese von CRP an. Daher korrelieren erhöhte IL6 Level auch mit erhöhten CRP Leveln. Erhöhte Werte von Interleukin-6 finden sich bei allen Entzündungsreaktionen. Es wird daher auch als Aktivator für Akute-Phase Proteine charakterisiert. Die akute Phase Reaktion stellt eine physiologische Erhöhung der Konzentrationen bestimmter Serumproteine aufgrund erhöhter Produktion und Freisetzung, vor allem durch die Leber, dar. Dies umfasst C-reaktives Protein (CRP), Serum-Amyloid P, Ferritin, Mannose-bindendes Protein und Fibrinogen. IL6 ist der Haupttreiber der Antwort, aber auch andere Zytokine (IL-1, IL-8/CXCL8 und TNF) tragen dazu bei (Gruys et al. 2005). Hohe Level von Interleukin-6 können Effektor T-Zellen refraktär gegen reguläre Immunsuppression machen (Dickinson 2012).

IL6 ist ein Zytokin, das zuvor nur mit proinflammatorischen Wirkungen in Verbindung gebracht wurde. Neuere Erkenntnisse über verschiedene Autoimmunerkrankungen (z. B. chronisch entzündliche Darmerkrankungen, rheumatoide Arthritis) haben jedoch gezeigt,

dass die Aktivität von IL6 komplexer ist und auch wichtige Auswirkungen auf die Homöostase, die Regeneration und den Stoffwechsel des Gewebes hat.

Das IL6 Gen befindet sich auf Chromosom 7p21 und gehört zur Interleukin-6 Familie, zu der auch IL-11, CNTF, *leukemia inhibitory factor* (LIF), Oncostatin M (OSM), Cardiotrophin-1 (CT-1), Cardiotrophin-like Zytokin (CLC) und IL-27 gehören. Sie werden in eine Familie eingeteilt, da der Rezeptorkomplex jedes Zytokins zwei (IL6 und IL-11) oder ein Molekül (alle anderen Zytokine) der Signalrezeptor-Untereinheit gp130 enthält.

Das Gleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Zytokinen beeinflusst das Risiko einer GvHD. IL6 hat sowohl direkte als auch indirekte Auswirkungen auf immunkompetente Zellen, die an der Entwicklung einer GvHD beteiligt sind. Erstens ist es für die Reifung, Proliferation und Differenzierung von B-Zellen/Plasmazellen unerlässlich. IL6 scheint die Proliferation von proinflammatorischen Th17- und Th2-Zellen zu verbessern und die Entwicklung T-regulatorischer Zellen zu hemmen.

Zweitens ist die IL6 Signalisierung entscheidend für die Wanderung der Immunzellen zum entzündeten Gewebe und zu den Lymphorganen. Dies wird sowohl durch die veränderte Expression von Adhäsionsmolekülen durch Endothelzellen als auch durch die veränderte Expression durch immunkompetente Zellen verursacht.

Drittens hat IL6 wichtige Funktionen in GvHD Zielorganen. Daher kann das Risiko einer kombinierten Verletzung während einer GvHD bestehen (z. B. GvHD-induzierte immunvermittelte Schädigung, pharmakologische Toxizität und IL6 Hemmung). Es ist berichtet worden, dass IL6 zusammen mit TNA-alpha, das aus Makrophagen freigesetzt wird, direkt zu Gewebeschädigung bei GvHD beiträgt (Mantovani et al. 2004).

SNPs in den Promotoren des IL6 (-174 G/C) Gens beeinflussen das Outcome der allogenen Geschwister SZT. Die IL6 Aktivität war deutlich erhöht bei Patienten, die aufgrund toxischer Komplikationen gestorben sind. Ebenfalls deutlich erhöht war sie auch bei Patienten, die innerhalb von 6 Wochen nach allogener SZT eine schwere GvHD entwickelt haben. Der Empfänger IL6 Genotyp ist mit erhöhter IL6 Aktivität und CRP Produktion assoziiert. In univarianten Analysen hat sich ergeben, dass der Empfänger IL6 G und Spender IL6 GG mit einem erhöhten Risiko für eine aGvHD in Verbindung gebracht werden können (Karabon et al. 2005). Die Auswirkungen von *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) im IL6 Gen auf das GvHD Risiko deuten darauf hin, dass IL6 bei der frühen GvHD Entwicklung eine Rolle spielt. Spezifische SNPs im IL6R und im IL6 Gen

sind mit höheren Serumspiegeln von IL6 und sIL6R assoziiert. Insbesondere die SNP 174G<C (rs1800796) in der IL6 Promotorregion beeinflusst die Transkription und Sekretion von IL6 und wird mit mehreren Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht (Fishman et al. 1998) (Terry et al. 2000). Der Spender Genotyp rs1800795 ist mit einem um 20-50 % erhöhten Risiko für eine aGvHD der Stufe II-IV verbunden (Chien et al. 2012). Choi et al. kamen, in ihrer zwischen 2001-2012 durchgeführten Metaanalyse, zu dem Schluss, dass Patienten die Transplantate von Spendern, die entweder hetero- oder homozygot für das IL6 G-Allel waren, erhielten, ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer aGvHD Grad I-IV haben (Choi et al. 2012). Kim et al. identifizierten in einer univarianten Analyse mehrere SNPs im IL6R (rs2229238, rs4072391, rs437970 und rs7514452), die mit einem erhöhten aGvHD Risiko verbunden waren. Allerdings konnten sie eine aGvHD nicht in einer multivarianten Analyse vorhersagen (Kim DD et al. 2012). Die Prätransplantations IL6 Spiegel von allogenen SZT Empfängern zeigen eine große Variation und eine starke Korrelation mit den CRP-Spiegeln vor Transplantation, scheinen jedoch kein Überleben, das Risiko einer GvHD oder die non-relapse Mortalität nach Transplantation vorhersagen zu können (Tvedt TH et al. 2016). Der Einfluss von SNPs im IL6 Gen auf das GvHD Risiko deuten darauf hin, dass IL6 bei der frühen GvHD Entwicklung eine Rolle spielt. Die Blockade der proinflammatorischen Wirkung von IL6 scheint eine mögliche therapeutische Strategie zu sein, da die IL6 und STAT3-Aktivierung eng mit der Entwicklung von Th17-Zellen verbunden ist. Die IL6 klassische Signalisierung und die nachgeschaltete Th17/Th22-Differenzierung sind wichtige therapeutische Ziele nach allogener SZT (Wilkinson et al. 2019).

1.5 Toll-like Rezeptor 9

Der Toll-like Rezeptor 9 gehört zur Familie der Toll-like Rezeptoren (TLRs) und ist auf Chromosom 3p21.2 lokalisiert. Die TLRs sind eine Familie von angeborenen Transmembranmuster-Erkennungsrezeptoren (PRRs), die für die angeborene Immunantwort und für die Vermittlung zwischen angeborenem und adaptivem Immunsystem entscheidend sind.

Sie werden sowohl von nicht-hämatopoetischen als auch von hämatopoetischen Zellen weitgehend exprimiert. Bei Säugetieren sind TLRs auf verschiedenen Immunzellen vorhanden, einschließlich natürlicher Killerzellen, DC-Untergruppen, Monozyten, Makrophagen, Neutrophilen, T-Lymphozyten und B-Lymphozyten. Einige nicht

hämatopoetische Epithel-, Endothel- und Organparenchymzellen exprimieren diese Moleküle ebenfalls.

TLRs werden als Schlüssel-moleküle identifiziert, die das Immunsystem durch Signaltransduktion auf das Vorhandensein mikrobieller Infektionen aufmerksam machen. TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR10 und TLR11 sind Zelloberflächenrezeptoren, die hauptsächlich bakterielle Strukturen erkennen. Im Gegensatz dazu sind TLR3, TLR7, TLR8 und TLR9 (Rezeptor für nicht-methyliertes Cytosin-Phosphorothioat-Guanin-Oligodesoxynukleotide, CpG-ODN) hauptsächlich intrazellulär lokalisiert und erkennen Nukleinsäuren mikrobiellen oder viralen Ursprungs. Alle TLRs können den Signalweg des Kernfaktors κ B (NF- κ B) aktivieren, anschließend die Expression von Adhäsionsmolekülen und Zytokinen hochregulieren und schließlich zu Entzündungsreaktionen führen (Penack et al. 2010) (Kumar et al. 2009).

Da TLRs wichtig für die Initiierung von aGvHD sind, wurde die Rolle von Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) in TLRs sowohl von Spendern als auch von Empfängern und ihre Auswirkungen auf die Entwicklung der aGvHD untersucht. Es wurde gezeigt, dass SNPs in TLR9 das Risiko, eine aGvHD zu erleiden, beeinflussen können. Patienten, die eine allogene SZT von Spendern mit einem von zwei SNPs in TLR9 erhielten, erkrankten häufiger an einer aGvHD Grad II-IV. Diese beiden SNPs im TLR9 Gen auf Spenderseite sind zum einen +1174 A/G (rs352139) und zum anderen +1635 C/T (rs352140) (Xiao et al. 2014).

TLRs können eine GvHD intensivieren, indem sie anschließend adaptive Immunantworten durch Erkennung exogener mikrobieller Pathogene induzieren. TLRs, die auf Empfänger-APCs exprimiert werden, können die Pathogen-assoziierten molekularen Muster (PAMPs) der Darmflora erkennen und mit diesen interagieren. Dies führt zur Aktivierung und Reifung von APCs und anschließend zu einer Migration von T-Zellen mit einer zunehmenden Produktion von entzündlichen Zytokinen, wie z. B. TNF- α , IL-1 β , IL6, IL-12 und IFN- γ . Diese Zytokine sind alle für die Aktivierung der NF- κ B Signalübertragung relevant. Insbesondere IFN- γ kann die Antigenpräsentation verbessern, indem es die Expression von MHC-Molekülen auf lymphoiden und nicht lymphoiden Geweben hochreguliert (Xiao et al. 2014).

Die Aktivierung des NF- κ B Signals löst die Hochregulation der MHC-Klasse II und der kostimulatorischen Moleküle B7 aus, die das erste und zweite Aktivierungssignal für Spender-T-Lymphozyten zur Produktion von Zytokinen sind. Die Zytokine induzieren

dann die Differenzierung der Subpopulationen von Spender-T-Zellen, wie z. B. Th1-, Th2- und Th17-Zellen. Anschließend greifen diese alloreaktiven Spender-T-Zellen Zielgewebe oder -organe (einschließlich Haut, Darm und Leber) durch direkte Zytotoxizität an und lösen somit eine GvHD aus (Tu et al. 2016). Der TLR9-Signalweg spielt somit eine entscheidende Rolle bei der Antitumoraktivität und der Immunantwort.

1.6 Zielsetzung dieser Arbeit

Akute und chronische Graft-versus-Host Reaktionen stellen schwerwiegende Komplikationen bei der Behandlung einer malignen Erkrankung des hämatopoetischen Systems durch eine allogene Blutstammzelltransplantation dar. Auch in der Situation der HLA-kompatiblen Transplantation kommt es in ca. 15 % der Fälle zu einer akuten GvHD Grad III/IV, die mit erheblicher Morbidität und Mortalität assoziiert ist. Es ist daher notwendig, molekulare Prädiktoren für eine GvHD zu finden.

Zytokin-vermittelte Entzündungsmediatoren sind hier von zentraler Bedeutung. Die individuelle genetische Ausstattung von Spender und Empfänger kann auf diese Prozesse Einfluss nehmen. Insgesamt zielen die Untersuchungen darauf ab, genetische Risikofaktoren für das Auftreten von schwerer GvHD zu erkennen, sowie auf dieser Basis Ansätze zu einer Individualisierung der immunmodulatorischen Therapie bei der allogenen Blutstammzelltransplantation zu entwickeln. Das Ziel dieser Arbeit war es, genetische Polymorphismen von Spender und Empfänger zu identifizieren, die prognostische oder prädiktive Faktoren in der Vorhersage einer akuten GvHD Grad III/IV sein können. Um dies zu erreichen, wurde die individuelle genetische Ausstattung von Spender und Empfänger für die Zytokingene IL6, IL22, TLR4 und TLR9 analysiert.

2 Material und Methoden

2.1 OncoArray

Dieser Array umfasst ein genomweites Rückgrat von 230.000 Polymorphismen (SNPs) (Amos et al. 2017). Diese SNPs markieren die häufigsten genetischen Varianten sowie eine genaue Abbildung bekannter Suszeptibilitätsregionen, seltene Varianten aus Sequenzierungsexperimenten, pharmakogenetische Marker und krebsbedingte Merkmale.

2.2 *Genome-wide Association Study (GWAS)*

Eine genomweite Assoziationsstudie ist ein Ansatz, bei dem Marker auf gesamten DNA- oder Genomsätzen vieler Menschen in kurzer Zeit gescannt werden, um genetische Variationen zu finden, die mit einer bestimmten Krankheit assoziiert sind. Sobald neue genetische Assoziationen identifiziert werden, können Forscher diese Informationen nutzen, um bessere Strategien zur Erkennung, Behandlung und Vorbeugung dieser Krankheiten zu entwickeln. Solche Studien sind besonders nützlich bei der Suche nach genetischen Variationen, die zu häufigen, komplexen Krankheiten wie Asthma, Krebs, Diabetes und psychischen Erkrankungen beitragen.

Für eine genomweite Assoziationsstudie werden zwei Gruppen von Teilnehmern benötigt: Menschen mit der untersuchten Krankheit und ähnliche Menschen ohne die Krankheit. Die Forscher erhalten DNA von jedem Teilnehmer, in der Regel durch eine Blut- oder Speichelprobe.

Der komplette DNA-Satz, oder das Genom jeder Person, wird dann aus dem Blut oder den Zellen gereinigt, auf sehr kleine Chips aufgetragen und in automatisierten Labormaschinen gescannt. Diese Maschinen können das Genom jedes Teilnehmers zügig nach strategisch ausgewählten Markern genetischer Variationen untersuchen, die als einzelne Nukleotidpolymorphismen oder SNPs bezeichnet werden.

GWAS- und SNP-Studien können potenzielle Biomarker identifizieren, die für das Monitoring der Krankheit und für das Ansprechen auf die Therapie genutzt werden könnten.

3 Patientenkollektiv und Methoden

Vor Beginn der Durchführung dieser Doktorarbeit, wurde das Konzept der Ethikkommission der Universität Göttingen vorgelegt. Es wurden keine Einwände gegen die Durchführung dieser Analyse erhoben (Antragsnummer: 6/7/10)

Die Datenerfassung erfolgte anhand der dokumentierten Patientenverläufe in der Datenbank der Klinik für Hämatologie und Medizinische Onkologie. Der Datenschutz wurde hierbei zu jeder Zeit eingehalten. Somit ist die Untersuchung beobachtend. Die Studie wurde als retrospektive vergleichende epidemiologische Kohortenstudie durchgeführt.

Um die Datenintegrität sicherzustellen, wurde eine intensive Überprüfung der Fehler in den Daten durchgeführt.

Die Erfassung der Patientendaten erfolgte in Zusammenarbeit mit Alexandra Voigt und Jennifer Arndt.

3.1 Patientenkollektiv

3.1.1 Auswahl des Patientenkollektivs

Die vorliegenden Daten umfassen Informationen einer Stichprobe von Patienten, bei denen eine allogene Stammzelltransplantation als Therapie durchgeführt wurde, sowie Informationen zu deren verwandten oder nicht-verwandten Spendern.

Insgesamt wurden die Daten von 884 Patienten erfasst, die im Zeitraum von Januar 2001 bis Dezember 2017 eine allogene Stammzelltransplantation an der Universitätsklinik Göttingen erhalten haben. Die Krankheitsbilder der Patienten sind in Tabelle 1 dargestellt. Sie wurden zur Vereinfachung in 3 Gruppen eingeteilt: Leukämie, Lymphome und Andere. Eingeschlossen wurden alle Patienten europäischer Abstammung, die eine allogene SZT erhalten haben, unabhängig ob erstmalig oder zum wiederholten Male. Bei 164 der 884 Patienten gab es kein ausreichendes Material für die SNP-Analyse oder keine ausreichenden Daten hinsichtlich der Transplantation oder der Spender, sodass diese nicht in die Analyse eingeschlossen wurden.

Tabelle 1: Darstellung der Krankheitsentitäten

Lymphome	AA	AA	Aplastische Anämie (AA)	7
			Schwere aplastische Anämie (sAA)	7
	NHL	T-Zell NHL	Angioimmunoblastische Lymphadenopathie (AILD)	3
			Angioimmunoblastisches T-Zell Lymphom (AILT)	5
			Myelofibrose (MF)	5
			Peripheres T-Zell Lymphom (PTCL)	5
			T-lymphoblastisches Lymphom (T-LBL)	2
			T-Zell Non-Hodgkin Lymphom (T-NHL)	35
			T-Zell prolymphozytische Leukämie (T-PLL)	8
			T-Zell Lymphom	8
		B-Zell NHL	B-Zell chronische lymphozytische Leukämie (B-CLL)	18
			B-Zell Non-Hodgkin Lymphom (B-NHL)	37
			B-Zell Lymphom (BCL)	1
			Burkitt Lymphom	2
			Chronisch lymphatische Leukämie (CLL)	19
			Diffuses großzelliges B-Zell Lymphom (DLBCL)	34
			Mantelzelllymphom	28
			Morbus Waldenström	1
		Plasmazell NHL	Multipl. Myelom (MM)	69
			Plasmazell Neoplasie (PCN)	
			Plasmazell Leukämie (PCL)	2
		Unspezifisches NHL	Non-Hodgkin Lymphom	31
Spezifisches Hodgkin Lymphom	Kutanes follikuläres zentrales Lymphom (FCL)	3		
Unspezifisches Hodgkin Lymphom	Hodgkin Lymphom	21		
Leukämie	Akute Leukämie	Unspezifische AML/ALL	Akute lymphatische Leukämie (ALL)	30
			Akute myeloische Leukämie (AML)	247
			Blasten plasmazytoide dendritische Zellneoplasie (BPDCN)	3
			Sekundäre AML	76
		B-Zell AML,ALL	B-Zell ALL	8
			common ALL	22
		T-Zell AML,ALL	T-Zell ALL	23
			T-AML	1
	Andere Leukämien	Biphänotypische Leukämie (BAL)	BAL	1
		MPN (nicht CML)	Primäre Myelofibrose (PMF)	16
	Chronische Leukämie	CML	Chronisch myeloische Leukämie (CML)	23
	MDS/MPN	MDS/MPN	Chronische myelomonozytische Leukämie (CMML)	5
			Myelodysplastisches Syndrom (MDS)	40
			Myeloproliferative Neoplasie	20
Refraktäre Anämie mit excess Blasten (RAEB)			13	
andere	Andere	andere	Hämoglobinopathie	3
			Thalassämie	1
Nicht bekannt				7

3.1.2 Datenerfassung

Die folgenden Parameter wurden durch eine ausführliche Recherche in der Datenbank der Klinik für Hämatologie und Medizinische Onkologie identifiziert und in einer Excel-Tabelle dargestellt.

- Geburtsdatum, Geschlecht, Grunderkrankung, Alter des Spenders
- Geschlechterkombination, Verwandtschaft, Wartezeit auf eine Transplantation in Tagen
- Anzahl der Transplantationen, Krankheitsstadium, EBMT-Score
- Transplantationscharakteristika: HLA-Merkmale, Remissionsstatus vor Transplantation, Art der Stammzellgewinnung, Spender: Familien- oder Fremdspender
- Konditionierungsregime, T-Zell-Depletion ja/nein, GvHD-Prophylaxe ja/nein
- Transplantationsdatum
- Überlebenscharakteristika: Rezidiv, akute GvHD, chronische GvHD, Tod, Ursache des Todes: GvHD, medizinisch, Rezidiv/Progress, nicht erfasst; Donorlymphozyteninfusionen (DLI)
- Gesamtüberleben (OVS) in Tagen; OVS Zensur: aGvHD Maximum, aGvHD onset, cGvHD Maximum, CGvHD onset, CMV, DLI, Ende der Observationsdauer, Rezidiv, Tod, unbekannt
- Ereignisfreies Überleben in Tagen: aGvHD Maximum, aGvHD onset, cGvHD Maximum, cGvHD onset, CMV, DLI, Ende der Observationsdauer, last Seen, unbekannt
- IBMTR und Glucksberg-Score
- Einteilung der Patienten in Schweregrade der akuten sowie chronischen GvHD

3.1.3 HLA-Übereinstimmung mit familiärer Empfänger-Spender-Beziehung

Da die familiäre Beziehung zwischen Patienten und Spendern stark mit der HLA-Übereinstimmung korreliert, wurden beide Informationen zu einer gemeinsamen Klassifizierung zusammengefasst:

- Nicht-verwandte HLA-Übereinstimmung
- Nicht-verwandter HLA-Mismatch
- Verwandte HLA-Übereinstimmung
- Verwandter HLA-Mismatch
- Unbekannt

Für den Fall, dass keine HLA-Informationen zur Verfügung standen, wurde eine HLA-Übereinstimmung für dokumentierte Beziehungen vom Typ "MRD" (*matched related*

donor), "HLA-haploidentisch verwandte Spender", "MUD-Nabelschnurblut" (*matched unrelated donor*) und "SIB" (*sibling*) angenommen.

3.1.4 Ein- und Ausschlusskriterien

SZT-Patienten und Spender, die ebenfalls für die Genotypisierung mit dem OncoArray vorgesehen waren und die die folgenden Kriterien erfüllen, wurden in den Datensatz aufgenommen: zum Zeitpunkt der allogenen Stammzelltransplantation 18 Jahre oder älter, Verfügbarkeit klinischer Daten (insbesondere das primäre Ergebnis einer aGvHD 0-IV), ausreichende DNA-Qualität für *GWAS*-Chips, erste Transplantation (d.h. keine Mehrfachtransplantation) und keine frühere *GWAS*-Genotypisierung.

Ausgeschlossen wurden Fälle, bei denen EFS und OVS nicht bestimmt werden konnten, das Geschlecht oder Alter unbekannt waren, der nicht-europäische Patient war oder der Patient nicht behandelt worden ist.

3.1.4.1 Fehlende Werte von klinischen Größen

Aufgrund der retrolektiven Datenerhebung lagen bei weniger als der Hälfte aller Patienten die Daten vollständig vor. Lagen keine Informationen zu einer früheren autologen Transplantation vor, wurde diese als dritte Kategorie neben "Ja" und "Nein" angesehen. Fehlende klinischen Größen wurden durch je zwei zufällig imputierte Werte, basierend auf linearen oder logistischen Regressionsmodellen, ergänzt. Hierbei wurden das Transplantationsjahr, das Alter und das Geschlecht des Patienten berücksichtigt. Die Wartezeit zwischen Diagnose und Transplantation wurde für die Imputation fehlender Werte, wie auch in der späteren Datenauswertung, logarithmisch modelliert.

3.1.5 Einteilung der Schweregrade der akuten GvHD

Die Schweregrade der akuten GvHD wurden anhand der Einteilungen von Glucksberg und Rowlings eingeteilt (Rowlings et al. 1997) (Glucksberg et al. 1974). (Tabelle 2)

Die Glucksberg-Klassifikation wurde 1974 von Glucksberg et al. vorgeschlagen und 1975 von Thomas et al. überarbeitet. Diese Klassifizierung stuft zuerst Haut, unteren GIST und Leber auf einer Skala von 0 (nicht vorhanden) bis 4 (schwer) Punkten ein. Die akute GvHD wird dann basierend auf der Schwere der Organbeteiligung und der subjektiven Bewertung des Performance Status (ECOG) des Patienten in einen endgültigen Gesamtgrad von I (mild) bis IV (lebensbedrohlich) eingestuft (Glucksberg et al. 1974) (Thomas et al. 1975). Die Glucksberg-Klassifikation ist weit verbreitet und nach wie vor

ein wertvolles Instrument zur Untersuchung des Auftretens und der Behandlung der akuten GvHD. Es kann jedoch zu einer nicht unerheblichen Variabilität zwischen den einzelnen Beobachtern bei der Einteilung der Grade kommen, da dieses System die subjektive Bewertung der physischen Leistungsfähigkeit/des physischen Zustandes der Patienten beinhaltet. Daher wurde 1997 der International Bone Marrow Transplant Registry Severity Index (IBMTR) von Rowlings et al. erstellt. Dieser Score ähnelt sehr dem Glucksberg-Score, bewertet den Schweregrad der akuten GvHD von A bis D jedoch nur anhand der Organbeteiligung des jeweiligen Patienten.

