

Aus der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie  
der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. D. Zillikens

---

**Retrospektive Untersuchungen zum  
langfristigen Krankheitsverlauf von Patienten mit Pemphigus,  
die mit Rituximab behandelt wurden**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck

**- Aus der Sektion Medizin -**

Vorgelegt von

**Theresia Dorothea Baumann**

aus Würzburg

Lübeck 2021

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Iakov Shimanovich

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Peter Lamprecht

Tag der mündlichen Prüfung: 13.10.2021

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 13.10.2021

Promotionskommission der Sektion Medizin

# Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	I
Tabellenverzeichnis.....	II
Abkürzungsverzeichnis .....	III
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Blasenbildende Autoimmundermatosen .....	1
1.2 Pemphigus-Erkrankungen .....	1
1.2.1 Varianten des Pemphigus .....	2
1.2.2 Epidemiologie.....	2
1.2.3 Zielantigene.....	2
1.2.4 Genetik.....	4
1.2.5 Pathophysiologie .....	4
1.2.6 Klinik.....	5
1.2.7 Diagnostik .....	7
1.3 Therapie des Pemphigus.....	9
1.4 Rituximab .....	9
<b>2 Fragestellung .....</b>	<b>12</b>
<b>3 Material/Methoden .....</b>	<b>13</b>
3.1 Ethik .....	13
3.2 Patientenkohorte .....	13
3.3 Datenerhebung.....	13
3.4 Definition der klinischen Behandlungsergebnisse .....	15
3.4.1 Vollremission ohne Therapie (VRoT) .....	15
3.4.2 Vollremission unter Therapie (VRuT) .....	15
3.4.3 Teilremission ohne/unter Therapie (TRoT/TRuT).....	15
3.4.4 Kein Ansprechen (KA).....	15

3.4.5	Langzeit-Vollremission ohne Therapie (LZ-VRoT) .....	16
3.4.6	Rezidiv .....	16
3.5	Studienziele .....	16
3.5.1	Primärer Endpunkt .....	16
3.5.2	Sekundäre Endpunkte.....	16
3.6	Statistische Analyse .....	17
3.6.1	Deskriptive Statistik.....	17
3.6.2	Statistische Tests .....	17
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>20</b>
4.1	Patientenkohorte .....	20
4.1.1	Vorthherapie.....	20
4.1.2	Dosierung von Rituximab .....	22
4.1.3	Dauer der Verlaufsbeobachtung .....	22
4.2	Klinische Behandlungsergebnisse nach Therapie mit Rituximab .....	22
4.2.1	Vollremission .....	25
4.2.2	Teilremission und fehlendes Therapieansprechen .....	26
4.2.3	Rezidive .....	27
4.2.4	Einflussfaktoren auf das klinische Behandlungsergebnis.....	29
4.3	Serologisches Ansprechen.....	32
4.4	Nebenwirkungen.....	34
4.4.1	Infektionen.....	34
4.4.2	Infusionsreaktionen .....	35
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>37</b>
5.1	Patientenkohorte .....	37
5.2	Klinische Behandlungsergebnisse nach Therapie mit Rituximab .....	38
5.2.1	Vollremission .....	38
5.2.2	Teilremission und fehlendes Therapieansprechen .....	40

5.2.3	Rezidive .....	41
5.2.4	Einflussfaktoren auf das klinische Behandlungsergebnis.....	42
5.3	Serologisches Ansprechen.....	44
5.4	Nebenwirkungen.....	45
5.4.1	Infektionen.....	45
5.4.2	Infusionsreaktionen .....	45
5.5	Limitationen und Ausblicke .....	46
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>47</b>
	Literaturverzeichnis .....	49
	Anhang.....	58
	Veröffentlichung .....	59
	Danksagung .....	60

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der verschiedenen Expressionsmuster von Desmoglein 1 und Desmoglein 3 in verhornender Haut und Schleimhaut .....	3
Abbildung 2: Klinik des Pemphigus vulgaris und Pemphigus foliaceus .....	6
Abbildung 3: Histopathologische und immunfluoreszenzoptische Befunde beim Pemphigus.....	8
Abbildung 4: Serologisches Ansprechen auf eine Behandlung mit Rituximab bei Patienten mit Pemphigus vulgaris und Pemphigus foliaceus ....	34

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Immunsuppressive Vortherapien bei Patienten mit Pemphigus, die mit Rituximab behandelt wurden.....	21
Tabelle 2: Klinische Behandlungsergebnisse bei Patienten mit Pemphigus unter der Behandlung mit Rituximab .....	23
Tabelle 3: Untersuchung möglicher Einflussfaktoren auf das klinische Behandlungsergebnis bei Patienten mit Pemphigus unter der Behandlung mit Rituximab .....	30
Tabelle 4: Einfluss der klinischen Ausgangssituation auf das Behandlungsergebnis bei Patienten mit Pemphigus unter der wiederholten Behandlung mit Rituximab im Rahmen eines Rezidivs .....	32
Tabelle 5: Serologische Veränderungen bei Patienten mit Pemphigus unter der Behandlung mit Rituximab .....	33
Tabelle 6: Infektionen bei Patienten mit Pemphigus, die mit Rituximab behandelt wurden.....	35
Tabelle 7: Nebenwirkungen bei Patienten mit Pemphigus unter der Infusion von Rituximab .....	36

## Abkürzungsverzeichnis

Dsg1 .....	<i>Desmoglein 1</i>
Dsg3 .....	<i>Desmoglein 3</i>
ELISA .....	<i>Enzyme-linked Immunabsorbent Assay</i>
HLA .....	<i>Humanes Leukozyten-Antigen</i>
KA .....	<i>Kein Ansprechen</i>
LZ-VRoT .....	<i>Langzeit-Vollremission ohne Therapie</i>
PF .....	<i>Pemphigus foliaceus</i>
PV .....	<i>Pemphigus vulgaris</i>
TR .....	<i>Teilremission</i>
TRoT .....	<i>Teilremission ohne Therapie</i>
TRuT .....	<i>Teilremission unter Therapie</i>
VR .....	<i>Vollremission</i>
VRoT .....	<i>Vollremission ohne Therapie</i>
VRuT .....	<i>Vollremission unter Therapie</i>



# 1 Einleitung

## 1.1 Blasenbildende Autoimmundermatosen

Blasenbildende Autoimmundermatosen sind eine heterogene Gruppe organspezifischer Autoimmunerkrankungen, die sich klinisch durch Blasen und Erosionen an Haut und/oder Schleimhäuten präsentieren. Charakteristisch ist das Auftreten von Autoantikörpern, die sich gegen Strukturproteine richten, die für den Zell-Zell-Kontakt von Keratinozyten untereinander sowie für die Adhäsion der Epidermis auf der Dermis verantwortlich sind. Als Ursachen der Autoantikörperentstehung werden neben immungenetischen Faktoren und proinflammatorischen Zytokinen auch Infektionen, Tumoren und Medikamente diskutiert.

Aufgrund verschiedener Zielstrukturen der Autoantikörper sowie unterschiedlicher klinischer Präsentation lassen sich die blasenbildenden Autoimmundermatosen in die Pemphigoid-Erkrankungen, die Dermatitis herpetiformis und die im Folgenden ausführlich behandelten Pemphigus-Erkrankungen untergliedern [Sadik et al., 2017].

## 1.2 Pemphigus-Erkrankungen

Die Bezeichnung Pemphigus leitet sich von dem griechischen Wort für Blase, *πέμφιξ* (Pempnix), ab und wurde erstmalig 1791 zur Bezeichnung blasenbildender Hauterkrankungen angewendet [Holubar, 1991]. Heutzutage beschreibt der Begriff eine Gruppe seltener, potenziell lebensbedrohlicher, chronischer Autoimmunerkrankungen, welche klinisch mit Bildung schlaffer Blasen und Erosionen an Haut und/oder Schleimhäuten einhergehen. Diesen liegt, anders als bei den übrigen oben genannten Gruppen, charakteristischerweise eine intraepidermale Spaltbildung zugrunde. Durch das Binden von Autoantikörpern an desmosomale Strukturproteine der Epidermis, insbesondere Desmoglein 1 (Dsg1) und/oder Desmoglein 3 (Dsg3), welche für den Zell-Zell-Zusammenhalt zwischen den einzelnen Keratinozyten verantwortlich sind, kommt es zum Verlust interzellulärer Adhäsion und somit zur Akantholyse mit Spaltbildung [Van Beek et al., 2018; Schmidt et al., 2019].

### 1.2.1 Varianten des Pemphigus

Die zwei häufigsten Varianten sind Pemphigus vulgaris (PV) und Pemphigus foliaceus (PF). Sie decken 90-95% der Pemphigus-Diagnosen ab. Circa 5% der Pemphigus-Erkrankungen sind auf eine Neoplasie zurückzuführen und werden als paraneoplastischer Pemphigus bezeichnet. Die einzelnen Formen können anhand unterschiedlicher Zielantigene und verschiedener klinischer Aspekte weitestgehend differenziert werden [Schmidt et al., 2019].

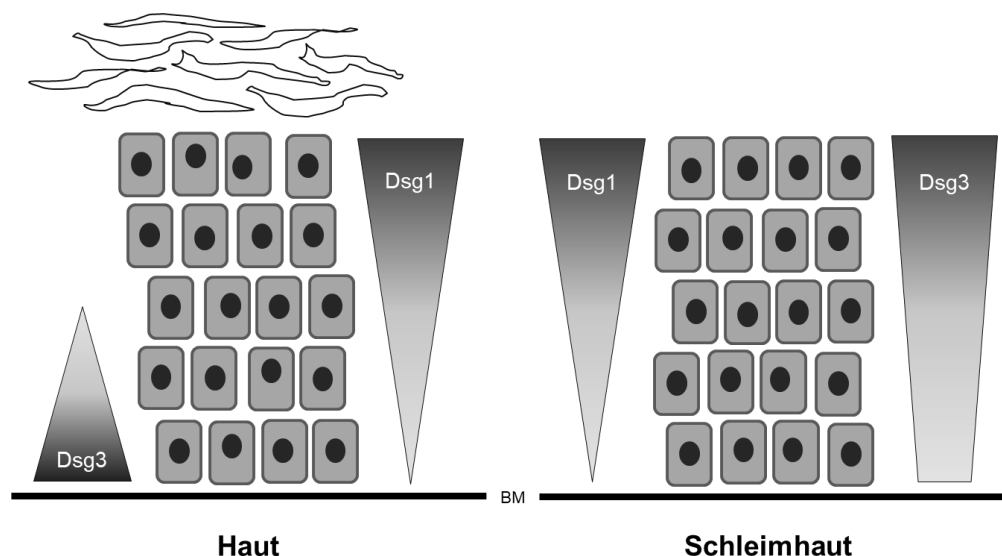
### 1.2.2 Epidemiologie

Insgesamt sind Pemphigus-Erkrankungen selten. Ihr Vorkommen weist deutliche geographische sowie ethnische Unterschiede auf [Meyer und Misery, 2010]. Der PV tritt mit 65-90% als häufigste Form in großen Teilen Europas sowie in Nordamerika auf, während der PF vermehrt in Finnland, der Türkei, Nordafrika, sowie in weiten Teilen Südamerikas, dort auch als endemische Form, verbreitet ist [Hans-Filho et al., 2018; Försti et al., 2019; Schmidt et al., 2019]. Die Inzidenz variiert stark mit 0,5 jährlichen Neuerkrankungen pro 1 Millionen Einwohner in Deutschland, 8 in Griechenland und bis zu 50 im Iran [Asilian et al., 2006; Michailidou et al., 2007; Bertram et al., 2009]. Im Schnitt manifestiert sich die Erkrankung zwischen der 4. und 6. Lebensdekade [Meyer und Misery, 2010]. Beim PV sind Frauen häufiger betroffen als Männer [Langan et al., 2008; Jelti et al., 2018]. Kridin et al. (2016) berichtet in einer Studie aus Israel zudem über eine dreifach höhere Inzidenz für PV bei askenasischen Juden. Insgesamt zeigt sich die Inzidenz der Pemphigus-Erkrankungen in den letzten Jahren steigend. Als Ursachen hierfür werden eine gesteigerte Bekanntheit der Erkrankung, verbesserte Diagnostik und das allgemein gestiegene Lebensalter der Bevölkerung diskutiert [Langan et al., 2008; Jelti et al., 2018; Försti et al., 2019].

### 1.2.3 Zielantigene

Die primären Zielantigene der IgG-Autoantikörper beim PV sind zwei Strukturproteine epithelialer Desmosomen, Dsg1 und Dsg3, beim PF liegen nur Autoantikörper gegen Dsg1 vor [Koch et al., 1990; Amagai et al., 1991]. Als epitheliale Desmosomen bezeichnet man Strukturen der Zellmembran, die über Keratinfilamente den Zusammenhalt benachbarter Keratinozyten auch unter mechanischer Beanspruchung gewährleisten. Desmogleine zählen zu den transmembranösen kalziumabhängigen Adhäsionsmolekülen, sogenannten

Cadherinen, welche sowohl intra- wie auch extrazellulär als wichtiger Teil dieser Desmosomen deren Funktion mitbedingen [Kowalczyk et al., 1996; Waschke und Spindler, 2014]. Sowohl Dsg1 als auch Dsg3 weisen unterschiedliche Expressionsmuster an Haut und Schleimhäuten auf (**Abbildung 1**) [Stanley und Amagai, 2006].



**Abbildung 1: Schematische Darstellung der verschiedenen Expressionsmuster von Desmoglein 1 und Desmoglein 3 in verhornender Haut und Schleimhaut**

Desmoglein 1 (Dsg1) wird sowohl in der Haut als auch in der Schleimhaut vor allem in oberflächennahen Schichten exprimiert. Bei Desmoglein 3 (Dsg3) findet die Expression in der Schleimhaut in allen Schichten, in der Epidermis hingegen nur in den basalen Abschnitten statt. BM, Basalmembran. [Modifiziert nach Sadik et al., 2017]

Nach der sogenannten Desmoglein-Kompensationstheorie findet die intraepidermale Spaltbildung dort statt, wo das primär vorkommende Desmoglein durch einen spezifischen Autoantikörper (Anti-Dsg1/3) angegriffen und das jeweils andere zu schwach exprimiert ist, um die Adhäsion zwischen den Keratinozyten alleine aufrecht zu erhalten. Aufgrund der Expressionsmuster von Dsg1 und Dsg3 zeigen sich bei PV und PF dementsprechend unterschiedliche klinische Phänotypen [Mahoney et al., 1999]. Selten (<5%) können bei beiden Pemphigusvarianten serologisch außerdem Autoantikörper gegen weitere desmosomale Cadherine, wie Desmocollin-1, -2 und -3 nachgewiesen werden

[Mindorf et al., 2017]. Weitere potenzielle Zielantigene, deren Rolle in der Pathophysiologie der Erkrankung noch nicht umfassend geklärt ist, sind muskarinerge und nikotinerge Acetylcholin-Rezeptoren, Pemphaxin, mitochondriale Proteine sowie die thyreoidale Peroxidase [Amber et al., 2018].

#### 1.2.4 Genetik

Beim PV liegt eine enge Assoziation zu Allelen der humanen Leukozyten-Antigene (HLA) der Klasse II vor, insbesondere zu HLA-DRB1\*0402, HLA-DRB1\*1401, HLA-DRB1\*1404 und HLA-DQB1\*0503 [Yan et al., 2012; Kasperkiewicz et al., 2017]. HLA-DRB\*0402 ist besonders in der jüdisch-askenasischen Bevölkerung vorherrschend [Ahmed et al., 1990]. HLA-DRB1\*04 wurde als häufigstes Allel in Verbindung mit PF sowohl in der nicht-endemischen, als auch in der endemischen Form identifiziert [Schmidt et al., 2019].

#### 1.2.5 Pathophysiologie

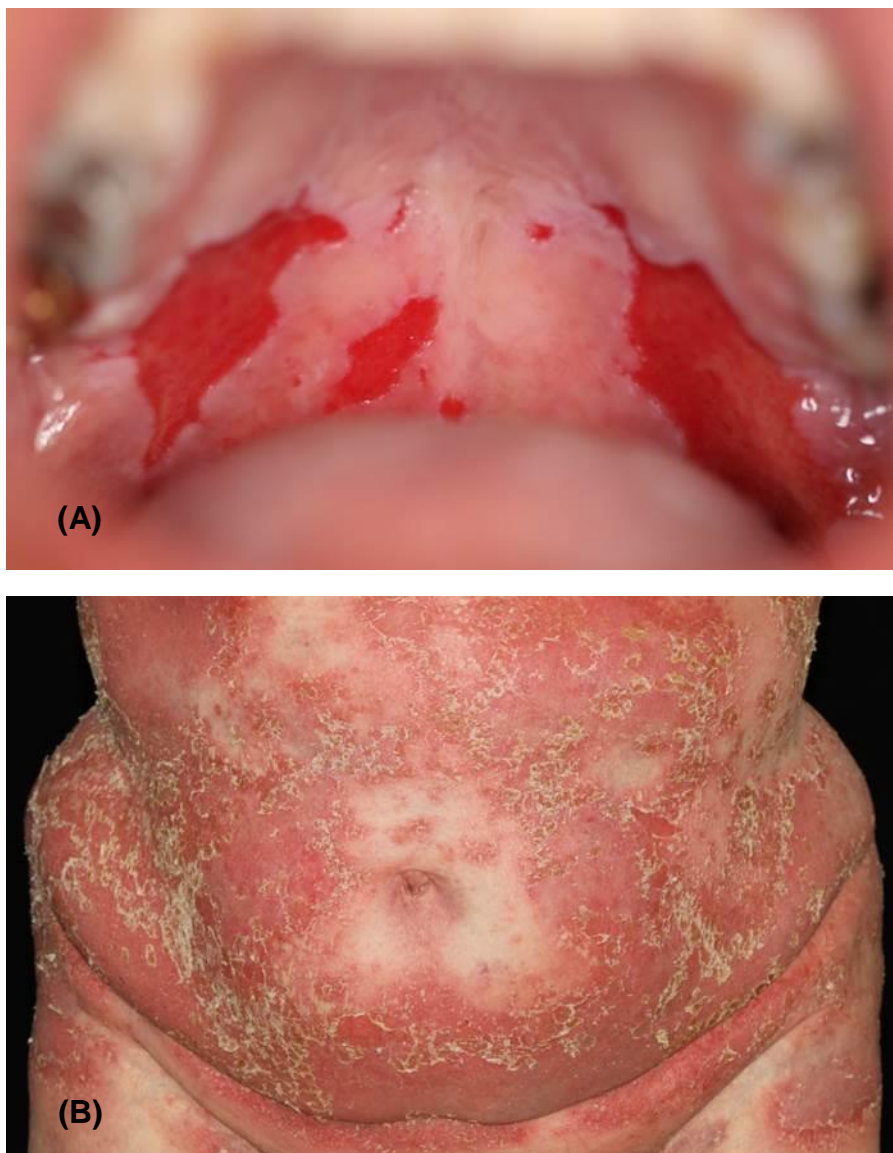
Beim Vorhandensein der genetischen Prädisposition können durch die entsprechenden HLA-Klasse-II-Moleküle spezifische Desmoglein-Peptide an der Oberfläche autologer antigenpräsentierender Zellen den CD4+-T-Lymphozyten präsentiert werden. Diese proliferieren daraufhin zu autoreaktiven Dsg-spezifischen T-Lymphozyten, welche im Folgenden durch die Sekretion von Interleukin-10 die Produktion Dsg-spezifischer IgG-Autoantikörper durch B-Zellen induzieren [Schmidt et al., 2019]. Die Rolle der CD4+-T-Zellen in der Pathophysiologie des PV konnte in einem Versuch mit genetisch veränderten Mäusen gezeigt werden. Diese exprimierten sowohl das HLA-DRB1\*0402-Allel sowie humane CD4+-T-Zellen. Nach Immunisierung mit humanem Dsg3 kam es zur Bildung humaner Dsg-spezifischer IgG-Antikörper und zur Akantholyse [Eming et al., 2014]. Die pathogenetische Relevanz von Autoantikörpern gegen Dsg1 und Dsg3 zeigte sich in zahlreichen Experimenten und klinischen Studien [Farb et al., 1978; Amagai et al., 2000; Schmidt et al., 2010]. Jedoch konnten auch in gesunden Trägern prädisponierender Allele Autoantikörper nachgewiesen werden, was darauf hindeutet, dass nicht alle von ihnen pathogenetisch wirksam sind. Dies könnte ein Grund für die bei einzelnen Patienten mit PV fehlende Korrelation zwischen Krankheitsaktivität und Autoantikörpertiter darstellen [Ahmed et al., 2016]. Der genaue Mechanismus der durch Anti-Dsg1/3-Autoantikörperbindung resultierenden Akantholyse sowie der Einfluss zusätzlicher Faktoren, wie nicht

desmosomale Antikörper oder lösliche Fas-Liganden bei der Genese des Pemphigus-Phänotyps, sind noch nicht abschließend geklärt [Schmidt et al., 2019].

