

Hematopoëtische groeifactor GM-CSF bij chemotherapie wegens voortgeschreden mammacarcinoom

K. HOEKMAN, J. WAGSTAFF, E. BOVEN, C. J. VAN GROENINGEN, J. B. VERMORKEN EN H. M. PINEDO

INLEIDING

Behandeling van het gemetastaseerde mammacarcinoom met een hogere dosering chemotherapie dan de gebruikelijke heeft een groter antitumoreffect.^{1,4} De verhoging van de dosis wordt echter beperkt door toename van hematologische bijwerkingen, waardoor infecties en bloedingen kunnen optreden. Beenmergtoxiciteit als gevolg van chemo- en radiotherapie kan sinds kort worden verminderd door toediening van humane hematopoëtische groeifactoren, ook 'colony stimulating factors' (CSF's) genoemd.^{5,6}

Granulocyt-macrophage-CSF (GM-CSF) stimuleert met name de groei en de rijping van voorlopercellen van neutrofiële en eosinofiele granulocyten en van monocytten en macrofagen,^{7,8} maar stimuleert ook de activiteit van rijpe granulocyten, monocytten en macrofagen.⁹ GM-CSF verhoogt onder andere de fagocyterende activiteit ten opzichte van micro-organismen en van tumorcellen.^{10,11} Dit positieve effect op de massa en op de functionele activiteit van fagocyterende cellen zou bescherming tegen infecties en een grotere immunrespons op tumorcellen kunnen betekenen. GM-CSF werd met goed resultaat toegepast bij patiënten met een primaire of een secundaire beenmerginsufficiëntie en had een gunstig effect op leukopenie bij AIDS en bij myelodysplasie.¹²⁻¹⁴ Bovendien bleek GM-CSF de beenmergtoxiciteit van intensieve chemotherapie te kunnen verminderen.^{15,16} Bij patiënten die werden behandeld met een hoge dosis chemotherapie gevolgd door autologe beenmergtransplantatie werd het beenmergherstel versneld.¹⁷

Wij beschrijven een onderzoek waarin wij GM-CSF combineerden met een middelhoge en een hoge dosis chemotherapie bij de behandeling van 11 patiënten met een mammacarcinoom in een ver voortgeschreden stadium. Beschreven worden het effect op het beenmergherstel, de niet-hematologische toxiciteit en de antitumorrespons bij deze behandeling.

PATIËNTEN EN METHODEN

In dit onderzoek werden 11 patiënten opgenomen met een lokaal inoperabel of gemetastaseerd mammacarcinoom. De tumorgebieden waren te beoordelen door

Zie ook de artikelen op bl. 407, 409 en 420.

SAMENVATTING

In een niet-gerandomiseerd onderzoek werd de (hematologische) toxiciteit en antitumorrespons van hoog gedoseerde chemotherapie in combinatie met granulocyt-macrophage-groeifactor (GM-CSF) bij de behandeling van het voortgeschreden mammacarcinoom bestudeerd. Het onderzoek vond plaats in het Vrije Universiteit Ziekenhuis, Amsterdam. Van 11 patiënten met een inoperabel of een gemetastaseerd mammacarcinoom werden 5 behandeld met adriamycine 75 mg/m² + cyclofosfamide 750 mg/m² intraveneus éénmaal per drie weken en 6 patiënten met respectievelijk 90 en 1000 mg/m². Als in een voorafgaande cyclus belangrijke hematologische toxiciteit optrad, werd de behandeling in de volgende cyclus gecombineerd met GM-CSF, 250 µg/m²/dag van dag 2 tot 12 als continu infuus.

De beenmergsuppressie werd door GM-CSF verminderd. Dit bleek uit een minder diepe daling van het aantal neutrofiële granulocyten, een minder lange periode van neutropenie en een sneller herstel van het aantal granulocyttaire leukocyten. Ook werd een voorbijgaande eosinofilie en een lichte stijging van het aantal monocytten gezien. GM-CSF had geen beschermende werking ten aanzien van de erythro- en trombopoëse. Het effect van GM-CSF op het beenmergherstel was in de groep met de hoogste dosering chemotherapie minder sterk. Bijwerkingen van GM-CSF waren malaise, koorts en een lichte bloeddrukdaaling, hetgeen gecombineerd met een frequent optredende anemie en de bijwerkingen van hoog gedoseerde chemotherapie, een aanzienlijke toxiciteit opleverde. Bij 9 van de 11 patiënten werd een objectieve afname van de tumor vastgesteld.