Der IBMTR-Score liefert eine etwas genauere Vorhersage über die Mortalität (Rowlings et al. 1997).

Das Ausmaß der Hautbeteiligung wird in Prozent angegeben. Für das Ausmaß der Leberbeteiligung ist die Höhe des Bilirubins und für den Darm die Menge an Stuhl pro Tag entscheidend.

Tabelle 2: Ausmaß der Organbeteiligung und Einteilung der Schweregrade der akuten GvHD anhand des Glucksberg-Scores und des IBMTR Severity Index

Stadium	Haut	Leber (Bilirubin)	GIST (Stuhl/Tag)
0	Kein GvHD Exanthem	< 2 mg/dl	< 500 ml/Tag
1	Makulopapulöses Exanthem < 25% der KOF	2-3 mg/dl	> 500 ml/Tag
2	Makulopapulöses Exanthem 25-50% der KOF	3.1-6 mg/dl	> 1000 ml/Tag
3	Generalisierte Erythrodermie	6.1-15 mg/dl	> 1500 ml/Tag
4	Generalisierte Erythrodermie mit bullöser Formation und häufig auch mit Desquamation	>15 mg/dl	> 2000 ml/Tag oder schwere abdominale Schmerzen mit oder ohne Ileus

Glucksberg Grade

Grad	Haut	Leber	GIST	ECOG PS
I	Stadium 1-2	Keine	Keine	0
II	Stadium 1-3	Stadium 1 oder	Stadium 1	1
III	Stadium 2-3 oder	Stadium 2-3 oder	Stadium 2-3	2
IV	Stadium 1-4	Stadium 2-4 oder	Stadium 2-4	3

IBMTR Severity Index

Grad	Haut	Leber	GIST
A	Stadium 1	Keine	Keine
B	Stadium 2	Stadium 1-2 oder	Stadium 1-2
C	Stadium 3 oder	Stadium 3 oder	Stadium 3
D	Stadium 4 oder	Stadium 4 oder	Stadium 4

3.1.6 Einteilung der Schweregrade der chronischen GvHD

Die Einteilung der chronischen GvHD erweist sich als komplizierter als die der akuten GvHD, da sie prinzipiell jedes Organ befallen kann.

Laut Jagasia et al. unterscheidet man zwischen „diagnostic“ und „distinctive“ Anzeichen und Symptomen einer cGvHD (Jagasia et al. 2015). Die diagnostischen Symptome beziehen sich auf jene Manifestationen, die das Vorhandensein einer chronischen GvHD belegen, ohne dass weitere Tests oder Hinweise auf eine andere Organbeteiligung erforderlich sind. „Distinctive“ Symptome sind Symptome, die nicht primär bei einer cGvHD zu finden sind. Daher werden sie isoliert nicht als ausreichend angesehen, um eine eindeutige Diagnose einer cGvHD zu stellen. Zusätzliche Tests wie eine Biopsie, sind erforderlich um eine eindeutige Diagnose zu stellen.

2005 wurde ein neues globales Bewertungssystem der chronischen GvHD von Filipovic et al. eingeführt. Dies löste die seit 1980 gängige Einteilung von Sullivan et al. in „limited“ und „extensive“ ab (Filipovich et al. 2005).

Acht Organe (Haut, Mund, Augen, Magen-Darm-Trakt, Leber, Lunge, Gelenke und Faszien sowie Genitaltrakt) werden für die Berechnung des globalen Scores berücksichtigt. Zu den Elementen, die in der vorgeschlagenen globalen Bewertung enthalten sind, gehören sowohl die Anzahl der beteiligten Organe als auch der Schweregrad innerhalb jedes betroffenen Organs. Die Bewertung des Leistungsstatus ist nicht in das globale Bewertungssystem integriert. Die globalen Beschreibungen von leicht, mittelschwer und schwer wurden ausgewählt, um den Grad der Organauswirkung und Funktionsstörung aufgrund einer chronischen GvHD widerzuspiegeln (Jagasia et al. 2015).

Tabelle 3: NIH Global Severity of Chronic GvHD aus Jagasia et al. 2015

Milde chronische GvHD	1 oder 2 Organe involviert mit nicht mehr als Score 1 plus Lungen score 0
Moderate chronische GvHD	3 oder mehr Organe involviert mit nicht mehr als Score 1 oder mindestens 1 Organ (nicht Lunge) mit einem Score von 2 oder Lungen Score 1
Schwere chronische GvHD	Mindestens 1 Organ mit einem Score von 3 Oder Lungen Score von 2 oder 3

3.2 Statistische Methoden

Die Durchführung der statistischen Auswertungen sowie die Erstellung der Abbildungen erfolgte mit SPSS für Mac und Microsoft Excel (Version 16.16.20, Microsoft Corporation 2016).

3.2.1 Deskriptive Statistik

Die deskriptive Statistik dient der Anordnung erfasster Daten in Tabellen und Grafiken. Dies dient einer besseren Übersicht. Um die gesammelten Daten bestmöglich deskriptiv darzustellen, können sie tabellarisch aufgelistet, grafisch dargestellt oder als statistische Kennwerte berechnet werden. Zur Veranschaulichung der Daten wurde in dieser Arbeit zum einen eine tabellarische Auflistung und zum anderen eine grafische Darstellung gewählt. Die Überlebensfunktion wurde in Abhängigkeit der Zeit nach Transplantation als Kaplan-Meier-Kurven dargestellt.

3.2.2 Analytische Statistik

Der Einfluss von klinischen und genetischen Variablen auf den Verlauf der akuten GvHD und das Eintreten des Todes bei SZT-Patienten wurde untersucht. Die aGvHD wurde für die Schweregrade III/IV analysiert.

Für die Hauptanalyse wurden Cox-proportionale Überlebensmodelle verwendet, um das Problem konkurrierender Risiken angemessen anzugehen. Eine sorgfältige Prüfung des informellen Datenkonflikts, der Muster fehlender Werte, der zufälligen Zensur, der Qualität der Genotypisierung, des Zusammenbruchs aussagekräftiger Co-Variablen und des geeigneten Umgangs mit unsicheren Informationen war erforderlich.

3.2.2.1 Signifikanzniveau

Alle durchgeführten statistischen Tests wurden zum Signifikanzniveau von $\alpha=5\%$ interpretiert. Aufgrund des explorativen Charakters dieser Arbeit wurde auf eine Korrektur für multiples Testen verzichtet.

3.2.3 Modelldefinitionen

Die Zielgröße der retroektiv aus Krankenakten extrahierten Daten war die Zeitspanne von der ersten SZT (Zeitpunkt Tx) bis zum Eintreten eines Schlüsselereignisses und wurde daher mit „Time-To-Event“-Methoden analysiert. Zweck der Modellierung war

stets, die Abhängigkeit der Zielereignis von genomischen Varianten (SNPs) zu untersuchen.

Für die Analyse des Therapieergebnisses der SZT-Patienten wurden folgende Zielereignis bestimmt:

- GvHD (akute GvHD Grad III und IV, chronische GvHD)
- Rezidiv
- Tod (NPM)

GvHD, Rezidiv und Tod gelten als konkurrierende Ereignisse (Kim HT und Armand 2013). Trat der Tod ohne vorheriges Auftreten eines Rezidivs oder einer GvHD ein, wurde dieses als „non-preceded mortality“ (NPM) bezeichnet. Diese Definition steht im Einklang mit dem EBMT-Handbuch, das jedoch nur einen Rückfall berücksichtigt und daher NRM mit einer Mortalität ohne Rückfall gleichsetzt. Des Weiteren wurden die zusammengesetzten Ereignisse:

- OVS (Overall Survival: Zeit bis zum Tod, ungeachtet ob zwischenzeitlich ein anderes Ereignis auftrat oder nicht)
- EFS (Event Free Survival: Zeit bis zum ersten Schlüsselereignis)

untersucht (Ruggeri et al. 2016) (Holtan et al. 2015).

3.2.4 Censoring Events

Wenn *time-to-event*-Daten berücksichtigt werden, kann die Zeit bis zum interessierenden Ereignis häufig nicht für alle Personen oder Probanden beobachtet werden, da Probanden entweder kein Ereignis am Ende der Studie erlebt haben (administrative Zensur), sie früh aus der Studie ausgeschieden oder in der Nachsorge verloren gegangen sind. Diese Beobachtungen werden als „zensierte Beobachtungen“ bezeichnet. Im Rahmen der Ereigniszeit- und Überlebensanalyse wurden spezielle Methoden eingeführt, die mit diesen „zensierten Beobachtungen“ umgehen können, um nicht verzerrte Schätzungen zu erhalten ohne Informationen zu verlieren.

In dieser Arbeit wurden Beobachtungen als zensiert betrachtet, wenn das jeweils modellierte Zielereignis bis zum letzten bekannten Zeitpunkt nicht eintrat oder davor ein anderes Ereignis eintrat. Zensierende Ereignisse konnten sein: ein anders Zielereignis, eine DLI (Spender-Lymphozyten-Infusion), eine zweite Transplantation, eine CMV-Reaktivierung oder das Ende der Datenerhebung (administrative Zensur). Hingegen wurden alle medizinischen und sozial-medizinischen Todesursachen, einschließlich Selbstmord,

einheitlich betrachtet. Bezüglich des Zielereignisses Tod wurde also nicht zwischen transplantationsbedingt und nicht-transplantationsbedingt unterschieden. Bei den Überlebenszeiten mit unbekanntem (nicht dokumentierten) Todesursachen und nicht-medizinischen / nicht-sozial-medizinischen (z. B. in der Wohnung gefundene Todesfälle) Todesursachen wurden zensierte Beobachtungen zugelassen.

3.2.5 Konkurrierende Risiken (*Competing Risks*)

In der klassischen Ereigniszeit- oder Überlebensanalyse wird das Risiko mehrerer Zielereignisse als stochastisch unabhängig angenommen. Zensierte Ereignisse treten daher zufällig auf. Beispiele sind die Zeit von der Diagnose einer bestimmten Krankheit oder die Zeit vom Beginn der Behandlung bis zum Tod des Patienten in einer klinischen Studie. Konkurrierende Risiken liegen vor, wenn bei einem Patienten die Risiken mindestens in zwei Zielereignissen miteinander verbunden sind. Z. B. kann durch das Wiederaufflammen der Grunderkrankung der Tod in Folge eines Rezidivs, oder vor dessen klinischer Manifestation eintreten.

Wenn also die Gefahr besteht, dass eine Person aufgrund von X verschiedenen Ereignistypen ausfällt, werden diese verschiedenen Ereignistypen als konkurrierende Risiken bezeichnet (Abbildung 1).

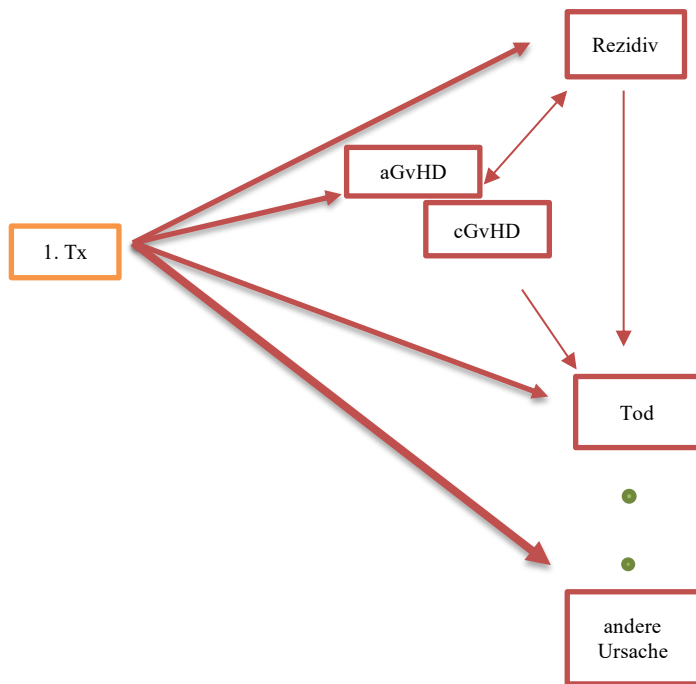


Abbildung 1: konkurrierenden Risiken (*Competing Risks*)

Das Rahmenwerk für konkurrierende Risiken (*Competing Risks*) umfasst auch Einstellungen, bei denen sich verschiedene mögliche Ereignisse nicht gegenseitig ausschließen, das Interesse jedoch auf dem ersten auftretenden Ereignis liegt. Die Methode der konkurrierenden Risiken wird zunehmend auf Daten zur Todesursache angewendet, um „reale“ Todeswahrscheinlichkeiten zu ermitteln, die nach bestimmten Ursachen aufgeschlüsselt sind. Diese Art von Informationen könnte nicht nur wichtig sein, um Patienten über die Risiken zu informieren, denen sie in bestimmten Situationen ausgesetzt sind, sondern auch, um Entscheidungen darüber zu treffen, welches Behandlungsschema einem Patienten zugewiesen werden soll, wie Gesundheitsressourcen am effektivsten genutzt werden sollen und um die längerfristigen Ergebnisse chronischer Erkrankungen zu verstehen. Die Datenauswertung von „Überlebenszeit“ bei bestehen von konkurrierenden Risiken erfolgt meist mit Hilfe von Cox-Proportionalen-Regressionsmodellen. (Grambauer et al. 2010).

3.2.6 Hazard-Funktion

Die *Hazard*-Funktion ist für die Charakterisierung von Lebensverteilungen von großer Bedeutung. Sie wird üblicherweise mit $h(t)$ oder λ bezeichnet und kann durch die untenstehende Formel beschrieben werden.

$$\lambda = h(t) = \frac{\text{Anzahl der Personen mit Zielereignis im Intervall, das bei } t \text{ beginnt}}{(\text{Anzahl an Personen, die bis } t \text{ überlebt haben}) \times \text{Intervallbreite}}$$

Der *Hazard* (Risiko) λ gibt somit an, bei wie vielen Personen durchschnittlich, innerhalb einer definierten Zeitspanne, ein betrachtetes Zielereignis auftritt (sozusagen ausfällt), wobei nur jene berücksichtigt werden, bei denen das betrachtete Ereignis noch nicht aufgetreten ist (die verbleibende Stichprobe unter Risiko). *Hazard* $h(t)$ bezeichnet die „Gefahr“ für das Eintreten eines Zielereignisses genau zum Zeitpunkt t , bedingt das Ereignis ist zuvor noch nicht eingetreten. Er kann (im Fall das Zielergebnis ist der Tod) als momentane Sterberate oder Ausfallrate aufgefasst werden. Der *Hazard* (Risiko) kann sich über die Zeit t ändern: $\lambda \rightarrow \lambda(t)$. Man spricht dann von einer *Hazard*-Funktion.

3.2.6.1 Hazard Ratio

Die *Hazard Ratio* (*HR*) ist der Quotient zweier Ausfallraten. Sie wird insbesondere in randomisierten kontrollierten Studien (klinischen Studien) verwendet und gibt das Gefahrenverhältnis zwischen zwei Gruppen an. Die *HR* gibt an, um wie viel die Sterberate/Ausfallrate in der einen Gruppe (hier definiert durch die Genotypen aa und AA) höher als in der anderen Gruppe ist. Unter der Annahme proportionaler *Hazard*-Funktionen ist *HR* von der Zeit t unabhängig:

$$\text{Hazard Ratio} = \frac{h_{AA}(t)}{h_{aa}(t)}$$

Die *HR* ist ein rein deskriptives Maß um das Gefahrenverhältnis, und damit indirekt die Überlebenszeiten, zwei unterschiedlicher Gruppen von Patienten vergleichen zu können.

3.3 Cox-Proportionales-Hazard-Modell

Das Cox-Proportionale-*Hazard*-Modell, das 1972 von David Cox erstellt wurde, ist ein Regressionsmodell, mit dem man den Zusammenhang zwischen der Überlebenszeit von Patienten und einer oder mehrerer prädiktiver Variablen untersuchen kann. Es wird

angenommen, dass die Gefährdungsverhältnisse über die Zeit konstant sind und dass jede der betrachteten Kovariaten, angesichts der anderen Kovariaten, einen linearen Effekt auf den Logarithmus der Gefährdungsrate hat. Das Cox-Regressionsmodell kann wie folgt beschrieben werden:

$$\lambda(t|x) = \lambda_0(t)\exp(\beta^T x)$$

mit der nicht spezifizierten Grundlinien-Gefährdungsrate $\lambda_0(t)$ für eine (möglicherweise fiktive) Person mit einem kovariaten Vektor von Nullen, dem P-dimensionalen Vektor der Kovariaten x und dem Vektor der Regressionskoeffizienten β .

Diese Modelle werden unter der Annahme gefittet, dass die *HR* über die Zeit konstant ist: z. B. $HR_{0-1} = \lambda_1(t)/\lambda_0(t)$, wobei hier 0 für homozygote Träger des häufigeren Allels und 1 für heterozygote steht. Im Rahmen des Cox-Proportionalen-*Hazard*-Modells erfolgt die Schätzung der *HR* ohne dass die Grundlinien-Gefährdungsrate $\lambda_0(t)$ selbst bestimmt werden muss. (Collett, D. 2015) Ferner wurde für die Datenauswertung ein additiver, genetischer Effekt angenommen, das heißt, dass $HR_{0-2} = 2HR_{0-1}$ ist, wobei die 2 für homozygote Träger des selteneren Allels steht. Mit anderen Worten, die *HR* ist die Veränderung des Risikos je selteneren Allels. Ziel der Modellierung ist das Schätzen der ursachenspezifischen (*cause-specific*) *Hazard Ratio* *HR* und das Testen, ob diese von $HR = 1$ (SNP hat keinen Einfluss) statistisch unterschieden werden kann.

Durch dieses Modell können die Auswirkungen mehrerer Risikofaktoren auf die Überlebenszeit gleichzeitig bewertet/modelliert werden. Es liefert eine Schätzung z. B. eines Therapieeffektes auf die Überlebenszeit, adjustiert für die anderen Einflussgrößen. Dadurch wird es ermöglicht, die Risikorelation eines Zielereignisses z. B. bezüglich eines Genotyps auch dann zu schätzen, wenn die Personen der zur Verfügung stehenden Stichprobe sich hinsichtlich andere Kovariaten unterschieden. Um dies zu erreichen, ist es notwendig vorauszusetzen, dass die *Hazard Ratio* über einen Zeitraum konstant ist und das Zensur zufällig auftritt.

Konkurrierende Risiken sind in medizinischen Überlebensdaten häufig, wenn Patienten eines von mehreren sich gegenseitig ausschließenden konkurrierenden Ereignissen erleben können. Wenn das Interesse an der Auswirkung einer Kovariate auf ein Ereignis von Interesse bei Vorhandensein konkurrierender Risiken besteht, werden zwei Hauptansätze verwendet, die beide auf proportionalen *Hazards* beruhen. Der erste Ansatz legt eine proportionale Gefährdungsannahme für die ursachenspezifischen *Hazards* fest. Nach der Schätzung der Regressionskoeffizienten und der Grundliniengefahren können

Wahrscheinlichkeitsberechnungen durchgeführt werden, um die Auswirkung der Kovariate auf der Wahrscheinlichkeitsskala, die kumulative Inzidenz, zu quantifizieren (Andersen und Liestol 2003). Es kann vorkommen, dass bei einem geschätzten positiven Regressionskoeffizienten für das ursachenspezifische Risiko von Interesse höhere Werte der Kovariate nicht mit höheren Wahrscheinlichkeiten des interessierenden Ereignisses zusammenfallen. Der Grund für dieses möglicherweise unerwartete Verhalten ist, dass die Wahrscheinlichkeit des Auftretens des interessierenden Ereignisses von beiden ursachenspezifischen Gefahren abhängt. Aufgrund dieser Komplikation entwickelten Fine und Gray (1999) ihr proportionales *subdistribution Hazard*-Modell, das heutzutage allgemein als Fine-Gray-Modell bekannt ist.

3.3.1 Ursachenspezifisches *Hazard*-Modell

Wie bei der Standardüberlebensanalyse spielen die *Hazard*-Raten eine wichtige Rolle für die Analyse von konkurrierenden Risiken, da diese bei zensierten Beobachtungen geschätzt werden können. Die hauptsächlich identifizierbare Größe bei *Competing Risk*-Beobachtungen ist die ursachenspezifische *Hazard*-Funktion $\lambda_k(t)$, die heuristisch die Wahrscheinlichkeit eines Ausfalls aufgrund der Ursache k zu einem bestimmten Zeitpunkt darstellt, da bisher kein Ausfall jeglicher Art aufgetreten ist. Der kumulative ursachenspezifische *Hazard* $\Lambda_k(t)$ entspricht dem ursachenspezifischen *Hazard*, der von Beginn der Beobachtung bis zum Zeitpunkt t summiert wird. Die ursachenspezifischen Gefahren für k sich gegenseitig ausschließende Ereignisse (nicht-konkurrierender Zielereignisse), addieren sich zur Ausfallgefahr eines der Ereignisse, so dass

$$\Lambda(t) = \Lambda_1(t) + \Lambda_2(t) + \dots + \Lambda_k(t)$$

die kumulative Gefahrenfunktion für Ausfälle jeglicher Ursache ist. Im Falle von konkurrierenden Risiken gilt dies jedoch nicht.

3.3.2 *Subdistribution Hazard*-Modell

Ein beliebter Modellierungsansatz für die Analyse von konkurrierenden Risiken (*Competing Risks*) in Längsschnittstudien ist das proportionale *subdistribution Hazard*-Modell von Fine und Gray (Fine und Gray 1999). Dieses Modell wird häufig zur Analyse kontinuierlicher Ereigniszeiten in klinischen und epidemiologischen Studien verwendet. Um bei Anwesenheit von konkurrierenden Risiken eine „*Hazard-like*“-Menge zu finden, die

in direktem Zusammenhang mit der aus der Standardüberlebensanalyse bekannten kumulativen Inzidenzfunktion steht, führte Gray (1988) den sogenannten *subdistribution Hazard* ein. Für den *subdistribution Hazard* wird ein angepasster Risikosatz berücksichtigt, der Personen, die aufgrund eines konkurrierenden Ereignisses gescheitert sind, für zukünftige Zeitpunkte im Risikosatz hält. Der Ansatz wurde von Fine und Gray auf ein Regressionsmodell erweitert, mit dem der Einfluss von Kovariaten auf das Risiko der Unterverteilung bewertet werden kann. Bei diesem Ansatz werden die Koeffizienten, z. B. aus einem Cox-Regressionsmodell monoton mit der kumulativen Inzidenzfunktion verknüpft, sodass kovariater Effekte, die aus einem Regressionsmodell für den *subdistribution Hazard* abgeleitet wurden, unter Berücksichtigung der Modellannahmen direkt in Auswirkungen auf Ereigniswahrscheinlichkeiten übersetzt werden können. Andersen et al. führten eine Methode zur Abschätzung kovariater Effekte auf eine interessierende Menge in Überlebensmodellen unter Verwendung von Pseudowerten ein (Andersen und Liestol 2003). Die Methode wurde später an das Rahmenwerk für konkurrierende Risiken angepasst, indem die kumulative Inzidenzfunktion als Maß für das Interesse verwendet wurde (Klein und Andersen 2005).