## 1.2.6 Klinik

### 1.2.6.1 *Pemphigus vulgaris*

Beim Großteil der Patienten mit PV manifestiert sich die Erkrankung zuerst an der Mundschleimhaut. Das Integument zeigt sich wenn dann, bis auf wenige Ausnahmen, erst später betroffen. Bei isolierter Schleimhautbeteiligung spricht man von einem mukosalen PV. Betroffen sind vor allem Areale gesteigerter mechanischer Beanspruchung beim Kauen und Schlucken, wie Gaumen, Gingiva, Zunge, hintere Wangenschleimhaut und Mundboden (**Abbildung 2, A**). Zu beobachten sind schmerzhafte, nicht blutende Erosionen, nur selten Blasen. Im Nasen-Rachenraum sowie dem Ösophagus können diese je nach Ausprägung zu hämorrhagischen Krusten, Epistaxis, Dysphagie und Heiserkeit führen. Insgesamt erstrecken sich die durch Erosionen verursachten Beschwerden von dezent unangenehmem Gefühl beim Kauen von festen Nahrungsbestandteilen bis hin zur schmerzbedingten Vermeidung der Nahrungsaufnahme mit resultierender rascher Gewichtsabnahme. Weitere Schleimhautareale, wie Konjunktiven, Urethra, Glans penis, Vulva und Anus, sind nur selten betroffen. Treten zusätzlich auch an der Haut Läsionen auf, handelt es sich um einen mukokutanen PV. Prädilektionsstellen am Integument sind Kapillitium und Gesicht sowie ebenfalls mechanisch beanspruchte Areale, wie intertriginöse Regionen, Schultern, Ellbogen, Rücken und Gesäß. Dort bilden sich bei minimaler Belastung der Haut schlaaffe Blasen, die sehr leicht einreißen. Zurück bleiben oberflächliche, hellrote, nässende Erosionen, welche von den Patienten als stark brennend beschrieben werden. Aufgrund der Instabilität der Epidermis kommt es bei weiterer Beanspruchung zur peripheren Ausdehnung der Blasen und Erosionen, bis hin zu großflächigen Exfoliationen mit akuter Gefahr von Superinfektionen. Die Läsionen verheilen in der Regel ohne Narbenbildung [Sadik et al., 2017; Kasperkiewicz et al., 2017; Schmidt et al., 2019].



**Abbildung 2: Klinik des Pemphigus vulgaris und Pemphigus foliaceus**

**(A)** Pemphigus vulgaris mit großflächigen Erosionen am harten Gaumen; **(B)** Pemphigus foliaceus mit flächig konfluierenden blättereartig schuppenden Plaques im Bereich des Abdomens sowie der Leisten.

#### 1.2.6.2 *Pemphigus foliaceus*

Anders als beim PV zeigt sich beim PF keine Schleimhautbeteiligung. Läsionen treten ausschließlich am Integument auf. Prädilektionsstellen sind seborrhische Areale, wie Kapillitium, Gesicht und die vordere und hintere Schweißrinne. Klinisch zeigen sich in diesen Regionen meist Erytheme mit blättereartiger Schuppung (**Abbildung 2, B**). Eine Primäreffloreszenz in Form einer intakten Blase ist bei PF selten zu sehen, da aufgrund der subkornealen Spaltbildung die Blasendecke sehr dünn und noch instabiler ist als bei der suprabasalen Spaltbildung eines PV. Aus den eingerissenen Blasen entstehen nässende, brennende Erosionen und

Schuppenkrusten, die sich nach peripher ausbreiten können. Diese sind beim PF, anders als beim PV, gelegentlich mit Juckreiz verbunden. Nach Abheilung der Effloreszenzen kann an den betroffenen Stellen für mehrere Monate eine postinflammatorische Hyperpigmentierung verbleiben, Narben treten in der Regel auch hier nicht auf [Sadik et al., 2017; Schmidt et al., 2019].

In der klinischen Untersuchung fällt sowohl bei PV als auch bei PF das sogenannte Nikolsky-Zeichen I positiv aus. Durch Verschieben der oberflächlichen Epidermisschichten gesund erscheinender, periläsionaler Haut auf tiefer liegenden Schichten kann eine neue Blase oder Erosion provoziert werden [Sadik et al., 2017].

### 1.2.7 Diagnostik

Zur Diagnosestellung eines Pemphigus sind neben entsprechender Klinik und übereinstimmender Histopathologie entweder eine positive direkte Immunfluoreszenz oder der serologische Nachweis von pemphigustypischen Autoantikörpern obligat [Murrell et al., 2018].

#### 1.2.7.1 *Histopathologie*

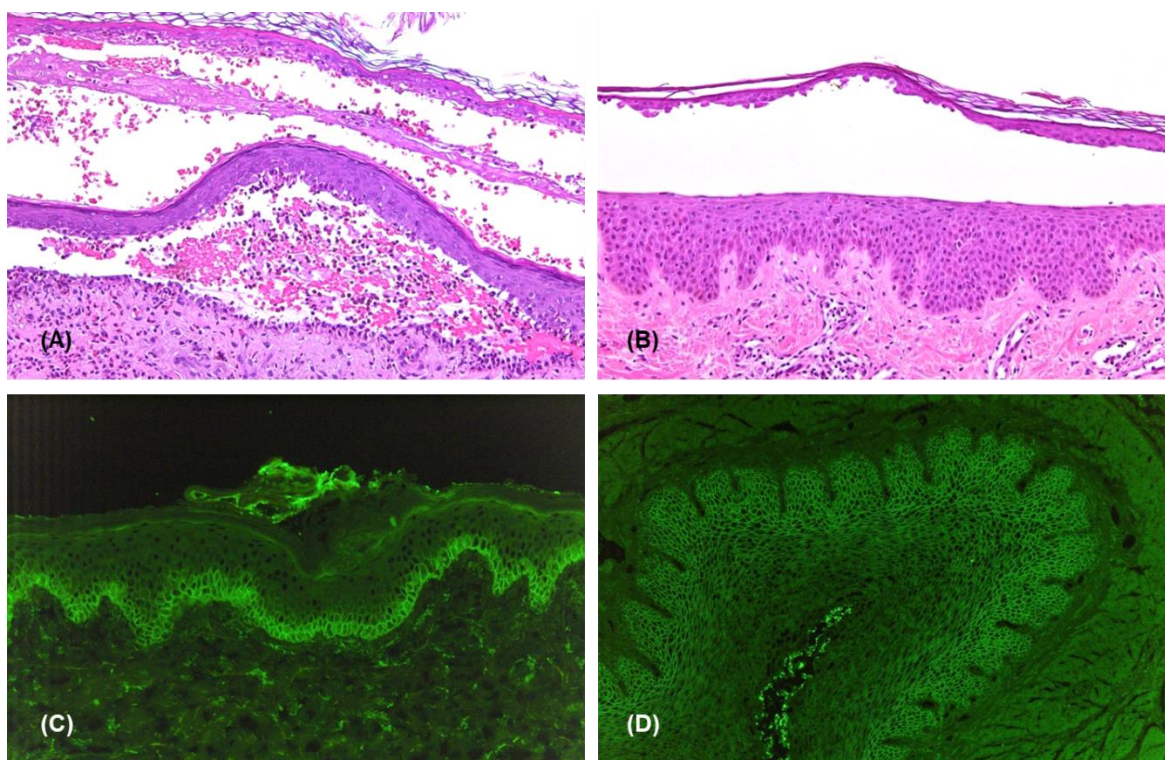
Die histologische Untersuchung einer frischen Läsion kann zur ersten Differenzierung zwischen Pemphigus-Erkrankungen und anderen blasenbildenden Autoimmundermatosen herangezogen werden, indem man die Ebene der Spaltbildung identifiziert (**Abbildung 3, A und B**) [Van Beek et al., 2018]. Bei Pemphigoid-Erkrankungen findet diese subepithelial, bei Pemphigus-Erkrankungen dagegen intraepidermal statt. Liegt ein intraepidermaler Adhäsionsverlust vor, kann dieser gegebenenfalls weiter in suprabasal oder subkorneal und damit in PV und PF differenziert werden [Sadik et al. 2017].

#### 1.2.7.2 *Direkte Immunfluoreszenz*

Goldstandard bei der Diagnostik blasenbildender Autoimmundermatosen ist die direkte Immunfluoreszenzmikroskopie einer periläsional entnommenen Hautbiopsie. Unter dem Mikroskop werden durch Fluoreszenzmarkierung sichtbar gemachte Ablagerungen von Immunglobulinen und Komplement entlang der interzellulären Strukturen beurteilt [Van Beek et al., 2018]. Beim PV bestehen diese vornehmlich aus IgG4 und finden sich verdichtet in basalen Epidermisschichten, während selbige beim PF in mittleren und oberen Schichten



betont sind (**Abbildung 3, C**). Zusätzlich finden sich bei PV häufig Ablagerungen von Komplementfaktor C3 sowie in seltenen Fällen von IgM- und IgA-Antikörpern [Sadik et al., 2017].



**Abbildung 3: Histopathologische und immunfluoreszenzoptische Befunde beim Pemphigus**

(A) Histopathologie eines Pemphigus vulgaris mit suprabasaler Spaltbildung und Akantholyse (100x); (B) Histopathologie eines Pemphigus foliaceus mit subkornealer Spaltbildung (100x); (C) Direkte Immunfluoreszenz einer periläsionalen Hautbiopsie bei Pemphigus vulgaris mit interzellulären IgG-Ablagerungen vor allem in basalen Epidermisschichten (200x); (D) Indirekte Immunfluoreszenz auf Affenösophagus: Bindung zirkulierender IgG-Autoantikörper produziert ein netzartiges, interzelluläres Muster bei Pemphigus vulgaris (100x).

### 1.2.7.3 Indirekte Immunfluoreszenz

Die indirekte Immunfluoreszenz dient dem Nachweis von zirkulierenden Autoantikörpern im Serum eines Patienten. Als sensitivstes Substrat für Pemphigus-Autoantikörper hat sich das Epithel vom Affen- oder Meerschweinchenösophagus erwiesen [Sabolinski et al., 1987]. Bei Anwesenheit von Autoantikörpern gegen Dsg1 und/oder Dsg3 im Serum binden diese bei Kontakt mit dem Substrat im interzellulären Muster (**Abbildung 3, D**). Die Verlaufsbeobachtung der Autoantikörpertiter kann zur Beurteilung der aktuellen



Krankheitsaktivität herangezogen werden und für die Therapieplanung von Bedeutung sein [Sadik et al., 2017].

#### *1.2.7.4 Enzyme-linked Immunoabsorbent Assay (ELISA)*

Hochsensitiven ELISA-Systemen gelingt die Identifikation und Quantifizierung antigenspezifischer Autoantikörper mittels rekombinanter Ektodomänen von Dsg1 und Dsg3, welche entweder durch Baculoviren (MBL, Nagoya, Japan) oder HEK293-Zellen (EUROIMMUN, Lübeck) exprimiert werden können. Sowohl für Anti-Dsg3-ELISA-Werte bei PV, als auch für Anti-Dsg1-ELISA-Werte bei PF konnte eine signifikante Korrelation mit der Krankheitsaktivität gezeigt werden. Aufgrund dessen werden ELISA-Werte im akuten Krankheitsstadium sowie im Verlauf regelmäßig zur Beurteilung der Krankheitsaktivität bestimmt [Harman et al., 2001; Schmidt et al., 2010; Van Beek et al., 2018].

### 1.3 Therapie des Pemphigus

Seit Jahrzehnten sind systemische Glukokortikoide, zumeist in Kombination mit glukokortikoidsparenden Adjuvantien, wie Azathioprin, Mycophenolaten oder Dapsone, die Hauptpfeiler in der Behandlung des Pemphigus [Hertl et al., 2015; Harman et al., 2017; Murrell et al., 2018]. Jedoch gelingt darunter nicht immer die Kontrolle der Erkrankung und es kommt häufig zu zahlreichen Nebenwirkungen [Wang et al., 2015]. Auch Methotrexat und Cyclophosphamid können manchmal als alternative Adjuvantien eingesetzt werden. Bei sehr schweren und/oder therapierefraktären Verläufen werden zusätzlich hochdosierte intravenöse Immunglobuline und Immunadsorption angewendet [Didona et al., 2019].

### 1.4 Rituximab

Ein weiteres Medikament, welches immer breiteren Einsatz bei Pemphigus findet, ist Rituximab. Dabei handelt es sich um einen chimären monoklonalen Antikörper, bei dem die variablen Regionen von Leicht- und Schwerketten muriner Antikörper gegen humanes CD20 mit den konstanten Regionen von humanen IgG1-Antikörpern fusioniert wurden [Reff et al., 1994]. Dieser Antikörper bindet an das humane B-Zell-spezifische Antigen CD20, welches an der Membranoberfläche von Prä-B-Zellen, unreifen und reifen B-Zellen sowie auf einigen malignen B-

Zellen exprimiert wird [Silverman und Weisman, 2003]. Durch die Antikörperbindung wird über komplement- und antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität sowie durch den Eingriff in intrazelluläre Signalwege mit resultierender Apoptose der Untergang dieser B-Zellen herbeigeführt. Bei einer Pemphigus-Erkrankung führt dies insbesondere zur Auslöschung von autoreaktiven B-Gedächtniszellen, wodurch die Entstehung weiterer kurzlebiger, pathogener autoantikörperproduzierender Plasmazellen verhindert werden kann. Die Depletion der B-Zellen hält für circa sechs bis zwölf Monate an [Browning, 2006; Musette und Bouaziz, 2018]. Durch das Nichtvorhandensein des CD20-Antigens auf multipotenten Stammzellen, Prä-Prä-B-Zellen sowie den meisten langlebigen Plasmazellen werden diese unter einer Therapie mit Rituximab verschont. Es wird davon ausgegangen, dass durch den Erhalt langlebiger Plasmazellen der Immunglobulinspiegel im Serum und damit die körpereigene Abwehr von Infektionen weitestgehend stabil gehalten wird. Diese Tatsache könnte die milde Ausprägung von Nebenwirkungen in Form von Infektionen bei dieser Therapieform erklären [Silverman und Weisman, 2003; Musette und Bouaziz, 2018].

Rituximab wurde erstmalig 1994 bei der Therapie von B-Zell-Lymphomen eingesetzt [Reff et al. 1994]. 2001 entdeckte Borradori et al. durch Zufall außerdem die Wirksamkeit des Antikörpers beim paraneoplastischen Pemphigus einer Lymphom-Patientin. Bei PV kam der Antikörper das erste Mal 2002, bei PF 2003 zum Einsatz [Salopek et al., 2002; Goebeler et al., 2003]. Aktuell ist er für die Behandlung von follikulären und diffus großzelligen B-Zell-Lymphomen, chronischer lymphatischer Leukämie, schwerer rheumatoider Arthritis, Granulomatose mit Polyangiitis und mikroskopischer Polyangiitis sowie seit kurzem bei mittelschwerem bis schwerem PV zugelassen [Maucher, 2019].

Rituximab führt in der Regel binnen weniger Monate zu einer Besserung und bei 80-90% aller Patienten im weiteren Verlauf sogar zu einer Vollremission (VR), wie in zahlreichen Fallserien und zwei Metaanalysen der vergangenen Jahre mit insgesamt mehr als 500 Pemphigus-Patienten beschrieben wird [Joly et al., 2007; Schmidt et al., 2009; Ahmed und Shetty, 2015; Wang et al., 2015; Kasperkiewicz et al., 2017; Joly et al., 2017]. In einer rezenten randomisierten kontrollierten Studie mit 90 Patienten wurde eine Erstlinientherapie mit Rituximab in

Kombination mit kurzzeitigem (mittelschwere Erkrankung: 3 Monate; schwere Erkrankung: 6 Monate), niedrigdosiertem, oralem Prednisolon mit einer alleinigen, langfristigen (mittelschwere Erkrankung: 12 Monate; schwere Erkrankung: 18 Monate) oralen Prednisolon-Therapie verglichen [Joly et al., 2017]. Hier konnte eine signifikant bessere Behandlungseffizienz unter Anti-CD20 Antikörpertherapie gezeigt werden. Bei kombinierter Gabe erreichten 89% der Patienten innerhalb von 24 Monaten eine VR, ohne weitere immunsuppressive Therapien zu benötigen; bei alleiniger Prednisolon-Gabe war das im gleichen Zeitraum nur bei 34% der Fall. Die verabreichte Dosis von Prednisolon konnte bei kombinierter im Vergleich zu alleiniger Gabe auf ein Drittel reduziert werden, die Zahl schwerwiegender Nebenwirkungen wurde halbiert. Die Rezidivrate lag im zweiten Jahr nach Therapiebeginn bei reiner Glukokortikoid-Therapie 4,3-fach höher als unter der Kombinationstherapie mit Rituximab. Angestoßen durch diese Ergebnisse nahm ein internationales Expertenkomitee 2018 neben den systemischen Glukokortikoiden auch Rituximab als Erstlinientherapie bei PV und PF in ihre Empfehlungen auf [Murrell et al., 2018]. Darüber hinaus wurde Rituximab 2018 in den USA und 2019 in der EU zur Behandlung von mittelschwerem bis schwerem PV zugelassen [Van Beek et al., 2019; Maucher, 2019].