GM-CSF bespoedigde het herstel van het aantal granulocyttaire leukocyten na intensieve chemotherapie. Behandeling van een kleine groep patiënten met een voortgeschreden mammacarcinoom door middel van intensieve chemotherapie resulteerde in een hoge antitumorrespons.

directe meting of met röntgenonderzoek. In tabel 1 zijn de gegevens van de patiënten vermeld. Van de patiënten was 1 eerder behandeld met adjuvante chemotherapie, 7 patiënten waren postoperatief met radiotherapie behandeld en 2 patiënten hadden radiotherapie ondergaan wegens wervelmetastasen. Bij 5 patiënten werd eerder hormonale therapie toegepast. Aan het begin van dit onderzoek was het ziektebeeld bij alle patiënten progressief. Alle patiënten waren in een goede lichamelijke toestand (WHO 'performance'-score < 2). De mediane leeftijd was 51 jaar. Alle patiënten hadden een leukocy-

Academisch Ziekenhuis Vrije Universiteit, afd. Geneeskundige Oncologie, Postbus 7057, 1007 MB Amsterdam.

K. Hoekman, dr. J. Wagstaff, mw. dr. E. Boven, dr. C. J. van Groeningen, dr. J. B. Vermorken en prof. dr. H. M. Pinedo, internisten.

Correspondentie-adres: K. Hoekman.

TABEL 1. Gegevens van 11 patiënten die werden behandeld met een combinatie van adriamycine en cyclofosfamide en de hematopoëtische groeifactor GM-CSF wegens voortgeschreden mammacarcinoom

patiënt	stadium	voor-behandeling	aantal cycli		respons
			zonder GM-CSF	met GM-CSF	
<i>groep A*</i>					
A	MM	RT, HT, CMF	1	1	PR
B	MM	RT	1	2	SZ
C	LM	-	3	1	PR
D	MM	RT, HT	1	3	PR
E	LM	HT	1	1	PR
<i>groep B†</i>					
F	LM	-	1	2	PR
G	LM	-	1	2	PR
H	MM	RT	1	3	CR
J	MM	RT, HT	1	3	PR
K	MM	RT	1	4	PR
L	MM	RT, HT	1	1	SZ

MM = gemetastaseerd mammacarcinoom; LM = lokaal inoperabel mammacarcinoom; HT = hormonale therapie; RT = radiotherapie; CMF = cyclofosfamide, methotrexaat en 5-fluorouracil; PR = partiële remissie; CR = complete remissie; SZ = stabiele ziekte.

* Dosis van 75 mg/m² adriamycine en 750 mg/m² cyclofosfamide.

† Dosis van 90 mg/m² adriamycine en 1000 mg/m² cyclofosfamide.

tenaantal $> 4 \times 10^9/l$ en een trombocytenaantal $> 100 \times 10^9/l$ en een voldoende nierfunctie (serumcreatininegehalte $< 150 \mu\text{mol/l}$) en leverfunctie (serumbilirubinegehalte $< 25 \mu\text{mol/l}$). Patiënten met hersenmetastasen, een ernstige hartfunctiestoornis of een actieve infectie werden niet in dit onderzoek opgenomen.

Tevoren werden de patiënten mondeling en schriftelijk voorgelicht betreffende het experimentele karakter van de behandeling. Zij gaven schriftelijk toestemming voor het uitvoeren van deze behandeling. Wekelijks werd de anamnese opgenomen en lichamelijk onderzoek verricht. Hematologisch onderzoek met inbegrip van bepaling van de leukocytdifferentiatie vond elke 2 dagen plaats. Eenmaal per week werd biochemisch onderzoek uitgevoerd. De antitumorrespons werd beoordeeld aan de hand van standaardcriteria van de WHO.