Der *subdistribution Hazard* $h_{kS}(t)$ ist das unmittelbare Risiko des Eintretens eines Zieleignisses k zum Zeitpunkt t , vorausgesetzt, das Zieleignis k ist vor t noch nicht eingetreten.

$$h_{kS}(t) = \lim_{\delta t \rightarrow 0} \left\{ \frac{\{P(t < T < t + \delta t, K = k | T > t \text{ or } (T < t \ \& \ K \neq k))\}}{\delta t} \right\}$$

Subdistribution Hazards berücksichtigen konkurrierende Risiken durch Änderungen des Risikosatzes (Personen unter Risiko zum Zeitpunkt t). Es hat keine Ähnlichkeit mit einer epidemiologischen Rate, da Personen, die an anderen Ursachen sterben, im Risikosatz erhalten bleiben (Andersen et al. 2012). Andersen und Keiding (2012) stellten die Nützlichkeit und Interpretierbarkeit des *subdistribution Hazards* in Frage, da Personen, die aufgrund eines konkurrierenden Risiko Ereignisses gescheitert waren, in dem für spätere Zeitpunkte festgelegten Risiko enthalten bleiben. Bei zensierten Beobachtungen muss eine potenzielle Zensurzeit für Patienten abgeleitet werden, die aufgrund eines anderen Ereignisses als k versagt haben, um eine unvoreingenommene Schätzung für den *subdistribution Hazard* für den Ereignistyp k zu erhalten. Die Schätzung der potenziellen

Zensurzeit ist in Gray (1988) und Fine und Gray (1999) für verschiedene Szenarien der administrativen oder nicht administrativen Zensur beschrieben.

Die Schätzung der Regressionskoeffizienten im Cox-proportionalen-*Hazard*-Modell basiert dabei auf einer Modifikation der verbleibenden Stichprobe unter Risiko. Personen, die zum Zeitpunkt t ein zum betrachteten Zielereignis konkurrierendes Ereignis erleben, verbleiben auch nach dem Zeitpunkt t künstlich in der verbleibenden Stichprobe unter Risiko. Jedoch wird deren Beitrag über die Zeit entsprechend der bedingten Wahrscheinlichkeit, dass diese noch unter Risiko wären, wäre das konkurrierende Ereignis nicht eingetreten, schrittweise verringert. Das Modell von Fine und Gray zielt darauf ab, die kumulative Inzidenz, und damit die Wahrscheinlichkeit des Auftretens über die Zeit (= Vorhersage) eines interessierenden Ereignisses zu modellieren. Die in dem Modell geschätzte *subdistributional Hazard Ratio sHR* kann zwar nicht mehr als *HR* interpretiert werden. Ein Test, ob sich diese von $sHR = 1$ (SNP hat keinen Einfluss) statistisch unterscheidet bleibt aber weiterhin valide (Andersen et al. 2012).

3.3.3 Unterschiede zwischen ursachenspezifischem und *subdistribution Hazard*

Die beiden auf *Hazard* basierenden Regressionsansätze, der ursachenspezifische und der *subdistribution Hazard*, sind häufig genutzte Methoden in medizinischen Studien. Aufgrund der ähnlichen Ansätze werden die aus den Regressionsmodellen erhaltenen Regressionskoeffizienten oftmals gleich interpretiert, ohne zu berücksichtigen, dass sich die Methoden auf unterschiedliche Größen konzentrieren. Abhängig von der Anzahl der konkurrierenden Ereignisse und den kovariaten Auswirkungen auf die konkurrierenden Ereignisse, können die beiden Ansätze unterschiedliche Regressionskoeffizienten liefern, da die ursachenspezifische *Hazard* Regression auf das unmittelbare Risiko abzielt, während die *subdistribution Hazard* Regression direkt mit der kumulativen Inzidenzfunktion verbunden ist. Ein weiterer Unterschied zwischen dem ursachenspezifischen und dem *subdistribution Hazard* ist das festgelegte Risiko. Für den ursachenspezifischen *Hazard* verringert sich das Risiko jedes Mal, wenn der Tod aufgrund einer anderen Ursache eintritt. Mit dem *subdistribution Hazard* bleiben Risikopersonen, die an einer anderen Ursache sterben, im Risikosatz und erhalten eine Zensurzeit, die größer ist als alle Ereigniszeiten. Der ursachenspezifische *Hazard* kann als ursächliche Erklärung im Sinne eines Risikofaktors für ein Zielereignis dienen, während durch den *subdistribution Hazard* lediglich eine Vorhersage des Auftretens des Zielereignisses getroffen werden kann.

3.4 AIC Modell (Akaike Information Criterion)

Das Akaike-Informationskriterium (AIC) ist ein Informationskriterium, das eine nützliche Methode zum Vergleichen von Modellen mit unterschiedlichen Kombinationen von Prädiktoren darstellt (Lin und Halabi 2013). Das AIC ist ein Maß für die Anpassungsgüte, das berücksichtigt, wie viele Parameter geschätzt werden. Es ist nicht an sich interpretierbar (es ist nicht sinnvoll, davon zu sprechen, dass seine Werte per se groß oder klein sind). Es kann jedoch in verschiedenen Modellen verglichen werden, um festzustellen, wie sich eine Änderung des Modells auf die Anpassung auswirkt. Ein kleiner Wert steht für eine bessere Anpassung der Daten, daher passen Modelle mit niedrigeren AIC-Werten besser zu den Daten als Modelle mit höheren Werten.

Das Informationskriterium von Akaike vergleicht die Qualität einer Reihe statistischer Modelle nur miteinander. Das heißt, wenn keines der betrachteten Modelle die Realität ausreichend gut abbildet, wird es aus ihnen nur „das Beste unter den Schlechten“ auswählen. Das AIC liefert damit keine Aussage zur absoluten Güte der Modelanpassung an die Realität).

Das AIC basiert dabei auf der Wahrscheinlichkeit (*Likelihood L*) der Daten, wenn das angepasste Modell und die Anzahl zu schätzender Parameter k im Modell als gegeben angenommen werden.

Es ist definiert als:
$$AIC = -2\ln(L) - 2k$$

Unter mehreren vergleichbaren Modellen mit unterschiedlichen erklärenden Größen (also unterschiedlicher Anzahl an zu schätzenden Parametern) an die Daten angepasst, gilt jenes mit dem geringsten AIC als das relativ aussagekräftigste. Dieses Modell enthält alle als (datengetrieben) notwendig erachteten, aber keine als nicht notwendig erachteten erklärenden Größen.

3.5 Endgültige Modellierung

Die Abhängigkeit des Ergebnisses GvHD von einem SNP wurde mit mehreren Cox-Regressionsmodellen untersucht, wobei zwischen den Fragestellungen Ätiologie (*Explanation*) und Vorhersage (*Prediction*) unterschieden wurde (Ziegler et al. 2007) (Andersen et al. 2012). Mit Modellen zur Ätiologie wurde die molekularbiologische Wirkung eines SNPs auf das Ergebnis GvHD untersucht. Mit Modellen zur Vorhersage wurde die Bedeutung eines SNPs für die Prognose des Auftretens einer GvHD untersucht. Ferner wurden beschreibende Modelle (Deskription) zur Analyse der zusammengesetzten Zielereignisse OVS und EFS an die Daten angepasst.

Für die Fragestellung der Ätiologie (*Explanation*) und für beschreibende Modelle (Deskription) wurden Cox-Regressionsmodelle, unter Modellierung des ursachenspezifischen *Hazards*, an die Daten angepasst (Ziegler et al. 2007).

Für die Fragestellung der Vorhersage (*Prediction*) wurde das *subdistributional* Cox-Regressionsmodell von Fine und Gray an die Daten angepasst (Fine und Gray 1999). Das Modell von Fine und Gray zielt darauf ab, die kumulative Inzidenz, und damit die Wahrscheinlichkeit des Auftretens über die Zeit (= Vorhersage) eines interessierenden Ereignisses zu modellieren.

3.6 Modellbildung „Modelfit“

Die Abhängigkeit der Zielereignisse von genomischen Varianten (SNPs) wurde mit mehreren Cox-Regressionsmodellen untersucht, wobei je drei verschiedene Modelle an die Daten angepasst wurden.

Zum einen das „nicht adjustierte“-Modell, ein univariates Modell, das jeweils nur einen der genomischen Marker enthält, aber keine weiteren klinischen Parameter.

Zum anderen das „Full“-Modell, das neben dem genomischen Marker auch alle erhobenen klinischen Parameter berücksichtigt. Es wurde also exhaustiv adjustiert. Das „Full“-Modell stellt eine multivariate Analyse dar, bei der der Effekt des genomischen Markers adjustiert für andere Einflussgrößen geschätzt wird.

Als drittes Modell wurde das „AIC“-Modell angepasst, bei dem zuvor - ausgehend vom „Full“-Modell - eine datengetriebene Auswahl der notwendigen klinischen Parameter durchgeführt wurde. Es ist also „optimal adjustiert“.

4 Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik

Im Rahmen der statistischen Auswertung wurden die Daten von insgesamt 756 Patienten berücksichtigt, bei denen im Zeitraum von 2001 bis 2017 eine allogene Stammzelltransplantation durchgeführt wurde.

Entsprechend ihrer Grunderkrankung vor der Transplantation, wurden die Patienten in drei Gruppen eingeteilt. Mehr als die Hälfte der Patienten ($n = 439$) wurde initial mit einer Leukämie diagnostiziert. Diese wurden in Gruppe 1 zusammengefasst. AML, vor allem sAML war der häufigste Subtyp bei den Leukämiepatienten, gefolgt von ALL, MDS und CML. Daneben stellten die 309 an einem Lymphom erkrankten Patienten Gruppe 2 dar. Bei ihnen war das NHL die häufigste Diagnose, gefolgt vom Multiplen Myelom und der CLL. Zwei Fälle wurden in Gruppe 3 anderen Krankheitsentitäten (Hämoglobinopathie, Thalassämie) zugeordnet. Die Verteilung der Grunderkrankungen im Patientenkollektiv wird in Abbildung 2 veranschaulicht.

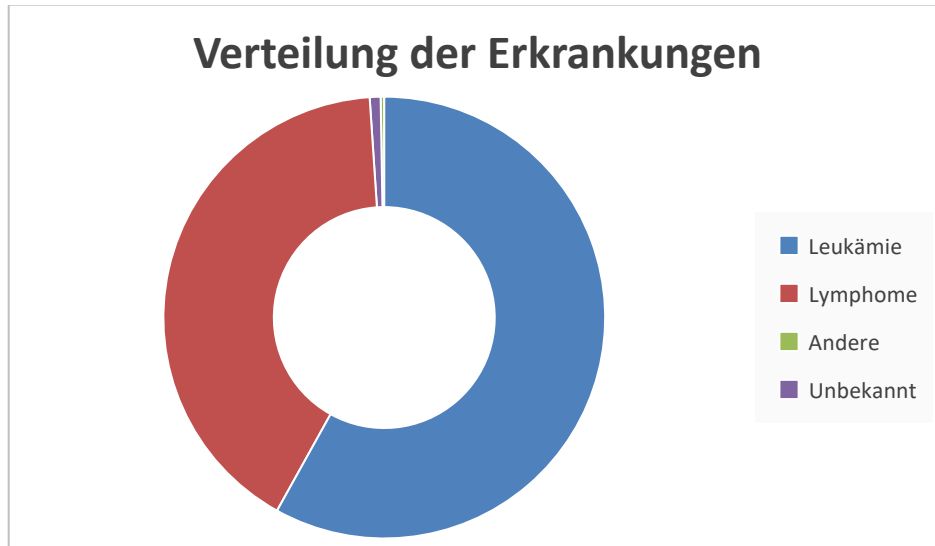


Abbildung 2: Verteilung der Grunderkrankungen
($n = 756$)

Tabelle 1 zeigt Parameter des untersuchten Patientenkollektivs und weist klinische Daten vor und nach der Stammzelltransplantation aus. Dabei fällt auf, dass die Spender im Vergleich zu den Empfängern im Durchschnitt 10 Jahre jünger waren. Das mediane Alter der Spender zum Zeitpunkt der Transplantation lag bei 41 Jahren, während das mediane Alter der Empfänger bei 54 Jahren lag.

Bei der Betrachtung des Geschlechterverhältnisses wird deutlich, dass in 122 Fällen die Konstellation aus einem weiblichen Spender und einem männlichen Empfänger vorlag, die sich in früheren Studien als ein Risikofaktor für das Auftreten einer GvHD herauskristallisiert hat (Flowers et al. 1990). In dem hier untersuchten Patientenkollektiv wies die Konstellation weiblicher Spender und männlicher Empfänger (Female to Male) kein schlechteres Gesamtüberleben auf.

Darüber hinaus erhielten 220 Patienten Stammzellen von einem verwandten Spender (MRD) und 516 Patienten Zellen von einem nicht-verwandten Spender (MUD). Das Risiko eines Patienten, im Verlauf der Stammzelltransplantation zu versterben, war für den Patienten beim Vorliegen eines nicht-verwandten Spenders größer, als wenn Spender und Empfänger miteinander verwandt waren.

Hauptquelle der Stammzellen war das periphere Blut. Nur 28 der 756 Patienten wurden Stammzellen aus dem Knochenmark transplantiert.

Die mediane Zeit ab dem Zeitpunkt der Diagnosestellung bis zur ersten Transplantation betrug 321 Tage. Betrachtet man die Häufigkeitsverteilung der Transplantationen über den Beobachtungszeitraum, fällt auf, dass die Anzahl an Stammzelltransplantationen stetig zugenommen hat. Diese Entwicklung spiegelt auch Abbildung 3 wider.

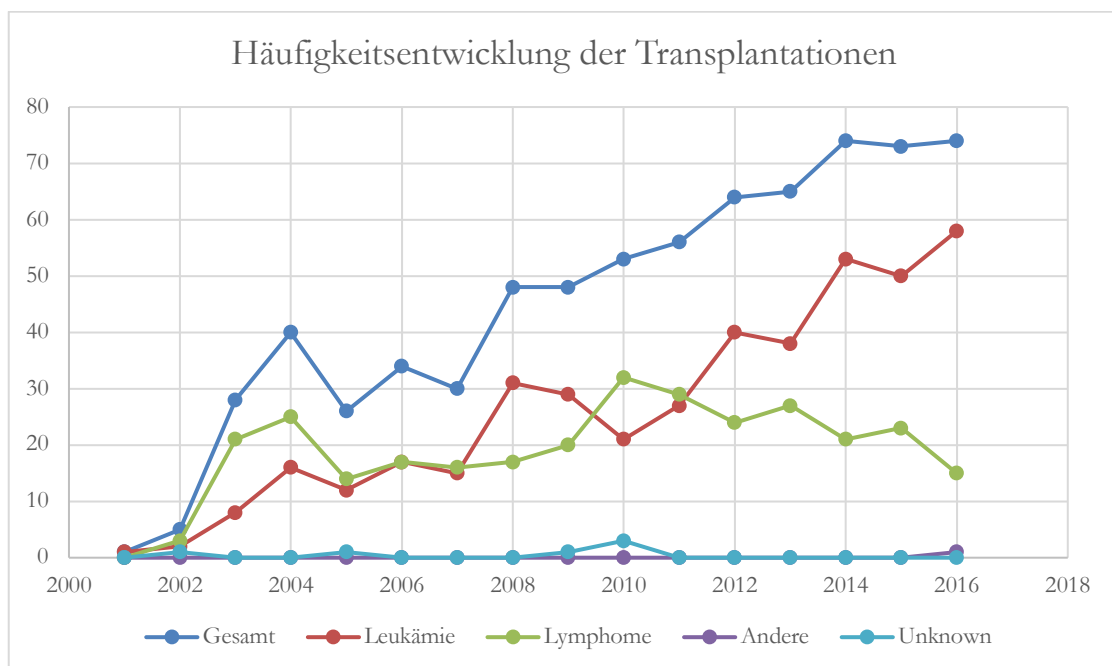


Abbildung 3: Häufigkeitsentwicklung der Stammzelltransplantationen im Zeitraum von 2001 bis 2016

Ein Drittel der Patienten befand sich zum Zeitpunkt der Transplantation in einer kompletten Remission ihrer Grunderkrankung. Bei 160 Patienten lag eine partielle Remission vor und 49 Patienten wiesen einen stabilen Krankheitszustand auf. Daneben erfuhren 40 Patienten ein Rezidiv, bei 94 Patienten befand sich die Erkrankung im Progress.

Bei allen Patienten wurde vor der Transplantation eine GvHD-Prophylaxe durchgeführt. 358 Patienten wurden in Vorbereitung auf die allogene Stammzelltransplantation mit einem reduzierten Konditionierungsregime behandelt. Bei 525 Patienten erfolgte eine T-Zell-Depletion mittels dem polyklonalen Antikörper Antithymozytenglobulin. 71 Patienten erhielten vor der Stammzelltransplantation eine Ganzkörperbestrahlung.

Bei 617 Patienten lag eine HLA-Match-Konstellation vor, während die Histokompatibilitätsantigene bei 129 Patienten nicht mit denen ihrer Spender übereinstimmten.

Das letzte bekannte Event war entweder der Tod oder der letztmalige Kontakt in der Klinik. Eine administrative Zensur (Ende des Beobachtungszeitraums nach Tx) fand in 210 Fällen statt, 13-mal war eine GvHD determinierend für die Beobachtung. 55 % der Patienten entwickelten eine akute GvHD meist Grad 1 (n = 145) oder Grad 2 (n = 137). Jedoch wiesen 134 Patienten schwere Symptome im Sinne einer GvHD Grad 3 oder 4 auf. Von den 756 Patienten entwickelten 289 eine chronische GvHD, meist Grad 1 (166). Etwas weniger als die Hälfte hatte Symptome einer cGvHD 2. Grades. Im Laufe des Beobachtungszeitraums verstarben 389 Patienten, 16 davon an einer GvHD. Die Abbildung 4 zeigt das Gesamtüberleben der Patienten, aufgetrennt nach dem Schweregrad der akuten GvHD. Dabei zeigt sich, dass Patienten mit einer GvHD Grad 1/2 scheinbar ein deutlich besseres Outcome haben, als Patienten mit einer GvHD Grad 3/4, aber auch als Patienten, die überhaupt keine GvHD entwickelt haben. Ein Rezidiv nach der Transplantation wurde bei 29,6 % (n = 224) der Patienten beobachtet, und in 106 Fällen wurde eine Donorlymphozyteninfusion gegeben.

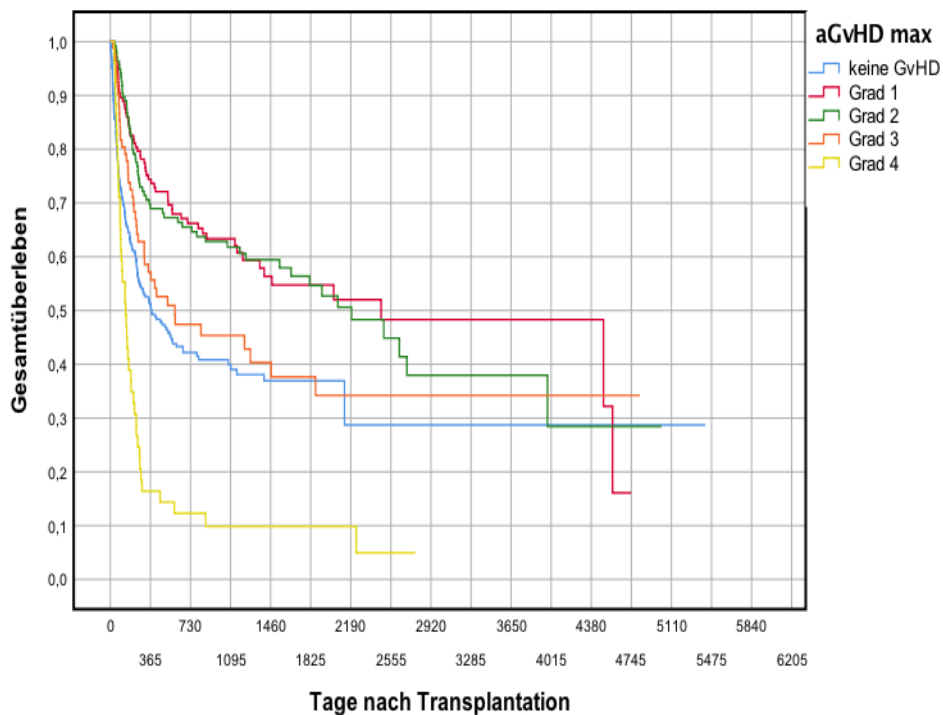


Abbildung 4: Gesamtüberleben nach allogener Stammzelltransplantation, aufgetrennt nach dem Schweregrad der akuten Graft-versus-Host Disease anhand einer Kaplan-Meier-Schätzkurve

Tabelle 4: Demografische und klinische Parameter der Patienten vor und nach der Transplantation
(n = 756), NA: fehlende Daten

Parameter	Kategorie	Anzahl (%) bzw. Zeitraum
Demografische Daten		
Alter des Empfängers bei der 1. Transplantation	Mittelwert	51,6 Jahre
	Median	54 Jahre
	Minimum	17 Jahre
	Maximum	78 Jahre
Alter des Spenders bei der 1. Transplantation	Mittelwert	41,1 Jahre
	Median	41 Jahre
	Minimum	15 Jahre
	Maximum	71 Jahre
Geschlecht des Empfängers	Weiblich	292 (38,6)
	Männlich	448 (59,2)
	NA	16 (2,2)
Geschlecht des Spenders	Weiblich	213 (28,0)
	Männlich	491 (65,0)
	NA	52 (7,0)
Geschlechterverhältnis	Spender w/ Patient m	122 (16,1)
	Andere Kombination	625 (82,7)
	NA	9 (1,2)
Beziehung zum Spender	Familienspender (MRD)	220 (29,1)
	Fremdspender (MUD)	516 (74,2)
	NA	20 (2,6)
Klinische Daten vor Transplantation		
Stammzellquelle	Knochenmark	28 (3,7)
	PBSZT	718 (95,0)
	NA	10 (1,3)
Gruppe der Diagnose	Leukämie	439 (58,1)
	Lymphom	309 (40,9)
	Andere Entitäten	2 (0,3)
	NA	6 (0,8)

Parameter	Kategorie	Anzahl (%) bzw. Zeitraum
Zeit bis zur 1. Transplantation in Tagen	Mittelwert Median Minimum Maximum	676,9 321 58 7919
Datum der 1. Transplantation	Mittelwert Median Minimum Maximum	2010,9 2012 2001 2017
CMV-Status des Empfängers	Negativ Positiv NA	322 (42,6) 368 (48,7) 66 (8,7)
CMV-Status des Spenders	Negativ Positiv NA	340 (44,9) 327 (43,3) 89 (11,8)
Verhältnis CMV-Status Empfänger und Spender	Beide negativ Beide positiv Entweder Empfänger oder Spender positiv NA	205 (27,1) 227 (30,0) 226 (29,9) 98 (13,0)
Remissionsstatus	Komplette Remission (CR, CR1, CR2, CRc, CRh) Partielle Remission (PR, PR1, PR2, VGPR) Jede Remission Stabile Erkrankung Rezidiv Progress /PD Chronische Phase/Chronische Phase 1 (CML) Akzelerierte Phase (CML) Blastenkrise (CML) Intermediate risk MDS/ MDS-RAEB/MDS-RA, MDS-EB2 NR NA	247 (32,7) 160 (21,2) 31 (4,1) 49 (6,5) 40 (5,3) 94 (12,4) 3 (0,4) 2 (0,3) 18 (2,4) 2 (0,3) 44 (5,8) 18 (2,4) 48 (6,4)
Reduzierte Konditionierung	Reduzierte Konditionierung Keine reduzierte Konditionierung	358 (47,4) 387 (51,2)
HLA-Mismatch	HLA-Mismatch HLA-Match NA	129 (17,1) 617 (81,6) 10 (1,3)
T-Zell-Depletion	T-Zell-Depletion Keine T-Zell-Depletion NA	525 (69,4) 220 (29,1) 11 (1,5)
Ganzkörperbestrahlung (TBI)	TBI Keine TBI NA	71 (9,4) 676 (89,4) 9 (1,2)
Klinische Daten nach Transplantation		
Akute Graft vs. Host Disease	0 1 2 3 4	340 (44,9) 145 (19,1) 137 (18,1) 82 (10,8) 52 (6,8)
Chronische Graft vs. Host Disease	0 1 2 NA	436 (57,3) 166 (21,8) 123 (16,2) 36 (4,7)
Rezidiv	Ja Nein	224 (29,6) 532 (70,4)
Todesfall	Verstorben Lebend	389 (51,5) 367 (48,5)
Tod durch GvHD	Tod durch GvHD Andere (lebend, andere Todesursache) NA	16 (16,9) 207 (27,4) 166 (21,9)

4.1.1 Medianes Überleben

Die mediane Zeit bis zum ersten Ereignis (EFS: ereignisfreies Überleben: GvHD, Rezidiv oder Tod) beträgt 68 Tage (95 %-KI: 57 – 78 Tage) in der Stichprobe. Nach etwa einem Monat (29 Tage) erreichte einer von vier Patienten einen der Endpunkte. Nach einem Jahr und 2 Monaten (430 Tage) war dies bei drei von vier Patienten der Fall.

