

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

進行期難治性B細胞リンパ腫に対する大量化学療法を併用した

効果的治療に関する臨床研究

分担研究者 小椋美知則 名古屋第二赤十字病院 血液・腫瘍内科部長

研究要旨

1. 未治療高リスク群若年、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫 (DLBCL) に対するリツキシマブ併用寛解導入療法のランダム化比較臨床第 II 相試験。
2. 未治療進行期マンツル細胞リンパ腫(MCL)に対するリツキシマブ併用の R-high-CHOP/CHASER 療法に引き続く自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法 (LEED 療法) の臨床第 II 相試験

A. 研究目的

1. 難治性リンパ腫である、初発高リスク群DLBCLに対する大量化学療法前の至適寛解導入療法を探索する。

2. 難治性リンパ腫である、初発進行期 MCL に対する R-high-CHOP/CHASER 療法に連続する自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法(LEED 療法)の有効性と安全性を検討する。

B. 研究方法 ; 2 つとも JCOG 試験である。

1. 初発高リスク群 DLBCL で適格条件をすべて満たし、同意を得た症例に対し、biweekly CHOP6 サイクルの群と biweekly CHOP3 サイクル+CHASER3 サイクルの群にランダム化割り付け治療し寛解到達例に対して自家末梢血幹細胞移植併用の大量化学療法(LEED 療法)を実施する。

2. 初発進行期 MCL で適格条件をすべて満たし同意を得た症例に対し、R-high-CHOP/CHASER 療法に連続する自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法を実施する。

(倫理面への配慮): JCOG での審査の後、施設 IRB で審査・承認後、患者に詳細な説明・同意を実施。

C. 研究結果 :

1. はプロトコールが完成し、JCOG 審査委員会で承認され、まもなく患者登録が開始予定。

2. は症例登録中であり、研究事務局としてモニタリングを実施して管理している

D. 考察 ; 2 のマンツル細胞リンパ腫の症例登録は順調であり、2010 年 4 月現在、目標登録症例 45 例中 20 例が登録された。2008 年 6 月に登録を開始して以来、23 ヶ月での登録状況は

順調であり、今後、約2年間で目標症例の全登録を予定している。

## B. 結論

1. 若年初発マントル細胞リンパ腫患者に対して、国際的な評価に十分値する本研究は、順調な症例登録状況であり、次年度も順調な試験継続・遂行が期待される。
2. 初発高リスク群 DLBCL に対する試験もまもなく登録が開始され、順調な試験遂行が期待される。

## C. 健康被害情報

1. 症例登録中の本試験では、試験遂行を中断すべき、緊急かつ重篤な有害事象の報告はない。

## D. 研究発表

### 1. 論文発表

- ① Tobinai K, Ogura M, et al. . Phase I/II and pharmacokinetic study of cladribine with 2-h infusion in Japanese patients with relapsed indolent B-cell lymphoma mostly pretreated with rituximab. *Cancer Sci.* 2009, 100:1344-50.
- ② Tobinai K, Ogura M, et al. Phase II study of oral fludarabine in combination with rituximab for relapsed indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci.* 2009,

100:1951-6.

- ③ Kato H, Ogura M, et al. Favorable consolidative effect of high-dose melphalan and total-body irradiation followed by autologous peripheral blood stem cell transplantation after rituximab-containing induction chemotherapy with in vivo purging in relapsed or refractory follicular lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma.* 2009, 9:443-8.
- ④ Tobinai K, Watanabe T, Ogura M, et al. Japanese phase II study of 90Y-ibritumomab tiuxetan in patients with relapsed or refractory indolent B-cell lymphoma. *Cancer Sci.* 2009, 100:158-64.
- ⑤ Ishizawa K, Ogura M, Hamaguchi M, et al. Safety and efficacy of rasburicase (SR29142) in a Japanese phase II study. *Cancer Sci.* 2008, 100:357-362

### 2. 学会発表

- ① Ogura M, et al. Bendamustine Is Highly Effective for Relapsed or Refractory Indolent B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma (B-NHL) and Mantle Cell Lymphoma

(MCL): Final Results of a Japanese Multicenter Phase II Study. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2009; 114: 3694.

- ② Ogura M, et al. Phase I and Pharmacokinetic (PK) Study of Everolimus (RAD001) in Patients with Relapsed or Refractory Non-Hodgkin's Lymphoma (NHL). Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2009; 114: 1712.

3. 知的財産権の出願・登録状況  
特記すべきことなし

厚生労働省科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

分担研究報告書

「進行期難治性 B 細胞リンパ腫に対する大量化学療法を併用した効果的治療に関する臨床研究」

(H19-がん臨床-一般-027)

研究分担者 笠井正晴 特定医療法人北楡会札幌北楡病院院長

研究要旨

マンツル細胞リンパ腫は、リツキサンが臨床導入された現在も、その治療成績は不良であり更なる治療の開発が必要である。そのため我々は、未治療マンツル細胞リンパ腫を対象に、リツキサン、CHOP 療法、CHASER 療法に、自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法 (LEED 療法) を組み合わせた治療法の臨床第 II 相試験を平成 20 年度から開始し、現在症例登録中である。

また、予後不良因子を有する CD20 陽性びまん性大細胞型リンパ腫は、従来の標準療法であるリツキサンと CHOP 療法の併用療法のみでは、いまだ十分な治療成績が得られておらず、集学的な治療が必要と考えられている。そのため我々は、予後不良因子を有する CD20 陽性びまん性大細胞型リンパ腫を対象に、リツキサンと biweekly CHOP 療法の併用療法 (A 群) と、リツキサンと biweekly CHOP/CHASER 療法の併用療法 (B 群) のランダム化第 II 相試験を計画中であり、現在最終準備中で、平成 22 年度から症例登録を開始する予定である。

## A. 研究目的

- a) マントル細胞リンパ腫に対する自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法を含む治療の有効性と安全性を検討する。
- b) 予後不良因子を有する CD20 陽性びまん性大細胞型リンパ腫に対する自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法を含む治療の有効性と安全性について検討する。