Behandelingsschema. Er werden 5 patiënten (groep A) behandeld met adriamycine 75 mg/m² en cyclofosfamide 750 mg/m² intraveneus eenmaal per 3 weken en 6 patiënten (groep B) met adriamycine 90 mg/m² en cyclofosfamide 1000 mg/m². De eerste cyclus werd zonder GM-CSF toegediend. In een volgende cyclus werd GM-CSF toegevoegd indien het leukocytenaantal in de voorafgaande cyclus tot $< 1,5 \times 10^9/l$ of het trombocytenaantal tot $< 100 \times 10^9/l$ was gedaald.

Bij ernstige toxiciteit in de volgende cycli met GM-CSF werd de dosis chemotherapie gereduceerd. De behandeling werd gestopt bij progressie van de tumor, bij onaanvaardbare toxiciteit of als de patiënt hierom verzocht.

GM-CSF. De humane recombinante granulocyt- en macrofaag-stimulerende factor was afkomstig van een *Escherichia coli*-stam die was getransfecteerd met het humaan GM-CSF-gen (Behringwerke AG, Marburg,

West-Duitsland). GM-CSF werd toegediend door middel van een kleine draagbare pomp (Cadd-1, Pharmacia Deltec, St Paul, USA) die was aangesloten op een veneus toegangssysteem (Port-A-Cath, Pharmacia Deltec, St Paul, USA) als een continu infuus.¹⁸ Met toediening van GM-CSF werd gestart 24 uur na toediening van de chemotherapie, in een dosis van 250 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dag}$ gedurende 10 dagen (dag 2-12). De patiënt verliet op dag 2 het ziekenhuis.

RESULTATEN

Hematologische toxiciteit. In tabel 2 en 3 en in de figuur worden de veranderingen in het aantal neutrofiele granulocyten en trombocyten in de cyclus zonder GM-CSF vergeleken met die in de eerste cyclus met GM-CSF. Behandeling met adriamycine en cyclofosfamide had een ernstige en langdurige neutropenie tot gevolg. Het dieptepunt werd op dag 11 à 12 van de cyclus bereikt en het herstel was langzaam. Het aantal neutrofiele granulocyten was op dag 21 nog niet op het beginniveau teruggekeerd. In de daaropvolgende cyclus met GM-CSF trad eerst een scherpe stijging op van het aantal neutrofielen en was het eropvolgende dieptepunt minder laag in groep A. Het dieptepunt werd nu eerder bereikt, maar het herstel begon vroeger, hetgeen resulteerde in een verkorting van de duur van de neutropenie (1,8 in plaats van 6,6 dagen in groep A en 5,2 in plaats van 7,0 dagen in groep B). Toepassing van GM-CSF verhoogde het gemiddelde aantal neutrofielen gedurende de hele cyclus. In de cyclus met GM-CSF daalde het aantal trombocyten dieper en leek de trombopenie ook iets langer te duren (zie tabel 3). Het aantal patiënten die een bloedtransfusie kregen, was tijdens de cycli met GM-CSF iets hoger (tabel 4).

Terwijl in de cycli zonder GM-CSF het aantal eosinofiele granulocyten laag was en bleef (gemiddeld $0,05 \times 10^9/l$), trad tijdens de GM-CSF-toediening een voorbijgaande eosinofilie op tot een maximale gemiddelde waarde van $0,5 \times 10^9/l$. Tevens ontstond een lichte monocytose in het tweede deel van de cyclus met GM-CSF.

Niet-hematologische toxiciteit. Tijdens GM-CSF-infusie werd bij alle patiënten een verhoging van de lichaamstemperatuur waargenomen van gemiddeld 1°C (zie tabel 4). Het temperatuurverloop tijdens GM-CSF was onrustig en was soms aanleiding om patiënten op te nemen om een infectie als oorzaak van de koorts uit te sluiten. Bijna alle patiënten klaagden over moeheid tijdens GM-CSF-infusie. Bij 6 van de 11 patiënten werd een geringe daling van de diastolische bloeddruk gezien (ongeveer 10 mmHg). Bij 2 patiënten trad een voorbijgaande stijging van de leverenzymwaarden in het bloed op. De lichaamstemperatuur, de bloeddruk en de leverenzymwaarden werden na het staken van GM-CSF-toediening snel weer normaal. Bot- of spierpijn als gevolg van GM-CSF werd nauwelijks waargenomen.