Die mediane Zeit bis zum Tod (Gesamtüberleben) betrug 576 Tage (95 %-KI: 318 – 833 Tage) in der Stichprobe. Jeder vierte Patient starb jedoch innerhalb von 134 Tagen (95 %-KI 146 – 187 Tage), wobei 25 % länger als 11 Jahre überlebten.

Die mediane Zeit bis zum ersten Ereignis betrug bei Patienten, die eine GvHD erlitten, 41 Tage (95 %-KI: 36 – 45 Tage). Da bei dieser Analyse die GvHD sowohl als Einflussfaktor als auch als Endpunkt gedient hat, waren diese Werte weniger bis gar nicht aussagekräftig.

Ein HLA-Mismatch schien hingegen keinen Einfluss auf das Ereignisfreie Überleben zu haben. Die statistische Auswertung hat keinen signifikanten Unterschied ergeben (Abbildung 12). Die mediane ereignisfreie Zeit mit HLA-Mismatch betrug 68 Tage (95 %-KI: 50 – 79 Tage), wenn kein Mismatch vorliegt betrug sie 73 Tage (95 %-KI: 59 – 96 Tage).

4.2 Einfluss der SNPs der jeweiligen Gene auf das Auftreten eines der Zielereignisse

Tabelle 5 gibt einen Überblick über den geschätzten Einfluss der untersuchten genomischen Marker (als *Hazard Ratio*) auf die Zeit bis zum jeweils modellierten Zielereignis. Für alle hier untersuchten Modelle, bis auf das *subdistributional Hazard*-Modell zur Vorhersage einer GvHD, konnte mindestens ein Marker als signifikant beobachtet werden. In der Regel waren ein oder zwei Marker auffällig. Für den ursachenspezifischen *Hazard* auf NPM (*non-preceded mortality*), also dem Tod als erstes Zielereignis, wurden fünf signifikante Marker identifiziert.

Für das AIC-Modell gibt es keine Werte für die *subdistributional Hazard Ratio sHR* auf GvHD, Tod und Rezidiv, da der AIC für dieses Modell nicht sinnvoll errechnet werden kann. Eine Vorhersage kann überdies nur anhand der von zum Zeitpunkt Tx vorhandenen Informationen getroffen werden.

Im Folgenden werden die Marker, sortiert nach ihrer genomischen Zugehörigkeit zu einem Gen, beschrieben, wobei nur auf Marker mit signifikanten Effekten eingegangen wird. Die Ergebnisse jener Marker, für die kein signifikanter Einfluss beobachtet werden konnte, sind detailliert im Anhang aufgeführt.

Tabelle 5: Übersicht über die Schätzungen der untersuchten Marker.

Insgesamt wurden 43 SNPs untersucht.

<i>Effect estimates min-median-max / key-events time criteria contrast</i>	AIC										full										unadj.										
	<i>n fit models</i>	# signif. Marker $\leq 0,05$			HR			p-Wert			<i>n fit models</i>	# signif. Marker $\leq 0,05$			HR			p-Wert			<i>n fit models</i>	# signif. Marker $\leq 0,05$			HR			p-Wert			
		nicht sig.	min	med.	max	nicht sig.	min	med.	max	min		med.	max	nicht sig.	min	med.	max	nicht sig.	min	med.		max	nicht sig.	min	med.	max	nicht sig.	min	med.	max	
																															≤0,05
Beschreibung	Ereignis-freies Risiko	jedes Ereignis	per Al-lel	43	1	42	0,86	0,98	1,34	0,0297	0,48	0,99	43	1	42	0,84	0,98	1,37	0,0245	0,48	0,95	43	--	2	41	0,84	1,01	1,84	7,2E-04	0,58	0,88
				Tod	per Al-lel	43	2	41	0,87	1,01	1,50	6,1E-04	0,51	0,98	43	2	41	0,86	1,00	1,41	0,0059	0,51	0,95	43	3	--	40	0,86	1,01	1,36	0,16
Ätiologie	Ursachen-spezifischer Hazard	GvHD	per Al-lel	43	1	42	0,39	0,98	1,75	0,0270	0,52	0,99	43	2	41	0,41	1,01	1,78	0,0287	0,45	0,93	43	4	1	38	0,57	0,98	1,86	0,0351	0,64	0,95
				NPM	per Al-lel	43	5	38	0,58	1,05	1,54	0,0117	0,38	0,97	43	4	39	0,57	1,09	1,51	0,0078	0,35	0,93	43	--	2	41	0,61	1,02	1,45	0,0265
Vorhersage	Sub-distributional Hazard	GvHD	per Al-lel	43	1	42	0,71	1,11	2,30	0,0389	0,42	0,97	43	1	42	0,67	1,11	2,74	0,0220	0,43	0,97	43	1	--	42	0,72	1,08	1,72	0,0936	0,51	0,98
				Tod	per Al-lel	43	--	--	--	--	--	--	--	43	5	38	0,36	0,94	1,54	0,0103	0,51	0,99	43	1	3	39	0,47	0,97	1,50	0,0328	0,52
Vorhersage	Re-zidiv	per Al-lel	per Al-lel	43	--	--	--	--	--	--	--	43	6	37	0,69	1,09	3,14	0,0015	0,27	1,00	43	1	4	38	0,73	1,09	2,21	0,0114	0,28	0,98	
				Re-zidiv	per Al-lel	43	--	--	--	--	--	--	43	6	37	0,69	1,09	3,14	0,0015	0,27	1,00	43	1	4	38	0,73	1,09	2,21	0,0114	0,28	0,98

4.2.1 Einfluss von *Single Nucleotide Polymorphisms* des IL6 auf das Auftreten einer aGvHD Grad III/IV

Für das Gen IL6 wurden 23 Marker anhand des Cox-Regressionsmodells analysiert, für 6 von ihnen konnte ein signifikanter Einfluss auf mindestens eines der Zielergebnisse beobachtet werden ($p < 0,05$).

In Abbildung 5 sind die geschätzten *Hazard Ratios* HR und die p-Werte aller Marker des Gens IL6 dargestellt.

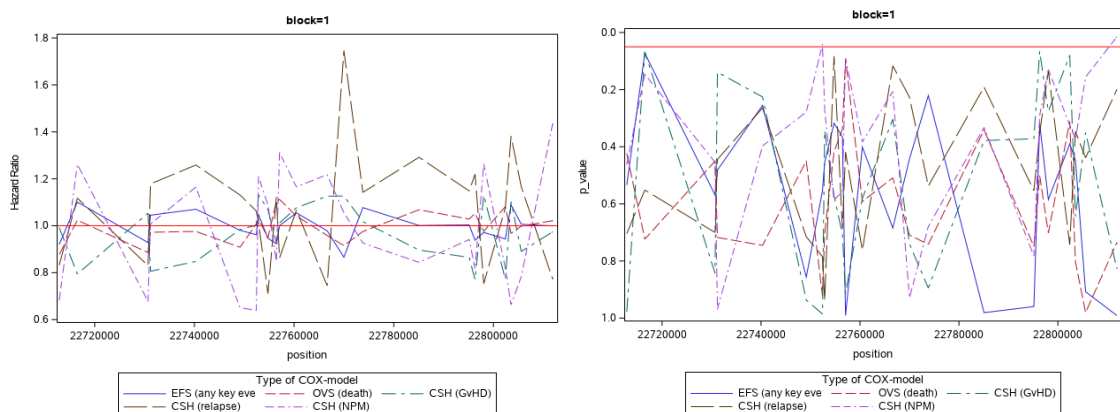


Abbildung 5: Darstellung aller Marker des Gens IL6

Links: abgeschätzte *Hazard Ratios*; Rechts: P-Werte; rote Linie: $\alpha=5\%$; EFS=Event-free survival, OVS=overall survival, GvHD=Graft-versus-Host Disease, NPM= non-preceded mortality

Für den Marker rs10950917 an Position 22811921 (Tabelle 6) wurden, im Vergleich zu allen anderen hier untersuchten Markern des IL6, die meisten signifikanten Effekte beobachtet. Das ursachenspezifische Risiko einer NPM (*non-preceded mortality*) war univariat ($HR = 1,45$, 95 %-KI: 1,04-2,01, $p = 0,0265$), als auch adjustiert, mit dem Genotyp des Markers signifikant assoziiert, wobei sich die p-Werte zwischen den Modellen unterschieden (Full-Modell: $p = 0,0078$, AIC-Modell: $p = 0,0153$), die Punktschätzer der HR jedoch nur wenig (siehe Tabelle 6). Die Abnahme des p-Wertes mit zunehmender Adjustierung kann damit erklärt werden, dass andere klinische Größen unabhängig vom Marker rs10950917 ebenfalls Einfluss auf die NPM genommen haben. Da die NPM in allen drei Modellen signifikant war, kann hier von einem robusten Schätzer für die NPM gesprochen werden. Träger des selteneren Allels hatten ein höheres Risiko nach der SZT zu versterben als Träger des häufigeren Allels.

Darüber hinaus war der Tod mit beiden *subdistributional Hazard Ratios* signifikant assoziiert (univariates Modell: $sHR = 1,53$, 95 %-KI: 1,12-2,10, $p = 0,0071$). Der Marker

rs10950917 hatte somit auch ein prädiktives Potential zur Vorhersage des Ereignisses Tod bzw. der Zeit bis zum Versterben. Für Träger des selteneren Allels war die Gefahr, im Beobachtungszeitraum von rund 10 Jahren zu versterben höher als für Träger des häufigeren Allels.

Für den Marker rs6969502 an Position 22752426 (Tabelle 7) war das ursachenspezifische Risiko einer NPM adjustiert mit dem Genotyp des Markers signifikant assoziiert. Die p-Werte unterschieden sich zwischen den Modellen (Full-Modell: $p = 0,0238$; AIC-Modell: $p = 0,0405$), während sich die Punktschätzer der *HR* nur wenig unterschieden (siehe Tabelle 7). Im nicht-adjustierten Modell wurde jedoch keine Signifikanz beobachtet ($p > 0,05$). Dies kann auf die Notwendigkeit und Angemessenheit der Anpassung, also des *adjustments* des nicht-adjustierten Modells, hindeuten. Da jedoch zwei Modelle Auffälligkeiten zeigten, kann man davon ausgehen, dass dieser Wert eine wirkliche Signifikanz zeigt und ein Hinweis darauf sein, dass Patienten ein erhöhtes Risiko für den Tod als erstes Ereignis hatten. Träger des häufigeren Allels hatten ein höheres Risiko nach der SZT zu versterben als Träger des selteneren Allels.

Tabelle 6: Schätzung der Effektstärke des Markers rs10950917

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs10950917</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0,99	0,90	1,10	0,99	1,00	0,90	1,11	0,95	1,03	0,89	1,19	0,68
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,02	0,90	1,15	0,74	1,01	0,89	1,15	0,84	1,10	0,92	1,31	0,26
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0,97	0,77	1,22	0,83	0,93	0,73	1,18	0,58	1,00	0,76	1,31	--
		NPM	per Allel	1,43	1,07	1,92	0,0153	1,48	1,11	1,99	0,0078	1,45	1,04	2,01	0,0265
		Rezdiv	per Allel	0,77	0,52	1,14	0,20	0,73	0,49	1,10	0,14	0,88	0,60	1,30	0,54
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0,92	0,75	1,13	0,44	0,88	0,73	1,07	0,21
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,56	1,09	2,24	0,0132	1,53	1,12	2,10	0,0071
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0,76	0,56	1,03	0,0807	0,81	0,61	1,09	0,18

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; *HR*: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: *HR* = *Subdistribution Hazard Ratios (sHR)*, p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Tabelle 7: Schätzung der Effektstärke des Markers rs6969502

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs6969502</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0,96	0,84	1,09	0,55	0,96	0,84	1,10	0,65	0,98	0,82	1,17	0,84
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,00	0,86	1,16	0,92	1,04	0,89	1,22	0,55	0,97	0,79	1,21	0,85
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,00	0,76	1,30	0,99	1,01	0,77	1,33	0,90	0,94	0,69	1,30	0,75
		NPM	per Allel	0,63	0,41	0,98	0,0405	0,60	0,39	0,93	0,0238	0,78	0,49	1,23	0,29
		Rezidiv	per Allel	1,06	0,68	1,64	0,78	1,04	0,66	1,64	0,85	1,00	0,64	1,54	--
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0,94	0,72	1,21	0,64	0,97	0,76	1,23	0,82
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0,78	0,50	1,22	0,28	0,75	0,49	1,14	0,19
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1,30	0,94	1,79	0,10	1,31	0,98	1,77	0,0642

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; *HR*: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: *HR* = *Subdistribution Hazard Ratios* (*sHR*), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Für den Marker rs7782803 an Position 22803560 (Tabelle 8) war ein Rezidiv (relapse) mit beiden *subdistributional Hazard Ratios* signifikant assoziiert (univariates Modell: *sHR* = 1,68; 95 %-KI: 1,03 – 2,74; *p* = 0,0359). Der Marker hat somit ein prädiktives Potential zur Vorhersage, ein Rezidiv zu erleiden. Für Träger des selteneren Allels konnte dabei ein Rezidiv eher vorhergesagt werden als für Träger des häufigeren Allels.

Auch für den Marker rs7776875 an Position 22766645 (Tabelle 9) schien das Event Rezidiv mit dem *subdistributional Hazard* im Full-Modell signifikant (*HR* = 0,69; 95 %-KI: 0,49 – 0,95; *p* = 0,0269) und im univariaten Modell grenzwertig signifikant assoziiert zu sein (*HR* = 0,73; 95 %-KI: 0,53 – 1,00; *p* = 0,0517). Die Punktschätzer der *HR* unterschieden sich nur wenig und waren beide deutlich < 1 (siehe Tabelle 9). Der p-Wert nahm mit zunehmender Adjustierung ab. Dies kann damit erklärt werden, dass andere klinischen Größen unabhängig vom Marker rs7776875 ebenfalls Einfluss genommen haben. Alles in allem schien der Marker ein prädiktives Potential zur Vorhersage des Ereignisses Rezidiv zu haben. Für Träger des häufigeren Allels konnte dabei ein Rezidiv eher vorhergesagt werden als für Träger des selteneren Allels.

Die *Hazard Ratios* für das ursachenspezifische Risiko eines Rezidivs waren in allen drei Modellen deutlich < 1, was auf ein erhöhtes Rezidivrisiko für Träger des häufigeren Allels hindeutete. Es konnte jedoch keine Signifikanz erzielt werden. Die restlichen *Hazard Ratios* lagen alle nahe der 1, was heißt, dass keine Auffälligkeiten hinsichtlich der anderen Events erkannt werden konnten.

Tabelle 8: Schätzung der Effektstärke des Markers rs7782803

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs7782803				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1,08	0,87	1,35	0,45	1,09	0,87	1,37	0,42	1,16	0,86	1,56	0,31
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0,96	0,74	1,25	0,80	1,00	0,77	1,30	0,94	1,00	0,69	1,43	--
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,10	0,72	1,66	0,64	1,15	0,75	1,77	0,50	1,03	0,62	1,71	0,90
		NPM	per Allel	0,66	0,26	1,63	0,37	0,64	0,25	1,59	0,34	0,61	0,23	1,62	0,32
		Rezdiv	per Allel	1,38	0,70	2,70	0,35	1,50	0,74	3,05	0,26	1,29	0,68	2,47	0,43
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1,05	0,72	1,53	0,76	1,12	0,77	1,63	0,54
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0,55	0,22	1,36	0,20	0,54	0,22	1,29	0,17
		Rezdiv	per Allel	--	--	--	--	1,78	1,03	3,08	0,0387	1,68	1,03	2,74	0,0359

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Tabelle 9: Schätzung der Effektstärke des Markers rs7776857

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs7776857				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0,94	0,85	1,05	0,32	0,94	0,84	1,05	0,33	0,92	0,79	1,06	0,29
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0,94	0,83	1,07	0,42	0,95	0,83	1,09	0,52	0,98	0,82	1,17	0,84
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,06	0,84	1,34	0,57	1,04	0,82	1,32	0,71	0,93	0,71	1,23	0,64
		NPM	per Allel	1,08	0,80	1,47	0,59	1,11	0,81	1,52	0,48	1,10	0,78	1,54	0,58
		Rezdiv	per Allel	0,71	0,48	1,04	0,0825	0,68	0,45	1,01	0,0593	0,72	0,49	1,05	0,0936
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1,05	0,86	1,28	0,62	0,99	0,82	1,20	0,96
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,06	0,74	1,52	0,73	1,14	0,84	1,56	0,39
		Rezdiv	per Allel	--	--	--	--	0,69	0,49	0,95	0,0269	0,73	0,53	1,00	0,0517

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Für den Marker rs1800795 an Position 22754768 (Tabelle 10) schien der Tod signifikant mit der *subdistributional Hazard Ratio* im nicht adjustierten Modell assoziiert zu sein ($p = 0,0209$). Da im nicht adjustierten Modell jedoch nur die genomischen Marker miteinbezogen wurden und es keine Korrelation mit klinischen Parametern gab, reichte ein auffälliger Wert im nicht-adjustierten Modell nicht aus, um eine sinnvolle Aussage über die Signifikanz dieses Ereignisses (hier Tod) zu treffen. Des Weiteren schien die *subdistributional Hazard Ratio* für ein Rezdiv im Full-Modell ($HR = 0,70$; 95 %-KI: 0,51 – 0,97; $p = 0,0335$) auffällig zu sein. Der p-Wert im univariaten Modell war für dieses Ereignis jedoch nicht signifikant ($p = 0,0960$). Da sich jedoch weder im nicht adjustierten-, noch

im AIC-Modell weitere Signifikanzen ergaben, darf bezweifelt werden, ob es sich hier wirklich um eine robuste Auffälligkeit handelt. Vielmehr kann davon ausgegangen werden, dass es sich um einen „Overfit“ handelt, also, dass durch die Korrelation mit vielen Parametern zu viel korrigiert wurde und es daher zu einem Scheineffekt gekommen ist. Beide hier für diesen Marker auffälligen Werte scheinen keine robusten Schätzer für die Ereignisse Tod oder Rezidiv zu sein. Die Punktschätzer der HRs für das ursachenspezifische Risiko eines Rezidivs waren in allen drei Modellen deutlich < 1 , jedoch war keiner der p-Werte $< 0,005$ und somit auch nicht signifikant.

Ein weiterer untersuchter Marker war rs4719709 an Position 22716524 (Tabelle 11). Hier war die ursachenspezifische *Hazard Ratio* einer GvHD adjustiert mit dem Genotyp des Markers signifikant assoziiert (Full-Modell: $HR = 0,77$; 95 %-KI: $0,6 - 0,99$; $p = 0,0495$). Jedoch handelt es sich hier höchstwahrscheinlich wieder um den oben bereits beschriebenen Scheineffekt (Overfit) des Full-Modells, da der p-Wert zum einen sehr hoch war und zum anderen in keinem der beiden anderen Modelle (nicht adjustiert oder AIC) signifikante Effekte erkannt werden konnten (siehe Tabelle 11). Auch die ursachenspezifische *Hazard Ratio* einer NPM war univariat signifikant assoziiert ($HR = 1,41$; 95 %-KI: $1,01 - 1,96$; $p = 0,0424$). Da allerdings auch hier keine Auffälligkeiten in den anderen beiden Modellen zu finden waren (siehe Tabelle 11) und eine Signifikanz, die sich nur auf das nicht adjustierte Modell bezieht nicht ausreicht, um eine Aussage zu treffen, kann dieser Wert nicht sinnvoll interpretiert werden. Im nicht adjustierten Modell war der Wert statistisch gesehen zwar signifikant, darf aber interpretationsmäßig angezweifelt werden, da er nur den genomischen Marker enthält und mit keinem Parameter korreliert werden konnte.

Tabelle 10: Schätzung der Effektstärke des Markers rs1800795

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs1800795				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0,97	0,88	1,08	0,68	0,98	0,88	1,09	0,75	1,01	0,87	1,16	0,87
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0,95	0,84	1,08	0,51	0,98	0,86	1,11	0,76	1,05	0,88	1,25	0,52
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,12	0,89	1,41	0,30	1,12	0,89	1,41	0,31	1,00	0,77	1,28	--
		NPM	per Allel	1,21	0,89	1,65	0,21	1,23	0,90	1,67	0,18	1,24	0,89	1,73	0,18
		Rezdiv	per Allel	0,74	0,51	1,07	0,12	0,70	0,47	1,03	0,0779	0,81	0,57	1,15	0,25
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1,00	0,82	1,21	0,99	0,94	0,78	1,13	0,54
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,35	0,96	1,89	0,0780	1,42	1,05	1,91	0,0209
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0,70	0,51	0,97	0,0335	0,77	0,57	1,04	0,0960

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Tabelle 11: Schätzung der Effektstärke des Markers rs4719709

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs4719709				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1,10	0,99	1,22	0,0722	1,09	0,98	1,22	0,0943	1,09	0,94	1,25	0,23
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,02	0,89	1,16	0,72	0,96	0,84	1,09	0,56	1,07	0,89	1,28	0,46
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0,79	0,62	1,01	0,0671	0,77	0,60	0,99	0,0495	1,01	0,77	1,33	0,93
		NPM	per Allel	1,26	0,92	1,72	0,15	1,24	0,91	1,70	0,16	1,41	1,01	1,96	0,0424
		Rezdiv	per Allel	1,11	0,77	1,61	0,55	1,14	0,77	1,67	0,50	1,19	0,84	1,70	0,31
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1,00	0,81	1,23	0,97	1,01	0,83	1,22	0,90
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,13	0,82	1,57	0,43	1,20	0,89	1,63	0,22
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1,00	0,73	1,35	1,00	1,00	0,74	1,35	0,98

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

4.2.2 Einfluss von Single Nucleotide Polymorphisms des IL22 auf das Auftreten einer aGvHD Grad III/IV

Für das Gen IL22 wurden 11 Marker anhand des Cox-Regressionsmodells analysiert, für vier von ihnen konnte ein signifikanter Einfluss auf mindestens eines der Zielergebnisse beobachtet werden ($p < 0,05$).

In Abbildung 6 sind die geschätzten Hazard Ratios HR und die p-Werte aller Marker des Gen IL22 dargestellt.

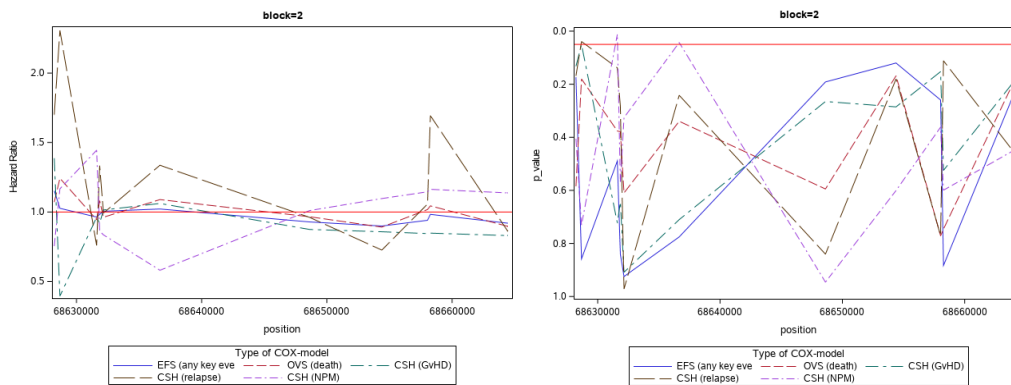


Abbildung 6: Darstellung aller Marker des Gens IL22

Links: abgeschätzte Hazard Ratios; Rechts: P-Werte; rote Linie: $\alpha=5\%$; EFS=Event-free survival, OVS=overall survival, GvHD=Graft-versus-Host Disease, NPM= non-preceded mortality

Für den untersuchten Marker rs78734483 an Position 68628681 (Tabelle 12) wurden, im Vergleich zu allen anderen hier untersuchten Markern des IL22, die meisten signifikanten Effekte beobachtet. Die ursachenspezifische *Hazard Ratio* eines Rezidivs war adjustiert mit dem Genotyp des Markers signifikant assoziiert, wobei sich die p-Werte zwischen den Modellen unterschieden (Full-Modell: $p = 0,0220$; AIC-Modell: $p = 0,0389$), die Punktschätzer der *HR* jedoch nur wenig (siehe Tabelle 12). Im nicht adjustierten Modell wurde jedoch keine Signifikanz beobachtet ($p > 0,05$). Dies kann auf die Notwendigkeit und Angemessenheit der Anpassung, also des *adjustments* des univariaten Modells, hindeuten. Da das Ereignis Rezidiv in zwei von drei Modellen signifikant war, kann hier von einem robusten Schätzer für das Erleiden eines Rezidivs gesprochen werden. Träger des selteneren Allels hatten ein höheres Risiko nach der SZT ein Rezidiv zu erleiden als Träger des häufigeren Allels. Darüber hinaus war ein Rezidiv zudem mit beiden *subdistributional Hazard Ratios* signifikant assoziiert (univariates Modell: $sHR = 2,21$; 95 %-KI: 1,19 – 4,11; $p = 0,0114$). Der Marker rs78734483 hatte somit auch ein prädiktives Potential zur Vorhersage des Ereignisses Rezidiv. Für Träger des selteneren Allels konnte dabei ein Rezidiv eher vorhergesagt werden als für Träger des häufigeren Allels.

