

時間治療を加味した抗癌剤併用療法の構築に関する基礎的研究

藤 秀人

**Construction of Optimal Combined Chemotherapy of Anti-tumor
Drugs Based on Chronotherapy**

Hideto To

Clinical Pharmacokinetics, Division of Clinical Pharmacy, Department of Medico-Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

(Received March 23, 2006)

Metastatic breast cancer (MBC) is almost always incurable, and the median survival is of the order on 18–24 months. Combination therapy with adriamycin (ADR) and docetaxel (DOC) is more effective against MBC than the previous therapy due to differences between their mechanisms. However, the combination of ADR and DOC induces severe adverse effects, limiting its clinical use in many patients with MBC. The biologic functions of most living organisms are organized along an approximate 24 h time cycle or circadian rhythm. Chronotherapy is defined as the administration of medications using biological rhythms to optimize the therapeutic outcomes and/or control adverse effects. To decrease adverse effects, many antitumor drugs have been particularly studied in humans and animals. The toxicities of ADR and DOC have also been found to depend on dosing-time in animals and humans. This study was to establish the most suitable dosing schedule to relieve severe adverse effects and improve antitumor effects by considering a chronopharmacological approach, dosing-interval and dosing-sequence to the combination chemotherapy of ADR and DOC in mice. In the results, we demonstrate that the dosing schedule based on dosing-sequence, dosing-interval and dosing-time not only significantly reduced leukopenia and toxic death but also significantly increased the inhibition rate of tumor growth compared with the dosing schedule without an interval between each injection, commonly used in clinical practice. These findings suggest that the therapeutic index of combined chemotherapy can be improved by choosing an optimal dosing-schedule (dosing-interval, dosing-sequence and dosing-time).

Key words—chronotherapy; combined chemotherapy; dosing-sequence; dosing-interval

1. はじめに

生体機能の様々な周期性は、ヒトを始めとする多くの生物に存在し、一個体の中に、体温や血液成分などが示す日周リズム、月単位で生じる女性の性周期、男性ホルモンの年周性変動などが知られている。^{1–3)}このような周期性は疾患や病状にも認められており、1日の中でも発症し易い時間帯の存在が多く報告されている。^{4,5)}その代表例として、気管支喘息や消化性潰瘍があり、早朝に起き易い喘息発作や夜間に高分泌される胃酸の日周リズムを考慮した

薬物療法（時間薬理及び時間治療）を行うことで、より有効な治療効果が得られている。^{6,7)}このように疾患や病状の発症頻度や程度に明確な日周リズムが存在する薬物では、投薬時刻の設定が比較的容易であり、時間治療が積極的に実践されている。

一方、疾患や症状に顕著な日周リズムを確認できない疾患においても、治療効果や副作用が、薬物体内動態の日内変動や、薬物の感受性に関与する生体内神経伝達物質やホルモンなどの濃度、受容体の数及び親和性、細胞周期の日周リズム等の影響によって変化することが明らかにされてきた。そして、これらを利用した時間薬理及び時間治療は、これまで多くの薬物で検討されており、^{8–12)}抗癌剤もその1つである。これまで多くの研究者によって抗癌剤の時間薬理及び時間治療は、動物及びヒトを対象に研究され、投薬時刻を考慮することで副作用の軽減や

九州大学大学院薬学研究院薬物動態学分野（〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1）

現住所：長崎大学医学部・歯学部附属病院薬剤部（〒852-8501 長崎市坂本 1-7-1）

e-mail: hide-to@umin.ac.jp

本総説は、平成 17 年度日本薬学会九州支部奨励賞の受賞を記念して記述したものである。

抗腫瘍効果の向上が可能となることが報告されてきた。¹³⁻¹⁵ また我々も適切な投薬タイミング（投薬時刻）を設定することで、副作用の軽減や抗腫瘍効果の向上が可能となることを明らかにしてきた。¹⁶⁻²⁰