## B. 研究方法

- a) 組織学的に核サイクリン D1 陽性マントル細胞リンパ腫と診断され、年齢が 20 歳以上 65 歳以下、臨床病期が巨大腫瘍を有する II 期または III、IV 期、ECOG のパフォーマンスステータス 0 から 2 で十分な臓器機能と測定可能病変を有し、文書による同意が得られている患者を対象に、リツキサンの併用療法を 1 コース施行後に CHASER 療法を 3 コース施行し、その後に LEED 療法による大量化学療法と自家末梢血幹細胞移植を施行する。主要評価項目は 2 年無増悪生存率、副次的評価項目は、無増悪生存期間、全生存期間、全治療での完全寛解率および全奏功割合、リツキサンと CHOP 療法および CHASER 療法終了後の完全寛解率と全奏功率、有害事象発現割合、二次がん発生割合。予定症例集積期間および予定症例数は 4 年で 45 例。
- b) 組織学的に CD20 陽性のびまん性大細胞型リンパ腫と診断され、年齢調節国際予後分類で高リスク群または高中間リスク群と判定され、臨床病期が巨大腫瘍を有する II 期または III、IV 期、年齢が

20 歳以上 65 歳以下、ECOG のパフォーマンスステータス 0 から 2 で十分な臓器機能と測定可能病変を有し、文書による同意が得られている患者を対象に、導入療法としてリツキサンと CHOP 療法の併用療法を 6 コース施行する群と、リツキサンと CHOP 療法の併用療法を 3 コース施行後に CHASER 療法を 3 コース施行する群に無作為割付し、PR または CR が得られた患者を対象に LEED 療法による大量化学療法と自家末梢血幹細胞移植を施行する。その後腫瘍が残存する場合は同部位に放射線照射を施行する。主要評価項目は 2 年無増悪生存率、副次的評価項目は導入療法後の完全奏功割合、5 年無増悪生存率、5 年全生存率、安全性。予定症例数は両群合わせて 70 例。予定症例集積期間は 3 年（平成 24 年度登録終了）。

## 倫理面への配慮

適切な症例選択規準と治療中止規準の設定により、被験者の安全性を最大限に確保する。また、ヘルシンキ宣言などの国際的倫理原則に従い、以下を遵守する。

- 1) 研究実施計画書の institutional review board (IRB) による審査・承認が得られた施設のみが症例を登録する。
- 2) 説明文書を用いて十分な説明を行い考慮の時間を設けた後、自由意志に基づく同意を患者本人より文書で得る。
- 3) 直接個人が識別できる情報を用いず、データベースのセキュリティを確保し、個人情報保護を厳守する。
- 4) 臨床試験審査委員会、効果・安全性評価

委員会、監査委員会による、臨床試験研究の第三者的監視を実施する。

#### C. 研究結果

平成 21 年度は、未治療マントル細胞リンパ腫に対する治療研究の症例登録を進めた。また予後不良な CD20 陽性びまん性大細胞型リンパ腫に対する治療研究のプロトコールを作成し症例登録開始の準備を進めた。平成 22 年度は未治療マントル細胞リンパ腫に対する治療研究への症例登録をさらに進め、また予後不良な CD20 陽性びまん性大細胞型リンパ腫に対する治療研究への症例登録を開始する予定である。

#### D. 考察

マントル細胞リンパ腫および予後不良な CD20 陽性びまん性大細胞型リンパ腫は、従来の治療法での治療成績が不良であり、新たな治療法の開発が急務な分野である。本研究によって同疾患に対する有効な治療法が開発される期待がある。

#### E. 結論

本研究は現在症例登録中、またはこれから症例登録を開始する段階にあり、現時点では結論できる結果を得ていないが、これまでのところ安全性に対する問題は発生していない。マントル細胞リンパ腫および予後不良因子を有する CD20 陽性びまん性大細胞リンパ腫には、自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法の有効性が期待されており、本研究での結果が期待されている。

#### F. 研究発表

Noguchi S, Kasai M et al. Pre-Treatment Serum Soluble Interleukin-2 Receptor Value Significantly Predicts Survival in Patients with Newly Diagnosed Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), 2009; 114: 3948.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

進行期難治性 B 細胞リンパ腫に対する大量化学療法を併用した効果的治療に関する臨床研究

分担研究者 渡辺隆 国立がん研究センター中央病院 特殊病棟部 11B 病棟医長

研究要旨

進行難治悪性リンパ腫に対する大量化学療法併用療法の  
臨床試験の実施

A. 研究目的

年齢調節国際予後指標で予後不良群とされるびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫ならびにマントル細胞リンパ腫を対象として、抗 CD20 抗体リツキシマブを併用した導入療法に引き続き、up-front での自家移植を併用した大量化学療法を施行し、その治療成績の向上を図る。

B. 研究方法

- 1) マントル細胞リンパ腫で適格条件であるサイクリン D1 陽性が不確かな例について、1 例でも適格例を増やすために病理組織診断の精度を上げるため免疫染色の準備を行った。
- 2) 万が一本研究プロトコール治療不応例が出た場合に備え、救済療法を検討するための前臨床研究の準備を行った。

C. 研究結果

今年度もマントル細胞リンパ腫に対してのプロトコールに適格例が存在しなかった。予後不良群とされるびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫に対するものは、本年度はまだプロトコール審査中のため、臨床試験が開始されていなかった。

D. 考察

上記につき、特になし。

E. 結論

研究結果が得られていないため、特になし。

F. 健康危険情報

（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Watanabe T, Kinoshita T, Itoh K, Yoshimura K, Ogura M, Kagami Y, Yamaguchi M, Kurosawa M, Tsukasaki K, Kasai M, Tobinai K, Kaba H, Mukai K, Nakamura S, Ohshima K, Hotta T, Shimoyama M. Pretreatment serum total protein is a significant prognostic factor to predict outcome of peripheral T/NK-cell lymphoma patients. *Leuk Lymphoma* in press.
- 2) Watanabe T, Kato H, Kobayashi Y, Yamasaki S, Morita-Hoshi Y, Yokoyama H, Morishima Y, Ricker JL, Otsuki T, Maesima AM, Matsuno Y, Tobinai K. Potential efficacy of the oral histone deacetylase inhibitor vorinostat in a

phase I trial in follicular and mantle cell lymphoma. *Cancer Sci* 101: 196-200, 2010.