Auch die ursachenspezifische *Hazard Ratio* einer GvHD war adjustiert, mit dem Genotyp des Markers grenzwertig signifikant assoziiert, wobei sich die p-Werte zwischen den Modellen unterschieden (Full-Modell: $p = 0,0631$; AIC-Modell: 0,0501), die Punktschätzer der *HR*, die beide deutlich unter eins waren, jedoch nur wenig (siehe Tabelle 13). Bei grenzwertiger Signifikanz konnte hier zwar von einer Auffälligkeit, jedoch nicht von einem robusten Schätzer für eine GvHD gesprochen werden. Träger des häufigeren Allels

hatten ein größeres Risiko eine GvHD nach der SZT zu bekommen als Träger des selteneren Allels.

Des Weiteren war die GvHD mit beiden *subdistributional Hazard Ratios* signifikant assoziiert (univariates Modell: $p = 0.0347$, Full-Modell: $p = 0.0103$). Somit kann auch hier von einem prädiktiven Potential zur Vorhersage einer GvHD gesprochen werden, wobei für Träger des häufigeren Allels eine GvHD eher vorhergesagt werden konnte als für Träger des selteneren Allels.

Für den Marker rs4913281 an Position 68636667 (Tabelle 13) zeigten sich die ursachenspezifischen *Hazard Ratios* einer NPM in adjustierter Form mit dem Genotyp des Markers signifikant assoziiert, wobei sich die p-Werte sowie die Punktschätzer der *HR* nur wenig unterschieden (siehe Tabelle 13). Im nicht adjustierten Modell wurde keine Signifikanz beobachtet ($p > 0,05$). Dies kann auf die Notwendigkeit und Angemessenheit der Anpassung, also des *adjustments* des nicht adjustierten Modells, hindeuten. Da jedoch zwei Modelle signifikante Effekte zeigten, kann man davon ausgehen, dass dieser Wert eine wirkliche Signifikanz zeigt und ein Hinweis darauf sein kann, dass Patienten die Träger dieses Markers sind, ein erhöhtes Risiko für den Tod als erstes Ereignis hatten. Träger des häufigeren Allels hatten ein höheres Risiko nach der SZT zu versterben als Träger des selteneren Allels. Zudem war das Ereignis Rezidiv mit beiden *subdistributional Hazard Ratios* signifikant assoziiert (Full-Modell: $sHR = 1,48$; 95 %-KI: 1,01 – 2,17; $p = 0,0426$). Der Marker hatte somit auch ein prädiktives Potential zur Vorhersage des Ereignisses Rezidiv. Für Träger des selteneren Allels konnte dabei ein Rezidiv eher vorhergesagt werden als für Träger des häufigeren Allels.

Tabelle 12: Schätzung der Effektstärke des Markers rs78734483.

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs78734483				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1,02	0,76	1,37	0,86	1,02	0,75	1,38	0,88	1,17	0,79	1,73	0,43
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,24	0,90	1,70	0,18	1,29	0,92	1,80	0,14	1,36	0,88	2,09	0,16
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0,39	0,15	1,00	0,0501	0,41	0,16	1,04	0,0631	0,57	0,21	1,55	0,27
		NPM	per Allel	1,16	0,48	2,81	0,73	1,18	0,46	2,99	0,72	1,04	0,42	2,61	0,92
		Rezidiv	per Allel	2,30	1,04	5,10	0,0389	2,74	1,15	6,53	0,0220	1,55	0,74	3,27	0,24
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0,36	0,16	0,78	0,0103	0,47	0,23	0,94	0,0347
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,33	0,59	3,02	0,48	1,22	0,56	2,64	0,60
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	3,14	1,55	6,35	0,0015	2,21	1,19	4,11	0,0114

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; *HR*: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: $HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR)$, p-Werte $< 0,05$ sind schattiert, p-Werte $< 0,01$ sind rot hervorgehoben.

Tabelle 13: Schätzung der Effektstärke des Markers rs4913281

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs4913281</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1,02	0,87	1,18	0,78	1,01	0,87	1,18	0,81	1,08	0,88	1,31	0,45
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,08	0,91	1,30	0,34	1,09	0,90	1,30	0,35	1,07	0,84	1,37	0,56
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,06	0,77	1,45	0,71	1,11	0,80	1,54	0,51	0,98	0,67	1,41	0,92
		NPM	per Allel	0,58	0,34	0,98	0,0428	0,57	0,34	0,97	0,0408	0,82	0,48	1,39	0,47
		Rezdiv	per Allel	1,33	0,82	2,17	0,24	1,50	0,90	2,49	0,11	1,13	0,71	1,81	0,59
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0,90	0,65	1,23	0,51	0,94	0,71	1,24	0,68
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0,70	0,42	1,18	0,19	0,72	0,45	1,15	0,18
		Rezdiv	per Allel	--	--	--	--	1,48	1,01	2,17	0,0426	1,44	1,00	2,07	0,0447

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; *HR*: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: *HR* = *Subdistribution Hazard Ratios (sHR)*, p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Für den Marker rs4913426 an Position 68631611 (Tabelle 14) zeigten sich die ursachenspezifischen *Hazard Ratios* einer NPM in adjustierter Form mit dem Genotyp des Markers signifikant assoziiert, wobei sich die p-Werte zwischen den Modellen unterschieden (Full-Modell: $p = 0,0211$, AIC-Modell: $p = 0,0117$), die Punktschätzer der *HR* jedoch nur wenig (siehe Tabelle 14). Die Abnahme des p-Wertes mit zunehmender Adjustierung kann damit erklärt werden, dass andere klinische Größen unabhängig vom Marker rs4913426 ebenfalls Einfluss auf die NPM genommen haben. Im nicht adjustierten Modell wurde jedoch keine Signifikanz beobachtet ($p > 0,05$). Da jedoch auch hier zwei Modelle Auffälligkeiten zeigten, kann von einem robusten Schätzer für die NPM gesprochen werden. Träger des selteneren Allels hatten ein höheres Risiko nach der SZT zu versterben als Träger des häufigeren Allels.

Bei Marker rs13377780 an Position 68628228 (Tabelle 15) war die GvHD mit der *subdistributional Hazard Ratio* im Full-Modell signifikant assoziiert ($HR = 1,46$; 95 %-KI: 1,02 – 2,08; $p = 0,0376$). Da sich jedoch weder im nicht adjustierten, noch im AIC-Modell weitere Signifikanzen ergaben, darf bezweifelt werden, ob es sich hier wirklich um eine robuste Auffälligkeit handelt. Vielmehr kann davon ausgegangen werden, dass es sich um einen „Overfit“ handelt, also, dass durch die Korrelation mit vielen Parametern zu viel korrigiert wurde und es daher zu einem Scheineffekt gekommen ist.

Tabelle 14: Schätzung der Effektstärke des Markers rs4913426

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs4913426				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0,96	0,86	1,06	0,49	0,96	0,86	1,07	0,48	1,01	0,87	1,16	0,88
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0,94	0,83	1,07	0,38	0,91	0,80	1,04	0,19	1,03	0,86	1,23	0,70
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0,96	0,77	1,19	0,72	0,92	0,73	1,14	0,47	1,06	0,82	1,38	0,61
		NPM	per Allel	1,44	1,08	1,92	0,0117	1,40	1,05	1,88	0,0211	1,26	0,92	1,74	0,15
		Rezdiv	per Allel	0,75	0,52	1,09	0,14	0,67	0,45	1,00	0,0537	0,91	0,64	1,28	0,59
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1,05	0,85	1,28	0,63	0,97	0,80	1,18	0,81
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,24	0,90	1,70	0,17	1,28	0,97	1,70	0,0799
		Rezdiv	per Allel	--	--	--	--	0,80	0,60	1,07	0,14	0,81	0,60	1,08	0,15

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Tabelle 15: Schätzung der Effektstärke des Markers rs13377780

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs13377780				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1,15	0,93	1,41	0,17	1,18	0,95	1,46	0,12	1,25	0,96	1,63	0,0968
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,07	0,83	1,37	0,58	1,07	0,82	1,38	0,60	1,06	0,76	1,49	0,69
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,38	0,90	2,12	0,13	1,47	0,95	2,28	0,0819	1,47	0,90	2,42	0,12
		NPM	per Allel	0,75	0,38	1,46	0,41	0,75	0,38	1,48	0,42	1,12	0,56	2,23	0,73
		Rezdiv	per Allel	1,70	0,79	3,61	0,17	1,93	0,90	4,14	0,0894	1,42	0,70	2,89	0,32
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1,46	1,02	2,08	0,0376	1,32	0,93	1,85	0,11
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0,96	0,53	1,72	0,90	1,00	0,57	1,74	--
		Rezdiv	per Allel	--	--	--	--	1,25	0,73	2,14	0,42	1,09	0,64	1,84	0,73

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

4.2.3 Einfluss von Single Nucleotide Polymorphisms des TLR4 auf das Auftreten einer aGvHD Grad III/IV

Für das Gen TLR4 wurden sechs Marker anhand des Cox-Regressionsmodells analysiert, für fünf von ihnen konnte ein signifikanter Einfluss auf mindestens eines der Zielergebnisse beobachtet werden ($p < 0,05$).

In Abbildung 7 sind die geschätzten Hazard Ratios HR und die p-Werte aller Marker des Gens TLR4 dargestellt.

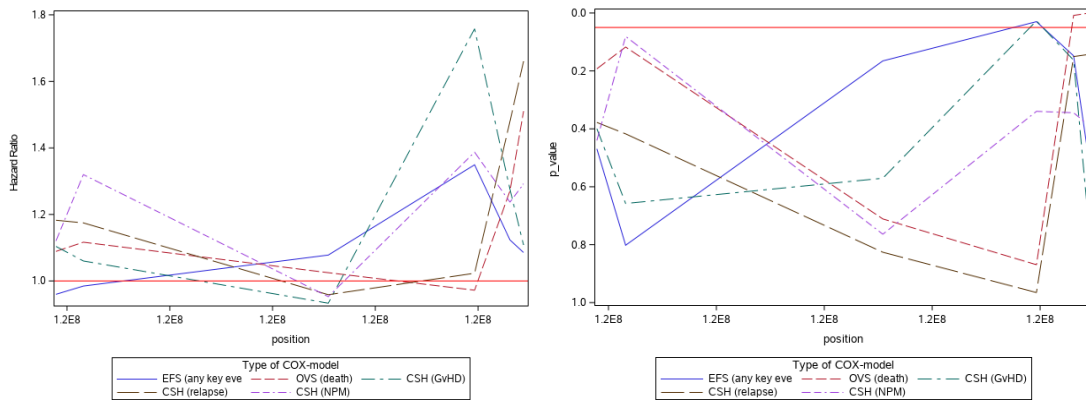


Abbildung 7: Darstellung aller Marker des Gens TLR4

Links: abgeschätzte Hazard Ratios; Rechts: P-Werte; rote Linie: $\alpha=5\%$; EFS=Event-free survival, OVS=overall survival, GvHD=Graft-versus-Host Disease, NPM= non-preceded mortality

Für den Marker rs11536869 an Position 120469832 (Tabelle 16) wurden, im Vergleich zu allen anderen hier untersuchten Markern des TLR4, die meisten signifikanten Effekte beobachtet. Das ereignisfreie Risiko für „any key Event“ (jedes Event) war univariat ($HR = 1,84$; 95 %-KI: 1,29 – 2,63; $p = 7,2E-04$), als auch adjustiert, mit dem Genotyp des Markers signifikant assoziiert, wobei sich die p-Werte und die Punktschätzer der HR nur wenig unterschieden (siehe Tabelle 16). Die Signifikanzen für den das ereignisfreie Risiko konnten jedoch nur eingeschränkt interpretiert werden, da es sich um ein rein deskriptives Modell handelt.

Des Weiteren war die ursachenspezifische *Hazard Ratio* einer GvHD univariat ($HR = 1,86$; 95 %-KI: 1,04 – 3,32; $p = 0,0351$), als auch adjustiert, mit dem Genotyp des Markers signifikant assoziiert, wobei sich die p-Werte und die Punktschätzer der HR nur wenig unterschieden (Full-Modell: $HR = 1,78$; 95 %-KI: 1,06 – 3,00; $p = 0,0287$; AIC-Modell: $HR = 1,75$; 95 %-KI: 1,06 – 2,89; $p = 0,0270$). Die Abnahme des p-Wertes mit zunehmender Adjustierung kann damit erklärt werden, dass andere klinische Größen unabhängig vom Marker rs11536869 ebenfalls Einfluss auf die GvHD genommen haben. Da GvHD in allen drei Modellen signifikant war, kann hier von einem robusten Schätzer für eine GvHD gesprochen werden. Träger des selteneren Allels hatten ein höheres Risiko nach der SZT eine GvHD zu erleiden als Träger des häufigeren Allels.

Bei Marker rs1360094 an Position 120449466 (Tabelle 17) war die GvHD mit beiden *subdistributional Hazard Ratios* signifikant assoziiert (univariates Modell: $p = 0,0328$, Full-Modell: $p = 0,0194$). Auch hier ließ sich wieder eine Abnahme des p-Wertes erkennen. Des Weiteren war auch das Ereignis Rezidiv mit beiden *subdistributional Hazard Ratios* signifikant assoziiert (univariates Modell: $sHR = 1,37$; 95 %-KI: 1,04 – 1,82; $p =$

0,0248). Der Marker hatte somit auch ein prädiktives Potential zur Vorhersage der beiden Ereignisse GvHD und Rezidiv. Für Träger des häufigeren Allels konnte dabei eine GvHD eher vorhergesagt werden als für Träger des selteneren Allels. Andersherum konnte für Träger des selteneren Allels ein Rezidiv eher vorhergesagt werden als für Träger des häufigeren Allels.

Tabelle 16: Schätzung der Effektstärke des Markers rs11536869

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs11536869				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-KI	KI	p-Wert	HR	95%-KI	KI	p-Wert	HR	95%-KI	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1,34	1,02	1,76	0,0297	1,37	1,04	1,81	0,0245	1,84	1,29	2,63	7,2E-04
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0,97	0,69	1,35	0,87	0,98	0,70	1,38	0,93	1,01	0,63	1,60	0,96
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,75	1,06	2,89	0,0270	1,78	1,06	3,00	0,0287	1,86	1,04	3,32	0,0351
		NPM	per Allel	1,38	0,70	2,71	0,34	1,43	0,72	2,84	0,30	1,44	0,65	3,17	0,36
		Rezidiv	per Allel	1,02	0,36	2,87	0,96	0,90	0,29	2,79	0,87	1,72	0,68	4,35	0,25
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1,54	0,94	2,53	0,0822	1,50	0,93	2,41	0,0911
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,71	0,77	3,80	0,18	1,56	0,78	3,14	0,21
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0,76	0,32	1,83	0,56	0,84	0,40	1,79	0,67

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Tabelle 17: Schätzung der Effektstärke des Markers rs1360094

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs1360094				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-KI	KI	p-Wert	HR	95%-KI	KI	p-Wert	HR	95%-KI	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0,96	0,85	1,07	0,47	0,95	0,85	1,06	0,43	0,98	0,84	1,14	0,86
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,08	0,95	1,23	0,19	1,11	0,97	1,27	0,0996	1,02	0,85	1,23	0,77
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,10	0,87	1,38	0,40	1,10	0,87	1,40	0,41	0,96	0,73	1,27	0,83
		NPM	per Allel	1,12	0,83	1,49	0,44	1,15	0,85	1,54	0,35	0,97	0,69	1,37	0,90
		Rezidiv	per Allel	1,18	0,81	1,71	0,38	1,16	0,79	1,72	0,43	1,15	0,80	1,66	0,43
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0,75	0,58	0,95	0,0194	0,78	0,62	0,97	0,0328
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,10	0,79	1,53	0,56	1,05	0,78	1,41	0,73
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1,34	1,01	1,79	0,0413	1,37	1,04	1,82	0,0248

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Für den Marker rs11536878 an Position 120471553 (Tabelle 18) zeigte sich eine Signifikanz für das Gesamtüberleben im Full-Modell (HR = 1,23; 95 %-KI: 1,02 – 1,49; p = 0,0236). Auch im AIC-Modell zeigte sich eine Auffälligkeit für das Gesamtüberleben

(siehe Tabelle 19). Auch wenn diese Effekte signifikant waren, konnten sie nur eingeschränkt interpretiert werden, da es sich erstens um ein rein deskriptives Modell handelt und zweitens der Tod als Ende der Beobachtung eher unspezifisch war, da es keinen Aufschluss darüber gab, aus welchem Grund jemand gestorben war.

Auch für den Marker rs11536879 an Position 120472211 (Tabelle 19) zeigten sich Auffälligkeiten für das Gesamtüberleben im Full-Modell ($HR = 1,41$; 95 %-KI: 1,10 – 1,80; $p = 0,0059$) und im AIC-Modell ($HR = 1,50$; 95 %-KI: 1,19 – 1,90; $p = 6,1E-04$). Auch hier ließen sich diese Auffälligkeiten nur eingeschränkt interpretieren.

Tabelle 18: Schätzung der Effektstärke des Markers rs11536878

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs11536878				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1,12	0,95	1,31	0,15	1,11	0,94	1,31	0,18	1,07	0,86	1,33	0,52
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,27	1,06	1,51	0,0082	1,23	1,02	1,49	0,0236	1,12	0,86	1,45	0,38
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,27	0,90	1,79	0,16	1,25	0,88	1,78	0,19	1,20	0,80	1,79	0,38
		NPM	per Allel	1,23	0,79	1,92	0,34	1,24	0,79	1,96	0,34	0,94	0,54	1,64	0,85
		Rezdiv	per Allel	1,47	0,86	2,52	0,15	1,43	0,80	2,55	0,22	1,37	0,83	2,26	0,21
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0,91	0,64	1,28	0,59	0,94	0,67	1,31	0,72
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0,94	0,57	1,54	0,81	0,93	0,60	1,46	0,78
		Rezdiv	per Allel	--	--	--	--	1,33	0,86	2,05	0,19	1,27	0,87	1,85	0,20

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Tabelle 19: Schätzung der Effektstärke des Markers rs11536879

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs11536879				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1,08	0,86	1,36	0,48	1,09	0,86	1,38	0,44	1,05	0,77	1,43	0,75
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,50	1,19	1,90	6,1E-04	1,41	1,10	1,80	0,0059	1,24	0,88	1,75	0,20
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,10	0,66	1,85	0,69	1,11	0,66	1,87	0,67	1,18	0,67	2,07	0,56
		NPM	per Allel	1,29	0,72	2,29	0,38	1,34	0,74	2,46	0,33	1,17	0,59	2,34	0,64
		Rezdiv	per Allel	1,65	0,84	3,27	0,14	1,65	0,76	3,54	0,20	1,49	0,81	2,74	0,20
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0,74	0,43	1,30	0,30	0,76	0,45	1,31	0,34
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0,76	0,36	1,59	0,48	0,89	0,47	1,68	0,74
		Rezdiv	per Allel	--	--	--	--	1,63	0,90	2,95	0,11	1,47	0,93	2,33	0,0930

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

Bei Marker rs4837496 an Position 120450798 (Tabelle 20) war die GvHD mit der *sub-distributional Hazard Ratio* im Full-Modell signifikant assoziiert ($HR = 0,74$; 95 %-KI: $0,57 - 0,95$; $p = 0,0228$). Da sich jedoch weder im nicht adjustierten, noch im AIC-Modell weitere Signifikanzen ergaben, darf bezweifelt werden, ob es sich hier wirklich um eine robuste Auffälligkeit handelt. Vielmehr kann davon ausgegangen werden, dass es sich um einen „Overfit“ handelt, also, dass durch die Korrelation mit vielen Parametern zu viel korrigiert wurde und es daher zu einem Scheineffekt gekommen ist.

Tabelle 20: Schätzung der Effektstärke des Markers rs4837496

Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs4837496				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-KI	KI	p-Wert	HR	95%-KI	KI	p-Wert	HR	95%-KI	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0,98	0,87	1,10	0,80	0,97	0,86	1,10	0,71	1,01	0,86	1,19	0,84
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1,11	0,97	1,28	0,12	1,12	0,97	1,29	0,11	1,04	0,85	1,27	0,65
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,06	0,81	1,37	0,66	1,03	0,79	1,34	0,81	0,98	0,73	1,33	0,95
		NPM	per Allel	1,31	0,96	1,80	0,0806	1,36	0,99	1,86	0,0535	1,08	0,75	1,55	0,67
		Rezdiv	per Allel	1,17	0,79	1,73	0,42	1,13	0,76	1,69	0,54	1,18	0,81	1,70	0,37
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0,74	0,57	0,95	0,0228	0,80	0,63	1,01	0,0707
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,25	0,88	1,77	0,20	1,18	0,86	1,63	0,29
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1,19	0,86	1,65	0,27	1,22	0,90	1,66	0,20

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; *HR*: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: *HR* = *Subdistribution Hazard Ratios (sHR)*, p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

4.2.4 Einfluss von *Single Nucleotide Polymorphisms* des TLR9 auf das Auftreten einer aGvHD Grad III/IV

Für das Gen TLR9 wurden drei Marker anhand des Cox-Regressionsmodells analysiert, für einen von ihnen konnte ein signifikanter Einfluss auf mindestens eines der Zielergebnisse beobachtet werden ($p < 0,05$).

In Abbildung 8 sind die geschätzten *Hazard Ratios HR* und die *p*-Werte aller Marker des Gen TLR4 dargestellt.

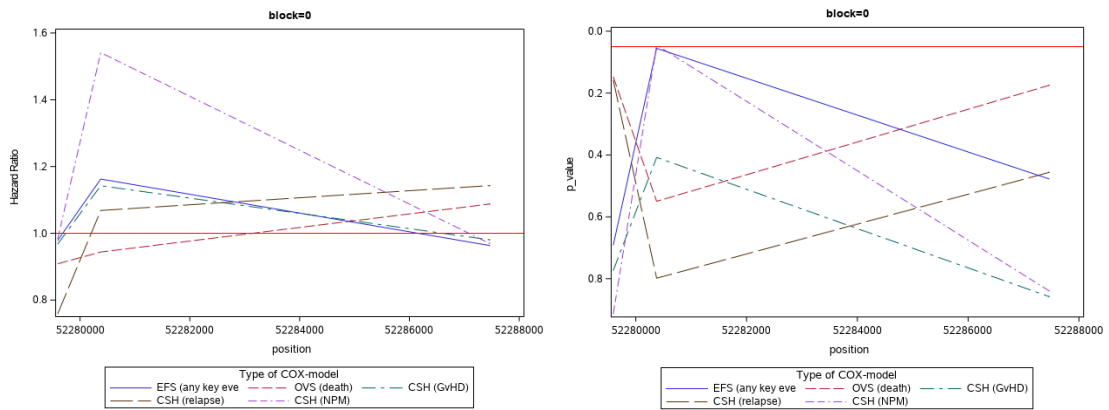


Abbildung 8: Darstellung aller Marker des Gens TLR9

Links: abgeschätzte Hazard Ratios; Rechts: P-Werte; rote Linie: $\alpha=5\%$; EFS=Event-free survival, OVS=overall survival, GvHD=Graft-versus-Host Disease, NPM= non-preceded mortality

Für den Marker rs11715391 an Position 52280378 (Tabelle 21) war die GvHD mit beiden *subdistributional Hazards* assoziiert (univariates Modell: $sHR = 1,33$; 95 %-KI: 1,01 – 1,75, $p = 0,0390$). Aus diesen Werten ließ sich schließen, dass der Marker rs11715391 ein prädiktives Potential zur Vorhersage des Ereignisses GvHD hatte. Für Träger des selteneren Allels konnte dabei eine GvHD eher vorhergesagt werden als für Träger des häufigeren Allels.