Ernstige stomatitis trad alleen op in groep B en werd niet duidelijk beïnvloed door GM-CSF. Van groep A had 1 patiënte diarree die was ontstaan na een dunne darmresectie. Deze klacht verergerde tijdens de behandeling met GM-CSF, en was reden om verdere behande-

TABEL 2. Effect van de hematopoëtische groeifactor GM-CSF op het gemiddelde aantal neutrofiële granulocyten ($\times 10^9/l$; (SEM)) van 11 patiënten behandeld met verschillende doses adriamycine en cyclofosfamide wegens voortgeschreden mammacarcinoom

	groep A* (n = 5)		groep B† (n = 6)	
	zonder GM-CSF	met GM-CSF	zonder GM-CSF	met GM-CSF
aantal granulocyten				
- voor behandeling	4,2 (1,0)	3,3 (0,5)	5,3 (0,5)	4,2 (0,8)
- laagste	0,13 (0,5)	0,62 (0,3)	0,02 (0,01)	0,07 (0,02)
- na behandeling	3,1 (1,1)	4,5 (0,4)	3,4 (0,9)	4,2 (1,0)
- gemiddelde gehele behandeling	2,0 (0,6)	3,7 (0,8)	2,2 (0,5)	3,2 (0,9)
dag laagste aantal granulocyten‡	11,8 (0,9)	10 (0,3)	11 (0,9)	9,0 (0,2)
duur neutropenie ($< 0,5 \times 10^9/l$)	6,6 (0,8)	1,8 (0,8)	7,0 (0,7)	5,2 (0,5)
dag herstel‡ ($> 0,5 \times 10^9/l$)	17 (1,0)	11,6 (0,4)	16,2 (1,1)	13,0 (0,6)

* Dosis van 75 mg/m² adriamycine en 750 mg/m² cyclofosfamide.

† Dosis van 90 mg/m² adriamycine en 1000 mg/m² cyclofosfamide.

‡ Dagnummer na het begin van de cyclus.

TABEL 3. Effect van de hematopoëtische groeifactor GM-CSF op het gemiddelde aantal trombocyten ($\times 10^9/l$; (SEM)) van 11 patiënten behandeld met verschillende doses adriamycine en cyclofosfamide wegens voortgeschreden mammacarcinoom

	groep A* (n = 5)		groep B† (n = 6)	
	zonder GM-CSF	met GM-CSF	zonder GM-CSF	met GM-CSF
aantal trombocyten				
- voor behandeling	308 (31)	400 (29)	324 (38)	356 (28)
- laagste	111 (19)	53 (8)	63 (2)	35 (2)
- na behandeling	415 (49)	367 (48)	388 (37)	405 (51)
- gemiddelde gehele behandeling	247 (29)	230 (36)	202 (22)	211 (19)
dag laagste aantal trombocyten‡	11,4 (0,8)	9,8 (0,8)	12,2 (0,5)	11,2 (0,3)
duur trombopenie ($< 100 \times 10^9/l$)	2,2 (0,9)	3,0 (0,8)	4,3 (0,5)	5,8 (0,7)
dag herstel‡ ($> 100 \times 10^9/l$)	13,6 (0,8)	12,0 (1,2)	14,3 (0,5)	14,2 (0,3)

* Dosis van 75 mg/m² adriamycine en 750 mg/m² cyclofosfamide.

† Dosis van 90 mg/m² adriamycine en 1000 mg/m² cyclofosfamide.

‡ Dagnummer na het begin van de cyclus.