- 3) Hirokawa M, Sawada K, Fujishima N, Kawano F, Kimura A, Watanabe T, Arai A, Matsui T, Nakao S, Urabe A, Omine M, Ozawa K. Acquired pure red cell aplasia associated with malignant lymphomas: a nationwide cohort study in Japan for the PRCA Collaborative Study Group. *Am J Hematol* 84: 144-148, 2009.
  - 4) Maeshima AM, Taniguchi H, Nomoto J, Maruyama D, Kim SW, Watanabe T, Kobayashi Y, Tobinai K, Matsuno Y. Secondary CD5+ diffuse large B-cell lymphoma not associated with transformation of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (Richter syndrome). *Am J Clin Pathol* 131: 339-346, 2009.
  - 5) Maeshima AM, Taniguchi H, Nomoto J, Maruyama D, Kim SW, Watanabe T, Kobayashi Y, Tobinai K, Matsuno Y. Histological and immunophenotypic changes in 59 cases of B-cell non-Hodgkin's lymphoma after rituximab therapy. *Cancer Sci* 100: 54-61, 2009.
2. 学会発表
  - 1) 渡辺隆: 教育講演 S-7; ③WHO 分類第 4 版; 臨床医から見た変更のポイント. 第 71 回日本血液学会学術集会. 2009/10/23-25. 国立京都国際会館.
  - 2) 渡辺隆: シンポジウム 1; 演題 4 (英語講演); What Is the Optimal Combination of

Rituximab (R) Plus CHOP (R-CHOP) for Indolent B-cell Non-Hodgkin Lymphoma (B-NHL) Based on Japanese Trials?. 第 49 回日本リンパ網内系学会総会. 2009/7/9-11. 淡路夢舞台国際会議場.

- 3) 渡辺隆: シンポジウム 2; 抗体デリバリー. 第 25 回日本 DDS 学会学術集会. 2009/7/3-4. 東京ドームホテル.
  - 4) 渡辺隆: 分子標的薬到来の時代に患者さんたちはわれわれ臨床医に何を求めるか? 神経鞘腫細胞株を用いたプロテアソーム阻害剤投与後の末梢神経障害解析モデルと末梢血単核球遺伝子発現プロファイルを用いた HDAC 阻害剤奏効群の予測の試み. 第 2 回グローバル COE 国内シンポジウム. 2009/6/26. 名古屋大学大学院医学系研究科 研究棟 1 号館地下 1 階会議室.
  - 5) 渡辺隆: JS2-3; Histone Deacetylase Inhibitors. 第 7 回日本臨床腫瘍学会学術集会. 2009/3/20-21. 名古屋国際会議場.
  - 6) 渡辺隆: RI 標識抗体療法. 第 23 回冬季札幌がんセミナー. 2009/2/7-8. ロイトン札幌.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし



厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）

（総括・分担）研究報告書

進行期難治悪性リンパ腫に対する大量化学療法併用療法の確立

分担研究者 小松弘和 名古屋市立大学病院 化学療法部 部長

研究要旨

未治療マントル細胞リンパ腫(MCL)、及び初発進行期かつ高リスク群びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫(DLBCL)を対象として、rituximab 併用寛解導入療法+自己末梢血幹細胞移植併用大量化学療法 (LEED 療法) の臨床第 II 相試験を実施。DLBCL においては、寛解導入治療として R-CHOP 単独群と R-CHOP→CHASER の sequential therapy の無作為比較を行う。主評価項目は 2 年無増悪生存割合とする。平成 20 年年 9 月に研究実施計画書について当施設の IRB 承認を得ており、該当症例を継続して検索中である。

A. 研究目的

未治療マントル細胞リンパ腫(MCL)、及び初発進行期かつ高リスク群びまん性大細胞型B細胞性リンパ腫(DLBCL)において、rituximab 併用寛解導入療法と upfront での自己末梢血幹細胞移植併用大量化学療法 (LEED 療法) の第 II 相試験を実施、あらたな標準療法の開発に寄与する。

B. 研究方法

MCL においては、R-high-CHOP 療法×1→CHASER×3 →LEED 療法による自己末梢血幹細胞移植療法を施行、DLBCL においては、寛解導入治療として R-CHOP 単独群と R-CHOP→CHASER の sequential therapy の無作為比較を行うとともに、LEED 療法による自己末梢血幹細胞移植療法を施行する。主評価項目は 2 年無増悪生存割合とする。

（倫理面への配慮）研究実施計画書の IRB 審査の承認を得る。説明文書を用いて十分な説明を行い、考慮の時間を設けた後、自由意志による同意を、患者本人より文書で得る。

C. D. E 研究結果、考察、結論

本年度は、平成 20 年にスタートアップミーティン

グに参加、同年 9 月には研究実施計画書について当施設の IRB 承認を得ている。当施設での CHASER 療法の安全性については、日本血液学会にて報告した。本年度は当施設での適格症例を得られなかったが、来年度は症例の登録継続的に計画する。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ito A, Ishida T, Utsunomiya A, Sato F, Mori F, Yano H, Inagaki A, Suzuki S, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R. Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody exerts potent ADCC against primary ATLL cells mediated by autologous human immune cells in NOD/Shi-scid, IL-2R gamma(null) mice in vivo. J Immunol. 2009;183(7):4782-91.

2. Inagaki A, Ishida T, Yano H, Ishii T, Kusumoto S, Ito A, Ri M, Mori F, Ding J, Komatsu

H, Iida S, Ueda R. Expression of the ULBP ligands for NKG2D by B-NHL cells plays an important role in determining their susceptibility to rituximab-induced ADCC. Int J Cancer. 2009;125(1):212-21.

3. Ito A, Ishida T, Yano H, Inagaki A, Suzuki S, Sato F, Takino H, Mori F, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R. Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody exercises potent ADCC-mediated antitumor effect in the novel tumor-bearing humanized NOD/Shi-scid, IL-2Rgamma(null) mouse model. Cancer Immunol Immunother. 2009 Aug;58(8):1195-206.