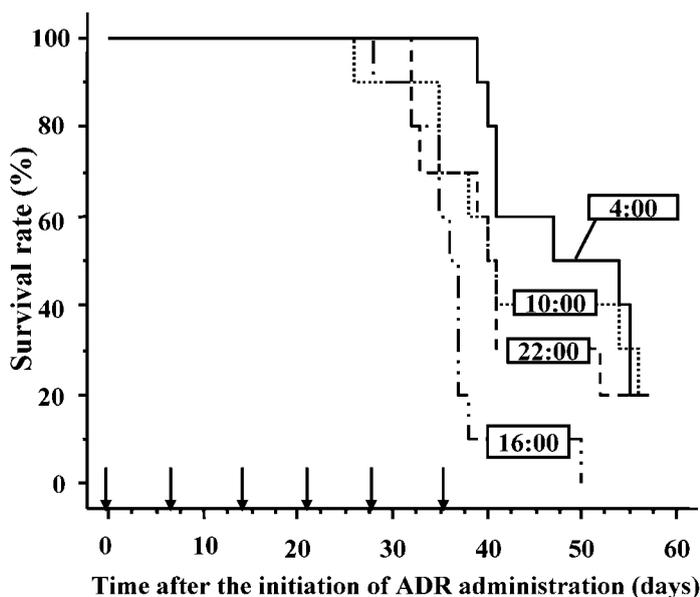
近年の癌化学療法では、抗腫瘍効果の向上を期待し作用機序の異なる薬剤の併用がしばしば行われている。しかし、これまで生体リズムを考慮し抗癌剤併用療法に関する研究はほとんど行われていなかった。そこで、我々はこれまでの時間薬理研究の成果を応用し抗癌剤併用実験を行った。その結果として、投薬時刻（生体リズム）を考慮し、わずかな投薬方法の変更を行うことで、既存の投薬方法と比較し、劇的に副作用を軽減しつつ抗腫瘍効果を向上できることを明らかにした。^{21,22} 本稿では、これらの研究成果について概説するとともに、最近の本研究に関連する知見について紹介する。

2. 抗癌剤の時間薬理

癌化学療法において投与量や投薬スケジュールを規定し、治療継続に重要な影響を与えるのは抗腫瘍効果よりむしろ副作用であり、いかに副作用を最小限に抑制し、抗腫瘍効果を最大限獲得できるかが治

療上最大の課題である。その1つの解決策として、近年時間薬理・時間治療が注目されている。Figure 1には、その1例を示している。自由摂食摂水・明暗周期（明期7:00—19:00）環境下で飼育したラット又はマウスを対象に任意のいずれかの時刻に adriamycin (ADR) 若しくは irinotecan hydrochloride (CPT-11) を投薬し、投与後の生存率（毒性死）若しくは白血球減少を評価した。ADR (5 mg/kg, *i.p.*) を7日毎に計6回投薬したとき、16:00投薬群の生存率は4:00, 10:00, 22:00投薬群と比較し有意に低値を示した (vs. 10:00 and 22:00: $p < 0.05$, vs. 4:00: $p < 0.01$; Fig. 1(A)).²³ また、CPT-11 (100 mg/kg, *i.p.*) を5:00若しくは17:00に単回投薬したとき、投与後3日目の白血球数は17:00投薬群と比較し5:00投薬群で有意に減少した ($p < 0.01$; Fig. 1(B)). 以上のように、抗癌剤の多くで投薬時刻を考慮することによって顕著に副作用の軽減が可能となる。また、抗腫瘍効果においても同様に投薬時刻の違いにより抗腫瘍効果に差異が生じることが明らかとなっている。これらの機序としては、各薬剤によって違いはあるが、代謝酵

A) adriamycin



B) irinotecan hydrochloride

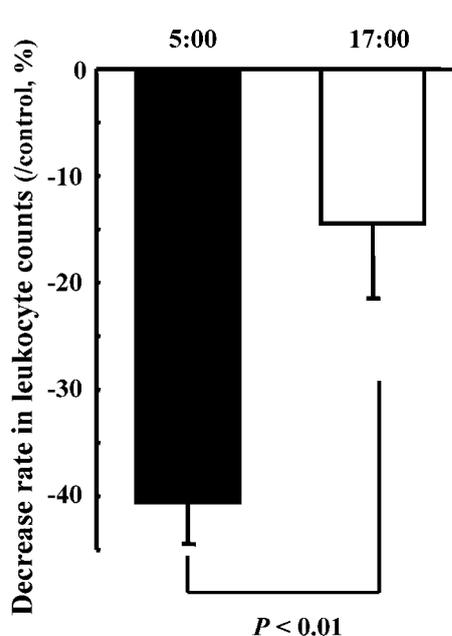


Fig. 1. Dosing-time-dependent Change in the Survival Rate (Tolerance) (A)²³ and Leukocyte Counts (B) after ADR or CPT-11 Injection