Darüber hinaus war das ereignisfreie Risiko für „jedes Ereignis“ signifikant ($HR = 1,28$; 95 %-KI: 1,04 – 1,57; $p = 0,0164$). Da allerdings keine Auffälligkeiten in den anderen beiden Fällen beobachtet werden konnten und eine Signifikanz, die sich nur auf das nicht adjustierte Modell bezieht, nicht ausreicht, um eine Aussage zu treffen, konnte dieser Wert nicht sinnvoll interpretiert werden.

Auch die ursachenspezifische *Hazard Ratio* einer NPM war adjustiert im AIC-Modell signifikant ($HR = 1,54$; 95 %-KI: 1,01 – 2,35; $p = 0,0445$). Da das AIC jedoch ein Kriterium für die Anpassungsgüte eines Modells und kein Modell an sich ist, kann ein einziger auffälliger p -Wert im AIC-Modell nicht sinngemäß interpretiert werden.

Tabelle 21: Schätzung der Effektstärke des Markers rs11715391

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs11715391</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1,16	0,99	1,35	0,0552	1,16	0,99	1,35	0,0635	1,28	1,04	1,57	0,0164
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0,94	0,78	1,14	0,55	0,93	0,76	1,12	0,47	1,06	0,82	1,38	0,61
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1,14	0,83	1,56	0,41	1,14	0,82	1,57	0,42	1,23	0,87	1,76	0,23
		NPM	per Allel	1,54	1,01	2,35	0,0445	1,51	0,98	2,32	0,0612	1,26	0,76	2,10	0,36
		Rezdiv	per Allel	1,06	0,64	1,77	0,80	0,96	0,56	1,66	0,90	1,33	0,81	2,20	0,26
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1,37	1,03	1,83	0,0276	1,33	1,01	1,75	0,0390
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1,12	0,70	1,78	0,62	1,08	0,69	1,67	0,73
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0,87	0,58	1,30	0,51	0,94	0,61	1,45	0,81

Dargestellt sind das AIC: Modell nach variabler Auswahl durch das Akaike-Informationskriterium, „full“: Modell mit allen angegebenen Kovariablen; „unadj.“: nicht adjustiertes Modell mit ausschließlich einem genomischen Marker; HR: Hazard Ratio; 95 %-KI: 95 % Konfidenzintervall; für Vorhersagemodelle: HR = Subdistribution Hazard Ratios (sHR), p-Werte < 0,05 sind schattiert, p-Werte < 0,01 sind rot hervorgehoben.

5 Diskussion

Ziel dieser Dissertation war es, molekulare Prädiktoren unter ausgewählten SNPs der Gene IL6, IL22 und der Toll-like Rezeptoren 4 und 9 für das Auftreten einer schweren GvHD Grad III/IV nach allogener Blutstammzelltransplantation zu identifizieren. Bereits bekannte klinische Risikofaktoren für das Auftreten von GvHD wie Alter des Empfängers und HLA-Mismatch ließen sich in unseren Analysen bestätigen. Ein Einfluss von bereits bekannten SNPs auf die Gene von Interleukin 6, Interleukin 22 und Toll-like Rezeptor 4 und 9 ließ sich in dieser Arbeit jedoch nicht zeigen. Das erhöhte Risiko für das Auftreten einer GvHD, das für den Marker rs1800795 des Zytokingens IL6 beschrieben worden war, bestätigte sich in dem Patientenkollektiv dieser Arbeit nicht. Ein Grund für diese Unterschiede zu den bereits publizierten Daten kann in der Inhomogenität des Patientenkollektivs bzgl. verschiedener Grunderkrankungen oder in Unterschieden in den Transplantationssituationen wie den Anteilen von MRD und MUD liegen. Ein wesentlicher methodischer Unterschied zu vorangegangenen Untersuchungen bestand ferner in der Annahme, dass alle Todesfälle, die nicht mit einem Rezidiv der Grunderkrankung assoziiert waren, als transplantationsbedingt eingeordnet wurden. Eine in den Krankenakten vermerkte, subjektive und unstrukturiert vorgenommene Einteilung zu den Todesursachen wurde nicht in die Datenauswertung übernommen.

Für drei im Vorhinein noch nicht untersuchte SNPs der Zytokingene Interleukin 22, Toll-Like Rezeptor 4 und 9 wurden signifikante Assoziationen für ein erhöhtes Risiko oder ein erhöhtes prädiktives Potential zum Auftreten einer GvHD gefunden.

Insgesamt konnten elf Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) gefunden werden, die Auffälligkeiten für eines der drei Ereignisse GvHD, Tod oder Rezidiv zeigten. Bis auf vier Marker wurde noch keiner der Marker in der Literatur beschrieben, bzw. es wurde der Zusammenhang zwischen den Markern und einer akuten GvHD noch nicht untersucht.

Im Folgenden werden die Ergebnisse anhand der aktuell vorliegenden Literatur detaillierter besprochen. Die Diskussion erfolgt nach ihren Genen unterteilt.

5.1 SNPs des IL6 und ihr Zusammenhang mit dem Auftreten einer akuten schweren GvHD Grad III/IV

IL6 und auch IL6 SNPs zeigen in einigen Studien, dass prädiktives Potenzial für das Auftreten einer GvHD vorhanden ist. Eine von Choi et al. (2012) veröffentlichte Metaanalyse

kam zu dem Schluss, dass insbesondere Patienten ein signifikant erhöhtes Risiko hatten eine aGvHD Grad II-IV zu entwickeln, die Transplantate von Spendern erhielten, die entweder hetero- oder homozygot für das IL6 G-Allel waren.

Eine weitere Forschungsgruppe um Chien et al. (2012) fand signifikante Assoziationen mit dem IL6 SNP-Genotyp, sowohl im Patienten- als auch im Spendergenom sowie mit beiden aGvHD-Phänotypen. Sie untersuchten IL6-SNP-Polymorphismen zusammen mit 14 anderen Kandidatengenomen. Ihre nicht angepassten und angepassten Analysen von Patienten mit nicht-verwandten Spendern zeigten, dass der Spendergenotyp rs1800795 mit einem um 20-50% erhöhten Risiko für aGvHD Grad II - IV assoziiert war (Chien et al. 2012).

Tvedt THA et al. (2017) beobachteten, dass spezifische SNPs im IL6R- und IL6 Gen mit höheren Serumspiegeln von IL6 und sIL6R assoziiert sind.

Beide Studien gehen davon aus, dass insbesondere das SNP 174 G<C (rs1800795) in der IL6 Promotorregion die Transkription und Sekretion von IL6 beeinflusst und eine wichtige Rolle in der akuten GvHD spielt (Tvedt THA et al. 2017). Um zu beurteilen, ob diese oben genannten IL6 Befunde signifikant sind, sollte die Gesamtheit der IL6 Assoziationsdaten berücksichtigt werden. Eine Assoziation mit Polymorphismen in der Promotorregion von IL6 ist laut Karabon et al. (2005) biologisch plausibel. Der SNP rs1800795 befindet sich an Position 174 in der 5'-flankierenden Region des IL6 Gens. Es wurde dokumentiert, dass dieses SNP zu einer Hochregulierung der IL6 Gentranskription und zu höheren zirkulierenden IL6 Spiegeln führt. Weitergehend wurde berichtet, dass dieser Marker das Risiko für viele andere Phänotypen, wie z. B. juveniler Arthritis, Typ-2-Diabetes und das Überleben von Nieren-Allotransplantaten beeinflusst (Karabon et al. 2005). Mehrere Studien haben erhöhte Plasma- oder Serumkonzentrationen von IL6 bei Patienten mit aGvHD dokumentiert. Der Marker rs1800795 wurde auch in dieser Arbeit untersucht.

Jedoch konnte in dem Patientenkollektiv dieser Arbeit der in den vorigen Studien beschriebene Zusammenhang/Signifikanz zwischen IL6 und aGvHD nicht nachgewiesen werden. Keiner der hier untersuchten Marker für IL6 ergab einen Anhalt für eine Korrelation von IL6 und GvHD.

Patienten mit dem Marker rs7782803 zeigten in dieser Arbeit ein prädiktives Potential zur Vorhersage eines Rezidivs. Für Träger des selteneren Allels kann ein verringertes rezidivfreies Überleben eher vorhergesagt werden als für Träger des häufigeren Allels. Für den SNP rs6969502 zeigten sich Hinweise, dass Patienten, die Träger dieses Markers

sind, ein erhöhtes Risiko für den Tod als erstes Ereignis haben, wobei für Träger des häufigeren Allels ein höheres Risiko besteht, nach der SZT zu versterben als für Träger des selteneren Allels. Auch der Marker rs10950917 zeigte eine Signifikanz für die non-preceded mortality (NPM), also den Tod als erstes Ereignis. Träger des selteneren Allels haben ein höheres Risiko nach der allogenen SZT zu versterben als Träger des häufigeren Allels. Darüber hinaus gibt es Hinweise darauf, dass dieser Marker eine Vorhersage darüber treffen kann, ob der Patient stirbt, bevor er eine GvHD oder ein Rezidiv erleiden kann. Für Träger des selteneren Allels kann dabei der Tod eher vorhersagt werden als für Träger des häufigeren Allels. In der aktuellen Literatur wird bisher jedoch keiner der beiden oben genannten SNPs erwähnt.

Die restlichen, hier in dieser Arbeit untersuchten Marker des IL6, zeigten entweder überhaupt keine Auffälligkeiten oder keine statistisch signifikanten Auffälligkeiten hinsichtlich eines Zusammenhangs bzw. einem erhöhten Risiko für eine GvHD oder ein anderes Ereignis. Somit werden sie hier nicht weiter diskutiert.

5.2 SNPs des IL22 und ihr Zusammenhang mit dem Auftreten einer akuten schweren GvHD Grad III/IV

Die Rolle des IL22 in der GvHD ist immer noch umstritten und die genauen Eigenschaften von IL22 produzierenden Zellen unklar. Es wird, nach der Transplantation, von inflammatorischen Spender CD4⁺ T-Zellen produziert. IL22 spielt eine paradoxe Rolle bei Entzündungen und folglich auch im Rahmen einer GvHD mit sowohl proinflammatorischen als auch protektiven Funktionen (Gartlan et al. 2018). Vom Empfänger stammendes IL22 spielt eine frühe Schutzfunktion im GI-Trakt während einer GvHD, wobei das IL22R-Signal zur Aufrechterhaltung der Darmepithelintegrität beiträgt (Hanash et al. 2012). Couturier et al. (2013) zeigten, dass ein IL22-Mangel in Spender-T-Zellen den Schweregrad einer aGvHD verringert und gleichzeitig die systemische und lokale Entzündungsreaktion in aGvHD-Zielorganen begrenzen kann. Das bedeutet zugleich, dass vom Spender stammendes IL22 den Schweregrad einer GvHD negativ beeinflusst, indem es am systemischen Entzündungsprozess teilnimmt und die lokale Entzündung in GvHD-Zielgeweben verstärkt. Vor allem Spender T-Zell abgeleitetes IL22 verstärkt die kutane chronische GvHD signifikant (Gartlan et al. 2018).

In dieser Arbeit zeigte sich der Marker rs78734483 mit einem erhöhten Risiko für eine schwere akute GvHD grenzwertig signifikant assoziiert. Das kann bedeuten, dass das

Vorliegen dieses Markers das Risiko einer schweren aGvHD erhöht. Zudem zeigte sich für diesen Marker in unserem Patientenkollektiv ein prädiktives Potential zur Vorhersage einer schweren GvHD. Dabei kann das Auftreten einer GvHD eher für Träger des häufigeren Allels als für Träger des selteneren Allels vorhergesagt werden. Des Weiteren haben Träger dieses Markers ein erhöhtes Risiko, nach einer Stammzelltransplantation ein Rezidiv/einen Rückfall zu erleiden. Dabei haben Träger des selteneren Allels ein höheres Risiko als Träger des häufigeren Allels. Zudem hat der Marker rs78734483 auch ein prädiktives Potential zur Vorhersage eines Rezidivs. Dieser Marker wird in dieser Arbeit erstmalig beschrieben. Das potentiell erhöhte Risiko für das Auftreten einer GvHD sowie das prädiktive Potential dieses Markers im Hinblick auf eine schwere GvHD und ein Rezidiv sollten in Folgestudien weiter untersucht werden.

Der Marker rs4913426 an Position 68631611 ist signifikant assoziiert mit einem erhöhten Risiko nach der allogenen Stammzelltransplantation zu versterben, wobei Träger des selteneren Allels ein höheres Risiko haben, nach der SZT zu versterben, als Träger des häufigeren Allels.

Auch der Marker rs4913281 an Position 68636667 ist mit einem erhöhten Risiko nach der allogenen SZT zu versterben assoziiert. Hier hat der Träger des häufigeren Allels ein höheres Risiko für den Tod als erstes Ereignis als der Träger des selteneren Allels. Darüber hinaus zeigte sich eine Auffälligkeit im Vorhersagemodell für das Ereignis Rezidiv. Es scheint, dass der Marker rs4913281 ein prädiktives Potential zur Vorhersage eines Rezidivs hat. Für Träger des selteneren Allels kann dabei eher ein verringertes rezidiv-freies Überleben vorhergesagt werden als für Träger des häufigeren Allels.

5.3 SNPs des TLR4 und ihr Zusammenhang mit dem Auftreten einer akuten schweren GvHD Grad III/IV

Das Zytokingen TLR4 ist schon häufig untersucht worden. Man geht mittlerweile davon aus, dass es einen Einfluss auf das Auftreten einer GvHD hat. (Lorenz et al. 2001; Nestel et al. 1992; Sivula et al. 2012). TLR4 gehört zur Familie der Toll-like-Rezeptoren und spielt eine große Rolle im angeborenen Immunsystem. Es gehört zu den Zelloberflächenrezeptoren, die hauptsächlich Bakterienstrukturen erkennen.

Ein Mechanismus, der für die Auslösung von Entzündungen während der akuten GvHD verantwortlich gemacht wird, ist die Aktivierung von Mustererkennungsrezeptoren wie Toll-like-Rezeptoren (TLRs) durch mikrobielle Produkte aus der Darmflora infolge einer

bakteriellen Translokation vom Darmlumen in den systemischen Kreislauf (Hill und Ferrara 2000).

Verantwortlich hierfür sind Lipopolysaccharide (LPS). LPS ist eine strukturelle Komponente von gramnegativen Bakterien und ein starker Stimulator von TLR4. Es wird angenommen, dass TLR4 einer der Hauptrezeptoren für LPS ist (Lorenz et al. 2001).

Nach einer allogenen SZT kann die Translokation von LPS und Mikroorganismen vom Darmlumen durch die beschädigte Darmschleimhaut in den systemischen Kreislauf erfolgen. LPS können eine breite Palette von Entzündungsreaktionen von verschiedenen Immunzellen wie Makrophagen, Neutrophilen, Monozyten und T-Zellen auslösen. Während der GvHD stimulieren LPS die Sekretion von Tumornekrosefaktor- α durch Makrophagen, was zu einer erhöhten GvHD-Mortalität führt (Nestel et al. 1992).

Darüber hinaus ist TLR4 mit chronischen Erkrankungen wie chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, Asthma und Sepsis assoziiert.

Genetische Faktoren haben sich bis jetzt jedoch nicht ausreichend finden lassen. Um einen umfassenderen Überblick über die Rolle des TLR-Systems bei einer GvHD zu erhalten, untersuchten Sivula et al. (2012) mehrere Einzelnukleotidpolymorphismen in sechs verschiedenen TLR-Genen, u. a. in TLR4. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass der TLR4-Genpolymorphismus ein wichtiger Faktor bei der Bestimmung des genetischen Risikos für eine GvHD ist (Sivula et al. 2012).

Auch Lorenz et al. (2001) testeten den Einfluss zweier TLR4-Polymorphismen auf HLA-identischen Geschwister SZTs. Sie konnten einen Trend zu einer verringerten Inzidenz von akuter GvHD Grad II bis IV finden, wenn ein TLR4-Polymorphismus vorlag, es zeigte sich jedoch kein signifikanter Einfluss auf die Inzidenz einer GvHD (Lorenz et al. 2001). Interessanterweise fanden Elmaagacli et al. (2006) in einer nachfolgenden Studie auch keine Korrelation des Vorhandenseins von TLR4-Polymorphismen mit der Gesamtinzidenz von GvHD in einer gemischten Kohorte von 307 HSC-Transplantaten von HLA-identischen Geschwistern und übereinstimmenden nicht-verwandten Spendern. Mutationen des TLR4-Gens auf Patienten- und Spenderseite waren in den univariaten Analysen zwar mit einem erhöhten Risiko für eine schwere GvHD und intestinale GvHD verbunden. Der TLR4-Polymorphismus konnte jedoch das Auftreten einer schweren GvHD in der multivariaten Analyse nicht beeinflussen (Elmaagacli et al. 2006). Es wurde zudem berichtet, dass es unterschiedliche Wirkungen der TLR4-Stimulation beim Menschen und in Mausmodellen gibt. Eine mögliche Erklärung könnte ein Unterschied im Gleichgewicht zwischen proinflammatorischen Wirkungen und entzündungshemmenden

Wirkungen auf die TLR4-Aktivierung zwischen Menschen und Mäusen sein (Penack et al. 2010).

Drei der hier untersuchten Marker sind schon einmal in der Literatur in Zusammenhang mit chronischen und malignen Erkrankungen beschrieben worden. Marker rs11536869 und rs11536879 sind schon einmal in Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko für ein Prostatakarzinom untersucht worden; es konnten jedoch keine signifikanten Assoziationen gefunden werden. Der Marker rs11536878 ist in Studien in Zusammenhang mit rheumatoider Arthritis gebracht worden, wobei jedoch kein statistisch signifikanter Einfluss zwischen dem Marker und der Erkrankung beobachtet werden konnte (Davis et al. 2015). Im vorliegenden Patientenkollektiv zeigte sich der Marker rs11536869 mit einem erhöhten Risiko für eine schwere akute GvHD assoziiert, wobei für Träger des selteneren Allels ein höheres Risiko besteht, eine GvHD zu erleiden, als für Träger des häufigeren Allels. Zudem zeigte sich für den erstmals in dieser Arbeit beschriebenen Marker rs1360094 ein prädiktives Potential zur Vorhersage einer schweren GvHD und eines Rezidivs. Für Träger des häufigeren Allels kann damit eine schwere GvHD eher vorhergesagt werden als für Träger des selteneren Allels. Hingegen kann für Träger des selteneren Allels eher ein verringertes rezidivfreies Überleben vorhergesagt werden als für Träger des häufigeren Allels.

Die Marker rs11536878 und rs11536879 sind beide mit einem verringerten Gesamtüberleben nach einer SZT signifikant assoziiert.

Zusammenfassend lässt sich noch kein klares Bild zeichnen, welche Rolle TLR4 beim Auftreten einer GvHD spielt. Daher sind in Zukunft weitere Studien erforderlich, die sich mit der Rolle von TLR4-Polymorphismen bei der allogenen SZT und dem Auftreten einer GvHD befassen.

5.4 SNPs des TLR9 und ihr Zusammenhang mit dem Auftreten einer akuten schweren GvHD Grad III/IV

Die Aktivierung von TLR9 löst eine Kaskade angeborener und adaptiver Immunantworten aus. TLR9 Agonisten induzieren die Aktivierung und Reifung von plasmazytoiden dendritischen Zellen und verbessern die Differenzierung von B-Zellen in Plasmazellen. Präklinische und frühe klinische Daten unterstützen die Verwendung von TLR9-Agonisten bei der Behandlung von Patienten mit soliden Tumoren und malignen hämatologischen Erkrankungen (Krieg 2008). Der zugrundeliegende Mechanismus von TLR9 bei der GvHD ist weiterhin jedoch noch nicht ausreichend verstanden. Zudem ist die Rolle

von TLR9 im Zusammenhang mit dem Auftreten einer GvHD in der Literatur noch nicht geklärt und umstritten (Tu et al. 2016). Nach Calcaterra et al. (2008) erhöht TLR9 das Risiko für eine GvHD; der TLR9-Signalweg spiele eine entscheidende Rolle bei der Induktion einer GvHD. Auch Xiao et al. (2014) haben herausgefunden, dass TLR9-tag SNPs von Spendern signifikant mit dem Risiko einer aGvHD assoziiert sind. Dies könnte Hinweise darauf liefern, dass TLR9 eine Rolle bei GvHD-Erkrankungen spielen könnte (Xiao et al. 2014).

Elmaagacli et al. (2009) wiederum gehen davon aus, dass TLR9 SNPs zwar eine große Rolle nach der Transplantation spielen, da sie an vielen Immunantworten beteiligt zu sein scheinen und durch überschießende Reaktionen eine für den Patienten potentiell lebensbedrohliche SIRS oder Sepsis induzieren können. Das Auftreten oder den Schweregrad einer GvHD sollen sie jedoch nicht beeinflussen.

In dieser Arbeit konnte für den erstmalig beschriebenen Marker rs11715391 gezeigt werden, dass er möglicherweise eine Vorhersage über das Auftreten einer schweren akuten GvHD treffen kann. Das tendiert in die Richtung der Ergebnisse von Calcaterra et al. (2008) und Xiao et al. (2014), bedarf aber noch weiterer Untersuchungen. Dabei kann für Träger des selteneren Allels eine GvHD eher vorhergesagt werden als für Träger des häufigeren Allels.

5.5 Ausblick

Die GvHD ist eine schwerwiegende Komplikation bei Patienten nach allogener Stammzelltransplantation. Akute und chronische GvHD können zum Tod des Patienten führen oder durch langandauernde immunsuppressive Therapie und Organschäden eine deutliche Beeinträchtigung der Lebensqualität bedingen. Die Ätiologie der GvHD ist aufgrund der zugrunde liegenden komplexen immunologischen Mechanismen vielschichtig, sodass Vorhersagen aus identifizierten klinischen Risikofaktoren und der HLA-Kompatibilität allein nicht zuverlässig gelingen.

In dieser Arbeit wurde mit dem Marker rs11536869 des TLR4 ein weiterer molekularer Einflussfaktor auf die Entstehung einer schweren GvHD erstmalig beschrieben. Des Weiteren wurden auch erstmalig die Marker rs78734483 (IL22), rs1360094 (TLR4) und rs11715391 (TLR9) als molekulare Einflussfaktoren zur Vorhersage einer GvHD erkannt. Neben den in dieser Arbeit beschriebenen Zytokinen IL6, IL22, TLR4 und TLR9 gibt es noch viele weitere Zytokine, die zu einer Entstehung bzw. Unterbindung/Verhinderung einer GvHD beitragen können. Daher ist es von großer Wichtigkeit, weitere Kandidatengene genotypisch zu erfassen und als genetische Risikofaktoren für das Auftreten von schwerer GvHD zu evaluieren. Auf dieser Basis können dann Ansätze zu einer Individualisierung der immunmodulatorischen Therapie bei der allogenen Blutstammzelltransplantation entwickelt werden.