## 2 Fragestellung

Pemphigus ist eine seltene, potenziell lebensbedrohliche, chronische Autoimmunerkrankung. Eine frühzeitige und effektive Therapie ist aufgrund teils starker körperlicher Beeinträchtigung, der Gefahr von Superinfektionen und einer deutlich reduzierten Lebensqualität essenziell. Die über Jahrzehnte vorrangig zur Behandlung des Pemphigus angewandten systemischen Glukokortikoide sind sehr nebenwirkungsreich und manchmal nicht ausreichend wirksam.

Rituximab, ein monoklonaler Antikörper gegen CD20, wird nun seit 20 Jahren in der Behandlung des Pemphigus eingesetzt. Das Medikament besitzt eine ausgezeichnete Wirksamkeit und führt bei den meisten Patienten innerhalb von wenigen Monaten zu einer VR der Erkrankung. Die meisten Studien, die sich mit der Wirksamkeit von Rituximab bei Pemphigus befassen, haben sich jedoch auf kurze bis mittelfristige Behandlungsergebnisse fokussiert. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es hingegen, die langfristigen Effekte der CD20-spezifischen Therapie beim Pemphigus zu evaluieren. Hierzu wurden insbesondere die Dauer der erreichten VR sowie die Häufigkeit der Rezidive und deren Ansprechen auf wiederholte Rituximab-Gaben untersucht. Darüber hinaus versuchten wir die Faktoren herauszuarbeiten, die einen guten langfristigen Behandlungserfolg mit Rituximab vorhersagen würden.

### 3 Material/Methoden

#### 3.1 Ethik

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt (Aktenzeichen: 16-332, Datum: 11.12.2017) und in Übereinstimmung mit der letzten Revision der Deklaration von Helsinki (2008, Seoul) durchgeführt.

#### 3.2 Patientenkohorte

Aus der elektronischen Datenbank der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie des UKSH, Campus Lübeck, wurden mittels der Stichwortsuche „Pemphigus“ retrospektiv alle Patienten, die zwischen 01.01.2004 und 31.12.2014 mit dieser Diagnose dort vorstellig geworden waren, ermittelt.

Als Einschlusskriterien galten:

- die gesicherte Diagnose eines Pemphigus durch entsprechenden klinischen Befund mit positiver direkter Immunfluoreszenz und gegebenenfalls serologischem Autoantikörpernachweis
- der Erhalt von mindestens einem vollständigen Zyklus Rituximab zur Pemphigus-Behandlung
- eine kontinuierliche klinische Verlaufsbeobachtung in unserer Klinik für mindestens 36 Monate nach der ersten Behandlung mit Rituximab.

#### 3.3 Datenerhebung

Insgesamt identifizierten wir 72 Patienten, welche die Einschlusskriterien erfüllten. Diese wurden entweder persönlich im Rahmen einer Routinevorstellung in unserer Klinik oder per Telefon kontaktiert und über die Eckdaten der Auswertung informiert sowie über rechtliche Aspekte aufgeklärt. Nach Einholung einer schriftlichen Einverständniserklärung wurden die notwendigen Daten aus den Patientenakten extrahiert, in pseudonymisierter Form gespeichert und ausgewertet.

Folgende Parameter wurden dabei aus den Befundberichten entnommen:

- *Demographische Angaben:*
  - Alter (zum Zeitpunkt der ersten Rituximab-Behandlung)
  - Geschlecht
- *Diagnose:*
  - Art des Pemphigus
  - Zeitpunkt der Erstdiagnose
- *Therapie:*
  - Immunsuppressive Therapie vor, während und nach Rituximab-Behandlung
  - Zeitpunkte aller Rituximab-Gaben
  - Dosierung aller Rituximab-Gaben
- *Klinik:*
  - Bestes Behandlungsergebnis nach erstmaliger Therapie mit Rituximab (Definitionen s. 3.4.)
  - Anzahl aufgetretener Rezidive pro Patient
  - Zeitpunkte aufgetretener Rezidive
  - Bestes Behandlungsergebnis nach weiteren Rituximab-Zyklen
- *Serologie:*
  - Dsg1/3-ELISA-Befunde vor Beginn der Behandlung mit Rituximab
  - Dsg1/3-ELISA-Befunde sechs Monate nach zuletzt verabreichtem Rituximab-Zyklus
- *Nebenwirkungen*
  - Anzahl der Nebenwirkungen
  - Art der Nebenwirkungen
  - Schwere der Nebenwirkungen

Patienten, die länger als sechs Monate nicht mehr persönlich zur Verlaufsbeobachtung in der Klinik vorstellig gewesen waren, wurden telefonisch kontaktiert und anhand eines standardisierten Fragebogens (s. *Anhang*) zu ihrem aktuellen Krankheitsstatus (Beschwerden, Medikamenteneinnahme) befragt.

### 3.4 Definition der klinischen Behandlungsergebnisse

Dem einschlägigen Konsensuspapier [Murrell et al., 2008] folgend, haben wir die Behandlungsergebnisse wie folgt eingeordnet:

#### 3.4.1 Vollremission ohne Therapie (VRoT)

Alle Läsionen an Haut und/oder Schleimhaut sind abgeheilt und keine neuen Läsionen treten auf, obwohl alle immunsuppressiven Medikamente vor mindestens zwei Monaten abgesetzt wurden.

#### 3.4.2 Vollremission unter Therapie (VRuT)

Alle Läsionen an Haut und/oder Schleimhaut sind abgeheilt und keine neuen Läsionen treten auf, es ist aber eine weitere minimale Immunsuppression notwendig.

Diese ist definiert als die Einnahme von:

- Prednisolon bis zu 10 mg/d und/oder
- Mycophenolatmofetil bis zu 1500 mg/d oder
- Mycophenolatnatrium bis zu 1080 mg/d oder
- Azathioprin bis zu 1,25 mg/kg/d oder
- Dapson bis zu 1 mg/kg/d

für mindestens zwei Monate.

Aus praktischen Gründen wurden Mycophenolatmofetil sowie Mycophenolatnatrium nicht differenziert betrachtet.

#### 3.4.3 Teilremission ohne/unter Therapie (TRoT/TRuT)

Die Teilremission ist definiert durch das vorübergehende Auftreten neuer Läsionen, welche innerhalb einer Woche wieder abheilen bzw. durch eine wesentliche Verbesserung bestehender Läsionen, jedoch ohne das Erreichen einer vollständigen Abheilung. Für die Differenzierung „ohne Therapie“ (TRoT) und „unter Therapie“ (TRuT) sowie für die Therapie selbst, gelten die gleichen Definitionen, wie für die VR (s. 3.4.1. und 3.4.2.).

#### 3.4.4 Kein Ansprechen (KA)

Als fehlendes Ansprechen wird ein Zustand beschrieben, in dem trotz systemischer Behandlung mit Immunsuppressiva unter Ausschöpfung der vollen

therapeutischen Dosen keine ausreichende Kontrolle der Krankheitsaktivität erreicht werden kann.

#### 3.4.5 Langzeit-Vollremission ohne Therapie (LZ-VRoT)

Zusätzlich legten wir als weiteres Behandlungsergebnis die Langzeit-Vollremission ohne Therapie fest. Diese ist erreicht, wenn für mindestens 36 Monate nach Absetzen aller immunsuppressiven Medikamente vollständige Beschwerdefreiheit bestehen bleibt.

#### 3.4.6 Rezidiv

Ein Rezidiv ist definiert durch das Auftreten mindestens drei neuer Läsionen im Zeitraum eines Monats, die nicht spontan innerhalb einer Woche abheilen. Auch die erneute Ausbreitung bestehender Läsionen bei Patienten, die zuvor in einer TR waren, wird als solches gewertet.

### 3.5 Studienziele

#### 3.5.1 Primärer Endpunkt

Primärer Endpunkt unserer Studie war die Rate der Patienten, die nach der ersten Behandlung mit Rituximab eine VRoT erreichten.

#### 3.5.2 Sekundäre Endpunkte

Als sekundäre Endpunkte zählten

- (1) die Rate der Patienten, die zu irgendeinem Zeitpunkt der Studie eine VR erreichten,
- (2) die Rate der Patienten mit LZ-VRoT,
- (3) die Rate an Rezidiven nach Rituximab-induzierter VR,
- (4) die mediane Dauer bis zu einem Rezidiv nach Rituximab-induzierter VR,
- (5) die Veränderung der Dsg-spezifischen Autoantikörperspiegel im Serum der Patienten von vor zu nach Rituximab-Gabe sowie
- (6) Anzahl, Art und Schwere aufgetretener Nebenwirkungen während und nach der Behandlung mit Rituximab.



## 3.6 Statistische Analyse

### 3.6.1 Deskriptive Statistik

Die Patientencharakteristika sowie die klinischen Behandlungsergebnisse wurden mit Hilfe deskriptiver Statistik (Medianwerte, Proportionen in Prozent, Mittelwerte und Streuung) zusammengefasst.

### 3.6.2 Statistische Tests

Vergleiche zwischen einzelnen Gruppen mit unterschiedlichem klinischem Behandlungsergebnis wurden anhand folgender statistischer Tests mit GraphPad Prism 7 für Mac OS X vorgenommen.

#### 3.6.2.1 *Exakter Test nach Fisher*

Mit dem exakten Test nach Fisher kann mittels einer Vierfelder-Kontingenztafel ein Signifikanztest auf Unabhängigkeit zweier dichotomer Merkmale durchgeführt werden. Anders als der Chi-Quadrat-Test erhebt dieser dabei keine Voraussetzung an den Stichprobenumfang und liefert auch bei einer geringen Anzahl von Beobachtungen zuverlässige Resultate.

Zur Exploration der Frage, welche Faktoren das klinische Ansprechen auf die Behandlung mit Rituximab mitbedingen, teilten wir die Daten anhand der Behandlungsergebnisse in zwei Gruppen ein (VRoT/kein VRoT, zu unterschiedlichen Zeitpunkten). Mittels des exakten Tests nach Fisher wurde dann getestet, ob das Behandlungsergebnis eine Unabhängigkeit aufweist von:

- Form des Pemphigus (PV/PF),
- Geschlecht der Patienten (F/M),
- Alter der Patienten ( $>65/\leq 65$  und  $\geq 65/\leq 45$ ; in Jahren),
- angewandtem Behandlungsschema (Definition s. 4.1.2.) und
- Serumspiegel der Anti-Dsg-Autoantikörper vor Beginn der Rituximab-Behandlung ( $\leq 100/>100$ ,  $\leq 250/>250$  und  $\leq 1.000/>1.000$ ; in U/ml).

Wir nahmen weiterhin an, dass Patienten, die bei einer ersten Behandlung mit Rituximab deutliche Symptomverbesserung zeigten (VR), auch bei einer erneuten Gabe (im Rahmen eines Rezidivs oder zur weiteren klinischen Verbesserung) positiver ansprechen würden, als Patienten mit einem initial schlechteren Behandlungsergebnis (TR, KA). Um dies zu überprüfen teilten wir die Patienten

anhand der Behandlungsergebnisse nach einer erneuten Gabe in zwei Gruppen ein (VRoT/kein VRoT nach 2. Rituximab-Zyklus; LZ-VRoT/kein LZ-VRoT nach 2. Rituximab-Zyklus) und untersuchten diese mit Hilfe des exakten Tests nach Fisher auf einen Zusammenhang mit dem Ausgangs-Behandlungsergebnis (VR oder TR bzw. KA).

### 3.6.2.2 *Ungepaarter t-Test (zweiseitig)*

Anhand des ungepaarten zweiseitigen t-Tests kann geprüft werden, ob die Mittelwerte zweier Grundgesamtheiten gleich oder verschieden voneinander sind.

Wir stellten die Annahme auf, dass sich eine kürzere Erkrankungsdauer, ein geringeres Alter und niedrigere Autoantikörperspiegel günstig auf das klinische Behandlungsergebnis einer Rituximab-Therapie auswirken könnten.

Daraus resultierend überprüften wir, ob sich die Patientengruppen unterteilt nach klinischem Behandlungsergebnis (VRoT/kein VRoT, zu unterschiedlichen Zeitpunkten) in Hinsicht auf folgende Faktoren unterschieden:

- Mittlere Erkrankungsdauer vor Beginn der Rituximab-Behandlung (in Monaten  $\pm$  SEM),
- Mittleres Alter der Pemphigus-Patienten (in Jahren  $\pm$  SEM)
- Mittlere Anti-Dsg-Autoantikörperspiegel (in U/ml  $\pm$  SEM) vor Beginn der Rituximab-Behandlung

### 3.6.2.3 *Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test*

Mit Hilfe des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests können zwei gepaarte Stichproben von ordinalskalierten Zufallsvariablen X und Y auf die Gleichheit der zentralen Tendenz der zugrundeliegenden Grundgesamtheit untersucht werden.

Angenommen wurde ein positiver Effekt der Rituximab-Behandlung auf die Krankheitsaktivität (niedrigere Spiegel Dsg-spezifischer Autoantikörper nach Rituximab-Gabe) und somit Unterschiede zwischen den Autoantikörperspiegeln vor und nach der Behandlungsepisode.

Um eine Veränderung der Dsg-spezifischen Autoantikörperspiegel im Serum (in U/ml) von vor Beginn der Behandlung mit Rituximab (Variable X) zu sechs Monate nach der letzten Behandlung mit Rituximab (Variable Y) zu untersuchen, wendeten wir den beschriebenen Test an. Er wurde jeweils für die zwei

unterschiedlichen Pemphigusvarianten, PV (Antikörperspiegel gegen Dsg3) und PF (Antikörperspiegel gegen Dsg1), durchgeführt.

Das Signifikanzniveau wurde bei allen drei Tests auf  $p < 0,05$  festgelegt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Patientenkohorte

Von den 72 Patienten, die die Einschlusskriterien erfüllten, konnten 13 aufgrund unvollständiger Daten zur Verlaufsbeobachtung nicht eingeschlossen werden. Die verbleibende Kohorte umfasste 59 Patienten, von denen 45 die Diagnose PV und 14 PF trugen. Achtundzwanzig Patienten waren männlich (18 mit PV, 10 mit PF), 31 weiblich (27 mit PV, 4 mit PF). Das mediane Alter lag bei 58 Jahren (Spannweite 18-89 Jahre).

Bei allen eingeschlossenen Patienten lag entweder ein schwerer und/oder therapierefraktärer Verlauf der Pemphigus-Erkrankung vor oder es bestanden Nebenwirkungen oder Kontraindikationen gegenüber anderen systemischen Therapien.

#### 4.1.1 Vortherapie

Dreiundfünfzig der 59 Patienten (90%) hatten vor Beginn der Therapie mit Rituximab verschiedene systemische immunsuppressive Therapien erhalten (**Tabelle 1**). Davon wurden 50 Patienten initial mit Glukokortikoiden, wie Prednisolon (oral) oder Dexamethason (intravenös) behandelt, welche im Verlauf in allen Fällen mit glukokortikoidsparenden Adjuvantien, wie Azathioprin, Mycophenolaten oder Dapsone, kombiniert wurden. Darüber hinaus kam bei 7 Patienten Ciclosporin A, bei 5 Patienten Cyclophosphamid und bei 3 Patienten Methotrexat zum Einsatz. Im Rahmen von therapierefraktären und/oder sehr schweren Verläufen erhielten 5 Patienten hochdosierte intravenöse Immunglobuline, 4 Patienten Protein-A-Immunadsorption, 6 Patienten Plasmapherese und 1 Patient Infliximab. Sechs der 59 Patienten (10%) erhielten keine systemische immunsuppressive Therapie vor Beginn der Behandlung mit Rituximab. Die mediane Behandlungsdauer vor Therapiebeginn mit Rituximab betrug 20 Monate (Spannweite 0-170 Monate).

**Tabelle 1: Immunsuppressive Vortherapien bei Patienten mit Pemphigus, die mit Rituximab behandelt wurden**

Pat ID	Dauer Vortherapie [M]	Vortherapie	Pat ID	Dauer Vortherapie [M]	Vortherapie
PV1	-	Keine	PF1	6	PRED, AZA, CP
PV2	-	Keine	PF2	4	PRED, MMF
PV3	-	Keine	PF3	6	PRED, AZA
PV4	-	Keine	PF4	7	PRED, CIC-A
PV5	2	PRED	PF5	8	PRED, MMF, INFLIX
PV6	4	PRED, DEXA, AZA, PP	PF6	27	PRED, AZA, DAP
PV7	4	PRED, AZA	PF7	45	PRED, AZA, MMF, CIC-A, PP
PV8	6	PRED, AZA	PF8	50	PRED, AZA, DAP, MTX
PV9	6	DEXA, AZA	PF9	53	PRED, AZA, DAP
PV10	6	PRED, AZA, MMF	PF10	65	PRED, AZA
PV11	8	PRED, AZA	PF11	55	PRED, DEXA, AZA, DAP
PV12	9	DEXA, AZA, MMF	PF12	21	PRED, AZA, MMF, DAP, CIC-A, IVIG
PV13	11	PRED, AZA, MMF	PF13	55	PRED, AZA
PV14	12	PRED, AZA	PF14	4	PRED, AZA, DAP, PAIA
PV15	13	PRED, DEXA, AZA			
PV16	16	DEXA, AZA, MMF			
PV17	18	PRED, AZA, CIC-A			
PV18	18	AZA, DAP			
PV19	20	PRED, AZA			
PV20	20	PRED, MMF, IVIG			
PV21	21	DEXA, AZA, MMF, CP			
PV22	29	DEXA, AZA, PAIA			
PV23	29	DEXA, AZA			
PV24	31	PRED, DEXA, AZA, CP, MMF, IVIG			
PV25	31	PP, PAIA			
PV26	32	PRED, AZA, MMF, DAP			
PV27	33	PRED, AZA			
PV28	34	PRED, AZA, MMF, DAP, MTX, PAIA			
PV29	35	PRED, AZA, MMF, PP			
PV30	37	PRED, AZA			
PV31	40	DEXA, AZA, MMF			
PV32	-	Keine			
PV33	49	PRED, AZA			
PV34	50	PRED, AZA, DAP, IVIG			
PV35	68	PRED, AZA, CIC-A			
PV36	71	PRED, AZA, MMF			
PV37	73	PRED, MMF			
PV38	93	PRED, DEXA, AZA, MMF, CP			
PV39	142	PRED, DEXA, IVIG, MMF, PP			
PV40	145	PRED, AZA, MMF, DAP, CIC-A, CP, MTX, PP			
PV41	170	PRED, AZA, CIC-A, DAP			
PV42	-	Keine			
PV43	27	PRED, AZA, MMF			
PV44	3	PRED, AZA			
PV45	5	PRED			

AZA, Azathioprin; CIC-A, Ciclosporin A; CP, Cyclophosphamid; DAP, Dapson; DEXA, Dexamethason-Pulstherapie; INFLIX, Infliximab; IVIG, Intravenöse Immunglobuline; M, Monate; MMF, Mycophenolatmofetil/ Mycophenolatsodium; MTX, Methotrexat; PAIA, Protein-A-Immunsorption; Pat, Patienten; PF, Pemphigus foliaceus; PP, Plasmapherese; PRED, Prednisolon; PV, Pemphigus vulgaris.