## 2. 学会発表

1. 矢野寛樹, 石田高司, 稲垣淳, 石井俊彦, 李政樹, 伊藤旭, 楠本茂, 小松弘和, 飯田真介, 稲垣宏, 上田龍三 CCR4 を分子標的とする mycosis fungoides/Sezary syndrome に対する新規抗体療法 第71回日本血液学会総会 京都 2009年

2. 伊藤旭, 石田高司, 宇都宮與, 佐藤文彦, 森芙美子, 矢野寛樹, 李政樹, 鈴木進, 楠本茂, 小松弘和, 飯田真介, 稲垣宏, 上田龍三 NOG マウスにおいて抗 CCR4 モノクローナル抗体は自己ヒト免疫細胞を介して ATLL 細胞に対する ADCC 活性を発揮する 第68回日本癌学会総会 横浜 2009年

3. 李政樹, 飯田真介, 中嶋孝行, 宮崎秀幸, 森芙美子, 伊藤旭, 楠本茂, 石田高司, 小松弘和,

塩津行正, 上田龍三 Bortezomib 耐性骨髓腫細胞株の樹立と薬剤耐性機序の検討 第68回日本癌学会総会 横浜 2009年

4. 森芙美子, 石田高司, 伊藤旭, 佐藤文彦, 稲垣淳, 李政樹, 楠本茂, 小松弘和, 飯田真介, 稲垣宏, 上田龍三 B-LBL モデルマウスの樹立及び病態解析 第71回日本血液学会総会 京都 2009年

5. 森芙美子, 楠本茂, 稲垣淳, 石田高司, 伊藤旭, 李政樹, 小松弘和, 飯田真介, 稲垣宏, 上田龍三 c-MYC、bcl-2 遺伝子異常を伴い、パークットリンパ腫様の臨床像を呈した precursor B-cell lymphoblastic lymphoma の一例 第49回日本リンパ網内系学会総会 兵庫 2009年

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当無し

### 2. 実用新案登録

該当無し

### 3. その他

該当無し

総括研究報告書

進行期難治性 B 細胞リンパ腫に対する大量化学療法を併用した効果的治療  
に関する臨床研究

主任研究者 森島泰雄 愛知県がんセンター中央病院 副院長・部長

研究要旨

再発ハイリスクのびまん性大細胞型 B 細胞性リンパ腫（DLBCL）とマントル細胞リンパ腫（MCL）の初回治療症例を対して、治療強度を強めた導入化学療法と自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法（APBSCT-HDC）を確立することを目的として、臨床試験を 2 つ計画し、プロトコルを完成し、後者は登録を開始し、20 症例が登録されている。この DLBCL 及び MCL の予後は不良で、治癒率の向上が示唆され、将来標準療法となりうる効果的で安全な導入療法の確立を目的とする。

分担研究者氏名・所属機関（職名）

森島泰雄・愛知県がんセンター中央病院  
（副院長、部長）  
福島卓也・長崎大学医学部（助教）  
張 高明・新潟県立がんセンター新潟病院  
内科（部長）  
鶴池直邦・国立病院機構九州がんセンター  
血液内科（部長）  
小椋美知則・名古屋第二赤十字病院  
（部長）  
笠井正晴・札幌北楡病院（院長）  
渡辺 隆・国立がんセンター中央病院血液  
内科（医長）  
小松弘和・名古屋市立大学病院（部長）

A. 研究目的

初発進行期かつ国際予後指標（IPI）高リスク群びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（DLBCL）を対象として、rituximab 併用寛解導入化学療法＋自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法（LEED 療法）を

標準的治療として確立するため、導入化学療法である R-biweekly CHOP 療法（A 群）と R-biweekly CHOP/ CHASER 療法（B 群）のランダム化第Ⅱ相試験をおこなう。また、未治療マントル細胞リンパ腫（MCL）に対して、rituximab 併用寛解導入療法（R-high-CHOP/CHASER）＋自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法（LEED 療法）の臨床第Ⅱ相試験をおこなう。

B. 研究方法

日本臨床腫瘍グループ（JCOG）のリンパ腫研究グループ（Lymphoma Study Group：LSG）に所属する 47 施設の多施設臨床試験として、主任研究者を研究代表者、臨床試験事務局として愛知県がん

センター中央病院血液・細胞療法部と名古屋第2赤十字病院血液内科をそれぞれ事務局とする2つの臨床試験のプロトコルをJCOGデータセンターの支援を得て作成し、臨床試験を遂行する。

(倫理面への配慮)

研究実施計画書のIRB承認が得られた施設のみが症例を登録する。説明文書を用いて十分な説明を行い、考慮の時間を設けた後、自由意志による同意を、患者本人より文書で得る。本研究はJCOGにおいて臨床試験審査委員会、効果・安全性評価委員会、監査委員会が組織され、研究の第三者的監視を実施する。

### C. 研究結果

A) 未治療マンツル細胞リンパ腫(MCL)を対象して、rituximab併用寛解導入療法(R-high-CHOP/CHASER) + 自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法(LEED療法)の臨床第II相試験を実施している。このプロトコルの症例選択基準は(1)組織学的に核cyclin D1陽性マンツル細胞リンパ腫、(2)年齢が20歳以上65歳以下、(3)ECOG PS 0-2で十分な臓器機能を有し、(4)臨床病期III期、IV期などで、主要評価項目は、2年無増悪生存割合。副次的評価項目は、(1)無増悪生存期間、(2)全生存期間、(3)R-high-CHOP/CHASER/LEED療法全体のCR及び全奏効割合(ORR)、(4)R-high-CHOP/CHASERのCR及びORR、(5)有害事象発現割合、(6)二次がん発生割合である。必要症例数は、閾値2年無増悪生存割合を30%、期待2年無増悪生存割合を50%とし、予定登録数は45例とした。平成

20年6月に、完成された本プロトコルに基づく臨床試験実施体制がJCOGリンパ腫グループにおいて整い、平成20年7月にJCOG参加予定46施設が参加して、スタートアップミーティングを開催し、本臨床研究につき周知した。その後、各施設での倫理審査委員会の承認がされ平成20年4月46施設で得られ、症例登録が開始され、平成22年3月現在20例が登録され、予定された症例集積ペースで臨床試験が進捗しており、重篤な有害事象の報告はない。予定症例(45症例)登録終了まで今後2年間(平成23年度中)を要すると予測される。

B) 初発進行期かつ国際予後指標(IPI)高リスク群びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)を対象として、rituximab併用寛解導入化学療法+自家末梢血幹細胞移植併用大量化学療法(LEED療法)を標準的治療として確立するため、導入化学療法であるR-biweekly CHOP療法(A群)とR-biweekly CHOP/CHASER療法(B群)のランダム化第II相試験を計画した。このプロトコルは症例選択基準は(1)CD20陽性のDLBCLと診断され、(2)年齢調節国際リスク分類(IPI)でH-I群、もしくはH群と判定され、(3)臨床病期II bulky, III, IV期、(4)年齢が20歳以上65歳以下などである。方法は、step Iの導入化学療法として、無作為化割付後、R-biweekly CHOP療法を6コース(A群)もしくはR-biweekly CHOP/CHASERを各3コースの計6コース(B群)を実施し、PR, CR症例に対しStep IIとして自家末梢血幹細胞移植併用の大量化学療法(LEED療法)を実施する。主要評価項目は、登録時からの2年無増悪生存割合とする。副次的評価項目は、