6 Zusammenfassung

Akute und chronische Graft-versus-Host-Reaktionen nach allogener Blutstammzelltransplantation stellen schwerwiegende Komplikationen dar. Um die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer schweren GvHD nach einer Stammzelltransplantation besser einschätzen zu können, ist es notwendig, über die aktuell bekannten klinischen Risikofaktoren hinaus weitere Parameter zu finden. Neben anderen Zytokinen spielen die Interleukine 6 und 22 sowie die Toll-like Rezeptoren 4 und 9 aufgrund ihrer proinflammatorischen Funktion eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der GvHD. Das Ziel dieser Dissertation war es, molekulare Prädiktoren zu identifizieren, die prognostische oder prädiktive Faktoren in der Vorhersage einer akuten GvHD Grad III/IV sein können, speziell in den genetischen Polymorphismen der Zytokingene IL6, IL22, TLR4 und TLR9.

Für die Analyse wurden im Rahmen der statistischen Auswertung die klinischen Daten von 756 Patienten, die zwischen 2001 und 2017 eine allogene SZT an der Universitätsmedizin Göttingen erhalten haben, ausgewertet. Von diesen 756 Patienten haben 416 Patienten eine akute GvHD erlitten. Für 720 von 756 Patienten war geeignetes genetisches Material vorhanden. Die Analyse der Genpolymorphismen (SNPs) in Abhängigkeit des Ergebnisses GvHD von einem SNP erfolgte mit mehreren *Cox-proportional Hazard*-Regressionsmodellen, wobei zwischen den Fragestellungen Ätiologie (*Explanation*) und Vorhersage (*Prediction*) unterschieden wurde. Mit Modellen zur Ätiologie wurde die molekularbiologische Wirkung eines SNPs auf das Ergebnis GvHD untersucht. Mit Modellen zur Vorhersage wurde die Bedeutung eines SNPs für die Prognose des Auftretens einer GvHD untersucht.

In Voruntersuchungen war der Marker rs1800795 des Gens IL6 im Patienten bereits als Risikofaktor für einen besonders schweren Verlauf einer GvHD beschrieben worden (Tvedt et al. 2017). Dieser Faktor war in unserem Datensatz über alle Patienten hinweg nicht mit einem erhöhten Risiko für aGvHD assoziiert.

Unter den in dieser Untersuchung erstmalig analysierten Polymorphismen der Zytokingene wurde ein signifikant erhöhtes Risiko für das Auftreten einer schweren GvHD III/IV für Patienten mit dem SNP rs11536869 des Zytokingens TLR4 festgestellt. Träger des selteneren Allels haben ein höheres Risiko, eine schwere GvHD nach SZT zu erleiden, als Träger des häufigeren Allels. Weiterhin erwies sich im gesamten Datensatz der Marker rs1360094 des Gens TLR4 mit einem erhöhten prädiktiven Potential zur Vorhersage einer GvHD. Dies kann für Träger des häufigeren Allels eher vorhergesagt werden. Auch für den Marker rs78734483 des Zytokingens IL22 zeigte sich ein prädiktives

Potential für das Auftreten einer GvHD. Des Weiteren konnte für den Marker rs11715391 des Zytokingens TLR9 festgestellt werden, dass für Patienten, die Träger des selteneren Allels sind, eher das Auftreten einer GvHD vorhergesagt werden kann.

Die Bedeutung der in dieser Arbeit erstmalig untersuchten Genpolymorphismen, insbesondere der Marker rs11536869, rs1360094, rs78734483 und rs11715391, sollte in unabhängigen Patientenkollektiven hinsichtlich seiner klinischen Relevanz weiter überprüft werden. Sollte sich der Zusammenhang zwischen dem Vorliegen von rs11536869 im Patienten und einem erhöhten Risiko für das Auftreten einer schweren GvHD bestätigen, könnte die Typisierung der Patienten hinsichtlich dieser SNPs zu einer Verbesserung der individuellen Risikoerfassung sowie ggf. im Verlauf zu einer Therapieoptimierung führen. Gleiches könnte für das Vorliegen bereits im Vorfeld identifizierter SNPs vor einer geplanten SZT gelten.

7 Anhang

7.1 Marker des IL6 Gens

Tabelle 22A: Marker rs10155981

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs10155981</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.92	0.77	1.09	0.37	0.91	0.76	1.08	0.32	0.87	0.69	1.11	0.27
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.10	0.90	1.35	0.34	1.10	0.89	1.36	0.34	0.94	0.70	1.26	0.69
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.92	0.62	1.37	0.71	0.89	0.60	1.34	0.60	0.91	0.58	1.41	0.68
		NPM	per Allel	0.84	0.49	1.46	0.56	0.86	0.49	1.50	0.61	0.84	0.46	1.51	0.56
		Rezdiv	per Allel	1.12	0.63	1.97	0.69	1.02	0.55	1.87	0.94	0.95	0.55	1.66	0.88
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.79	0.55	1.14	0.22	0.83	0.59	1.17	0.31
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.88	0.49	1.56	0.67	0.77	0.44	1.35	0.37
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.32	0.86	2.01	0.19	1.29	0.87	1.91	0.19

Tabelle 23A: Marker rs35610689

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs35610689</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.07	0.95	1.21	0.22	1.06	0.94	1.20	0.29	1.09	0.93	1.28	0.27
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.97	0.84	1.12	0.74	0.95	0.82	1.11	0.56	0.98	0.80	1.20	0.88
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1.01	0.78	1.31	0.89	1.01	0.78	1.31	0.90	1.08	0.81	1.43	0.60
		NPM	per Allel	0.92	0.64	1.33	0.68	0.92	0.63	1.33	0.67	0.79	0.52	1.20	0.28
		Rezdiv	per Allel	1.14	0.74	1.74	0.54	1.17	0.75	1.84	0.48	1.14	0.76	1.70	0.52
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1.12	0.89	1.41	0.31	1.14	0.92	1.41	0.20
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.84	0.56	1.26	0.42	0.79	0.54	1.14	0.22
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.09	0.77	1.55	0.60	1.09	0.80	1.50	0.55

Tabelle 24A: Marker rs10499563

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs10499563</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.05	0.93	1.19	0.40	1.05	0.92	1.19	0.43	1.07	0.90	1.28	0.39
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.04	0.89	1.20	0.59	1.05	0.90	1.22	0.51	0.96	0.77	1.18	0.71
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1.07	0.82	1.40	0.58	1.11	0.84	1.45	0.45	1.14	0.84	1.55	0.39
		NPM	per Allel	1.16	0.82	1.64	0.38	1.16	0.81	1.64	0.40	0.96	0.63	1.47	0.86
		Rezdiv	per Allel	1.06	0.70	1.62	0.76	1.11	0.72	1.70	0.62	1.08	0.70	1.67	0.70
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1.06	0.82	1.36	0.63	1.10	0.87	1.38	0.42
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.96	0.64	1.44	0.85	0.89	0.61	1.31	0.57
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.03	0.73	1.45	0.83	1.02	0.74	1.43	0.86

Tabelle 25A: Marker rs1476483

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs1476483</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.04	0.92	1.18	0.48	1.03	0.90	1.16	0.64	1.03	0.87	1.22	0.67
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.97	0.83	1.13	0.72	0.91	0.78	1.07	0.28	1.05	0.85	1.30	0.62
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.80	0.60	1.07	0.14	0.80	0.59	1.07	0.14	0.94	0.68	1.30	0.73
		NPM	per Allel	1.00	0.69	1.46	0.97	1.01	0.69	1.48	0.93	1.10	0.74	1.64	0.60
		Rezdiv	per Allel	1.17	0.77	1.79	0.44	1.21	0.78	1.89	0.39	1.15	0.77	1.73	0.48
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.98	0.77	1.26	0.93	1.00	0.79	1.25	--
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1.06	0.71	1.59	0.74	1.11	0.77	1.58	0.56
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.02	0.73	1.43	0.88	1.01	0.72	1.42	0.93

Tabelle 26A: Marker rs1524104

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs1524104</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.00	0.86	1.16	0.96	1.01	0.87	1.17	0.86	0.93	0.76	1.14	0.52
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.02	0.86	1.22	0.75	1.02	0.85	1.22	0.81	1.00	0.78	1.27	--
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.86	0.63	1.18	0.37	0.87	0.63	1.21	0.43	0.98	0.68	1.40	0.92
		NPM	per Allel	0.94	0.61	1.44	0.78	0.92	0.59	1.42	0.71	1.15	0.74	1.78	0.53
		Rezdiv	per Allel	1.14	0.72	1.81	0.55	1.23	0.75	2.00	0.40	1.16	0.74	1.80	0.50
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.93	0.70	1.23	0.63	0.95	0.73	1.25	0.76
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.99	0.60	1.64	1.00	1.03	0.68	1.57	0.86
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.08	0.71	1.65	0.70	0.98	0.66	1.44	0.92

Tabelle 27A: Marker rs1524105

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs1524105</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.00	0.89	1.12	0.98	1.00	0.89	1.13	0.92	0.97	0.83	1.13	0.73
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.06	0.93	1.22	0.34	1.05	0.92	1.21	0.42	0.98	0.81	1.19	0.88
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.89	0.70	1.14	0.38	0.90	0.70	1.15	0.42	0.96	0.73	1.27	0.79
		NPM	per Allel	0.84	0.59	1.18	0.33	0.80	0.56	1.14	0.23	1.02	0.71	1.46	0.91
		Rezdiv	per Allel	1.29	0.88	1.89	0.19	1.36	0.90	2.04	0.14	1.15	0.81	1.65	0.42
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.96	0.77	1.19	0.73	0.98	0.79	1.21	0.89
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.84	0.57	1.25	0.41	0.86	0.60	1.23	0.42
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.27	0.92	1.74	0.13	1.16	0.88	1.53	0.28

Tabelle 28A: Marker rs2069844

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs2069844</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.86	0.60	1.24	0.44	0.84	0.58	1.23	0.38	0.89	0.55	1.43	0.64
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.91	0.57	1.45	0.71	0.89	0.56	1.43	0.65	0.86	0.47	1.58	0.64
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1.12	0.55	2.28	0.74	1.08	0.52	2.23	0.83	1.18	0.51	2.71	0.69
		NPM	per Allel	1.05	0.31	3.49	0.93	1.11	0.33	3.77	0.86	0.62	0.15	2.58	0.52
		Rezdiv	per Allel	1.74	0.70	4.30	0.23	1.98	0.72	5.41	0.18	1.53	0.64	3.64	0.33
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.80	0.42	1.50	0.50	0.94	0.49	1.80	0.86
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.62	0.13	2.87	0.54	0.45	0.10	1.90	0.28
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.98	0.90	4.36	0.0894	1.56	0.72	3.35	0.25

Tabelle 29A: Marker rs2905325

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs2905325</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.92	0.70	1.19	0.53	0.92	0.70	1.20	0.54	1.08	0.75	1.54	0.67
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.87	0.63	1.20	0.42	0.86	0.62	1.19	0.38	1.01	0.66	1.57	0.93
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.99	0.58	1.68	0.98	1.05	0.61	1.81	0.84	1.00	0.52	1.92	--
		NPM	per Allel	0.68	0.24	1.89	0.46	0.63	0.22	1.76	0.38	0.83	0.29	2.31	0.72
		Rezdiv	per Allel	0.83	0.32	2.14	0.70	0.85	0.32	2.25	0.75	0.92	0.36	2.33	0.87
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.77	0.46	1.27	0.31	0.95	0.58	1.54	0.85
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.98	0.40	2.37	0.97	0.82	0.36	1.87	0.64
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.39	0.72	2.69	0.32	1.45	0.78	2.72	0.24

Tabelle 30A: Marker rs4722167

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs4722167</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.07	0.95	1.20	0.26	1.06	0.94	1.19	0.34	1.06	0.90	1.24	0.45
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.97	0.84	1.12	0.75	0.93	0.80	1.07	0.35	1.05	0.86	1.29	0.59
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.84	0.65	1.10	0.23	0.85	0.65	1.11	0.25	1.00	0.73	1.35	--
		NPM	per Allel	1.16	0.81	1.65	0.40	1.12	0.78	1.61	0.51	1.20	0.82	1.75	0.34
		Rezdiv	per Allel	1.25	0.84	1.88	0.26	1.33	0.86	2.05	0.19	1.29	0.88	1.90	0.19
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.95	0.75	1.20	0.68	0.96	0.77	1.20	0.73
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1.14	0.78	1.65	0.48	1.16	0.84	1.62	0.35
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.09	0.79	1.50	0.58	1.07	0.78	1.46	0.65

Tabelle 31A: Marker rs6461662

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs6461662</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.00	0.90	1.10	0.99	0.99	0.89	1.10	0.94	1.04	0.91	1.20	0.52
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.11	0.98	1.25	0.0933	1.09	0.96	1.24	0.17	1.10	0.93	1.31	0.25
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1.01	0.81	1.26	0.91	1.03	0.82	1.29	0.77	1.08	0.84	1.39	0.52
		NPM	per Allel	1.31	0.95	1.79	0.0902	1.26	0.92	1.74	0.14	1.23	0.87	1.72	0.22
		Rezdiv	per Allel	0.86	0.60	1.23	0.42	0.86	0.59	1.24	0.43	1.07	0.76	1.51	0.67
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.98	0.81	1.19	0.89	0.99	0.82	1.19	0.93
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1.08	0.78	1.50	0.62	1.10	0.83	1.46	0.49
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0.88	0.65	1.18	0.41	0.98	0.74	1.30	0.92

Tabelle 32A: Marker rs6461666

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs6461666</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.93	0.82	1.06	0.32	0.94	0.82	1.07	0.37	0.88	0.75	1.05	0.17
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.05	0.90	1.22	0.50	1.04	0.89	1.21	0.59	0.96	0.78	1.18	0.70
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.77	0.58	1.01	0.0655	0.75	0.56	1.00	0.0522	0.87	0.63	1.18	0.38
		NPM	per Allel	0.81	0.56	1.18	0.29	0.78	0.53	1.14	0.21	1.04	0.70	1.55	0.81
		Rezdiv	per Allel	1.21	0.80	1.85	0.35	1.26	0.80	1.97	0.31	1.10	0.74	1.63	0.63
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.86	0.67	1.10	0.24	0.87	0.68	1.09	0.24
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.95	0.62	1.46	0.84	0.98	0.67	1.42	0.93
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.17	0.84	1.62	0.35	1.09	0.81	1.47	0.55

Tabelle 33A: Marker rs6949149

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs6949149</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.98	0.79	1.20	0.86	0.98	0.79	1.21	0.87	1.07	0.81	1.42	0.60
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.90	0.70	1.16	0.45	0.93	0.72	1.19	0.58	1.00	0.71	1.40	--
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.98	0.65	1.47	0.94	1.02	0.67	1.54	0.92	0.95	0.58	1.57	0.86
		NPM	per Allel	0.65	0.29	1.41	0.28	0.58	0.26	1.28	0.18	0.66	0.29	1.51	0.33
		Rezdiv	per Allel	1.13	0.58	2.19	0.72	1.19	0.60	2.34	0.61	1.18	0.63	2.23	0.59
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.93	0.64	1.35	0.71	1.04	0.73	1.50	0.80
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.75	0.36	1.57	0.45	0.69	0.34	1.38	0.30
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.50	0.89	2.54	0.12	1.49	0.93	2.39	0.0967

Tabelle 34A: Marker rs696927

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs696927</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.04	0.92	1.18	0.46	1.04	0.92	1.18	0.50	1.09	0.92	1.30	0.28
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.02	0.88	1.19	0.70	1.03	0.88	1.20	0.66	0.97	0.79	1.20	0.84
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1.13	0.87	1.46	0.34	1.17	0.90	1.53	0.23	1.20	0.89	1.61	0.21
		NPM	per Allel	1.21	0.86	1.70	0.27	1.19	0.84	1.68	0.31	1.02	0.68	1.53	0.90
		Rezdiv	per Allel	1.01	0.67	1.53	0.94	1.04	0.68	1.58	0.85	1.07	0.71	1.64	0.72
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1.06	0.83	1.36	0.60	1.09	0.87	1.37	0.42
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1.07	0.73	1.57	0.72	0.98	0.68	1.40	0.92
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0.94	0.66	1.34	0.77	0.97	0.68	1.37	0.87

Tabelle 35A: Marker rs7793526

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs7793526</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.00	0.90	1.12	0.91	0.99	0.88	1.11	0.93	1.01	0.87	1.17	0.83
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.99	0.87	1.14	0.98	0.98	0.85	1.12	0.83	0.94	0.78	1.14	0.58
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.89	0.69	1.13	0.35	0.87	0.68	1.12	0.30	0.98	0.75	1.29	0.92
		NPM	per Allel	0.78	0.55	1.09	0.16	0.79	0.56	1.11	0.17	0.75	0.52	1.09	0.14
		Rezdiv	per Allel	1.16	0.79	1.71	0.44	1.15	0.76	1.74	0.49	1.03	0.71	1.48	0.87
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1.06	0.85	1.31	0.59	1.06	0.87	1.30	0.50
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.79	0.53	1.15	0.23	0.75	0.53	1.07	0.12
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.15	0.84	1.56	0.36	1.14	0.86	1.51	0.35

Tabelle 36A: Marker rs7796691

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs7796691</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.94	0.82	1.07	0.39	0.94	0.82	1.08	0.45	0.84	0.70	1.01	0.0670
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.08	0.92	1.25	0.31	1.07	0.91	1.25	0.38	0.93	0.75	1.16	0.57
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.77	0.57	1.03	0.0792	0.76	0.56	1.02	0.0746	0.85	0.61	1.18	0.34
		NPM	per Allel	0.81	0.55	1.21	0.32	0.80	0.53	1.19	0.27	1.00	0.66	1.52	0.97
		Rezdiv	per Allel	1.07	0.69	1.67	0.74	1.08	0.67	1.73	0.74	1.02	0.66	1.56	0.92
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.84	0.65	1.09	0.21	0.85	0.66	1.10	0.24
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.88	0.57	1.36	0.59	0.92	0.62	1.36	0.69
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.16	0.81	1.66	0.39	1.09	0.79	1.49	0.59

Tabelle 37A: Marker rs7808122

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs7808122</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.97	0.87	1.07	0.58	0.97	0.87	1.08	0.64	0.98	0.85	1.13	0.82
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.97	0.86	1.10	0.70	0.99	0.87	1.12	0.95	1.04	0.87	1.24	0.63
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1.13	0.90	1.40	0.28	1.12	0.89	1.41	0.30	0.99	0.77	1.27	0.95
		NPM	per Allel	1.26	0.93	1.70	0.13	1.31	0.97	1.78	0.0770	1.22	0.87	1.70	0.23
		Rezdiv	per Allel	0.75	0.51	1.09	0.13	0.72	0.49	1.06	0.0975	0.83	0.58	1.18	0.31
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.96	0.79	1.17	0.72	0.93	0.77	1.11	0.45
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1.30	0.92	1.83	0.12	1.34	0.98	1.83	0.0604
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0.75	0.56	1.02	0.0723	0.81	0.61	1.07	0.15

Tabelle 38A: Marker rs1476482

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs1476482</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.92	0.71	1.19	0.57	0.92	0.71	1.20	0.57	1.06	0.75	1.50	0.74
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.88	0.64	1.21	0.45	0.86	0.62	1.19	0.39	0.99	0.64	1.51	0.96
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1.05	0.62	1.77	0.84	1.11	0.65	1.89	0.68	1.07	0.57	2.00	0.83
		NPM	per Allel	0.67	0.24	1.87	0.45	0.62	0.22	1.75	0.38	0.82	0.29	2.28	0.71
		Rezdiv	per Allel	0.82	0.32	2.14	0.70	0.85	0.32	2.25	0.75	0.91	0.36	2.31	0.85
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.83	0.51	1.35	0.46	1.02	0.64	1.63	0.90
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.91	0.38	2.20	0.85	0.76	0.33	1.73	0.52
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.30	0.67	2.51	0.43	1.31	0.70	2.46	0.39

7.2 Marker des IL22 Gens

Tabelle 39A: Marker rs11177140

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs11177140</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.89	0.78	1.02	0.12	0.88	0.77	1.01	0.0746	0.91	0.76	1.08	0.31
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.89	0.75	1.04	0.17	0.88	0.74	1.04	0.14	0.97	0.77	1.22	0.83
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.85	0.64	1.13	0.29	0.81	0.60	1.08	0.16	0.87	0.63	1.21	0.43
		NPM	per Allel	1.09	0.77	1.55	0.60	1.09	0.77	1.56	0.60	0.83	0.54	1.28	0.42
		Rezdiv	per Allel	0.72	0.45	1.15	0.18	0.68	0.42	1.12	0.14	0.83	0.53	1.29	0.42
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1.09	0.85	1.39	0.46	1.08	0.86	1.35	0.50
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.83	0.56	1.25	0.40	0.88	0.59	1.31	0.54
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0.78	0.53	1.15	0.21	0.80	0.55	1.18	0.27

Tabelle 40A: Marker rs17700390

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs17700390</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.98	0.83	1.15	0.84	0.96	0.82	1.14	0.71	1.04	0.83	1.29	0.72
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.08	0.90	1.28	0.38	1.08	0.90	1.29	0.39	1.03	0.80	1.32	0.80
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.91	0.64	1.31	0.64	0.89	0.62	1.29	0.57	0.96	0.63	1.45	0.87
		NPM	per Allel	0.86	0.51	1.44	0.57	0.87	0.51	1.46	0.60	0.84	0.48	1.47	0.55
		Rezdiv	per Allel	1.33	0.78	2.25	0.28	1.35	0.78	2.33	0.27	1.14	0.68	1.91	0.60
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.78	0.54	1.12	0.18	0.88	0.63	1.22	0.46
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.85	0.51	1.41	0.53	0.80	0.49	1.30	0.38
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.44	0.97	2.11	0.0635	1.40	0.97	2.03	0.0687

Tabelle 41A: Marker rs2227478

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs2227478</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.92	0.83	1.03	0.19	0.91	0.82	1.02	0.14	0.96	0.83	1.11	0.62
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.96	0.85	1.09	0.59	0.96	0.84	1.09	0.58	1.03	0.86	1.23	0.72
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.87	0.69	1.10	0.26	0.85	0.66	1.08	0.19	0.87	0.66	1.13	0.31
		NPM	per Allel	1.01	0.74	1.36	0.95	1.01	0.74	1.38	0.93	0.83	0.58	1.18	0.31
		Rezdiv	per Allel	0.96	0.65	1.40	0.84	0.99	0.67	1.46	0.97	0.98	0.69	1.41	0.95
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.94	0.76	1.18	0.64	0.97	0.80	1.19	0.84
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.79	0.57	1.09	0.17	0.81	0.59	1.12	0.21
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.07	0.78	1.46	0.65	1.07	0.80	1.45	0.61

Tabelle 42A: Marker rs4913287

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs4913287</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.98	0.78	1.22	0.88	0.96	0.76	1.20	0.75	1.02	0.76	1.37	0.88
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.04	0.80	1.36	0.75	1.01	0.77	1.32	0.93	1.22	0.86	1.74	0.25
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.84	0.51	1.40	0.52	0.89	0.53	1.49	0.66	0.84	0.47	1.50	0.56
		NPM	per Allel	1.16	0.66	2.04	0.60	1.09	0.61	1.95	0.75	1.44	0.77	2.67	0.25
		Rezdiv	per Allel	1.69	0.88	3.23	0.11	1.84	0.93	3.66	0.0773	1.33	0.70	2.50	0.38
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.78	0.51	1.21	0.28	0.80	0.52	1.21	0.30
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1.17	0.63	2.18	0.61	1.22	0.65	2.29	0.53
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.42	0.78	2.58	0.25	1.15	0.67	1.95	0.61

Tabelle 43A: Marker rs4913432

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs4913432</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.91	0.81	1.04	0.19	0.90	0.80	1.03	0.14	0.94	0.79	1.10	0.47
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.89	0.77	1.03	0.15	0.88	0.76	1.02	0.10	1.02	0.84	1.25	0.79
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.83	0.63	1.07	0.16	0.80	0.61	1.05	0.12	0.87	0.64	1.18	0.38
		NPM	per Allel	1.13	0.82	1.57	0.44	1.11	0.80	1.55	0.51	0.95	0.65	1.39	0.82
		Rezdiv	per Allel	0.86	0.56	1.30	0.48	0.87	0.56	1.33	0.52	0.94	0.63	1.41	0.80
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1.04	0.82	1.30	0.73	1.03	0.83	1.28	0.73
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.90	0.62	1.31	0.60	0.94	0.65	1.38	0.78
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0.89	0.62	1.27	0.53	0.87	0.62	1.21	0.43