#### 4.1.2 Dosierung von Rituximab

Der erste Zyklus Rituximab wurde bei 13 Patienten (22%) in einer für die Behandlung des B-Zell-Lymphoms zugelassenen Dosis (375 mg/m<sup>2</sup> Körperoberfläche, 4 Infusionen mit jeweils 1 Woche Abstand) und bei 46 Patienten (78%) in einer ursprünglich für rheumatoide Arthritis zugelassenen Dosis (1000 mg, 2 Infusionen mit 2 Wochen Abstand) verabreicht (**Tabelle 2**). Die Prämedikation bestand jeweils aus 10 mg Cetirizin und 1 g Paracetamol. Während der Durchführung der Rituximab-Therapie erhielten alle Patienten weiterhin systemische Glukokortikoide (oral oder intravenös), sowie glukokortikoidsparende Medikamente. Diese wurden im Verlauf in Abhängigkeit der klinischen Verbesserung der Patienten in der Dosis angepasst. Spätere Rituximab-Zyklen entsprachen in der Dosierung stets dem für rheumatoide Arthritis zugelassenen Schema.

#### 4.1.3 Dauer der Verlaufsbeobachtung

Die mediane Dauer der Verlaufsbeobachtung der Patienten nach Erhalt der ersten Rituximab-Infusion betrug 104 Monate (Spannweite 38-182 Monate) (**Tabelle 2**).

### 4.2 Klinische Behandlungsergebnisse nach Therapie mit Rituximab

Insgesamt führte eine Therapie mit Rituximab in unserer Studie bei 58 von 59 Patienten (98%) zu einer klinischen Besserung. Der Verlauf jedes einzelnen Patienten ist detailliert in **Tabelle 2** dargestellt:

**Tabelle 2: Klinische Behandlungsergebnisse bei Patienten mit Pemphigus unter der Behandlung mit Rituximab**

Pat ID, Geschlecht, Alter	1. Zyklus Rituximab		2. Zyklus Rituximab		3. Zyklus Rituximab		4. Zyklus Rituximab		5. Zyklus Rituximab		Minimale Therapie <sup>3</sup>	Dauer Verlaufs- beobachtung <sup>1,4</sup>
	Dosis	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>	Regime	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>	Regime	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>	Regime	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>	Regime	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>		
PV1, F, 57	R	VRoT/24									AZA	124
PV2, F, 76	R	VRoT/23									unbekannt	41
PV3, F, 67	R	VRuT/29	R	TRoT/15	R	VRuT/19	R	VRuT/30	R	VRuT/-	MMF	126
PV4, F, 75	L	LZ-VRoT/-									keine	158
PV5, M, 48	R	VRoT/65	R	VRoT/24	R	VRoT/-					keine	119
PV6, M, 69	R	TRuT/↑	R	VRoT/20	R	LZ-VRoT/-					keine	78
PV7, F, 55	R	VRoT/22	R	VRuT/-							DAP	132
PV8, M, 46	R	LZ-VRoT/-									keine	87
PV9, F, 45	R	VRuT/19	R	LZ-VRoT/-							keine	136
PV10, M, 89	R	VRuT/19	R	VRuT/19	R	VRuT/-					MMF	62
PV11, F, 55	R	VRuT/42	R	TRuT/-							MMF	49
PV12, M, 60	R	VRuT/14									MMF	128
PV13, F, 68	R	LZ-VRoT/-									keine	134
PV14, M, 77	R	VRuT/25	R	VRuT/22	R	VRuT/41	R	VRuT/26	R	VRuT/-	MMF	138
PV15, F, 58	R	VRoT/17	R	VRuT/58	R	VRuT/-					DAP	135
PV16, F, 48	R	VRoT/-									keine	64
PV17, M, 61	L	KA/↑	R	TRuT/41	R	VRuT/-					MMF	154
PV18, F, 79	R	VRuT/27	R	VRoT/-							keine	69
PV19, F, 48	L	KA/↑	R	KA/↑	R	VRuT/-					MMF	168
PV20, M, 26	R	TRuT/17	R	TRuT/8	R	VRuT/13	R	TRoT/-			keine	44
PV21, F, 75	L	LZ-VRoT/-									keine	100
PV22, F, 73	R	VRoT/-									keine	69
PV23, M, 53	R	VRoT/-									keine	97
PV24, M, 80	R	VRuT/66	R	VRoT/-							keine	135
PV25, M, 74	L	VRoT/-									keine	57
PV26, F, 76	R	VRuT/30	R	VRoT/33	R	VRoT/23	R	VRoT/25	R	VRoT/-	keine	138
PV27, M, 68	R	VRuT/-									AZA	123
PV28, M, 47	R	VRuT/17	R	VRuT/45	R	VRoT/-					keine	78
PV29, F, 70	L	KA/↑	R	VRuT/18	R	VRuT/37	R	VRuT/18	R	VRuT/-	MMF	161
PV30, F, 46	R	TRuT/↑	R	VRuT/8	R	VRuT/-					MMF	55
PV31, F, 56	R	TRuT/18	R	VRuT/36	R	VRuT/24	R	VRuT/-			MMF	99
PV32, F, 49	R	VRuT/40	R	LZ-VRoT/62	R	VRuT/11					AZA	128
PV33, F, 58	L	VRuT/20	R	VRoT/83							MMF	147
PV34, F, 47	R	VRuT/-									AZA	84
PV35, M, 66	L	LZ-VRoT/156	R	VRoT/-							keine	162
PV36, F, 75	R	KA/↑	R	KA/↑	R	TRuT/↑	R	VRuT/↑	R	VRuT/↑ <sup>5</sup>	MMF	117
PV37, F, 55	R	LZ-VRoT/-									keine	112
PV38, F, 76	R	VRoT/-									keine	83
PV39, F, 61	R	VRoT/-									keine	66

**Tabelle 2 (Fortsetzung)**

Pat ID, Geschlecht, Alter	1. Zyklus Rituximab		2. Zyklus Rituximab		3. Zyklus Rituximab		4. Zyklus Rituximab		5. Zyklus Rituximab		Minimale Therapie <sup>3</sup>	Dauer Verlaufs- beobachtung <sup>1,4</sup>
	Dosis	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>	Regime	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>	Regime	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>	Regime	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>	Regime	BE/ Dauer bis Rezidiv <sup>1,2</sup>		
PV40, M, 58	R	VRuT/11	R	VRuT/11							keine	123
PV41, M, 39	R	VRuT/26	R	LZ-VRoT/-							keine	64
PV42, F, 38	R	LZ-VRoT/-									keine	113
PV43, M, 47	L	LZ-VRoT/-									keine	182
PV44, M, 18	R	VRuT/16	R	VRuT/-							MMF	55
PV45, F, 30	R	VRoT/24	R	VRoT/-							keine	60
PF1, F, 41	R	VRoT/35	R	LZ-VRoT/42							AZA, PRED	101
PF2, F, 72	R	VRoT/65	R	VRoT/-							keine	113
PF3, M, 81	R	TRuT/↑	R	TRuT/13	R	VRoT/-					keine	67
PF4, M, 52	R	TRuT/7	R	VRuT/26	R	VRuT/-					MMF	92
PF5, M, 63	R	TRuT/11	R	VRoT/31	R	TRuT/18	R	LZ-VRoT/-			keine	104
PF6, M, 71	R	VRuT/14	R	VRoT/-							keine	78
PF7, F, 42	L	KA/↑	R	KA/↑	R	VRuT/-					MMF	165
PF8, F, 83	L	TRoT/-									keine	134
PF9, M, 88	R	VRoT/29	R	VRuT/-							DAP	59
PF10, M, 56	R	TRuT/17	R	LZ-VRoT/-							keine	142
PF11, M, 66	L	TRuT/34	R	TRuT/-							MMF	57
PF12, M, 21	R	VRuT/46	R	VRuT/-							MMF	53
PF13, M, 59	R	VRuT/-									MMF	38
PF14, M, 46	L	KA/↑	R	KA/↑ <sup>6</sup>							-	75

<sup>1</sup>alle Zeiträume sind in Monaten angegeben;

<sup>2</sup>-, kein Rezidiv bisher; ↑, zusätzlicher Rituximab-Zyklus wurde zur Verbesserung des klinischen Behandlungsergebnisses und nicht im Rahmen eines Rezidivs gegeben;

<sup>3</sup>bei VRuT, TRuT oder im Rahmen eines Rezidivs nach VRoT;

<sup>4</sup>nach der ersten Rituximab-Infusion;

<sup>5</sup>dieser Patient erhielt einen 6. Zyklus Rituximab und befindet sich aktuell in VRuT (MMF);

<sup>6</sup>dieser Patient zeigte einen stark therapierefraktären Verlauf und wurde infolgedessen mit Protein-A-Immunadsorption, hochdosierten intravenösen Immunglobulinen sowie Bortezomib ebenfalls erfolglos behandelt;

AZA, Azathioprin; BE, Behandlungsergebnis; DAP, Dapson; KA, kein Ansprechen; L, Lymphom-Schema; LZ-VRoT, Langzeit-Vollremission ohne Therapie; MMF, Mycophenolatmofetil/Mycophenolatnatrium; Pat, Patient; PF, Pemphigus foliaceus; PRED, Prednisolon; PV, Pemphigus vulgaris; R, rheumatologisches Schema; TRoT, Teilremission ohne Therapie; TRuT, Teilremission unter Therapie; VRoT, Vollremission ohne Therapie; VRuT, Vollremission unter Therapie.



#### 4.2.1 Vollremission

##### 4.2.1.1 *Vollremissionsrate nach 1. Zyklus Rituximab*

Nach einem ersten Zyklus Rituximab stellte sich bei 43 der 59 behandelten Patienten (73%) eine VR ein, darunter bei 23 Patienten (39%) eine VRoT und bei 20 Patienten (34%) eine VRuT.

Siebenundzwanzig dieser 43 Patienten (63%) erlitten nach einer medianen Dauer von 25 Monaten (Spannweite 11-156 Monate) ein Rezidiv. Daraufhin wurden 24 von ihnen mit einem zweiten Zyklus Rituximab behandelt.

##### 4.2.1.2 *Vollremissionsrate nach weiteren Rituximab-Zyklen*

Nach einem zweiten Zyklus Rituximab konnte insgesamt bei 29 von 39 behandelten Patienten (74%) eine VR (17 VRoT, 12 VRuT) beobachtet werden, darunter bei 22 der 24 Rezidiv-Patienten (92%), die bereits nach dem ersten Zyklus eine VR erreicht hatten. Sieben Patienten erlangten mit dem zweiten Zyklus das erste Mal eine VR, nachdem sie zuvor eine TR (6 Patienten) oder KA (1 Patient) gezeigt hatten.

Einen dritten Zyklus Rituximab erhielten insgesamt 20 Patienten, davon 13 bei Rezidiv sowie 7 Patienten, die bis zu diesem Zeitpunkt als bestes klinisches Behandlungsergebnis entweder TR (4 Patienten) oder KA (3 Patienten) gezeigt hatten. Von den 20 Patienten erlangten hierunter insgesamt 18 (90%) eine VR (5 VRoT, 13 VRuT). Von den 13 Patienten, die vor dem Rezidiv bereits in VR gewesen sind, kehrten 12 (92%) zu diesem Behandlungsergebnis zurück. Drei Patienten mit vorausgegangener TR sowie zwei Patienten mit bis dahin KA erreichten das erste Mal eine VR.

Insgesamt benötigten 8 Patienten einen vierten Zyklus Rituximab. Von 7 Patienten, die im Rahmen eines Rezidivs mit vorausgegangener VR erneut behandelt wurden, konnten 6 (86%) diese wiedererlangen, 1 Patient verblieb in TR und 1 Patient erreichte bei ursprünglich KA nach einem vierten Zyklus das erste Mal eine VR.

Einen fünften Zyklus Rituximab erhielten 4 Patienten aufgrund eines Rezidivs nach zuvor bestehender VR (1 VRoT, 3 VRuT) und 1 Patient bei bestehender VRuT zum Versuch der weiteren Steigerung des Behandlungsergebnisses auf

VRoT. Alle Rezidiv-Patienten (100%) konnten ihren klinischen Ausgangszustand erneut erreichen, der fünfte Patient verblieb in VRuT. Auch ein weiterer, sechster Zyklus konnte keine weitere Verbesserung bringen.

Insgesamt erreichten im Verlauf der Studie 56 von 59 Patienten (95%) das klinische Behandlungsergebnis VR [36 VRoT (61%), 20 VRuT (34%)]. Um diese das erste Mal zu erlangen, benötigten 43 Patienten (77%) einen Zyklus, 4 (7%) zwei Zyklen, 8 (14%) drei Zyklen und 1 Patient (2%) vier Zyklen Rituximab.

#### *4.2.1.3 Langzeit-Vollremission ohne Therapie*

Sechzehn der 36 Patienten (44%) (13 PV, 3 PF), die im Studienverlauf eine VRoT erreicht hatten, erfüllten darüber hinaus die zeitlichen Kriterien für das klinische Behandlungsergebnis LZ-VRoT. Die Dauer dieser LZ-VRoT nach Absetzen aller immunsuppressiven Medikamente umspannte 36 bis 156 Monate (Median 65 Monate). Acht Patienten erreichten diese bereits nach dem ersten Zyklus Rituximab, 6 Patienten nach dem zweiten Zyklus, 1 Patient nach dem dritten und 1 Patient nach dem vierten Zyklus. Insgesamt erlitten 3 von ihnen (2 PV, 1 PF) jeweils 36, 42 und 116 Monate nach dem Absetzen der immunsuppressiven Therapie ein Rezidiv. Zwei davon erreichten nach einem weiteren Rituximab-Zyklus erneut VR (1 VRoT, 1 VRuT).

#### 4.2.2 Teilremission und fehlendes Therapieansprechen

##### *4.2.2.1 Teilremission und fehlendes Therapieansprechen nach 1. Zyklus Rituximab*

Im Rahmen des ersten Rituximab-Zyklus erlangten 10 der 59 Patienten (17%) eine TR (1 TRoT, 9 TRuT), 6 weitere zeigten KA (10%). Insgesamt litten 8 dieser 16 Patienten an PF, 7 hatten Rituximab in der Dosierung des Lymphom-Schemas erhalten.

##### *4.2.2.2 Teilremission und fehlendes Therapieansprechen nach weiteren Rituximab-Zyklen*

Neun Patienten mit TRuT nach dem ersten Zyklus Rituximab erhielten einen weiteren Zyklus: 3 von ihnen zum Versuch der weiteren Verbesserung des klinischen Behandlungsergebnisses und 6 aufgrund eines Rezidivs. Darunter erreichten 6 Patienten eine VR (1 LZ-VRoT, 2 VRoT, 3 VRuT). Zwei Patienten

benötigten einen weiteren Zyklus, um das erste Mal eine VR (1 VRoT, 1 VRuT) zu erreichen. Insgesamt erreichten 8 von 10 Patienten (80%), die durch den ersten Zyklus in TR gegangen waren, im Verlauf der Studie eine VR (3 LZ-VRoT, 1 VRoT, 4 VRuT).

Alle 6 Patienten, die auf den ersten Zyklus Rituximab KA gezeigt hatten, erhielten ebenfalls einen zweiten Zyklus. Darunter zeigten 4 Patienten erneut KA, 1 Patient erlangte TRuT und 1 Patient VRuT. Der Patient mit TRuT erhielt im Rahmen eines Rezidivs einen dritten Zyklus und erreichte darunter VRuT. Von den 4 Patienten, die nach zwei Zyklen Rituximab weiterhin KA gezeigt hatten, erhielten 3 zum wiederholten Versuch der klinischen Verbesserung ebenfalls einen dritten Zyklus. Hierunter stellte sich bei 2 eine VRuT ein. Der Dritte erreichte erst unter der vierten Rituximab-Gabe das erste Mal VRuT. Insgesamt erreichten somit 5 von 6 Patienten (83%), die nach dem ersten Zyklus Rituximab KA gezeigt hatten, im Verlauf eine VRuT.

Von den 3 Patienten, die zu keinem Zeitpunkt eine VR erreichten, erlangten 2 eine TR (1 TRoT, 1 TRuT) als bestes klinisches Ansprechen. Ein Patient zeigte einen hochgradig therapierefraktären Verlauf. Neben zwei ergebnislosen Rituximab-Zyklen blieb auch eine Behandlung mit Protein-A-Immunadsorption, hochdosierten intravenösen Immunglobulinen und Bortezomib erfolglos. Er verstarb an den Komplikationen der dauerhaften Immunsuppression. Alle 3 Patienten hatten einen PF.

#### 4.2.3 Rezidive

Insgesamt wurden über die Dauer der Verlaufsbeobachtung in der gesamten Patientenkohorte bei 38 von 59 Patienten (64%) insgesamt 64 Rezidive beobachtet.

##### 4.2.3.1 *Rezidive bei Patienten mit Vollremission nach 1. Zyklus Rituximab*

In der Gruppe der 43 Patienten, bei denen bereits nach dem ersten Zyklus Rituximab eine VR (23 VRoT, 20 VRuT) aufgetreten war, konnten im Zeitraum der Verlaufsbeobachtung insgesamt 35 Rezidive verteilt auf 27 Patienten beobachtet werden. Durch eine erneute Behandlung mit dem Antikörper konnte in 33 von 35 dieser Fälle (94%) eine VR wiederhergestellt werden. Die mediane Zeit bis zum

Auftreten weiterer Rezidive nach Rituximab-induzierter VR betrug, genau wie nach dem ersten Zyklus, 25 Monate (Spannweite 11-83 Monate).

Von den 24 Patienten, die nach der ersten Rituximab-induzierten VR ein Rezidiv erlitten und erneut mit Rituximab behandelt wurden, erreichten am Ende insgesamt 14 Patienten (58%) eine VRoT, darunter 5 Patienten sogar eine LZ-VRoT.

#### *4.2.3.2 Rezidive bei Patienten mit Teilremission und fehlendem Therapieansprechen nach 1. Zyklus Rituximab*

Bei den 10 Patienten, die nach der ersten Behandlung mit Rituximab in TR gegangen waren, ereigneten sich im Verlauf insgesamt 16 Rezidive, davon 9 bei vorangegangener TR und 7 bei vorangegangener VR. Die mediane Dauer bis zum Rezidiv glich bei vorangegangener VR mit 24 Monaten (Spannweite 8-36 Monate) der oben beschriebenen. Bei vorangegangener TR betrug sie dagegen nur 17 Monate (Spannweite 7-34 Monate). Durch die erneute Gabe von Rituximab im Rahmen der Rezidive konnte das ursprüngliche klinische Behandlungsergebnis in 7 Fällen (44%) wiederhergestellt und in 7 weiteren Fällen (44%) verbessert werden. Nur 2 Patienten (12%) erfuhren nach Rezidiv eine anhaltende klinische Verschlechterung trotz erneuter Rituximab-Therapie.