(1)step I 終了後の完全奏効割合(CR)、(2)step II終了後の(CR+CRu)、(3)登録時からの2年全生存割合、(4)5年無増悪生存割合、(5)5年全生存割合、(6)治療の安全性とする。必要症例数は、Simonの選択デザインに基づき、有効性が低い方の治療群での2年無増悪生存割合が65%で、高い方の治療法がこれを10%以上上回っていた場合に、良い方の治療群を正しく選択する確率を80%以上とすると各群それぞれ30例、計60例が必要となる。以上より、病理中央診断などによる不適格例を計10%弱と見込んで目標症例数は両群合わせて70例とした。平成20年前半に参加予定施設から最終の意見聴取を行い、本プロトコールの最終了解が得られ、CRF作成など臨床試験実施に向けて準備中であり、CRF作成など臨床試験実施に向けて最終準備中であり、平成21年度中の試験開始を予定している。46施設が本試験参加の予定である。目標症例数は70例としており、この症例数を集積するために、これまでにJCOG-LSGでおこなった臨床研究から3年(平成24年度登録終了)が必要であると見込まれる。

(添付資料 プロトコール抜粋)

3) 分担研究者の各施設において、悪性リンパ腫を対象として末梢血幹細胞移植を併用した大量化学療法、ならびに化学療法に関する初期臨床試験と臨床経験を集積し、二つの臨床試験のプロトコール作成・実施の基盤とした。

#### D. 考察

IPIで高リスク群DLBCL及びMCLの予後は不良で、治療強度を強めた導入化学療法と自家末梢血幹細胞移植併用大量

化学療法(APBSCT-HDC)により治癒率の向上が示唆されている。この試験をおこなうことにより、将来標準療法となりうる効果的で安全な導入療法を選択できる。

#### E. 結論

難治性悪性リンパ腫である進行期マンツル細胞リンパ腫とハイリスクび慢性大細胞性B細胞性リンパ腫に対する初回治療法として、わが国での初期臨床試験・経験に基づくオリジナリティの高い末梢血造血幹細胞移植併用大量化学療法のプロトコールを完成し、臨床試験を開始している。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kato H, Yamamoto K, Matsuo K, Oki Y, Taji H, Kuwatsuka Y, Seto M, Kagami Y, Morishima Y. Clinical impact and predisposing factors of delayed-onset neutropenia after autologous hematopoietic stem-cell transplantation for B-cell non-Hodgkin lymphoma: association with an incremental risk of infectious events. *Ann Oncol*. 2010 Feb 19. [Epub ahead of print]
- 2) Chihara D, Oki Y, Ine S, Kato H, Onoda H, Taji H, Kagami Y, Yamamoto K, Morishima Y. Primary gastric diffuse large B-cell Lymphoma (DLBCL): analyses of prognostic factors and value of pretreatment FDG-PET scan. *Eur J*

- Haematol. 2010 Feb 9. [Epub ahead of print]
- 3) Uchiyama S, Suzuki Y, Otake K, Yokoyama M, Ohta M, Aikawa S, Komatsu M, Sawada T, Kagami Y, Morishima Y, Fukui K. Development of novel humanized anti-CD20 antibodies based on affinity constant and epitope. *Cancer Sci.* 2010 Jan;101(1):201-9.
- 4) Kato H, Taji H, Ogura M, Tsujimura A, Fuwa N, Kodaira T, Seto M, Yamamoto K, Morishima Y. Favorable consolidative effect of high-dose melphalan and total-body irradiation followed by autologous peripheral blood stem cell transplantation after rituximab-containing induction chemotherapy with in vivo purging in relapsed or refractory follicular lymphoma. *Clinical Lymphoma Myeloma.* 2009 Clin Lymphoma Myeloma. 2009 Dec;9(6):443-8.
- 5) Chihara D, Oki Y, Ine S, Yamamoto K, Kato H, Taji H, Kagami Y, Yatabe Y, Nakamura S, Morishima Y. Analysis of prognostic factors in peripheral T-cell lymphoma: prognostic value of serum albumin and mediastinal lymphadenopathy. *Leuk Lymphoma.* 2009 Dec;50(12):1999-2004.
- 6) Kanda J, Matsuo K, Suzuki T, Hosono S, Ito H, Ichinohe T, Seto M, Morishima Y, Tajima K, Tanaka H. Association between obesity and the risk of malignant lymphoma in Japanese: A case-control study. *Int J Cancer.* 2010 May 15;126(10):2416-25.
- 7) Watanabe T, Kato H, Kobayashi Y, Yamasaki S, Morita-Hoshi Y, Yokoyama H, Morishima Y, Ricker JL, Otsuki T, Miyagi-Maesima A, Matsuno Y, Tobinai K. Potential efficacy of the oral histone deacetylase inhibitor vorinostat in a phase I trial in follicular and mantle cell lymphoma. *Cancer Sci.* 2010 Jan;101(1):196-200.
- 8) Chihara D, Kagami Y, Oki Y, Kato H, Onoda H, Ine S, Taji H, Yamamoto K, Morishima Y. R-CHOP therapy for MALT lymphoma of the rectum. *Eur J Haematol.* 2010 Jan 1;84(1):84-6.
- 9) Kanda J, Matsuo K, Kawase T, Suzuki T, Ichinohe T, Seto M, Morishima Y, Tajima K, Tanaka H. Association of alcohol intake and smoking with malignant lymphoma risk in Japanese: a hospital-based case-control study at Aichi Cancer Center. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2009 Sep;18(9):2436-41.
- 10) Honma K, Tsuzuki S, Nakagawa M, Tagawa H, Nakamura S, Morishima Y, Seto M. TNFAIP3/A20 functions as a novel tumor suppressor gene in several subtypes of non-Hodgkin lymphomas. *Blood.* 2009 Sep 17;114(12):2467-75.
- 11) Tobinai K, Ishizawa K, Ogura M, Itoh K, Morishima Y, Ando K, Taniwaki M, Watanabe T, Yamamoto J, Uchida T, Nakata M, Terauchi T, Nawano S, Matsusako M, Hayashi M, Hotta T. Phase II study of oral fludarabine in