Tabelle 44A: Marker rs756213

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs756213</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.94	0.84	1.04	0.26	0.92	0.82	1.02	0.15	0.98	0.85	1.14	0.87
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.01	0.90	1.14	0.77	1.00	0.88	1.13	0.93	1.08	0.91	1.28	0.38
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.84	0.67	1.06	0.15	0.84	0.66	1.06	0.15	0.85	0.65	1.11	0.26
		NPM	per Allel	1.14	0.85	1.53	0.36	1.13	0.84	1.52	0.40	1.03	0.73	1.44	0.86
		Rezdiv	per Allel	1.05	0.72	1.53	0.77	1.07	0.72	1.58	0.73	1.00	0.70	1.42	0.98
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.89	0.72	1.10	0.32	0.93	0.77	1.14	0.53
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.95	0.70	1.30	0.77	0.95	0.70	1.29	0.77
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.08	0.80	1.47	0.59	1.06	0.79	1.41	0.68

Tabelle 45A: Marker rs7296489

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs7296489</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.00	0.89	1.13	0.92	1.01	0.89	1.14	0.79	0.95	0.80	1.12	0.58
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.96	0.83	1.11	0.61	0.98	0.84	1.13	0.80	0.87	0.70	1.07	0.21
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	1.01	0.78	1.30	0.91	1.03	0.79	1.33	0.81	0.95	0.70	1.28	0.74
		NPM	per Allel	0.83	0.58	1.19	0.33	0.83	0.58	1.20	0.34	0.81	0.54	1.23	0.34
		Rezdiv	per Allel	0.99	0.66	1.48	0.97	1.04	0.69	1.59	0.82	0.99	0.66	1.46	0.96
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1.05	0.83	1.33	0.66	1.11	0.90	1.38	0.32
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.86	0.58	1.27	0.46	0.78	0.52	1.15	0.22
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0.92	0.63	1.33	0.68	1.00	0.71	1.40	--

7.3 Marker des TLR4 Gens

Tabelle 46A: Marker rs2737191

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs2737191</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	1.07	0.96	1.19	0.17	1.08	0.97	1.21	0.13	1.01	0.88	1.17	0.81
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.02	0.89	1.16	0.71	1.01	0.89	1.16	0.79	0.96	0.80	1.15	0.72
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.93	0.73	1.18	0.57	0.95	0.75	1.22	0.74	0.92	0.70	1.22	0.60
		NPM	per Allel	0.95	0.69	1.30	0.76	0.92	0.67	1.27	0.65	0.97	0.67	1.40	0.89
		Rezdiv	per Allel	0.95	0.65	1.39	0.83	0.93	0.63	1.37	0.74	0.95	0.65	1.37	0.79
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	1.05	0.86	1.28	0.62	1.02	0.84	1.23	0.83
		Tod	per Allel	--	--	--	--	0.90	0.64	1.27	0.59	0.94	0.68	1.30	0.72
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.07	0.78	1.48	0.64	1.05	0.78	1.42	0.70

7.4 Marker des TLR9 Gens

Tabelle 47A: Marker rs11717383

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs11717383</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.96	0.86	1.06	0.48	0.96	0.86	1.07	0.53	0.96	0.83	1.11	0.66
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	1.08	0.96	1.22	0.17	1.10	0.97	1.25	0.10	1.00	0.85	1.19	0.92
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.98	0.78	1.21	0.86	0.96	0.77	1.20	0.76	0.94	0.73	1.22	0.68
		NPM	per Allel	0.96	0.71	1.31	0.84	0.97	0.71	1.32	0.88	0.93	0.66	1.30	0.68
		Rezdiv	per Allel	1.14	0.80	1.62	0.46	1.15	0.79	1.67	0.45	1.07	0.75	1.53	0.68
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.90	0.73	1.10	0.33	0.86	0.70	1.05	0.15
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1.02	0.73	1.43	0.88	1.00	0.74	1.34	--
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	1.19	0.91	1.56	0.20	1.17	0.90	1.52	0.23

Tabelle 48A: Marker rs7618915

<i>Effect estimates / key-events time criteria contrast: rs7618915</i>				AIC				full				unadj.			
				HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert	HR	95%-	KI	p-Wert
Beschreibung	Ereignisfreies Risiko	jedes Ereignis	per Allel	0.97	0.88	1.08	0.69	0.97	0.87	1.08	0.67	0.95	0.82	1.10	0.50
	Gesamtüberleben	Tod	per Allel	0.90	0.79	1.03	0.15	0.90	0.78	1.02	0.12	0.98	0.82	1.18	0.88
Ätiologie	Ursachenspezifischer Hazard	GvHD	per Allel	0.96	0.77	1.20	0.77	0.98	0.78	1.24	0.93	0.95	0.72	1.25	0.74
		NPM	per Allel	0.98	0.72	1.33	0.91	0.97	0.71	1.32	0.89	1.06	0.76	1.50	0.70
		Rezdiv	per Allel	0.75	0.51	1.11	0.16	0.77	0.52	1.15	0.21	0.77	0.52	1.14	0.21
Vorhersage	Subdistributional Hazard	GvHD	per Allel	--	--	--	--	0.91	0.74	1.12	0.38	0.97	0.80	1.19	0.82
		Tod	per Allel	--	--	--	--	1.05	0.74	1.50	0.75	1.10	0.81	1.50	0.50
		Rezidiv	per Allel	--	--	--	--	0.81	0.59	1.12	0.22	0.84	0.61	1.14	0.27

8 Literaturverzeichnis

Amos CI, Dennis J, Wang Z, Byun J, Schumacher FR, Gayther SA, Casey G, Hunter DJ, Sellers TA, Gruber SB, et al. (2017): The OncoArray Consortium: A Network for Understanding the Genetic Architecture of Common Cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 26, 126-135

Andersen PK, Liestøl K (2003): Attenuation caused by infrequently updated covariates in survival analysis. *Biostatistics* 4, 633-649

Andersen PK, Geskus RB, de Witte T, Putter H (2012): Competing risks in epidemiology: possibilities and pitfalls. *Int J Epidemiol* 41, 861-870

Aziz MD, Shah J, Kapoor U, Dimopoulos C, Anand S, Augustine A, Ayuk F, Chaudhry M, Chen YB, Choe HK, et al. (2020): Disease risk and GVHD biomarkers can stratify patients for risk of relapse and nonrelapse mortality post hematopoietic cell transplant. *Leukemia* 34, 1898-1906

Billingham RE (1966): The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect* 62, 21-78

Buchholz S, Ganser A (2009): [Hematopoietic stem cell transplantation. Indications, foundations and perspective]. *Der Internist* 50, 572-580

Calcaterra C, Sfondrini L, Rossini A, Sommariva M, Rumio C, Ménard S, Balsari A (2008): Critical role of TLR9 in acute graft-versus-host disease. *J Immunol* 181, 6132-6139

Chang YJ, Zhao XY, Huang XJ (2018): Strategies for Enhancing and Preserving Anti-leukemia Effects Without Aggravating Graft-Versus-Host Disease. *Front Immunology* 9, 3041

Chien JW, Zhang XC, Fan W, Wang H, Zhao LP, Martin PJ, Storer BE, Boeckh M, Warren EH, Hansen JA (2012): Evaluation of published single nucleotide polymorphisms associated with acute GVHD. *Blood* 119, 5311-5319

Choi B, Lee DE, Park HY, Jeong S, Lee SM, Ji E, Park S, Oh JM (2012): A meta-analysis of the effects of interleukin-6 -174 G>C genetic polymorphism on acute graft-versus-host disease susceptibility. *Clin Ther* 34, 295-304

Couturier M, Lamarthée B, Arbez J, Renauld JC, Bossard C, Malard F, Bonnefoy F, Mohty M, Perruche S, Tiberghien P, et al. (2013): IL-22 deficiency in donor T cells attenuates murine acute graft-versus-host disease mortality while sparing the graft-versus-leukemia effect. *Leukemia* 27, 1527-1537

Davis MLR, LeVan TD, Yu F, Sayles H, Sokolove J, Robinson W, Michaud K, Thiele GM, Mikuls TR (2015): Associations of toll-like receptor (TLR)-4 single nucleotide polymorphisms and rheumatoid arthritis disease progression: an observational cohort study. *Int Immunopharmacol* 24, 346-352

Dickinson AM (2012): SNPs and GVHD prediction: where to next? *Blood* 119, 5066-5068

Dudakov JA, Hanash AM, van den Brink MR (2015): Interleukin-22: immunobiology and pathology. *Annu Rev Immunol* 33, 747-785

Dumoutier L, Van Roost E, Ameye G, Michaux L, Renauld JC (2000): IL-TIF/IL-22: genomic organization and mapping of the human and mouse genes. *Genes Immun* 1, 488-494

Elmaagacli AH, Koldehoff M, Beelen DW (2009): Improved outcome of hematopoietic SCT in patients with homozygous gene variant of Toll-like receptor 9. *Bone Marrow Transplant* 44, 295-302

Elmaagacli AH, Koldehoff M, Hindahl H, Steckel NK, Trenscher R, Peceny R, Ottinger H, Rath PM, Ross RS, Roggendorf M, et al. (2006): Mutations in innate immune system NOD2/CARD 15 and TLR-4 (Thr399Ile) genes influence the risk for severe acute graft-versus-host disease in patients who underwent an allogeneic transplantation. *Transplantation* 81, 247-254

Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E (2009): Graft-versus-host disease. *Lancet* 373, 1550-1561

Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S, Socie G, Wingard JR, Lee SJ, Martin P, Chien J, Przepiorka D, Couriel D, et al. (2005): National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 11, 945-956

Fine JP, Gray RJ (1999): A Proportional Hazards Model for the Subdistribution of a Competing Risk. *Journal of the American Statistical Association* 94, 496-509

Fishman D, Faulds G, Jeffery R, Mohamed-Ali V, Yudkin JS, Humphries S, Woo P (1998): The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest* 102, 1369-1376

Flomenberg N, Baxter-Lowe LA, Confer D, Fernandez-Vina M, Filipovich A, Horowitz M, Hurley C, Kollman C, Anasetti C, Noreen H, et al. (2004): Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood* 104, 1923-1930

Flowers ME, Pepe MS, Longton G, Doney KC, Monroe D, Witherspoon RP, Sullivan KM, Storb R (1990): Previous donor pregnancy as a risk factor for acute graft-versus-host disease in patients with aplastic anaemia treated by allogeneic marrow transplantation. *Br J Haematol* 74, 492-496

Flowers ME, Inamoto Y, Carpenter PA, Lee SJ, Kiem HP, Petersdorf EW, Pereira SE, Nash RA, Mielcarek M, Fero ML, et al. (2011): Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. *Blood* 117, 3214-3219

Gartlan KH, Bommasamy H, Paz K, Wilkinson AN, Owen M, Reichenbach DK, Banovic T, Wehner K, Buchanan F, Varelias A, et al. (2018): A critical role for donor-derived IL-22 in cutaneous chronic GVHD. *Am J Transplant* 18, 810-820

Glucksberg H, Storb R, Fefer A, Buckner CD, Neiman PE, Clift RA, Lerner KG, Thomas ED (1974): Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 18, 295-304

Grambauer N, Schumacher M, Dettenkofer M, Beyersmann J (2010): Incidence densities in a competing events analysis. *Am J Epidemiol* 172, 1077-1084

Gratwohl A (2012): The EBMT risk score. *Bone Marrow Transplant* 47, 749-756

Gruys E, Toussaint MJ, Niewold TA, Koopmans SJ (2005): Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B* 6, 1045-1056

Hanash AM, Dudakov JA, Hua G, O'Connor MH, Young LF, Singer NV, West ML, Jenq RR, Holland AM, Kappel LW, et al. (2012): Interleukin-22 protects intestinal stem cells from immune-mediated tissue damage and regulates sensitivity to Graft-versus-Host disease. *Immunity* 37, 339-350

Henden AS, Hill GR (2015): Cytokines in Graft-versus-Host Disease. *J Immunol* 194, 4604-4612

Hill GR, Ferrara JL (2000): The primacy of the gastrointestinal tract as a target organ of acute graft-versus-host disease: rationale for the use of cytokine shields in allogeneic bone marrow transplantation. *Blood* 95, 2754-2759

Ho VT (2011): Ex vivo T cell depletion of allogeneic PBSC as acute and chronic GVHD prophylaxis after myeloablative HCT: time to reconsider? *Biol Blood Marrow Transplant* 17, 1112-1113

Holtan SG, DeFor TE, Lazaryan A, Bejanyan N, Arora M, Brunstein CG, Blazar BR, MacMillan ML, Weisdorf DJ (2015): Composite end point of graft-versus-host disease-

free, relapse-free survival after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 125, 1333-1338

Jacobsohn DA, Vogelsang GB (2007): Acute Graft-versus-Host disease. *Orphanet J Rare Dis* 2, 35

Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW, Palmer J, Weisdorf D, Treister NS, Cheng GS, et al. (2015): National Institutes of Health Consensus Development Project on Criteria for Clinical Trials in Chronic Graft-versus-Host Disease: I. The 2014 Diagnosis and Staging Working Group report. *Biol Blood Marrow Transplant* 21, 389-401.e381

Jordan SC, Choi J, Kim I, Wu G, Toyoda M, Shin B, Vo A (2017): Interleukin-6, A Cytokine Critical to Mediation of Inflammation, Autoimmunity and Allograft Rejection: Therapeutic Implications of IL-6 Receptor Blockade. *Transplantation* 101, 32-44

Karabon L, Wysoczanska B, Bogunia-Kubik K, Suchnicki K, Lange A (2005): IL-6 and IL-10 promoter gene polymorphisms of patients and donors of allogeneic sibling hematopoietic stem cell transplants associate with the risk of acute graft-versus-host disease. *Hum Immunol* 66, 700-710

Kekre N, Mak KS, Stopsack KH, Binder M, Ishii K, Branvall E, Cutler CS (2016): Impact of HLA-Mismatch in Unrelated Donor Hematopoietic Stem Cell Transplantation: A Meta-Analysis. *Am J Hematol* 91, 551-555

Kim DD, Yun J, Won HH, Cheng L, Su J, Xu W, Uhm J, Gupta V, Kuruvilla J, Messner HA, et al. (2012): Multiple single-nucleotide polymorphism-based risk model for clinical outcomes after allogeneic stem-cell transplantation, especially for acute graft-versus-host disease. *Transplantation* 94, 1250-1257

Kim HT, Armand P (2013): Clinical endpoints in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation studies: the cost of freedom. *Biol Blood Marrow Transplant* 19, 860-866

Klein JP, Andersen PK (2005): Regression modeling of competing risks data based on pseudovalues of the cumulative incidence function. *Biometrics* 61, 223-229

Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK (2009): IL-17 and Th17 Cells. *Annu Rev Immunol* 27, 485-517

Kreisel W, Dahlberg M, Bertz H, Harder J, Potthoff K, Deibert P, Schmitt-Graeff A, Finke J (2012): Endoscopic diagnosis of acute intestinal GVHD following allogeneic hematopoietic SCT: a retrospective analysis in 175 patients. *Bone Marrow Transplant* 47, 430-438

Krieg AM (2008): Toll-like receptor 9 (TLR9) agonists in the treatment of cancer. *Oncogene* 27, 161-167

-
- Kumar H, Kawai T, Akira S (2009): Toll-like receptors and innate immunity. *Biochem Biophys Res Commun* 388, 621-625
- Lee SJ, Vogelsang G, Flowers ME (2003): Chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 9, 215-233
- Lejeune D, Dumoutier L, Constantinescu S, Kruijer W, Schuringa JJ, Renauld JC (2002): Interleukin-22 (IL-22) activates the JAK/STAT, ERK, JNK, and p38 MAP kinase pathways in a rat hepatoma cell line. Pathways that are shared with and distinct from IL-10. *J Biol Chem* 277, 33676-33682
- Lerner KG, Kao GF, Storb R, Buckner CD, Clift RA, Thomas ED (1974): Histopathology of graft-vs.-host reaction (GvHR) in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplant Proc* 6, 367-371
- Lin CY, Halabi S (2013): On model specification and selection of the Cox proportional hazards model. *Stat Med* 32, 4609-4623
- Lorenz E, Schwartz DA, Martin PJ, Gooley T, Lin MT, Chien JW, Hansen JA, Clark JG (2001): Association of TLR4 mutations and the risk for acute GVHD after HLA-matched-sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 7, 384-387
- Luger SM, Ringden O, Zhang MJ, Perez WS, Bishop MR, Bornhauser M, Bredeson CN, Cairo MS, Copelan EA, Gale RP, et al. (2012): Similar outcomes using myeloablative vs reduced-intensity allogeneic transplant preparative regimens for AML or MDS. *Bone Marrow Transplant* 47, 203-211
- Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M (2004): The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol* 25, 677-686
- Martínez-Laperche C, Buces E, Aguilera-Morillo MC, Picornell A, González-Rivera M, Lillo R, Santos N, Martín-Antonio B, Guillem V, Nieto JB, et al. (2018): A novel predictive approach for GVHD after allogeneic SCT based on clinical variables and cytokine gene polymorphisms. *Blood Adv* 2, 1719-1737
- Masetti R, Zama D, Urbini M, Astolfi A, Libri V, Vendemini F, Morello W, Rondelli R, Prete A, Pession A (2015): Impact of inflammatory cytokine gene polymorphisms on developing acute graft-versus-host disease in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Immunol Res* 2015, 248-264
- Mohty M, Kuentz M, Michallet M, Bourhis JH, Milpied N, Sutton L, Jouet JP, Attal M, Bordigoni P, Cahn JY, et al. (2002): Chronic graft-versus-host disease after allogeneic blood stem cell transplantation: long-term results of a randomized study. *Blood* 100, 3128-3134

Nagler A, Shimoni A: Conditioning. In: Carreras E, Dufour C, Mohty M, Kroger N, (Hrsg.) (2019): The EBMT Handbook: Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapies. 7th. ed. Cham: Springer Chapter 13, 99-107

Nestel FP, Price KS, Seemayer TA, Lapp WS (1992): Macrophage priming and lipopolysaccharide-triggered release of tumor necrosis factor alpha during graft-versus-host disease. *J Exp Med* 175, 405-413

Okuda Y, Sakoda S, Bernard CC, Fujimura H, Saeki Y, Kishimoto T, Yanagihara T (1998): IL-6-deficient mice are resistant to the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis provoked by myelin oligodendrocyte glycoprotein. *Int Immunol* 10, 703-708

Penack O, Holler E, van den Brink MR (2010): Graft-versus-host disease: regulation by microbe-associated molecules and innate immune receptors. *Blood* 115, 1865-1872

Petersdorf EW (2013): The major histocompatibility complex: a model for understanding graft-versus-host disease. *Blood* 122, 1863-1872

Rowlings PA, Przepiorka D, Klein JP, Gale RP, Passweg JR, Jean Henslee-Downey P, Cahn J-Y, Calderwood S, Gratwohl A, Socié G, et al. (1997): IBMTR Severity Index for grading acute graft-versus-host disease: retrospective comparison with Glucksberg grade. *Br J Haematol* 97, 855-864

Ruggeri A, Labopin M, Ciceri F, Mohty M, Nagler A (2016): Definition of GvHD-free, relapse-free survival for registry-based studies: an ALWP-EBMT analysis on patients with AML in remission. *Bone Marrow Transplant* 51, 610-611

Sivula J, Cordova ZM, Tuimala J, Jaatinen T, Partanen J, Volin L, Turpeinen H (2012): Toll-like receptor gene polymorphisms confer susceptibility to graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Scand J Immunol* 76, 336-341

Slavin S, Nagler A, Naparstek E, Kapelushnik Y, Aker M, Cividalli G, Varadi G, Kirschbaum M, Ackerstein A, Samuel S, et al. (1998): Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood* 91, 756-763

Socié G, Ritz J (2014): Current issues in chronic graft-versus-host disease. *Blood* 124, 374-384

Socié G, Cliff RA, Blaise D, Devergie A, Ringden O, Martin PJ, Remberger M, Deeg HJ, Ruutu T, Michallet M, et al. (2001): Busulfan plus cyclophosphamide compared with total-body irradiation plus cyclophosphamide before marrow transplantation for myeloid leukemia: long-term follow-up of 4 randomized studies. *Blood* 98, 3569-3574

Sonnenberg GF, Fouser LA, Artis D (2011): Border patrol: regulation of immunity, inflammation and tissue homeostasis at barrier surfaces by IL-22. *Nat Immunol* 12, 383-390

Terry CF, Loukaci V, Green FR (2000): Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *J Biol Chem* 275, 18138-18144

Thomas E, Storb R, Clift RA, Fefer A, Johnson FL, Neiman PE, Lerner KG, Glucksberg H, Buckner CD (1975): Bone-marrow transplantation (first of two parts). *N Engl J Med* 292, 832-843

Tu S, Zhong D, Xie W, Huang W, Jiang Y, Li Y (2016): Role of Toll-Like Receptor Signaling in the Pathogenesis of Graft-versus-Host Diseases. *Int J Mol Sci* 17, 1288

Tvedt TH, Lie SA, Reikvam H, Rye KP, Lindas R, Gedde-Dahl T, Ahmed AB, Bruserud O (2016): Pretransplant Levels of CRP and Interleukin-6 Family Cytokines; Effects on Outcome after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Int J Mol Sci* 17, 1823

Tvedt THA, Ersvaer E, Tveita AA, Bruserud Ø (2017): Interleukin-6 in Allogeneic Stem Cell Transplantation: Its Possible Importance for Immunoregulation and As a Therapeutic Target. *Front Immunol* 8, 667-667

Vigorito AC, Campregher PV, Storer BE, Carpenter PA, Moravec CK, Kiem HP, Fero ML, Warren EH, Lee SJ, Appelbaum FR, et al. (2009): Evaluation of NIH consensus criteria for classification of late acute and chronic GVHD. *Blood* 114, 702-708

Wilkinson AN, Chang K, Kuns RD, Henden AS, Minnie SA, Ensbey KS, Clouston AD, Zhang P, Koyama M, Hidalgo J, et al. (2019): IL-6 dysregulation originates in dendritic cells and mediates graft-versus-host disease via classical signaling. *Blood* 134, 2092-2106

Witte E, Witte K, Warszawska K, Sabat R, Wolk K (2010): Interleukin-22: a cytokine produced by T, NK and NKT cell subsets, with importance in the innate immune defense and tissue protection. *Cytokine Growth Factor Rev* 21, 365-379

Xiao HW, Luo Y, Lai XY, Shi JM, Tan YM, He JS, Xie WZ, Zheng WY, Ye XJ, Yu XH, et al. (2014): Donor TLR9 gene tagSNPs influence susceptibility to aGVHD and CMV reactivation in the allo-HSCT setting without polymorphisms in the TLR4 and NOD2 genes. *Bone Marrow Transplant* 49, 241-247

Zhao K, Zhao D, Huang D, Song X, Chen C, Pan B, Wu Q, Cao J, Yao Y, Zeng L, et al. (2013): The identification and characteristics of IL-22-producing T cells in acute graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Immunobiology* 218, 1505-1513

Ziegler A, Lange S, Bender R (2007): [Survival analysis: Cox regression]. Dtsch Med Wochenschr 132, e42-44

Ziemer M, Haeusermann P, Janin A, Massi D, Ziepert M, Wolff D, Greinix H, Hillen U (2014): Histopathological diagnosis of graft-versus-host disease of the skin: an interobserver comparison. J Eur Acad Dermatol Venereol 28, 915-924

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Gerald Wulf für die Bereitstellung des Themas, die vielen hilfreichen Diskussionen sowie die freundliche und geduldige Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.

Ein ganz herzlicher Dank geht auch an Dr. Albert Rosenberger für seine unermüdliche Unterstützung vor allem bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Vielen Dank auch an Prof. Dr. Heike Bickeböller und Prof. Dr. Dieter Kube für die produktiven Gespräche während unserer gemeinsamen Treffen.

Vielen herzlichen Dank auch an meine Mitdotorandin Alexandra Voigt für die gute Zusammenarbeit und die gegenseitige Unterstützung.