Unter den 6 Patienten, die nach dem ersten Rituximab-Zyklus KA gezeigt hatten, kam es bei 2 nach Erlangen besserer klinischer Behandlungsergebnisse (1 TRuT, 1 VRuT) im Verlauf insgesamt zu 4 Rezidiven. Die mediane Dauer bis zum Auftreten dieser betrug hier 18 Monate (Spannweite 18-41 Monate). In allen 4 Fällen erreichten die betroffenen Studienteilnehmer wieder mindestens das dem Rezidiv vorausgegangene klinische Behandlungsergebnis (2 VRuT).

Zum letzten Beobachtungszeitpunkt der Studie befanden sich weiterhin 48 von 59 Patienten (81%) in VR (29 VRoT, 19 VRuT), 4 Patienten in TR (2 TRoT, 2 TRuT) und 6 Patienten wurden gerade aufgrund eines Rezidivs behandelt.

Patienten mit TR oder Rezidiv, welche keine weitere Behandlung mit Rituximab erhalten hatten, waren entweder zu anderen Behandlern gewechselt oder sahen eine stabile TR als ausreichendes Therapieergebnis für sich an und wurden fortlaufend mit konventionellen Immunsuppressiva therapiert.

#### 4.2.4 Einflussfaktoren auf das klinische Behandlungsergebnis

Die Pemphigusvariante, das Geschlecht und das Alter des Patienten zeigten weder unter Anwendung des exakten Tests nach Fisher noch unter dem ungepaarten zweiseitigen t-Test einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Rate der VRoT nach einem oder mehreren Zyklen Rituximab-Therapie sowie auf die Rate der LZ-VRoT. Gleichmaßen verhielt es sich auch für die Parameter Erkrankungsdauer sowie für die unterschiedlichen Dosierungen von Rituximab (**Tabelle 3**).

Für die Spiegel Dsg-spezifischer Autoantikörper vor Therapiebeginn ergab sich hingegen anhand des exakten Tests nach Fisher, dass ein Wert von  $<250$  U/ml positiv mit dem Auftreten einer VRoT nach dem ersten Zyklus ( $p=0,0006$ ) und auch nach mehreren Zyklen Rituximab-Therapie ( $p=0,0008$ ) korreliert. Dieser positive Zusammenhang trifft auch für das Behandlungsergebnis LZ-VRoT zu ( $p=0,0222$ ).

Unter Anwendung von Grenzwerten bei 100 U/ml und 1000 U/ml fand sich kein weiterer signifikanter Zusammenhang zwischen Autoantikörperkonzentrationen unterhalb bzw. oberhalb dieser Schwellen und den jeweiligen Behandlungsergebnissen VRoT nach dem ersten Rituximab-Zyklus, VRoT zu irgendeinem Zeitpunkt oder LZ-VRoT. Des Weiteren zeigte auch eine Untersuchung der Mittelwerte der Autoantikörperspiegel gegen Dsg vor Therapiebeginn mit Hilfe eines ungepaarten t-Tests keinen Unterschied zwischen Patienten mit oder ohne VRoT nach dem ersten Zyklus Rituximab sowie zu einem späteren Zeitpunkt (**Tabelle 3**).

Tabelle 3: Untersuchung möglicher Einflussfaktoren auf das klinische Behandlungsergebnis bei Patienten mit Pemphigus unter der Behandlung mit Rituximab

Faktor	VRoT nach 1. Zyklus RTX <sup>a</sup>	Keine VRoT nach 1. Zyklus RTX <sup>a</sup>	p-Wert <sup>b</sup>
<b>Form des Pemphigus</b>			
PV	20	25	0,2089 <sup>c</sup>
PF	3	11	
<b>Geschlecht</b>			
Männlich	7	21	0,0605 <sup>c</sup>
Weiblich	16	15	
<b>Rituximab-Dosierung</b>			
Lymphom-Regime	5	8	> 0,9999 <sup>c</sup>
Rheumatoide-Arthritis-Regime	18	28	
<b>Alter [J]</b>			
>65	10	14	0,7897 <sup>c</sup>
≤65	13	22	
≥65	10	14	> 0,9999 <sup>c</sup>
≤45	3	6	
Mittelwert ± SEM	60,0 ± 3,101	58,42 ± 2,855	0,7172 <sup>c</sup>
<b>Erkrankungsdauer bis zu 1. RTX-Gabe [M]</b>			
Mittelwert ± SEM	27,52 ± 7,524	33,17 ± 6,085	0,5630 <sup>d</sup>
<b>Anti-Dsg-Autoantikörper-Spiegel vor Rituximab [U/ml]</b>			
≤100	4	3	0,3985 <sup>c</sup>
>100	14	28	
≤250	13	6	<b>0,0006<sup>c</sup></b>
>250	5	25	
≤1000	15	21	0,3218 <sup>c</sup>
>1000	3	10	
Mittelwert ± SEM	937 ± 496,7	2835 ± 1171	0,2382 <sup>d</sup>
	VRoT nach 1.-6. Zyklus RTX <sup>a</sup>	Keine VRoT nach 1.-6. Zyklus RTX <sup>a</sup>	
<b>Form des Pemphigus</b>			
PV	30	15	0,3454 <sup>c</sup>
PF	7	7	
<b>Geschlecht</b>			
Männlich	16	12	0,4317 <sup>c</sup>
Weiblich	21	10	
<b>Rituximab-Dosierung</b>			
Lymphom-Regime	6	7	0,2016 <sup>c</sup>
Rheumatoide-Arthritis-Regime	31	15	
<b>Alter [J]</b>			
>65	16	8	0,7847 <sup>c</sup>
≤65	21	14	
≥65	16	8	0,6905 <sup>c</sup>
≤45	5	4	
Mittelwert ± SEM	60,84 ± 2,371	56,0 ± 3,991	0,2702 <sup>d</sup>

Tabelle 3 (Fortsetzung)

Faktor	VRoT nach 1.-6. Zyklus RTX <sup>a</sup>	Keine VRoT nach 1.-6. Zyklus RTX <sup>a</sup>	p-Wert <sup>b</sup>
<b>Erkrankungsdauer bis zu 1. RTX-Gabe [M]</b>			
Mittelwert ± SEM	33,19 ± 7,05	27,23 ± 4,427	0,5447 <sup>d</sup>
<b>Anti-Dsg-Autoantikörper-Spiegel vor Rituximab [U/ml]</b>			
≤100	6	1	0,2240 <sup>c</sup>
>100	24	18	
≤250	18	2	<b>0,0008<sup>c</sup></b>
>250	12	17	
≤1000	25	11	0,0945 <sup>c</sup>
>1000	5	8	
Mittelwert ± SEM	1049 ± 41	3857 ± 1834	0,0750 <sup>d</sup>
	<b>LZ-VRoT nach 1.-6. Zyklus RTX<sup>a</sup></b>	<b>Keine LZ-VRoT nach 1.-6. Zyklus RTX<sup>a</sup></b>	
<b>Form des Pemphigus</b>			
PV	13	32	0,7376 <sup>c</sup>
PF	3	11	
<b>Geschlecht</b>			
Männlich	8	20	> 0,9999 <sup>c</sup>
Weiblich	8	23	
<b>Rituximab-Dosierung</b>			
Lymphom-Regime	4	9	0,7347 <sup>c</sup>
Rheumatoide-Arthritis-Regime	12	34	
<b>Alter [J]</b>			
>65	5	19	0,5520 <sup>c</sup>
≤65	11	24	
≥65	5	19	0,2122 <sup>c</sup>
≤45	4	5	
Mittelwert ± SEM	55,63 ± 3,146	60,3 ± 2,635	0,3276 <sup>d</sup>
<b>Erkrankungsdauer bis zu 1. RTX-Gabe [M]</b>			
Mittelwert ± SEM	38,13 ± 13,28	28,3 ± 4,229	0,3578 <sup>d</sup>
<b>Anti-Dsg-Autoantikörper-Spiegel vor Rituximab [U/ml]</b>			
≤100	3	4	0,3629 <sup>c</sup>
>100	10	32	
≤250	9	11	<b>0,0222<sup>c</sup></b>
>250	4	25	
≤1000	11	25	0,4668 <sup>c</sup>
>1000	2	11	
Mittelwert ± SEM	954,7 ± 643	2565 ± 1017	0,3609 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>Anzahl der Patienten; <sup>b</sup>statistisch signifikante p-Werte sind fett gedruckt; <sup>c</sup>Exakter Test nach Fisher;

<sup>d</sup>ungepaarter t-Test (zweiseitig);

J, Jahre; LZ-VRoT, Langzeit-Vollremission ohne Therapie; M, Monate; PF, Pemphigus foliaceus; PV, Pemphigus vulgaris; RTX, Rituximab; SEM, standard error of the mean; VRoT, Vollremission ohne Therapie.

Der Unterschied der VR-Rate nach einem Rezidiv war zwischen der Gruppe mit vorausgegangener Rituximab-induzierter VR und der Gruppe, die nach dem

ersten Zyklus Rituximab eine TR oder KA gezeigt hatten, nicht statistisch signifikant. Jedoch konnte eine Tendenz für bessere Therapieerfolge in der ersten Gruppe beobachtet werden. Diese galt nicht für die LZ-VRoT (**Tabelle 4**).

**Tabelle 4: Einfluss der klinischen Ausgangssituation auf das Behandlungsergebnis bei Patienten mit Pemphigus unter der wiederholten Behandlung mit Rituximab im Rahmen eines Rezidivs**

Rituximab bei Rezidiv	VRoT nach Rezidiv <sup>a</sup>	Keine VRoT nach Rezidiv <sup>a</sup>	p-Wert
bei vorangegangener VR	14	10	0,0978 <sup>b</sup>
bei vorangegangener TR / KA	4	11	
	LZ-VRoT nach Rezidiv	Keine LZ-VRoT nach Rezidiv	
bei vorangegangener VR	5	19	> 0,9999 <sup>b</sup>
bei vorangegangener TR / KA	3	12	

<sup>a</sup>Anzahl der Patienten; <sup>b</sup>Exakter Test nach Fisher;

KA, kein Ansprechen; LZ-VRoT, Langzeit-Vollremission ohne Therapie; TR, Teilremission (umfasst hier alle Patienten mit TRoT und TRuT); TRoT, Teilremission ohne Therapie; TRuT, Teilremission unter Therapie; VR, Vollremission (umfasst hier alle Patienten mit VRoT und VRuT); VRoT, Vollremission ohne Therapie; VRuT, Vollremission unter Therapie.

### 4.3 Serologisches Ansprechen

Bei 49 von 59 Patienten (37 PV, 12 PF) wurden die Serumspiegel der Dsg1- und Dsg3-spezifischen Autoantikörper vor der ersten und 6 Monate nach der letzten Rituximab-Behandlung bestimmt (**Tabelle 5**). Patienten mit fehlendem Nachweis von Autoantikörpern im Serum bei gleichzeitig positiver indirekter Immunfluoreszenzmikroskopie sowie Patienten, bei denen keine Serumwerte zu den entsprechenden Zeitpunkten vorlagen, wurden von der Analyse ausgeschlossen.

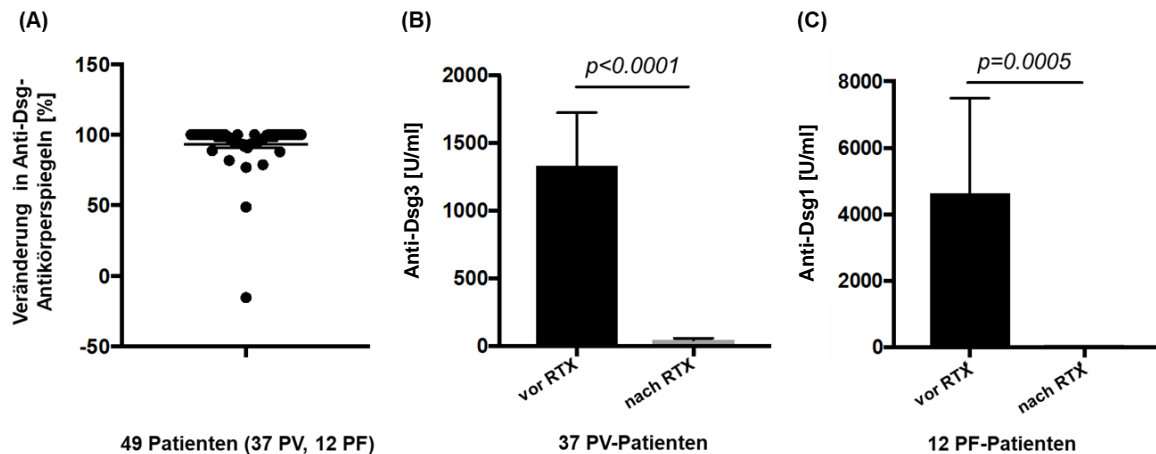
Der Vergleich von 49 Serumprobenpaaren (37 PV, 12 PF) ergab eine durchschnittliche Verminderung der Autoantikörperspiegel um 93,35% ( $\pm 2,59\%$  SEM) von vor zu nach Rituximab-Behandlung (**Abbildung 4, A**). Diese Senkung war sowohl für Anti-Dsg3-Autoantikörper bei PV-Patienten ( $p < 0,0001$ ; **Abbildung 4, B**) als auch für Anti-Dsg1-Autoantikörper bei PF-Patienten ( $p = 0,0005$ ; **Abbildung 4, C**) höchst signifikant.



**Tabelle 5: Serologische Veränderungen bei Patienten mit Pemphigus unter der Behandlung mit Rituximab**

Pat ID	Anti-Dsg3 vor RTX-Therapie [U/ml]	Anti-Dsg3 6 M nach letzter RTX-Therapie [U/ml]	Veränderung in %	Pat ID	Anti-Dsg1 vor RTX-Therapie [U/ml]	Anti-Dsg1 6 M nach letzter RTX-Therapie [U/ml]	Veränderung in %
PV1	32	0	100,00	PF1	184	0	100,00
PV2	3864	0	100,00	PF2	188	0	100,00
PV3	4443	56	98,74	PF3	1354	0	100,00
PV4	123	8	93,50	PF4	10.000	0	100,00
PV5	59	0	100,00	PF5	909	0	100,00
PV6	62	0	100,00	PF6	545	0	100,00
PV7	-	-	-	PF7	752	38	94,95
PV8	144	0	100,00	PF8	313	72	77,00
PV9	-	-	-	PF9	130	0	100,00
PV10	154	0	100,00	PF10	-	-	-
PV11	39	0	100,00	PF11	374	42	88,77
PV12	562	46	91,81	PF12	34.731	37	99,89
PV13	1540	102	93,38	PF13	6025	0	100,00
PV14	510	0	100,00	PF14	-	-	-
PV15	-	-	-				
PV16	343	22	93,59				
PV17	1478	47	96,82				
PV18	658	0	100,00				
PV19	-	-	-				
PV20	7715	0	100,00				
PV21	157	0	100,00				
PV22	840	50	94,05				
PV23	-	-	-				
PV24	185	0	100,00				
PV25	168	194	-15,48				
PV26	801	37	95,38				
PV27	401	12	97,01				
PV28	9368	431	95,40				
PV29	1779	0	100,00				
PV30	1379	0	100,00				
PV31	981	119	87,87				
PV32	28	0	100,00				
PV33	219	40	81,74				
PV34	933	85	90,89				
PV35	202	13	93,56				
PV36	715	152	78,74				
PV37	50	0	100,00				
PV38	221	0	100,00				
PV39	84	43	48,81				
PV40	338	0	100,00				
PV41	137	0	100,00				
PV42	-	-	-				
PV43	8537	184	97,84				
PV44	-	-	-				
PV45	-	-	-				

-, kein Nachweis Dsg-spezifischer Antikörper im Serum oder keine entsprechende Untersuchung zu diesem Zeitpunkt erfolgt; Anti-Dsg1/3, Desmoglein1/3-spezifische Autoantikörperspiegel im Serum; M, Monate; Pat, Patient; PF, Pemphigus foliaceus; PV, Pemphigus vulgaris; RTX, Rituximab; U/ml, Einheit pro Milliliter.



**Abbildung 4: Serologisches Ansprechen auf eine Behandlung mit Rituximab bei Patienten mit Pemphigus vulgaris und Pemphigus foliaceus**

(A) Jeder Punkt bildet einen Patienten ab. Ein Ausreißer (zu sehen unterhalb der 0%-Veränderungs-Linie) steht in Verbindung mit einem 15%igen Anstieg der zirkulierenden Anti-Dsg-Autoantikörper nach Rituximab-Therapie. Dieses Ergebnis könnte aufgrund von technischen Schwankungen zustande gekommen sein, das heißt der Patient könnte auch konstante Antikörperspiegel haben. (B) Anti-Dsg3-Antikörper, die mittels ELISA bei 37 PV-Patienten von (A) nachgewiesen worden waren, wurden nach Behandlung mit Rituximab signifikant reduziert (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test;  $p < 0,0001$ ). (C) Anti-Dsg1-Antikörper, die mittels ELISA bei 12 PF-Patienten von (A) nachgewiesen worden waren, wurden ebenfalls nach Behandlung mit Rituximab signifikant reduziert (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test;  $p = 0,0005$ ).

#### 4.4 Nebenwirkungen

Während der Beobachtungszeit unserer Studie traten bei 23 Patienten (39%) insgesamt 25 Nebenwirkungsereignisse auf. Dazu zählten 7 schwere und 9 weniger schwere Infektionsgeschehen sowie 7 Ereignisse, die während oder kurz nach der Infusion von Rituximab auftraten und auf eine Medikamentenunverträglichkeit hinwiesen.

##### 4.4.1 Infektionen

Schwere Nebenwirkungen umfassten schwere Infektionen, die mit einer stationären Aufnahme einhergingen (**Tabelle 6**). In 6 Fällen zeigte sich die Symptomatik unter entsprechender antibiotischer bzw. antiviraler Therapie regredient. Ein Patient verstarb in Folge eines septischen Schocks.

Zu weniger schweren Nebenwirkungen zählten Ereignisse, die ambulant behandelt wurden. Auch hier kamen Antibiotika bzw. Virustatika erfolgreich zum Einsatz. Alle betroffenen Patienten sind genesen.