- combination with rituximab for relapsed indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci.* 2009 Oct;100(10):1951-6.
- 12) Tobinai K, Watanabe T, Tanimoto K, Maruyama D, Nakata M, Itoh K, Morishima Y, Ogura M, Usui N, Kasai M, Terauchi T, Nawano S, Matsusako M, Matsuno Y, Nakamura S, Mori S, Ohashi Y. Phase III and pharmacokinetic study of cladribine with 2-h infusion in Japanese patients with relapsed indolent B-cell lymphoma mostly pretreated with rituximab. *Cancer Sci.* 2009 Jul; 100(7):1344-50.
- 13) Suzumiya J, Ohshima K, Tamura K, Karube K, Uike N, Tobinai K, Gascoyne RD, Vose JM, Armitage JO, Weisenburger DD; International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. The International Prognostic Index predicts outcome in aggressive adult T-cell leukemia/lymphoma: analysis of 126 patients from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. *Ann Oncol.* 2009 Apr;20(4):715-21.
- 14) Riko Kawano, Kennosuke Karube, Masahiro Kikuchi, Morishige Takeshita, Kazuo Tamura, Naokuni Uike, Tetsuya Eto, Koichi Ohshima, Junji Suzumiya. Oncogene associated cDNA microarray analysis shows PRAME gene expression is a marker for response to anthracyclin containing chemotherapy in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Exp Hematopathol.* 49(1).1-7, 2009.
- 15) Kazuhito Yamamoto, Atae Utsunomiya, Kensei Tobinai, Kunihiro Tsukasaki, Naokuni Uike, Kimiharu Uozumi, Kazunari Yamaguchi, Yasuaki Yamada, Shuichi Hanada, Kazuo Tamura, Shigeo Nakamura, Hiroshi Inagaki, Koichi Ohshima, Hitoshi Kiyoi, Takashi Ishida, Kouji Matsushima, Shiro Akinaga, Michinori Ogura, Masao Tomonaga, and Ryuzo Ueda. Phase I study of KW-0761, a defucosylated humanized anti-CCR4 antibody, in relapsed patients with adult T-Cell leukemia-lymphoma and peripheral T-cell lymphoma. *J. Clin.Oncol.* 25; 3575 2009.
- 16) Watanabe T, Kinoshita T, Itoh K, Yoshimura K, Ogura M, Kagami Y, Yamaguchi M, Kurosawa M, Tsukasaki K, Kasai M, Tobinai K, Kaba H, Mukai K, Nakamura S, Ohshima K, Hotta T, Shimoyama M. Pretreatment serum total protein is a significant prognostic factor to predict outcome of peripheral T/NK-cell lymphoma patients. *Leuk Lymphoma.* (in press).
- 17) Watanabe T, Kato H, Kobayashi Y, Yamasaki S, Morita-Hoshi Y, Yokoyama H, Morishima Y, Ricker JL, Otsuki T, Maesima AM, Matsuno Y, Tobinai K. Potential efficacy of the oral histone deacetylase inhibitor vorinostat in a phase I trial in follicular and mantle cell lymphoma. *Cancer Sci* 101: 196-200, 2010.
- 18) Hirokawa M, Sawada K, Fujishima N, Kawano F, Kimura A, Watanabe T, Arai A,

Matsui T, Nakao S, Urabe A, Omine M, Ozawa K. Acquired pure red cell aplasia associated with malignant lymphomas: a nationwide cohort study in Japan for the PRCA Collaborative Study Group. *Am J Hematol* 84: 144-148, 2009.

19) Maeshima AM, Taniguchi H, Nomoto J, Maruyama D, Kim SW, Watanabe T, Kobayashi Y, Tobinai K, Matsuno Y. Secondary CD5+ diffuse large B-cell lymphoma not associated with transformation of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (Richter syndrome). *Am J Clin Pathol* 131: 339-346, 2009.

20) Maeshima AM, Taniguchi H, Nomoto J, Maruyama D, Kim SW, Watanabe T, Kobayashi Y, Tobinai K, Matsuno Y. Histological and immunophenotypic changes in 59 cases of B-cell non-Hodgkin's lymphoma after rituximab therapy. *Cancer Sci* 100: 54-61, 2009.

21) Ito A, Ishida T, Utsunomiya A, Sato F, Mori F, Yano H, Inagaki A, Suzuki S, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R.

Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody exerts potent ADCC against primary ATLL cells mediated by autologous human immune cells in NOD/Shi-scid, IL-2R gamma(null) mice in vivo. *J Immunol*. 2009;183(7):4782-91.

22) Inagaki A, Ishida T, Yano H, Ishii T, Kusumoto S, Ito A, Ri M, Mori F, Ding J, Komatsu H, Iida S, Ueda R. Expression of the ULBP ligands for NKG2D by

B-NHL cells plays an important role in determining their susceptibility to rituximab-induced ADCC. *Int J Cancer*. 2009;125(1):212-21.

23) Ito A, Ishida T, Yano H, Inagaki A, Suzuki S, Sato F, Takino H, Mori F, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R. Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody exercises potent ADCC-mediated antitumor effect in the novel tumor-bearing humanized NOD/Shi-scid, IL-2R gamma(null) mouse model. *Cancer Immunol Immunother*. 2009 Aug;58(8):1195-206.

24) Tobinai K, Watanabe T, Ogura M, Morishima Y. et al. Japanese phase II study of 90Y-ibritumomab tiuxetan in patients with relapsed or refractory indolent B-cell lymphoma. *Cancer Sci*. 2009, 100:158-64.