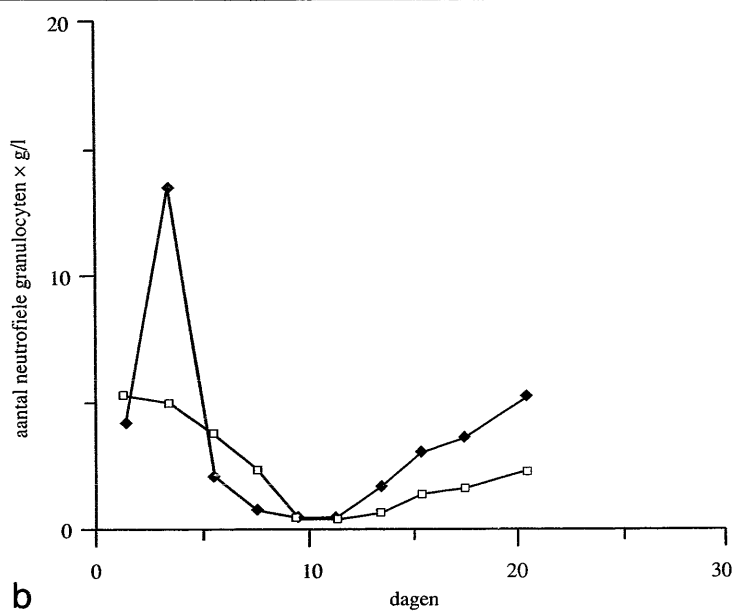
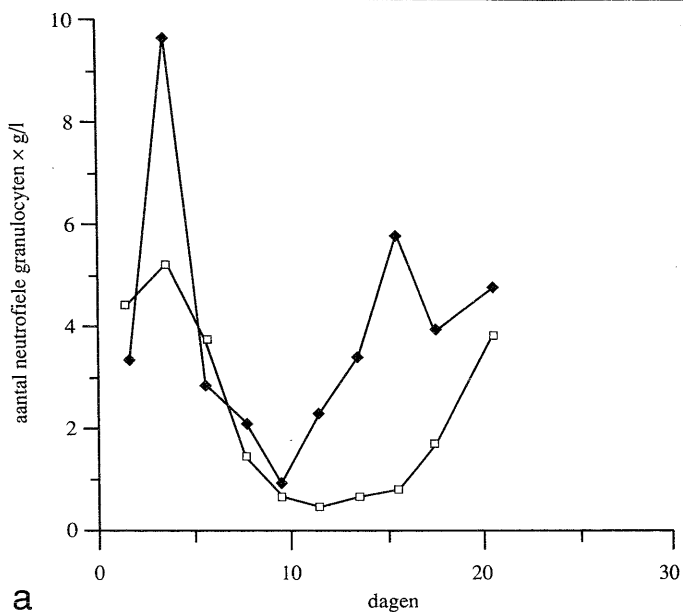
ling met GM-CSF te staken. Verder staakten 2 patiënten de behandeling met GM-CSF vanwege koorts en malaise-gevoelens.

Antitumoreffect. Bij alle patiënten trad vermindering van de afwijkingen tijdens de behandeling op. Bij 2 patiënten werd echter niet voldaan aan het criterium van partiële remissie en bij hen werden de afwijkingen als stabiel beschouwd. Bij 1 patiënte in groep B met uitgebreide levermetastasering verdwenen de afwijkingen op de CT-scan en was een cytologisch punctaat van de lever na therapie negatief op tumorcellen. Het aantal objectieve remissies was 9, waaronder 1 complete remissie. De 4 patiënten met een inoperabel mammacarcinoom werden alsnog geopereerd. Bij de overige patiënten werd de behandeling gestopt en werd afgewacht of werd de chemotherapie voortgezet in een lagere dosis.

BESCHOUWING

Beenmergtoxiciteit is de voornaamste dosisbeperkende factor bij de behandeling van kanker met chemotherapie. In dit onderzoek werd vastgesteld dat door toepassing van GM-CSF de leukopenie ten gevolge van hoge dosis

chemotherapie kan worden verminderd. De beschermende werking van GM-CSF is echter beperkt als de dosis chemotherapie verder wordt verhoogd. In de groep met de hoogste dosis daalden de concentraties neutrofiële granulocyten evenveel met en zonder GM-CSF en werd de duur van de neutropenie door GM-CSF minder sterk verkort dan in de groep met een minder hoge dosis. Waarschijnlijk heeft dit te maken met een grotere reductie van het aantal hemopoëtische voorlopercellen met GM-CSF-receptoren in het beenmerg door de hogere dosis chemotherapie. De leukocytose op dag 4 van de cyclus met GM-CSF bestond bijna uitsluitend uit rijpe neutrofiële granulocyten en geeft aan dat GM-CSF een snel uittreden van deze cellen uit het beenmerg bevordert. Hierdoor is mogelijk de relatieve beenmergreserve van granulocyten tijdelijk verminderd, wat blijkt uit de hieropvolgende snelle daling van het granulocytentelgetal en het eerder optreden van het dieptepunt van het aantal granulocyten tijdens behandeling met GM-CSF. Het snelle herstel van de granulocyten toont het stimulerende effect van GM-CSF op voorlopercellen van de granulocyttaire reeks.