Tabelle 6: Infektionen bei Patienten mit Pemphigus, die mit Rituximab behandelt wurden

Pat ID	Zeitpunkt <sup>a,b</sup>	Klinischer Befund	Verlauf	Begleittherapie
<b>Schwere Infektionen (stationär)</b>				
PV10	9 <sub>1</sub>	Fieberhafter Infekt oberer Atemwege	Unter AB regredient	DEXA, PRED, MMF, PAIA
PV26	6 <sub>1</sub>	Fieberhafter Infekt oberer Atemwege	Unter AB regredient	DEXA, MMF, PAIA
PV34	< 1 <sub>1</sub>	Pneumonie	Unter AB regredient	DEXA, AZA, PAIA
PV4	< 1 <sub>1</sub>	S. aureus-Sepsis (infizierter ZVK)	Entfernung ZVK, unter AB regredient	DEXA, AZA, PAIA
PV24	1 <sub>1</sub>	S. aureus-Sepsis (infizierter ZVK)	Entfernung ZVK, unter AB regredient	DEXA, PRED, AZA, PAIA
PV3	< 1 <sub>1</sub>	Herpes-simplex-Typ1-Infektion (Lippen und Wange re.)	Unter Aciclovir und Lokalthherapie regredient	DEXA, MMF, AZA, PAIA
PF14	32 <sub>3</sub>	Sept. Schock (Vorfußgangrän re., Harnwegsinfekt. exazerbierter PF) <sup>1</sup>	Exitus letalis	MMF, DAP
<b>Weniger schwere Infektionen (ambulant)</b>				
PV6	2 <sub>1</sub>	Fieberhafter Infekt oberer Atemwege, Erbrechen und Durchfall	Unter AB regredient	DEXA, AZA, PAIA, IVIG
PV8	<1 <sub>1</sub>	fieberhafter Infekt oberer Atemwege	Vollständig regredient	DEXA, AZA, PAIA
PV11	< 1 <sub>2</sub>	Infekt oberer Atemwege	Vollständig regredient	DEXA, MMF
PV41	1 <sub>2</sub>	Infekt oberer Atemwege	Vollständig regredient	DEXA, MMF
PF3	<1 <sub>3</sub>	Infekt oberer Atemwege	Unter AB regredient	AZA
PV15	1 <sub>3</sub>	Harnwegsinfekt	Vollständig regredient	DAP
PV18	4 <sub>1</sub>	Herpes Zoster Th4/5 li	Unter Aciclovir regredient	DEXA, MMF, PAIA
PV28	2,5 <sub>1</sub>	Herpes Zoster C4/5 li.	Unter Aciclovir regredient	DEXA, MMF
PV35	< 1 <sub>1</sub>	Herpes-Zoster Fuß, Erysipel des Unterschenkels	Unter Aciclovir regredient	DEXA, MMF, PAIA

<sup>a</sup>Zeitpunkt in Monaten nach Rituximab-Infusion; <sup>b</sup>tiefgestellte Zahlen geben die Nummer des Rituximab-Zyklus wieder, unter welchem die Infektion auftrat;

AB, Antibiotika; AZA, Azathioprin; DAP, Dapson; DEXA, Dexamethason; IVIG, Intravenöse Immunglobuline; MMF, Mycophenolate; PAIA, Protein-A-Immunsorption; Pat, Patient; PRED, Prednisolon; ZVK, Zentraler Venenkatheter.

Keines dieser Ereignisse konnte sicher Rituximab zugeschrieben werden, da alle betroffenen Patienten zusätzlich zeitgleich immunsuppressiv mit systemischen Glukokortikoiden und/oder glukokortikoidsparenden Adjuvantien behandelt worden waren. Bis auf 2 Patienten (PV4, PV35) wurde allen betroffenen Studienteilnehmern Rituximab nach dem für rheumatoide Arthritis zugelassenen Schema verabreicht.

#### 4.4.2 Infusionsreaktionen

Bei 6 Patienten (10%) traten Nebenwirkungen auf, die einen engen zeitlichen Zusammenhang mit der Verabreichung von Rituximab aufwiesen, darunter 5 Ereignisse unmittelbar während der Infusion des Anti-CD20 Autoantikörpers (**Tabelle 7**). Die Rituximab-Gabe erfolgte bei allen 6 Patienten nach dem Schema

für rheumatoide Arthritis. Die aufgetretenen Beschwerden zeigten sich in allen Fällen vollständig rückläufig.

**Tabelle 7: Nebenwirkungen bei Patienten mit Pemphigus unter der Infusion von Rituximab**

Pat ID	Zeitpunkt <sup>a,b</sup>	Klinischer Befund	Verlauf	Begleittherapie
PV1	0 <sub>1</sub>	generalisierte Urtikaria, thorakales Engegefühl	Clemastin 2 mg i.v. + Prednisolon 250 mg, komplikationslose Fortsetzung der Infusion nach Rückgang der Symptome	DEXA, AZA, PAIA
PV31	0 <sub>2</sub>	generalisierte Urtikaria	Clemastin 2mg i.v., komplikationslose Fortsetzung der Infusion am Folgetag unter erweiterter Prämedikation <sup>1</sup>	MMF
PV42	0 <sub>1</sub>	Schüttelfrost, Temperaturanstieg	nach kurzer Pause und erneuter Prämedikation <sup>2</sup> komplikationslose Fortsetzung der Infusion	DEXA, AZA, MMF
PF5	0 <sub>4</sub>	Blutdruckanstieg, Temperaturanstieg	nach kurzer Pause und erneuter Prämedikation <sup>2</sup> komplikationslose Fortsetzung der Infusion	MMF
PV9	0 <sub>2</sub>	Übelkeit, Erbrechen, Blutdruckabfall	Clemastin 2mg i.v. + Ringer-Lösung, komplikationslose Fortsetzung der Infusion am Folgetag	DEXA, AZA, MMF
	5 <sub>1</sub>	Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerz	Besserung der Symptome nach Glukokortikoid-Gabe	DEXA, AZA
PV32	12 <sub>2</sub>	Übelkeit, Erbrechen	selbstlimitiert	DEXA, AZA

<sup>a</sup>Zeitpunkt in Stunden nach Rituximab-Infusion; <sup>b</sup>tiefgestellte Zahlen geben die Nummer des Rituximab-Zyklus wieder, unter welchem die Nebenwirkung auftrat;

<sup>1</sup>Cetirizin 10 mg + 1 g Paracetamol + 100 mg Dexamethason; <sup>2</sup>Cetirizin 10 mg + 1 g Paracetamol; AZA, Azathioprin; DAP, Dapson; DEXA, Dexamethason; MMF, Mycophenolate; PAIA, Protein-A-Immunadsorption; Pat, Patient.

## 5 Diskussion

### 5.1 Patientenkohorte

Pemphigus ist eine in Deutschland seltene Erkrankung [Bertram et al., 2009]. Insgesamt umfasste unsere Patientenkohorte 59 Patienten. Damit ist sie größer als die Kohorten der meisten bisher veröffentlichten Studien zur Langzeitverlaufsbeobachtung nach Behandlung mit Rituximab, welche im Mittel 29 Patienten (Spannweite 9-45) einschlossen [Reguiat et al., 2012; Colliou et al., 2013; Currimbhoy et al., 2016; Kim et al., 2017; Vinay et al., 2017; Robinson et al., 2018; Loi et al., 2019]. Sharma et al. (2019) untersuchte mit 61 Patienten eine vergleichbare Kohorte, Kushner et al. (2019) und De et al. (2020) beschrieben mit jeweils 112 und 146 Patienten deutlich umfangreichere Populationen. Zwar zeigt sich unsere Patientenkohorte damit als vergleichsweise groß, die Anzahl der Patienten stellt für die Auswertung der meisten statistischen Tests jedoch einen eher geringen Stichprobenumfang dar. Deshalb haben wir uns bewusst für die Auswahl von Testverfahren wie den exakten Test nach Fisher oder den Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test entschieden, da diese für kleinere Stichproben geeignet sind und so für diese auch verlässliche Ergebnisse liefern.

Weitere Charakteristika unserer Kohorte, wie das Verhältnis von Patienten mit PV zu Patienten mit PF (ca. 3:1), das mediane Alter der Kohorte (58 Jahre; Spannweite 18-89), sowie die geschlechtliche Verteilung unter den Studienteilnehmern (F:M = ca. 1:1) bilden sich in der Tendenz in vergleichbaren Langzeitverlaufsbeobachtungsstudien im gleichen Muster ab [Cianchini et al., 2012; Kim et al., 2017; Sharma et al., 2019; Kushner et al., 2019]. Dies spricht für die Repräsentativität des von uns verwendeten Datensatzes und somit auch für die Validität der vorgestellten Ergebnisse.

Die meisten bisherigen Studien konzentrieren sich auf die kurzfristigeren Effekte der Rituximab-Therapie bei Pemphigus. Der Großteil publizierter Artikel über Langzeitverlaufsbeobachtungen deckt meist nur circa 3 Jahre nach der ersten Rituximab-Behandlung ab [Cianchini et al., 2012; Reguiat et al., 2012; Currimbhoy et al., 2016; Vinay et al., 2018; Sharma et al., 2019; Kushner et al., 2019; De et al., 2020]. Längere Verlaufsbeobachtungen sind vermutlich häufig mit höheren

Rezidivraten assoziiert [Colliou et al., 2013]. In der aktuellen Studie haben wir daher das Therapieansprechen sowie die Rezidivraten bei Pemphigus-Patienten für einen Zeitraum von *mindestens* 3 Jahren nach dem ersten Zyklus Rituximab untersucht. Insgesamt ergab sich für die Kohorte eine mediane Verlaufsbeobachtungszeit von 104 Monaten (8 Jahre und 8 Monate). Die lange Verlaufsbeobachtungsdauer ermöglicht es uns, vor allem in Hinblick auf Rezidive sowie erneutes Ansprechen bei wiederholten Rituximab-Gaben, im Folgenden ein umfassenderes Bild der Wirkungseffizienz von Rituximab zu zeichnen.

## 5.2 Klinische Behandlungsergebnisse nach Therapie mit Rituximab

### 5.2.1 Vollremission

#### 5.2.1.1 *Vollremissionsrate nach 1. Zyklus Rituximab*

Die VR-Rate (VRoT/VRuT) nach dem ersten Zyklus Rituximab lag bei 73% und kommt damit der von Wang et al. (2015) in seiner Metaanalyse kalkulierten VR-Rate bei hochdosierten Rituximab-Regimen (77%) sehr nahe. Unser primärer Studienendpunkt, VRoT nach dem ersten Zyklus Rituximab, wurde von 39% der Patienten erreicht. Wiederum deckt sich der Wert mit dem Ergebnis aus der Metaanalyse von Wang et al. (2015) (ebenfalls 39%) sowie mit den kürzlich von Sharma et al. (2019) berichteten 38%. Die Erklärung für die Differenz zu dem von Kushner et al. (2019) publizierten Wert von 48% ist nicht ganz klar. Ein Grund hierfür könnte die nicht erfasste unterschiedliche Erkrankungsschwere der Studienteilnehmer in den beiden Untersuchungen sein. Auch das in unserer Population herrschende höhere mediane Alter (58 vs. 52 Jahre) könnte als Ursache in Betracht gezogen werden. In unserer Studie hatte sich allerdings, anders als bei Kushner et al. (2019), kein signifikanter Einfluss des Alters auf das Behandlungsergebnis ergeben. Außerdem fallen beim Vergleich der beiden Arbeiten die unterschiedlich häufig verwendeten Dosierungen von Rituximab auf. Während in der vorliegenden Studie 78% der Patienten initial nach dem Schema für rheumatoide Arthritis und 22% nach dem Lymphom-Schema behandelt wurden, verhielt sich das Verhältnis bei Kushner et al. (2019) mit 33% und 67% beinahe entgegengesetzt. Die Autoren beschreiben außerdem eine positive Korrelation zwischen der Verabreichung von Rituximab nach dem Lymphom-Schema und der Rate an VRoT [Kushner et al., 2019], während wir für keines der

beiden Dosierungen eine positive Korrelation mit dem Behandlungsergebnis VRoT zeigen konnten.

#### *5.2.1.2 Vollremissionsrate nach weiteren Rituximab-Zyklen*

Der sekundäre Studienendpunkt, VRoT im gesamten Behandlungsverlauf, wurde insgesamt bei 61% der Patienten erreicht. Dieser Wert ist niedriger als die kürzlich von Kushner et al. (2019) publizierten 71%. Eine 2017 publizierte randomisierte kontrollierte prospektive Studie von Joly et al. legt nahe, dass Rituximab als Erstlinientherapie einen noch besseren Therapieerfolg mit einer VRoT-Rate von 89% nach 24 Monaten erzielt und spricht damit für einen frühen Therapiebeginn mit Rituximab. Tatsächlich erreichten auch in unserer Studie alle 6 Patienten, die Rituximab als Erstlinientherapie erhielten, VR.

Ein möglicher Erklärungsansatz für die Differenz der von Joly et al. (2017) ermittelten VRoT-Rate von 89% und der von uns beobachteten 61%igen VRoT-Rate könnte die Verwendung unterschiedlicher Behandlungs-Protokolle sein. Während bei unseren Patienten nach Erreichen einer VR weitere Rituximab-Gaben nur im Rahmen eines Rezidivs stattfanden, erfolgten bei Joly et al. (2017), unabhängig vom Behandlungsergebnis nach dem ersten Zyklus Rituximab automatisch weitere Gaben zum Zeitpunkt 12 und 18 Monate nach diesem Zyklus. Dies könnte bewirkt haben, dass Dsg-spezifische B-Zellen, die der ersten Rituximab-Gabe entgangen waren, durch eine erneute Behandlung depletiert wurden und somit klinische Behandlungsergebnisse weiter verbessert sowie frühzeitige Rezidive verhindert wurden. Diese Annahme deckt sich auch mit unserer Beobachtung, dass wiederholte Rituximab-Gaben das klinische Behandlungsergebnis verbessern. Eine weitere Erforschung der zugrundeliegenden Autoimmunprozesse inklusive der Dynamik der serologischen Autoantikörperspiegel könnte als Grundlage dienen, den bestmöglichen Zeitpunkt für ergänzende Rituximab-Gaben zu ermitteln und somit ein optimiertes Behandlungsprotokoll zu erstellen.

#### *5.2.1.3 Langzeit-Vollremission ohne Therapie*

Eine VR, die über mindestens 36 Monate ohne weitere immunsuppressive Therapie anhält, wurde von uns als LZ-VRoT definiert und als sekundärer Studienendpunkt festgelegt. Sie wurde von 27% der Patienten erreicht. Da die meisten bisher existierenden Studien deutlich kürzere

Verlaufsbeobachtungszeiträume beschreiben, ist dieses Ergebnis nur schwer in einen Vergleich zu setzen. In Anbetracht der Schwere und Refraktärität der in dieser Studie erfassten Erkrankungsfälle erscheint diese Langzeit-Vollremissionsrate jedoch beeindruckend.

### 5.2.2 Teilremission und fehlendes Therapieansprechen

Die meisten publizierten Daten zur Rituximab-Therapie bei Pemphigus, wie auch der Großteil dieser Arbeit, beschäftigen sich mit der VR als zentralem Studienendpunkt. Genaue Verlaufsbeobachtungen zu Patienten mit TR oder KA unter Rituximab gibt es nur spärlich. Cianchini et al. (2012) berichtet, dass bei allen Patienten seiner Kohorte, die nach einem initialen Zyklus Rituximab TR erreicht hatten, das Behandlungsergebnis nach einer zusätzlichen Gabe von 500 mg Rituximab 6 Monate nach dem ersten Zyklus in VR überging.

Auch wir beobachteten, dass 80% der Patienten, die sich nach dem initialen Zyklus Rituximab in TR befanden, unter zusätzlichen Zyklen eine VR erlangten, 30% erreichten sogar LZ-VRoT. Auch ermittelten wir in der Gruppe derer, die nach einem Zyklus Rituximab KA gezeigt hatten, abschließend eine VR-Rate von 83%. Hierzu benötigte der Großteil dieser Patienten mindestens 3 Zyklen Rituximab. Diese Langzeitbeobachtungsergebnisse geben klare Anzeichen dafür, dass der wiederholte Einsatz von Rituximab bei initial unzureichendem klinischen Ansprechen eine weitere Verbesserung bewirken kann.

Weiterhin fiel auf, dass 60% der Patienten mit initialer TR, sowie 33% der Patienten mit KA unter PF litten. In Anbetracht der Tatsache, dass das Verhältnis von PV- zu PF-Patienten in unserer Studie ca. 3:1 beträgt, erscheint dieser Anteil von PF-Patienten unter den schlecht ansprechenden Verläufen überproportional hoch. Die Beobachtung passt zu der Aussage von De et al. (2020), welcher zwar, wie wir, keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Pemphigusvariante und dem Erreichen einer VR nach Rituximab-Therapie finden konnte, jedoch beschrieb, dass Patienten mit PF signifikant mehr Zeit brauchten, um das klinische Behandlungsergebnis VR zu erreichen.

Auffällig wurde außerdem, dass 5 von 6 Patienten (83%), die nach dem ersten Zyklus KA gezeigt hatten, nach dem Lymphom-Schema behandelt worden waren. Dieser Anteil erscheint bei insgesamt nur 13 Patienten, die in unserer Studie



Rituximab nach dem Lymphom-Schema erhalten hatten, hoch. Dies widerspricht der Beobachtung von Kushner et al. (2019), dass eine höhere Dosierung von Rituximab mit einem besseren Behandlungsergebnis assoziiert ist und lässt vermuten, dass es andere Einflussfaktoren gibt, die für den Therapieerfolg wichtiger sind.

### 5.2.3 Rezidive

Trotz der hohen initialen Effizienz einer Rituximab-Therapie wurde eine hohe Rezidivrate bereits von anderen Autoren berichtet. Die Metaanalyse von Wang et al. (2015) bringt eine Rezidivrate von 40% hervor. Knapp zwei Drittel (64%) der 56 Patienten, die im Verlauf unseres Beobachtungszeitraums eine VR erreicht hatten, erlitten ein oder mehrere Rezidive und mussten mit weiteren Zyklen Rituximab behandelt werden. Die Hälfte aller Rezidive trat innerhalb der ersten 25 Monate, 75% innerhalb von 36 Monaten nach der ersten Rituximab-Behandlung auf. Bei einem Patienten trat ein Rezidiv erst 156 Monate nach einer erfolgreichen Rituximab-Therapie auf. Dies unterstreicht erneut die Notwendigkeit von langfristigen Studien, um eine verlässliche Einschätzung des endgültigen Therapieerfolgs treffen zu können.

Interessanterweise war die mediane Dauer zum ersten sowie zu folgenden Rezidiven bei Patienten mit Rituximab-induzierter VR gleich (25 Monate), bei Patienten mit vorausgegangener TR hingegen auf 17 Monate verkürzt. Die Arbeiten von Kushner et al. (2019), Kim et al. (2017) und Cianchini et al. (2012) spiegeln diese Beobachtung wider. Kushner et al. (2019) findet bei der isolierten Betrachtung von Rezidivfällen nach vorausgehender Rituximab-induzierter VR mit 23 Monaten eine ähnliche mediane Dauer bis zum Rezidiv. Dagegen zeigt sich bei den beiden anderen Studien, die keine weitere Differenzierung nach vorausgehendem Behandlungsergebnis vorgenommen haben, eine kürzere mediane Dauer von 16 bzw. 17 Monaten bis zum Rezidiv [Cianchini et al., 2012; Kim et al., 2017]. Diese verkürzten Remissionsphasen bei TR stehen mit großer Wahrscheinlichkeit im Zusammenhang mit einer nicht vollständig stattgefundenen Depletion der Dsg-spezifischen B-Zellen, welche ein Wiederansteigen der Krankheitsaktivität und somit Rezidive begünstigen könnten [Colliou et al., 2013].