## 2. 学会発表

1) Michinori Ogura, Toshiki Uchida, Kiyoshi Ando, Ken Ohmachi, Kuniaki Itoh, Nobuko Kubota, Kenichi Ishizawa, Joji Yamamoto, Takashi Watanabe, Naokuni Uike, Ilseung Choi, Yasuhito Terui, Kensuke Usuki, Hirokazu Nagai, Nobuhiko Uoshima, Kensei Tobinai. Bendamustine is highly effective for relapsed or refractory indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma (B-NHL) and Mantle cell lymphoma (MCL): final results of a Japanese multicenter phase II study. 51<sup>th</sup> American society of Hematology annual meeting and



exposition. December 5-8, 2009, New Orleans, LA, USA

2) Michinori Ogura, Toshiki Uchida, Dai Maruyama, Naokuni Uike, Ilseung Choi, Kenichi Ishizawa, Kuniaki Itoh, Kiyoshi Ando, Masafumi Taniwaki, Naomi Shimada, Ken Kobayashi, Kensei Tobinai. Phase I and pharmacokinetic study Everolimus (RAD001) in Patients with relapsed or refractory Non-Hodgkin Lymphoma (NHL). 51<sup>th</sup> American Society of Hematology annual meeting and exposition. December 5-8, 2009, New Orleans, LA, USA

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kato H, Morishima Y	Clinical impact and predisposing factors of delayed-onset neutropenia after autologous hematopoietic stem-cell transplantation for B-cell non-Hodgkin lymphoma	Ann Oncol.	—	Feb 19. [Epub ahead of print]	2010
Chihara D, Morishima Y	Primary gastric diffuse large B-cell Lymphoma (DLBCL): analyses of prognostic factors and value of pre-treatment FDG-PET scan.	Eur J Haematol.	—	Feb 9. [Epub ahead of print]	2010
Uchiyama S, Morishima Y	Development of novel humanized anti-CD20 antibodies based on affinity constant and epitope.	Cancer Sci.	101(1)	201-9.	2010
Suzumiya J, Uike N	International Peripheral T-Cell Lymphoma Project. The International Prognostic Index predicts outcome in aggressive adult T-cell leukemia/lymphoma: analysis of 126 patients from the International Peripheral T-Cell Lymphoma Project.	Ann Oncol.	20(4)	715-21.	2009

# Clinical impact and predisposing factors of delayed-onset neutropenia after autologous hematopoietic stem-cell transplantation for B-cell non-Hodgkin lymphoma: association with an incremental risk of infectious events

H. Kato<sup>1,2</sup>, K. Yamamoto<sup>1\*</sup>, K. Matsuo<sup>3</sup>, Y. Oki<sup>1</sup>, H. Taji<sup>1</sup>, Y. Kuwatsuka<sup>1</sup>, M. Seto<sup>2</sup>, Y. Kagami<sup>1</sup> & Y. Morishima<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematology and Cell Therapy, Aichi Cancer Center Hospital; Divisions of <sup>2</sup>Molecular Medicine and <sup>3</sup>Epidemiology and Prevention, Aichi Cancer Center Research Institute, Nagoya, Aichi, Japan

Received 13 April 2009; revised 24 December 2009; accepted 29 December 2009

**Background:** Clinical significance of delayed-onset neutropenia (DON) after autologous hematopoietic stem-cell transplantation (ASCT) has not been well described. We conducted a retrospective cohort study to examine risk factors and clinical impact of DON.

**Design and methods:** Subjects were consecutive 108 patients with B-cell lymphoma receiving ASCT. We defined DON as absolute neutrophil counts  $<1.0 \times 10^9/l$  at any point from 30 days onward after ASCT without apparent causes of neutropenia. Documented infectious events were reviewed from 1 to 18 months after ASCT.

**Results:** Fifty-two percent of patients received rituximab. Cumulative incidence of DON was 50% at 1 year. Rituximab usage was identified as an independent risk factor of DON. A total of 117 infectious events were documented, of which 24 events occurred during DON period. Cumulative incidence of total infectious events was 75% and 42% in the groups with and without DON, respectively ( $P = 0.001$ ). Varicella-zoster virus ( $P = 0.033$ ) and upper respiratory infection ( $P = 0.016$ ) were frequent in the patients experiencing DON. In a multivariable analysis, DON remained a significant factor for total infectious events and upper respiratory infection.

**Conclusions:** Rituximab usage is an independent risk factor of DON. DON correlates with increased occurrence of infectious events. Careful follow-up would be needed after the onset of DON.

**Key words:** immunotherapy, neutropenia, rituximab, toxicity, viral infection

## introduction

Rituximab is a chimeric monoclonal anti-CD20 antibody containing human immunoglobulin G1 kappa constant regions with murine variable regions [1]. It displays significant therapeutic activity for CD20-positive B-cell non-Hodgkin lymphoma (B-NHL) both as a single agent and in combination with cytotoxic chemotherapy [2–5]. Rituximab can also be used before and after autologous hematopoietic stem-cell transplantation (ASCT) showing powerful antitumor effects and pure graft collection, without additive severe hematological toxicity and delaying time to engraftment after ASCT [6–10].

Delayed-onset neutropenia (DON) has been recently reported as a late complication of rituximab usage [8, 11–15]. Reversible rituximab-related DON tends to occur within 6

months after the last infusion of rituximab. Although some study showed that DON occurred more often in patients receiving rituximab in combination with intensive- or high-dose therapy [15], we sometimes had an experience of DON developing after ASCT even in the patients without rituximab exposure. To what extent rituximab contributes to the occurrence of DON is yet elucidated in the situation of rituximab usage for the patients undergoing ASCT.

Impact of DON is relatively subclinical and little clinical importance after standard chemotherapy [11, 15]. Lemieux et al. [14] reported that its occurrence with the immunosuppressive condition such as post-transplantation might predispose some patients to serious but not life-threatening infectious complication; its clinical impact after ASCT is, however, not well known from large series. We conducted a retrospective study to analyze the clinical significance and risk factors of DON in patients with B-NHL receiving induction chemotherapy with or without rituximab followed by ASCT.

\*Correspondence to: Dr K. Yamamoto, Department of Hematology and Cell Therapy, Aichi Cancer Center Hospital, 1-1 Kanokoden, Chikusa-ku, Nagoya, Aichi 464-8681, Japan. Tel: +81-52-762-6111; Fax: +81-52-764-2923; E-mail: kyamamoto@aichi-cc.jp

## design and methods

### study group

This was an institutional review board-approved retrospective cohort study. Medical records of the consecutive B-NHL treated with high-dose therapy followed by ASCT were reviewed in our institute from 20 June 1991 to 31 January 2007, and a total of 111 patients were selected. The patients who received prior rituximab monotherapy or combination chemotherapy were included, and those were excluded if they had undergone prior transplantation. The patients were also excluded if they had engraftment failure after ASCT, had progressive disease or had received other chemotherapy except rituximab monotherapy within 30 days after ASCT.