Gemiddeld absolute aantal neutrofiële granulocyten bij 2 doseringen chemotherapie wegens voortgeschreden mammacarcinoom, (◆) met en (□) zonder toediening van de hematopoëtische groeifactor GM-CSF; (a): 5 patiënten met als chemotherapie adriamycine 75 mg/m² en cyclofosfamide 750 mg/m², intraveneus toegediend op dag 1, eenmaal per 3 weken; (b): 6 patiënten met als chemotherapie adriamycine 90 mg/m² en cyclofosfamide 1000 mg/m², intraveneus toegediend op dag 1, eenmaal per 3 weken. GM-CSF 250 µg/m²/dag werd continu intraveneus toegediend van dag 2-12.

GM-CSF had geen positief effect op het verloop van het aantal trombocyten en erythrocyten. Het is mogelijk dat stimulatie van de erythro- en trombopoëse in vivo alleen bij hogere concentraties GM-CSF optreedt.¹⁹ Het aantal eosinofiele granulocyten en monocytten nam ook toe tijdens GM-CSF-toediening. Dit effect weerspiegelt de brede hematopoëtische activiteit van GM-CSF. Op basis van de resultaten bij deze kleine groep patiënten is een uitspraak over bescherming tegen leukopenische infecties in de cycli met GM-CSF niet mogelijk.

De bijwerkingen van GM-CSF, bestaande uit een verhoging van de lichaamstemperatuur, een geringe bloeddrukdaling en een gevoel van algemene malaise, zijn ook door andere onderzoekers beschreven. Dit geldt ook voor de voorbijgaande stoornissen in de leverenzymen.²⁰ Het is mogelijk dat een deel van de toxiciteit het gevolg is van door GM-CSF geïnduceerde productie van andere cytokinen, zoals interleukine (IL-1 en IL-6) en tumornecrosisfactor (TNF). De ernst van de bijwerkingen van GM-CSF is afhankelijk van de dosis, maar waarschijnlijk ook van de toedieningsduur en van de wijze van toediening.²⁰

Bij 9 van de 11 patiënten bleek de tumor op de gegeven therapie te reageren; bij 8 trad partiële remissie op en bij 1 patiënte werd complete remissie bereikt. Dit resultaat is vergelijkbaar met responspercentages van 75-85 in onderzoeken met doses adriamycine variërend van 90-130 mg/m²,^{1-4,21} maar moet in een grotere groep patiënten worden bevestigd. Een belangrijke vraag is of GM-CSF heeft bijgedragen aan het antitumoreffect van de chemotherapie. GM-CSF heeft een direct effect op het biologische gedrag van een aantal tumoren,²²⁻²⁴ maar stimuleert ook het cytotoxische gedrag van lymfocyten en monocytten en macrofagen ten opzichte van tumorcellen.²⁵ Moge-

lijk speelt hierbij de door GM-CSF gestimuleerde productie van TNF-α en van interferon een rol.²⁶

Er is behoefte aan een brede bescherming van de hematopoëse tegen cytotoxische therapie. Het is mogelijk dat IL-3 de erythro- en trombopoëse in vivo beter stimuleert dan GM-CSF. Combinaties van hematopoëtische groeifactoren (bijvoorbeeld IL-3 en GM-CSF; IL-1 en G-CSF) lijken synergistisch te werken en in staat alle componenten van de hematopoëse te stimuleren.²⁷ In ons onderzoek bleek toepassing van GM-CSF de door chemotherapie geïnduceerde leukopenie te verminderen,