Bisher umfassten nur 3 Veröffentlichungen eine mediane Verlaufsbeobachtungsdauer von mehr als 3 Jahren nach Rituximab-Behandlung. Colliou et al. (2013) beschreibt eine VR-Rate von 59% und eine Rezidivrate von 77% bei einer Kohorte von 19 Patienten und einem medianen Verlaufsbeobachtungszeitraum von 79 Monaten. Allerdings erhielt circa die Hälfte der Patienten bei Rezidiv keine erneute Rituximab-Behandlung, was wahrscheinlich das ungünstige Langzeitergebnis erklärt. Kim et al. (2017) berichtet über 45 koreanische Patienten mit einem medianen Verlauf von 50 Monaten. Auch hier wurden nur circa 50% der Patienten mit Rezidiv erneut mit Rituximab behandelt und die Gesamtrate der VR in dieser Untergruppe von den Autoren nicht konkret angegeben. Zuletzt veröffentlichte Loi et al. (2019) eine initiale VR-Rate von 48% und eine Rezidiv-Rate von 41% bei 29 Patienten mit einer durchschnittlichen Verlaufsbeobachtung von 96 Monaten. Wiederum liegt hier keine weitere Beschreibung des Therapieergebnisses bei wiederholten Rituximab-Gaben im Fall von Rezidiven vor.

Die Rezidiv-Rate unserer Patienten sank mit steigender Anzahl von Rituximab-Zyklen. Dieses Phänomen wurde bereits in anderen Studien bei Pemphigus beobachtet [Reguiai et al., 2012; Currimbhoy et al., 2016; Kim et al., 2017] und tritt bei der rheumatoiden Arthritis ebenfalls auf [Keystone et al., 2007].

Obwohl keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden konnte, zeigten Patienten mit VR nach dem ersten Zyklus Rituximab unter einer erneuten Rituximab-Gabe im Rahmen eines Rezidivs in der Tendenz eine bessere Gesamt-VR-Rate, als Patienten, die nach dem ersten Zyklus Rituximab eine TR oder KA gezeigt hatten (58% vs. 27%). Somit scheint eine VR nach dem ersten Zyklus Rituximab ein günstiges klinisches Langzeitergebnis vorherzusagen, unter der Voraussetzung, dass Rezidive konsequent mit Rituximab behandelt werden.

#### 5.2.4 Einflussfaktoren auf das klinische Behandlungsergebnis

Die Ermittlung von Faktoren, die Qualität und Dauer von Rituximab-induzierten VR voraussagen könnten, ist von großem praktischem Interesse. Kushner et al. (2019) berichtet, dass zunehmendes Alter, die Anwendung des Lymphom-Schemas bei der Verabreichung von Rituximab und ein niedrigerer Body Mass Index signifikant positiv mit dem Behandlungsergebnis VRoT assoziiert sind. Im

Gegensatz zu den Ergebnissen einer vorangegangenen Studie derselben Arbeitsgruppe [Lunardon et al., 2012] konnte Kushner et al. (2019) in seiner Arbeit jedoch ebenfalls keine Korrelation zwischen einer kürzeren Erkrankungsdauer vor der ersten Behandlung mit Rituximab und einem besseren Therapieergebnis dieser Behandlung finden. Diese Beobachtung teilt auch De et al. (2020).

In unserer Kohorte wurde weder für Pemphigusvariante, Alter, Geschlecht, Rituximab-Dosierung noch für die Erkrankungsdauer vor Erhalt des ersten Rituximab-Zyklus ein signifikanter Einfluss auf das Erreichen einer VRoT beobachtet. Die Ergebnisse der statistischen Analysen sind dieselben, sowohl für eine VRoT in Folge des ersten Rituximab-Zyklus, eine VRoT zu einem späteren Zeitpunkt der gesamten Verlaufsbeobachtung sowie für eine LZ-VRoT. Der Grund für diese Diskrepanz wird nicht klar, könnte jedoch in der verhältnismäßig geringen verfügbaren Patientenzahl für die verschiedenen Studien liegen, welche statistische Analysen weniger belastbar machen.

Obwohl keine statistische Signifikanz erreicht werden konnte, fiel die Gesamt-VRoT-Rate bei Rezidiv-Patienten mit wiederholten Rituximab-Therapien tendenziell besser aus, wenn dem Rezidiv eine Rituximab-induzierte VR vorausging, als wenn nach dem ersten Zyklus keine VR erreicht werden konnte (58% vs. 27%). Folglich scheint eine VR nach dem ersten Zyklus Rituximab ein positiver Prädiktor für ein günstiges Langzeitergebnis zu sein, vorausgesetzt Rezidive werden konsequent mit Rituximab behandelt.

Weiterhin stellten wir fest, dass ein Ausgangswert der Dsg-spezifischen Autoantikörper von  $<250$  U/m vor Therapiebeginn mit Rituximab signifikant häufiger mit dem Behandlungsergebnis VRoT nach dem ersten oder nach mehreren Rituximab-Zyklen sowie mit einer LZ-VRoT assoziiert war. Bei Pemphigus-Erkrankungen wird angenommen, dass die Ausprägung der Haut- und/oder Schleimhautläsionen grundsätzlich mit dem Titer der Anti-Dsg1- und/oder Anti-Dsg3-Autoantikörper korreliert [Schmidt et al., 2010; Patsatsi et al., 2014]. Somit deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass Rituximab in weniger schweren Erkrankungsfällen effektiver wirkt. Zwar konnten wir in unserer Patientenkohorte die Schwere der Pemphigus-Erkrankungen aufgrund des Mangels an hierfür benötigten standardisierten Scores in älteren Krankenakten

nicht in dem Maße beurteilen, dass eine Vergleichbarkeit der Datensätze und somit die Überprüfung dieser Hypothese möglich wären. Nichtsdestotrotz könnte diese Beobachtung zukünftig große Bedeutung in der Therapieplanung einnehmen und den Stellenwert frühzeitiger Behandlungsversuche, vor allem unter dem Aspekt, dass Rituximab inzwischen als Erstlinientherapie zugelassen ist, weiter verändern. Zusätzlich erscheint dieser Parameter bei der Aufklärung von Patienten mit Pemphigus über mögliche Erfolge einer Rituximab-Behandlung als wertvoller Informationszugewinn.

### 5.3 Serologisches Ansprechen

Die Wirkung von Rituximab auf zirkulierende Dsg-spezifische Autoantikörper bildet schon seit Jahren Inhalt zahlreicher Untersuchungen [Browning, 2006; Eming et al., 2008; Colliou et al., 2013]. Die Effektivität der Anti-CD20-Therapie wurde auch bei unseren Patienten durch die höchstsignifikante Reduktion der Dsg-spezifischen Autoantikörper im Serum 6 Monate nach dem zuletzt verabreichten Rituximab-Zyklus (Zeitpunkt der vollständigsten Depletion von Dsg-spezifischen B- und T-Zellen [Eming et al., 2008]) widerspiegelt. Diese Beobachtung teilen zahlreiche Autoren, unter ihnen Cianchini et al. (2012) und Colliou et al. (2013). Sie berichteten ebenfalls einen maximalen Rückgang der Dsg-spezifischen Autoantikörper zum Zeitpunkt 6 Monate nach einer Therapie mit Rituximab. Dieser tritt parallel mit der klinischen Besserung auf. In einigen Fällen mit anhaltender Krankheitsaktivität war der Autoantikörperabfall weniger ausgeprägt, was annehmen lassen könnte, dass zusätzliche Rituximab-Zyklen eine weitere Verbesserung erzielen würden. Wann der optimale Zeitpunkt für diese wäre, gilt es weiterhin zu untersuchen. Engmaschige Titerkontrollen könnten ein stagnierendes Absinken der Autoantikörper schnell sichtbar machen und somit, neben der Klinik, die Grundlage für die Erwägung einer erneuten Therapie bilden. Interessanterweise bestand bei einigen Patienten trotz negativem Nachweis Dsg-spezifischer Autoantikörper im Serum weiterhin eine geringe Krankheitsaktivität. Dieses Phänomen kann eventuell durch die Persistenz hautgebundener Autoantikörper bei gleichzeitiger Abwesenheit zirkulierender Autoantikörper erklärt werden [Kasperkiewicz et al., 2010]. Eine alternative Theorie sagt aus, dass kleine, aber pathogen wirksame Mengen von Autoantikörpern in tertiären

Lymphstrukturen der Haut produziert werden, die nicht oder nur in kleinsten Mengen in die Blutbahn gelangen [Yuan et al., 2017].

## 5.4 Nebenwirkungen

Nebenwirkungsereignisse wurden insgesamt bei 39% unserer Patienten beobachtet. Dieser Wert deckt sich mit den von Sharma et al. (2019) publizierten 35% bei vergleichbarer Kohortengröße.

### 5.4.1 Infektionen

Schwere Nebenwirkungen, insbesondere Infektionen, wurden als mögliche Komplikationen einer Rituximab-Behandlung berichtet [Wang et al., 2015]. Circa 12% aller Patienten litten im Verlauf unserer Studie an schweren Infektionsgeschehen, die mit einem stationären Krankenhausaufenthalt einhergingen. Dies ist vergleichbar zu anderen publizierten Ergebnissen [Schmidt et al., 2009; Joly et al., 2017; Sharma et al., 2019]. Allerdings konnten die aufgetretenen Infektionen nicht eindeutig auf die Behandlung mit Rituximab zurückgeführt werden, da alle Patienten zeitgleich zusätzlich mit anderen immunsuppressiven Medikamenten behandelt worden waren. Außerdem sind Patienten mit Pemphigus aufgrund ihrer Hautläsionen für Infektionen prädisponiert, unabhängig von der Art der Therapie.

### 5.4.2 Infusionsreaktionen

Ein plausibler Zusammenhang von Nebenwirkung und der Behandlung mit Rituximab konnte dagegen bei sechs unserer Patienten (14%) angenommen werden, die unter der Infusion von Rituximab oder unmittelbar danach Symptome wie Urtikaria, Übelkeit und Kreislaufsymptomatik beklagten. Über Infusionsreaktionen mit einer Rate von 13% bei hochdosierten Rituximab-Regimen wurde auch bei Sharma et al. (2019) berichtet. De et al. (2020) dagegen beobachtete solche Symptome bei gleicher Dosierung bei <1% seiner 146 Patienten. Insgesamt führt die Unterbrechung oder der Abbruch der Rituximab-Behandlung aufgrund solcher Erscheinungen möglicherweise zum Studienausschluss von Patienten. Genaue Zahlen zu ermitteln und in ausreichendem Maße in einen Vergleich zu setzen ist damit schwer. Um ein realistisches Bild von der Verträglichkeit von Rituximab in unterschiedlichen

Dosierungen zu erhalten, wäre es daher nötig diese Fälle in Studien miteinzubeziehen.

## 5.5 Limitationen und Ausblicke

Die Aussagekraft der vorliegenden Ergebnisse ist durch das unkontrollierte, retrospektive Studiendesign limitiert. Das Fehlen einheitlicher Behandlungsprotokolle bei der Verabreichung sowohl von Rituximab, als auch von anderen immunsuppressiven Therapien vor, während und nach einer Rituximab-Behandlung, schränkt die Vergleichbarkeit der Datensätze ein. Für zukünftige Arbeiten empfiehlt es sich außerdem dringend, quantitative Messwerte (z.B. Pemphigus Disease Area Index) zur präziseren Beurteilung der Erkrankungsschwere zu erheben. Zuletzt wies unsere Studie, obwohl im Vergleich den meisten anderen Fallserien überlegen, noch immer eine relativ beschränkte Anzahl an Patienten auf.

Künftige prospektive Untersuchungen sollten die optimalen Protokolle für Rituximab-Behandlungen definieren, die häufige Rezidive verhindern und Langzeitremissionen gewährleisten würden. Auch ist die Frage nach den Patientencharakteristika, die die Wirkung von Rituximab beeinflussen, nicht abschließend geklärt und sollte ebenfalls prospektiv an einer möglichst großen Kohorte einheitlich behandelter Patienten erneut untersucht werden.

## 6 Zusammenfassung

Pemphigus ist eine intraepidermal blasenbildende Autoimmundermatose, bei der klinisch sowohl Haut als auch Schleimhäute schwer betroffen sein können. Die aktuellen Behandlungsempfehlungen zur Erstlinientherapie bei dieser Erkrankung beinhalten neben Glukokortikoiden in Kombination mit adjuvanten Immunsuppressiva seit kurzem auch den monoklonalen Anti-CD20 Antikörper Rituximab. Dieser führt bei den meisten Patienten innerhalb von kurzer Zeit zu einer Vollremission, die Rezidivrate ist jedoch hoch.

In dieser Arbeit konzentrierten wir uns auf die Frage nach der langfristigen Wirkungseffizienz von Rituximab bei der Behandlung von Pemphigus. Besonderes Augenmerk galt dabei der Rezidivrate sowie den klinischen Behandlungsergebnissen nach wiederholten Rituximab-Zyklen. Zusätzlich schauten wir uns die Dynamik der Desmoglein-spezifischen Autoantikörperspiegel im Verlauf der Therapie an. Hierzu wurde bei 59 Patienten, die erstmalig mit Rituximab behandelt worden waren, retrospektiv der Krankheitsverlauf über mindestens 36 Monate ausgewertet.

Insgesamt ergab sich eine mediane Verlaufsbeobachtungsdauer von 104 Monaten. Die Ergebnisse zeigten nach dem ersten Zyklus Rituximab eine Vollremissionsrate ohne Therapie von 39%, die im Verlauf durch weitere Zyklen auf 61% anstieg. Von diesen 61% erreichte knapp die Hälfte (27%) eine langfristige Vollremission ohne Therapie. Die Rezidivrate nach dem ersten Zyklus Rituximab lag bei 63% und sank mit wiederholten Zyklen auf ungefähr 40%. Dabei lag die mediane Dauer bis zum Auftreten eines Rezidivs sowohl nach dem ersten als auch nach anschließenden Zyklen bei 25 Monaten. In 94% der Rezidivfälle konnte eine erneute Rituximab-Gabe eine vorausgegangene Vollremission wiederherstellen.

In unserer serologischen Analyse von 49 Serumprobenpaaren, abgenommen vor Beginn und 6 Monate nach Abschluss der Therapie mit Rituximab, ergab sich eine hochsignifikante Reduktion der Desmoglein-spezifischen Autoantikörperspiegel. Bei Patienten mit einem Ausgangswert der Anti-Desmoglein-Autoantikörper von unter 250 Einheiten pro Milliliter vor Therapiebeginn trat signifikant häufiger das klinische Behandlungsergebnis Vollremission ohne Therapie nach dem ersten Rituximab-Zyklus, Vollremission ohne Therapie zu jedem Zeitpunkt im

Beobachtungszeitraum und Langzeit-Vollremission ohne Therapie ein. Patienten, die nach dem ersten Rituximab-Zyklus eine Vollremission erreichten und dann rückfällig wurden, hatten tendenziell eine höhere Chance nach einem weiteren Rituximab-Zyklus erneut eine Vollremission zu erreichen, als Patienten, die ein weniger günstiges Ansprechen auf den ersten Zyklus zeigten. Für das Alter, Geschlecht, Pemphigusvariante, Rituximab-Dosierung und Erkrankungsdauer wurde kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten mit Vollremission ohne Therapie und Patienten mit anderen klinischen Behandlungsergebnissen beobachtet.

Trotz vieler Einschränkungen, inklusive des unkontrollierten retrospektiven Studiendesigns, verschiedener adjuvanter immunsuppressiver Therapieprotokolle vor, während und nach der Rituximab-Behandlung und einer insgesamt beschränkten Anzahl von Patienten, liefert unsere Studie wertvolle Informationen zu den Langzeiteffekten von Rituximab in einer gut charakterisierten Kohorte von Patienten mit Pemphigus. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass niedrigere Ausgangswerte der Desmoglein-spezifischen Autoantikörper ein besseres klinisches Ansprechen vorhersagen und bestätigen, dass wiederholte Gaben einer Anti-CD20-Therapie Rezidive effektiv kontrollieren und insgesamt das klinische Therapieergebnis bei dieser Erkrankung verbessern. Zukünftige prospektive Studien sollten sich mit den optimalen Behandlungsprotokollen für Rituximab zur Erlangung und Beibehaltung einer dauerhaften Vollremission sowie zur Prävention von Rezidiven beschäftigen.



## Literaturverzeichnis

Ahmed AR, Carrozzo M, Caux F, Cirillo N, Dmochowski M, Alonso AE, Gniadecki R, Hertl M, López-Zabalza MJ, Lotti R, Pincelli C, Pittelkow M, Schmidt E, Sinha AA, Sprecher E, Grando SA: Monopathogenic vs multipathogenic explanations of pemphigus pathophysiology. *Exp Dermatol* 25, 839–846 (2016)

Ahmed AR, Shetty S: The emerging role of rituximab in autoimmune blistering diseases. *Am J Clin Dermatol* 16, 167-177 (2015)

Ahmed AR, Yunis EJ, Khatri K, Wagner R, Notani G, Awdeh Z, Alper CA: Major histocompatibility complex haplotype studies in Ashkenazi Jewish patients with pemphigus vulgaris. *Proc Natl Acad Sci USA* 87, 7658-7662 (1990)

Amagai M, Klaus-Kovtun V, Stanley JR: Autoantibodies against a novel epithelial cadherin in pemphigus vulgaris, a disease of cell adhesion. *Cell* 67, 869-77 (1991)

Amagai M, Tsunoda K, Suzuki H, Nishifuji K, Koyasu S, Nishikawa T: Use of autoantigen-knockout mice in developing an active autoimmune disease model for pemphigus. *J Clin Invest* 105, 625-631 (2000)

Amber KT, Valdebran M, Grando SA: Non-desmoglein antibodies in patients with pemphigus vulgaris. *Front Immunol* 9, 1190 (2018)

Asilian A, Yoosefi A, Faghini G: Pemphigus vulgaris in Iran: epidemiology and clinical profile. *Skinmed* 5, 69-71 (2006)

Bertram F, Bröcker E-B, Zillikens D, Schmidt E: Prospective analysis of the incidence of autoimmune bullous disorders in Lower Franconia, Germany. *J Dtsch Dermatol Ges* 7, 434–440 (2009)

Borradori L, Lombardi T, Samson J, Girardet C, Saurat JH, Hugli A: Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) for refractory erosive stomatitis secondary to

CD20(+) follicular lymphoma-associated paraneoplastic pemphigus. *Arch Dermatol* 137, 269-272 (2001)

Browning JL: B cells move to centre stage: novel opportunities for autoimmune disease treatment. *Nat Rev Drug Discov* 5, 564-576 (2006)

Cianchini G, Lupi F, Masini C, Corona R, Puddu P, De Pita O: Therapy with rituximab for autoimmune pemphigus: results from a single-center observational study on 42 cases with long-term follow-up. *J Am Acad Dermatol* 67, 617-622 (2012)

Clarindo MV, Possebon AT, Soligo EM, Uyeda H, Ruaro RT, Empinotti JC: Dermatitis herpetiformis: pathophysiology, clinical presentation, diagnosis and treatment. *An Bras Dermatol* 89, 865-77 (2014)