### study definition

Clinical significance was defined in this study as occurrence of documented infectious events after ASCT. Infectious events were reviewed in all patients between 30 days and 1.5 years or last follow-up after ASCT regardless of DON episodes. Nine factors were included in infectious events: Varicella-zoster virus (VZV) infection, herpes simplex virus (HSV) infection, cytomegalovirus (CMV) antigenemia or infection, fever ( $>38.0^{\circ}\text{C}$ ), upper respiratory infection, pneumonia (excluding interstitial lung diseases), gastroenteritis, urinary tract infections, and other infectious events. Other infectious events represented local bacterial infections.

DON was defined as absolute neutrophil count (ANC)  $<1.0 \times 10^9/\text{l}$  at any point from 30 days after ASCT to last follow-up without apparent causes of neutropenia after neutrophil engraftment. Patients were counted as censored events if they had apparent causes of neutropenia such as disease progression, drug-related toxic effects or secondary hematologic malignancies, and those were also counted as censored events if they had further chemotherapy after ASCT. Patients were not counted as censored events who had neutropenia followed by infectious events or had the ambiguous onset or who were treated after ASCT with rituximab monotherapy or local radiation therapy for residual diseases. Severity of DON, hematologic toxic effects, and infectious events were evaluated according to the National Cancer Institute—Common Terminology Criteria for Adverse Events version 2. Engraftment was defined as the first of two consecutive days on which the patient's ANC was  $\geq 0.5 \times 10^9/\text{l}$  and unsupported platelet counts were  $\geq 20 \times 10^9/\text{l}$  within 30 days after ASCT.

### statistical considerations

Incidence of DON was analyzed by cumulative incidence method. Risk factors of DON were evaluated for 16 factors including rituximab usage, age ( $\leq 60$  or  $>60$  years), sex, histology (aggressive or indolent), number of extra nodal sites ( $\leq 1$  or  $\geq 2$ ), performance status ( $\leq 1$  or  $\geq 2$ ), existence of B symptoms (presence or absence of night sweat,  $>10\%$  weight loss over 6 months, or recurrent fever  $>38.3^{\circ}\text{C}$ ), the level of lactate dehydrogenase (normal or elevated), existence of bone marrow involvement, existence of bulky lesion (present or absent, largest diameter of the disease  $\geq 10$  cm), prior local radiation therapy, number of prior chemotherapy regimens ( $\leq 2$  or  $\geq 3$ ), pretransplantation setting (up front or relapse/refractory disease), status at ASCT (complete remission or partial remission), CD34-selected ASCT, and types of conditioning regimens [total body irradiation (TBI)-containing regimens or non-TBI regimens]. Bias due to indication of rituximab treatment was considered by application of propensity score [16]. Risk factors for DON occurrence were explored by Cox proportional hazards model applying stepwise method ( $P$  value for removal = 0.10 and that for inclusion = 0.05). Finally, we applied bootstrap resampling method for validation of our analyses (repeating 10 000 times with 108 sampling from original cohort). All the analyses were stratified by quartile of propensity score.

Cumulative incidence of infectious events was estimated by Kaplan–Meier method in this study on the grounds that substituting Kaplan–Meier method evaluating as time-varying covariate for cumulative incidence

method produced the same results. Potential risk factors associated with infectious events were analyzed, evaluating as time-varying covariate, for 17 factors including DON in addition to the aforementioned 16 factors. Univariable analyses for infectious events were carried out using the cut-off value of 0.15, and factors associated with significance in univariable analyses were subjected to multivariable analyses (the cut-off value of 0.05). These analyses were carried out with the use of STATA software (version 10; StataCorp LP, College Station, TX).

## results

### study group

Two patients were excluded because of early disease progression. A patient given rituximab 2.3 years before ASCT was also excluded. One patient who received high-dose therapy but not stem-cell transplantation was included, and all the other patients were eligible. Finally, we proved analyses for a total of 108 patients. Patient characteristics were shown in Table 1. Forty-nine patients had diffuse large B-cell lymphoma, 35 follicular lymphoma, 20 mantle cell lymphoma and 4 other B-NHL. Fifteen (14%) patients had prior rituximab exposure before pretransplantation induction chemotherapy. Seventeen patients who received CD34-selected stem-cell transplantation were all rituximab naive. Two patients had a previous history of fludarabine or cladribine administration, and no patient had a history of alemtuzumab injection. The median number of prior treatment regimens was 2. Fifty-six (52%) patients received rituximab in combination with pretransplantation induction chemotherapy. The patients who had rituximab usage received the last rituximab infusion within 3 months before transplantation (median 45 days, range 28–76). No patients had rituximab given during conditioning therapy, and two patients received rituximab monotherapy after ASCT.

Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) was administered in all patients until neutrophil engraftment after ASCT, and the median time to engraftment of ANC ( $\geq 0.5 \times 10^9/\text{l}$ ) was 10 days (range 7–17 days).

### incidence and clinical impact of DON

Cumulative incidence of DON was 50% [95% confidence interval (CI) 40% to 59%] in all patients at 1 year, 66% (95% CI 52% to 77%) with rituximab usage group, and 33% (95% CI 21% to 45%) without rituximab group. DON occurred more often in the group with rituximab usage ( $P = 0.003$ , log-rank test) (Figure 1). The two patients who had a previous history of fludarabine or cladribine administration experienced DON, one of which was a rituximab-naive patient. The median days of first onset of DON was 71 (range 31–399) after ASCT. The median number of DON occurrence was 2 (range 1–10). The median interval of first onset days of DON to second was 36 days (range 4–320 days). The median value of nadir neutrophil count during DON was  $0.446 \times 10^9/\text{l}$  (range 0.009– $0.968 \times 10^9/\text{l}$ ) at a median of 96 days (range 32–686 days) after ASCT, and grade 4 neutropenia (neutrophil counts  $<0.5 \times 10^9/\text{l}$ ) was observed in 53% of patients (Figure 2a). Fifteen (27%) of 55 DON patients experienced bicytopenia (neutropenia and grade 3 or 4 thrombocytopenia or anemia), 6 of which had pancytopenia (neutropenia, grade 3 or 4 thrombocytopenia and