TABEL 4. Toxiciteit van verschillende doses adriamycine en cyclofosfamide in combinatie met de hematopoëtische groeifactor GM-CSF bij de behandeling van 11 patiënten met voortgeschreden mammacarcinoom

symptomen	groep A* (n = 5)		groep B† (n = 6)	
	zonder GM-CSF	met GM-CSF	zonder GM-CSF	met GM-CSF
koorts (> 38,5°C)	1	5	2	5
algemene malaise	3	4	4	5
bloeddrukdaling	0	2	0	4
stijging leverenzym- waarden	0	1	0	1
bot- en spierpijn	0	1	0	1
diarree	1	1	0	0
infectie catheter- plaats	0	1	1	0
bacteriëmie	0	0	0	1
stomatitis (graad 2 of 3)	0	0	3	3
bloedtransfusies	2	3	1	4

* Dosis van 75 mg/m² adriamycine en 750 mg/m² cyclofosfamide.
† Dosis van 90 mg/m² adriamycine en 1000 mg/m² cyclofosfamide.

alhoewel de mate van protectie afnam bij sterke verhoging van de dosis chemotherapie. Het antitumoreffect van deze behandeling was bemoedigend. De bijwerkingen van deze gecombineerde behandeling waren ernstig, maar ze waren voor de meeste patiënten aanvaardbaar. Het gebruik van hematopoëtische groeifactoren lijkt dus toepassing van hoge doseringen chemotherapie mogelijk te maken. De waarde hiervan dient in vergelijkend onderzoek te worden vastgesteld.

ABSTRACT

Intensive chemotherapy combined with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) in the treatment of advanced breast cancer. – A non-randomized study was carried out in the Free University Hospital, Amsterdam, to investigate the (hematologic) toxicity and antitumor response of patients with advanced breast cancer treated with intensive chemotherapy in combination with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF). Of 11 patients with an inoperable or metastasized breast cancer, 5 were treated with doxorubicin 75 mg/m² + cyclophosphamide 750 mg/m² intravenously every 3 weeks and 6 patients with 90 and 1000 mg/m² respectively. When in a preceding cycle a significant hematologic toxicity was observed, this patient was treated in the subsequent cycle with the same dose of chemotherapy in combination with GM-CSF 250 µg/m²/day from day 2-12 as a continuous infusion.

Bone marrow depression was diminished in the presence of GM-CSF. This was apparent from a milder decline of the number of neutrophilic granulocytes, reduction of the neutropenic period and a more rapid recovery of the neutrophil number. A transient eosinophilia and a mild monocytosis were also observed. GM-CSF did not improve erythrocyte and thrombocyte counts. The efficacy of GM-CSF was less pronounced in the group of patients with the highest dose of chemotherapy. GM-CSF was associated with malaise, fever and a small decrease of blood pressure, which in combination with a frequently occurring anemia and the side-effects of high dose chemotherapy, resulted in a substantial toxicity. In 9/11 patients an objective tumor regression was noted.

GM-CSF stimulated the recovery of granulocytes after intensive chemotherapy. Treatment of a small group of patients with advanced breast cancer with intensive chemotherapy resulted in a high antitumor response.

LITERATUUR

- 1 Henderson IC, Hayes DF, Gelman R. Dose-response in the treatment of breast cancer: a critical review. *J Clin Oncol* 1988; 6: 1501-15.
- 2 Hortobagyi GN, Bodey GP, Buzdar AU, et al. Evaluation of high-dose versus standard FAC chemotherapy for advanced breast cancer in protected environment units: a prospective randomized study. *J Clin Oncol* 1987; 5: 354-64.
- 3 Jones RB, Holland JF, Bhardwaj S, Norton L, Wilfinger C, Strashun A. A phase I-II study of intensive-dose adriamycin for advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 1987; 5: 172-7.
- 4 Carbone PP. High-dose chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol* 1987; 5: 167-8.
- 5 Groopman JE, Molina JM, Scadden DT. Hematopoietic growth factors: biology and clinical applications. *N Engl J Med* 1989; 321: 1449-60.
- 6 Laver J, Moore MAS. Clinical use of recombinant human hematopoietic growth factors. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 1370-82.
- 7 Metcalf D, Begley CG, Johnson GR, et al. Biologic properties in vitro of a recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1986; 67: 37-45.