Colliou N, Picard D, Caillot F, Calbo S, Le Corre S, Lim A, Lemercier B, Le Mauff B, Maho-Vaillant M, Jacquot S, Bedane C, Bernard P, Caux F, Prost C, Delaporte E, Doutre M-S, Dreno B, Franck N, Ingen-Housz-Oro S, Chosidow O, Pauwels C, Picard C, Roujeau J-C, Sigal M, Tancrede-Bohin E, Templier I, Eming R, Hertl M, D'Incan M, Joly P, Musette P: Long-term remissions of severe pemphigus after rituximab therapy are associated with prolonged failure of desmoglein B cell response. *Sci Transl Med* 5, 175ra130 (2013)

Currimbhoy S, Zhu V, Dominguez AR, Pandya AG: Rituximab in the treatment of 38 patients with pemphigus with long-term follow-up. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 30, 1050-1052 (2016)

De D, Bishnoi A, Handa S, Mahapatra T, Mahajan R: Effectiveness and safety analysis of rituximab in 146 Indian pemphigus patients: A retrospective single-center review of up to 68 months follow-up. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 86, 39-44 (2020)

Didona D, Maglie R, Eming R, Hertl M: Pemphigus: Current and future therapeutic strategies. *Front Immunol* 10, 1418 (2019)

Eming R, Hennerici T, Bäcklund J, Feliciani C, Visconti KC, Willenborg S, Wohde J, Holmdahl R, Sønderstrup G, Hertl M: Pathogenic IgG antibodies against desmoglein 3 in pemphigus vulgaris are regulated by HLA-DRB1\*04:02-restricted T Cells. *J Immunol* 193, 4391-4399 (2014)

Eming R, Nagel A, Wolff-Franke S, Podstawa E, Debus D, Hertl M: Rituximab exerts a dual effect in pemphigus vulgaris. *J Invest Dermatol* 128, 2850-2858 (2008)

Eming R, Sticherling M, Hofmann SC, Hunzelmann N, Kern JS, Kramer H, Pfeiffer C, Schuster V, Zillikens D, Goebeler M, Hertl M, Nast A, Orzechowski H-D, Sárdy M, Schmidt E, Sitaru C, Sporbeck B, Worm M: S2k guidelines for the treatment of pemphigus vulgaris/foliaceus and bullous pemphigoid. *J Dtsch Dermatol Ges* 13, 833-844 (2015)

Farb RM, Dykes R, Lazarus GS: Anti-epidermal-cell-surface pemphigus antibody detaches viable epidermal cells from culture plates by activation of proteinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 75, 459-463 (1978)

Försti AK, Vuorre O, Laurila E, Jokelainen J, Huilaja L, Tasanen K: Pemphigus foliaceus and pemphigus erythematosus are the most common subtypes of pemphigus in Northern Finland. *Acta Derm Venereol* 99, 1127–1130 (2019)

Goebeler M, Herzog S, Bröcker EB, Zillikens D: Rapid response of treatment-resistant pemphigus foliaceus to the anti-CD20 antibody rituximab. *Br J Dermatol* 149, 899-901 (2003)

Hans-Filho G, Aoki V, Bittner NRH, Bittner GC: Fogo selvagem: endemic pemphigus foliaceus. *An Bras Dermatol* 93, 638-50 (2018)

Harman KE, Brown D, Exton LS, Groves RW, Hampton PJ, Mohd Mustapa MF, Setterfield JF, Yesudian PD: British Association of Dermatologists' guidelines for the management of pemphigus vulgaris 2017. *Br J Dermatol* 177, 1170–1201 (2017)

Harman KE, Seed PT, Gratian MJ, Bhogal BS, Challacombe SJ, Black MM: The severity of cutaneous and oral pemphigus is related to desmoglein 1 and 3 levels. *Br J Dermatol* 144, 775-780 (2001)

Hertl M, Jedlickova H, Karpati S, Marinovic B, Uzun S, Yayli S, Mimouni D, Borradori L, Feliciani C, Ioannides D, Joly P, Kowalewski C, Zambruno G, Zillikens D, Jonkman MF: Pemphigus. S2 Guideline for diagnosis and treatment – guided by the European Dermatology Forum (EDF) in cooperation with the European Academy of Dermatology and Venereology (EADV). *J Eur Acad Dermatol Venereol* 29, 405–414 (2015)

Holubar K: Historical background. In: Wojnarowska F, Briggamann RA (Hrsg.): *Management of blistering diseases*. 1. Aufl., pp 1-12, Chapman & Hall, London (1991)

Jelti L, Cordel N, Gillibert A, Lacour J-P, Uthurriague C, Doutre M-S, Delaporte E, Duvert-Lehembre S, Quereux G, Dupuy A, Adamski H, Bedane C, Misery L, Thomas CA, Fleuret C, Bernard P, Chaby G, D'Incan M, Verneuil L, Litrowski N, Joly P: Incidence and mortality of pemphigus in France. *J Invest Dermatol* 139, 469-473 (2019)

Joly P, Maho-Vaillant M, Prost-Squarcioni C, Hebert V, Houivet E, Calbo S, Caillot F, Golinski ML, Labeille B, Picard-Dahan C, Paul C, Richard M-A, Bouaziz JD, Duvert-Lehembre S, Bernard P, Caux F, Alexandre M, Ingen-Housz-Oro S, Vabres P, Delaporte E, Quereux G, Dupuy A, Debarbieux S, Avenel-Audran M, D'Incan M, Bedane C, Bénétou N, Jullien D, Dupin N, Misery L, Machet L, Beylot-Barry M, Dereure O, Sassolas B, Vermeulin T, Benichou J, Musette P: First-line rituximab combined with short-term prednisone versus prednisone alone for the treatment of pemphigus (Ritux 3): a prospective, multicentre, parallel-group, open-label randomised trial. *Lancet* 389, 2031-2040 (2017)

Joly P, Mouquet H, Roujeau J-C, D'Incan M, Gilbert D, Jacquot S, Gougeon M-L, Bedane C, Muller R, Dreno B, Doutre M-S, Delaporte E, Pauwels C, Franck N, Caux F, Picard C, Tancrede-Bohin E, Bernard P, Tron F, Hertl M, Musette P et al.:

A single cycle of rituximab for the treatment of severe pemphigus. *N Engl J Med* 357, 545-552 (2007)

Kasperkiewicz M, Ellebrecht CT, Takahashi H, Yamagami J, Zillikens D, Payne AS, Amagai M: Pemphigus. *Nat Rev Dis Primers* 3, 17026 (2017)

Kasperkiewicz M, Hirose M, Recke A, Schmidt E, Zillikens D, Ludwig RJ: Clearance rates of circulating and tissue-bound autoantibodies to type VII collagen in experimental epidermolysis bullosa acquisita. *Br J Dermatol* 162, 1064-1070 (2010)

Keystone E, Fleischmann R, Emery P, Furst DE, Van Vollenhoven R, Bathon J, Dougados M, Baldassare A, Ferraccioli G, Chubick A, Udell J, Cravets MW, Agarwal S, Cooper S, Magrini F: Safety and efficacy of additional courses of rituximab in patients with active rheumatoid arthritis: an open-label extension analysis. *Arthritis Rheumatol* 56, 3896-3908 (2007)

Kim TH, Choi Y, Lee SE, Lim JM, Kim SC: Adjuvant rituximab treatment for pemphigus: A retrospective study of 45 patients at a single center with long-term follow up. *J Dermatol* 44, 615-620 (2017)

Koch PJ, Walsh MJ, Schmelz M, Goldschmidt MD, Zimbelmann R, Franke WW: Identification of desmoglein, a constitutive desmosomal glycoprotein, as a member of the cadherin family of cell adhesion molecules. *Eur J Cell Biol* 53, 1-12 (1990)

Kowalczyk AP, Borgwardt JE, Green KJ: Analysis of desmosomal cadherin-adhesive function and stoichiometry of desmosomal cadherin-plakoglobin complexes. *J Invest Dermatol* 107, 293-300 (1996)

Kridin K, Zelber-Sagi S, Khamaisi M, Cohen AD, Bergman R: Remarkable differences in the epidemiology of pemphigus among two ethnic populations in the same geographic region. *J Am Acad Dermatol* 75, 925-930 (2016)

Kushner CJ, Wang S, Tovanabutra N, Tsai DE, Werth VP, Payne AS: Factors associated with complete remission after rituximab therapy for pemphigus. *JAMA Dermatol* 155, 1404-1409 (2019)

Langan SM, Smeeth L, Hubbard R, Fleming KM, Smith CJP, West J: Bullous pemphigoid and pemphigus vulgaris – incidence and mortality in the UK: population based cohort study. *BMJ* 337, a180 (2008)

Loi C, Magnano M, Ravaioli GM, Sacchelli L, Patrizi A, Bardazzi F: Rituximab therapy in pemphigus: A long-term follow-up. *Dermatol Ther* 32, e12763 (2019)

Lunardon L, Tsai KJ, Propert KJ, Fett N, Stanley JR, Werth VP, Tsai DE, Payne AS: Adjuvant rituximab therapy of pemphigus: a single-center experience with 31 patients. *Arch Dermatol* 148, 1031-1036 (2012)

Mahoney MG, Wang Z, Rothenberger K, Koch PJ, Amagai M, Stanley JR: Explanations for the clinical and microscopic localization of lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris. *J Clin Invest* 103, 461-468 (1999)

Maucher IV: Rituximab zur Therapie von Pemphigus vulgaris zugelassen. <https://www.gelbe-liste.de/nachrichten/rituximab-mabthera-pemphigus-vulgaris> (Tag des Zugriffs: 16.08.2020)

Meyer N, Misery L: Geoepidemiologic considerations of auto-immune pemphigus. *Autoimmun Rev* 9, 379-382 (2010)

Michailidou EZ, Belazi MA, Markopoulos AK, Tsatsos MI, Mourellou ON, Antoniadou DZ: Epidemiologic survey of pemphigus vulgaris with oral manifestations in northern Greece: retrospective study of 129 patients. *Int J Dermatol* 46, 356-361 (2007)

Mindorf S, Dettmann IM, Krüger S, Fuhrmann T, Rentzsch K, Karl I, Probst C, Komorowski L, Fechner K, Van Beek N, Lemcke S, Sárdy M, Bangert C, Benoit S, Hashimoto T, Zillikens D, Pas HH, Jonkman MF, Stöcker W, Schmidt E: Routine

detection of serum antidesmocollin autoantibodies is only useful in patients with atypical pemphigus. *Exp Dermatol* 26, 1267-70 (2017)

Murrell DF, Dick S, Ahmed AR, Amagai M, Barnadas MA, Borradori L, Bystryn J-C, Cianchini G, Diaz L, Fivenson D, Hall R, Harman KE, Hashimoto T, Hertl M, Hunzelmann N, Iranzo P, Joly P, Jonkman MF, Kitajima Y, Korman NJ, Martin LK, Mimouni D, Sinha AA, Sirois D, Zillikens D, Werth VP: Consensus statement on definitions of disease, end points, and therapeutic responses for pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 58, 1043-1046 (2008)

Murrell DF, Peña S, Joly P, Marinovic B, Hashimoto T, Diaz LA, Sinha AA, Payne AS, Daneshpazhooh M, Eming R, Jonkman MF, Mimouni D, Borradori L, Kim S-C, Yamagami J, Lehman JS, Saleh MA, Culton DA, Czernik A, Zone JJ, Fivenson D, Ujiie H, Wozniak K, Akman-Karakaş A, Bernard P, Korman NJ, Caux F, Drenovska K, Prost-Squarcioni C, Vassileva S, Feldman RJ, Cardones AR, Bauer J, Ioannides D, Jedlickova H, Palisson F, Patsatsi A, Uzun S, Yayli S, Zillikens D, Amagai M, Hertl M, Schmidt E, Aoki V, Grando SA, Shimizu H, Baum S, Cianchini G, Feliciani C, Iranzo P, Mascaró Jr. JM, Kowalewski C, Hall R, Groves R, Harman KE, Marinkovich MP, Maverakis E, Werth VP: Diagnosis and management of pemphigus: recommendations by an international panel of experts. *J Am Acad Dermatol* 82, 575-585 (2018)

Musette P, Bouaziz JD: B cell modulation strategies in autoimmune diseases: new concepts. *Front Immunol* 9, 622 (2018)

Patsatsi A, Kyriakou A, Giannakou A, Pavlitou-Tsiontsi A, Lambropoulos A, Sotiriadis D: Clinical significance of anti-desmoglein-1 and -3 circulating autoantibodies in pemphigus patients measured by area index and intensity score. *Acta Derm Venereol* 94, 203-206 (2014)

Reff ME, Carner K, Chambers KS, Chinn PC, Leonard JE, Raab R, Newman RA, Hanna N, Anderson DR: Depletion of B cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 83, 435-445 (1994)

Reguiat Z, Tabary T, Maizieres M, Bernard P: Rituximab treatment of severe pemphigus: long-term results including immunologic follow-up. *J Am Acad Dermatol* 67, 623-629 (2012)

Robinson AJ, Vu M, Unglik GA, Varigos GA, Scardamaglia L: Low-dose rituximab and concurrent adjuvant therapy for pemphigus: Protocol and single-centre long-term review of nine patients. *Australas J Dermatol* 59, e47-e52 (2018)

Sabolinski ML, Beutner EH, Krasny S, Kumar V, Huang J, Chorzelski TP, Sampaio S, Bystryn JC: Substrate specificity of anti-epithelial antibodies of pemphigus vulgaris and pemphigus foliaceus sera in immunofluorescence tests on monkey and guinea pig esophagus sections. *J Invest Dermatol* 88, 545-549 (1987)

Sadik C, Zillikens D, Hertl M: Bullöse Autoimmundermatosen. In: Plewig G, Ruzicka T, Kaufmann R, Hertl M (Hrsg.): *Braun-Falco's Dermatologie, Venerologie und Allergologie*. 1-36, Springer Reference Medizin, Springer, Berlin, Heidelberg (2017)

Salopek TG, Logsetty S, Tredget EE: Anti-CD20 chimeric monoclonal antibody (rituximab) for the treatment of recalcitrant, life-threatening pemphigus vulgaris with implications in the pathogenesis of the disorder. *J Am Acad Dermatol* 47, 785-788 (2002)

Schmidt E, Dahnrich C, Rosemann A, Probst C, Komorowski L, Saschenbrecker S, Schlumberger W, Stöcker W, Hashimoto T, Bröcker E-B, Recke A, Rose C, Zillikens D: Novel ELISA systems for antibodies to desmoglein 1 and 3: correlation of disease activity with serum autoantibody levels in individual pemphigus patients. *Exp Dermatol* 19, 458–463 (2010)

Schmidt E, Goebeler M, Zillikens D: Rituximab in severe pemphigus. *Ann NY Acad Sci* 1173, 683-691 (2009)

Schmidt E, Kasperkiewicz M, Joly P: Pemphigus. *Lancet* 394, 882-894 (2019)



Sharma VK, Gupta V, Bhari N, Singh V: Rituximab as an adjuvant therapy for pemphigus: experience in 61 patients from a single center with long-term follow-up. *Int J Dermatol*. doi: 10.1111/ijd.14546 (2019)

Silverman GJ, Weisman S: Rituximab therapy and autoimmune disorders: Prospects for Anti-B cell therapy. *Arthritis Rheumatol* 48, 1484–1492 (2003)

Stanley JR, Amagai M: Pemphigus, bullous impetigo, and the staphylococcal scalded-skin syndrome. *N Engl J Med*. 355, 1800–1810 (2006)

Van Beek N, Zillikens D, Schmidt E: Diagnosis of autoimmune bullous diseases. *J Dtsch Dermatol Ges* 16, 1077–1091 (2018)

Van Beek N, Zillikens D, Schmidt E: Therapy of pemphigus. *Hautarzt* 70, 243-253 (2019)

Vinay K, Cazzaniga S, Amber KT, Feldmeyer L, Naldi L, Borradori L: Rituximab as first-line adjuvant therapy for pemphigus: Retrospective analysis of long-term outcomes at a single center. *J Am Acad Dermatol* 78, 806-808 (2018)

Wang HH, Liu CW, Li YC, Huang YC: Efficacy of rituximab for pemphigus: a systematic review and meta-analysis of different regimens. *Acta Derm Venereol* 95, 928-932 (2015)

Waschke J, Spindler V: Desmosomes and extradesmosomal adhesive signaling contacts in pemphigus. *Med Res Rev* 34, 1127-1145 (2014)

Yan L, Wang J-M, Zeng K: Association between HLA-DRB1 polymorphisms and pemphigus vulgaris: a meta-analysis. *Br J Dermatol* 167, 768–777 (2012)

Yuan H, Zhou S, Liu Z, Cong W, Fei X, Zeng W, Zhu H, Xu R, Wang Y, Zheng J, Pan M: Pivotal role of lesional and perilesional T/B lymphocytes in pemphigus pathogenesis. *J Invest Dermatol* 137, 2362-2370 (2017)



## Veröffentlichung

Diese Dissertation wurde auszugsweise an folgender Stelle veröffentlicht:

Shimanovich I, Baumann T, Schmidt E, Zillikens D, Hammers CM: Long-term outcomes of rituximab therapy in pemphigus. J Eur Acad Dermatol Venereol 34, 2884-2889 (2020)

## Danksagung

Auf dem langen Entstehungsweg dieser Arbeit durfte ich sehr viel Unterstützung erfahren, für die ich mich hiermit herzlich bedanken möchte.

Zuallererst möchte ich Herrn Prof. Dr. Zillikens für die grundsätzliche Ermöglichung dieser Arbeit an seiner Klinik danken.

Mein besonderer Dank geht an meinen Doktorvater Prof. Dr. Iakov Shimanovich für die umfassende Betreuung meiner Dissertation, von der Überlassung des Themas bis hin zum letzten Satz. Mit fachlicher Expertise, hilfreichen Ratschlägen, stets entgegengebrachtem Vertrauen und Geduld habe ich über all die Jahre eine sehr wertvolle Zusammenarbeit erfahren dürfen.

Bei Herrn Dr. Dr. Christoph Hammers möchte ich mich ebenfalls für seine intensive Unterstützung beim Voranbringen dieser Arbeit, sein stets offenes Ohr und das freundliche Miteinander ganz herzlich bedanken.

Nicht zuletzt gilt mein Dank all denjenigen, die mir über die Zeit in der Klinik, im Fotoarchiv und im Labor mit Rat und Tat helfend zur Seite standen.

Zum Schluss möchte ich meiner Familie, meinem Partner und meinen Freunden meine unendliche Dankbarkeit aussprechen.

Meinen Eltern, dafür, dass sie mir diesen Weg ermöglicht haben und mich stets mit Liebe und Vertrauen darauf begleiten.

Meinem Bruder für seinen Zuspruch diese Arbeit zu schreiben und die wertvollen Ratschläge auf dem Weg dorthin.

Meinem geliebten Partner für die stete und humorvolle Motivation und seine Unterstützung in allen Belangen.

Meinen Lübecker Freundinnen, die den teils tristen Arbeitsalltag immer aufzuhellen wussten.

Meiner Freundin Suzy für die Zuversicht, die jedes Gespräch mit ihr schafft.

Und ganz besonders meiner Freundin Franzi, die mir von Beginn an mit unzähligen Gesprächen, konstruktiven Gedankenanstößen und unermüdlichen Korrekturarbeiten immer zur Seite stand.