- 8 Donahue RE, Wang EA, Stone DK, et al. Stimulation of haematopoiesis in primates by continuous infusion of recombinant human GM-CSF. *Nature* 1986; 321: 872-5.
- 9 Weisbart RH. Colony-stimulating factors and host defense. *Ann Intern Med* 1989; 110: 297-303.
- 10 Fleischman J, Golde DW, Weisbart RH, Gasson JC. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor enhances phagocytosis of bacteria by human neutrophils. *Blood* 1986; 68: 708-11.
- 11 Grabstein KH, Urdal DL, Tushinski RJ, et al. Induction of macrophage tumoricidal activity by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Science* 1986; 232: 506-8.
- 12 Groopman JE, Mitsuyasu RT, DeLeo MJ, Oette DH, Golde DW. Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on myelopoiesis in the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1987; 317: 593-8.
- 13 Vadhan-Raj S, Keating M, LeMaistre A, et al. Effects of recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 1987; 317: 1545-52.
- 14 Ganser A, Völkers B, Greher J, et al. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes - a phase I/II trial. *Blood* 1989; 73: 31-7.
- 15 Antman KS, Griffin JD, Elias A, et al. Effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on chemotherapy-induced myelosuppression. *N Engl J Med* 1988; 319: 593-8.
- 16 Gianni AM, Bregni M, Siena S, et al. Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor reduces hematologic toxicity and widens clinical applicability of high-dose cyclophosphamide treatment in breast cancer and non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 1990; 8: 768-778.
- 17 Brandt SJ, Peters WP, Atwater SK, et al. Effects of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on hematopoietic reconstitution after high-dose chemotherapy and autologous bone-marrow transplantation. *N Engl J Med* 1988; 318: 869-76.
- 18 Groeningen CJ van, Meyer S, Dijkhuizen H, Gall H, Pinedo HM. Klinische ervaring met een volledig geïmplantieerd toedieningssysteem (Port-a-Cath) voor de cytostatische behandeling van patiënten met kanker. *Ned Tijdschr Geneesk* 1986; 130: 258-61.
- 19 Edmonson JH, Long HJ, Jeffries JA, Buckner JC, Culen-Otero G, Fitch TR. Amelioration of chemotherapy-induced thrombocytopenia by GM-CSF: apparent dose and schedule dependency. *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 1510-12.
- 20 Lieschke GJ, Maher D, O'Connor M, et al. Phase I study of intravenously administered bacterially synthesized granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and comparison with subcutaneous administration. *Cancer Res* 1990; 50: 606-14.
- 21 Bronchud MH, Howell A, Crowther D, Hopwood P, Souza L, Dexter TM. The use of granulocyte colony-stimulating factor to increase the intensity of treatment with doxorubicin in patients with advanced breast and ovarian cancer. *Br J Cancer* 1989; 60: 121-5.
- 22 Dedhar S, Gaboury L, Galloway P, Eaves C. Human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor is a growth factor active on a variety of cell types of nonhemopoietic origin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 9253-7.
- 23 Salmon SE, Liu R. Effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on in vitro growth of human solid tumors. *J Clin Oncol* 1989; 7: 1346-50.
- 24 Yasmashita Y, Nara N, Aoki N. Antiproliferative and differentiative effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on a variant human small cell lung cancer cell line. *Cancer Res* 1989; 49: 5334-8.
- 25 Masucci G, Wersäll P, Ragnhammer P, Mellstedt H. Granulocyte-monocyte-colony-stimulating factor augments the cytotoxic capacity of lymphocytes and monocytes in antibody-dependent cellular toxicity. *Cancer Immunol Immunother* 1989; 29: 288-92.
- 26 Wing EJ, Magee M, Whiteside TL, Kaplan SS, Shadduck RK. Recombinant human granulocyte/macrophage colony-stimulating factor enhances monocyte cytotoxicity and secretion of tumor necrosis factor α and interferon in cancer patients. *Blood* 1989; 73: 643-6.
- 27 Donahue RE, Seehra J, Metzger M, et al. Human IL-3 and GM-CSF act synergistically in stimulating hematopoiesis in primates. *Science* 1988; 241: 1820-3.

Aanvaard op 23 oktober 1990