(A) ADR (5 mg/kg, *i.p.*) was administered every 7 days (total of 30 mg/kg) at 10:00, 16:00, 22:00, or 4:00 in rats ($n=10$, respectively). The survival days were drawn with the Kaplan-Meier method. Mortality was significantly higher at 16:00 than at 10:00, 22:00 or 4:00 (vs. 10:00 and 22:00: $p < 0.05$, vs. 4:00: $p < 0.01$). (B) CPT-11 (100 mg/kg, *i.p.*) was administered at 5:00 or 17:00 ($n=10-11$, respectively). The values shown are means \pm S.E. The leukocyte counts in the group treated at 5:00 decreased significantly compared with those at 17:00 on day 3 ($p < 0.01$).

素などの日周リズムに伴う薬物体内動態への影響や標的組織の細胞周期の日周リズムや標的タンパク質や受容体の日周リズム等の薬力学的な影響が報告されている。^{18,23,24)} 以上より、最適な抗癌剤の投薬タイミング（投薬時刻）を設定することは、治療効果向上のために非常に有益な治療法の1つであると考えられる。

3. Adriamycin/Docetaxel 併用療法

転移性乳癌（MBC）は難治性の疾患であり、median survival は、18—24 ヶ月である。^{25,26)} 生存日数の延長や quality-of-life の向上を目的に、様々な治療が行われているが5年生存率は10%に満たない。²⁷⁾ 作用機序の異なる ADR と docetaxel (DOC) の併用は、従来の化学療法と比較し、MBC に対し高い治療効果を示す新規併用療法として非常に期待を集めた併用療法である。²⁸⁾ しかし、この併用では約90%の患者で Grade 3 若しくは4という非常に重篤な好中球減少症等が発症する。²⁹⁾ そのため、強い抗腫瘍効果を有するにも関わらず、このような重篤な副作用のためしばしば治療の中止を余儀なくされてきた。

しかし、われわれは薬学的見地より、この治療プロトコール作成の過程を調査するといくつか疑問点に直面した。抗癌剤併用療法の最終目標は、各薬剤の機序を利用し最大限の治療効果を得ることで、臨床試験は科学的に投与計画・評価項目を設計し、科学的根拠に基づいたエビデンスを得よう心掛ける必要がある。そこで、今回のような2剤の併用プロトコールを検討する場合、検討すべき項目として両剤の投与量はもとより、投薬順序、投薬間隔などがあり、これらを網羅的に評価し、より効果的な投与方法を確立する必要がある。しかし、本治療法における臨床試験では、投与量の設定試験は行われていたものの、その大半の臨床試験は DOC を投薬後、約1時間後に ADR を投薬するプロトコールであり、投与間隔や投薬順序に関する試験は皆無に等しかった。^{30—32)} さらに、DOC と ADR の投薬間隔を1時間設けることで、より高い殺細胞作用が得られるというエビデンスは報告されておらず、このプロトコール作成の根拠には科学的根拠に欠ける。また一方で、ヒト乳癌及び卵巣癌細胞を用いた *in vitro* 研究において、DOC 暴露後12時間目に ADR を暴露することで、同時に両薬剤を暴露するよりも強力

な殺細胞効果が得られることが報告されているにも関わらず、³³⁾ このような基礎研究の研究成果に基づく臨床試験は実施されていない。以上より、ADR/DOC 併用療法には、まだ投薬スケジュールを工夫する余地が残っていると考えた。そこで、われわれは、これまで培ってきた時間薬理研究のノウハウを応用した ADR/DOC 併用療法に関する最適な投薬スケジュールの探索研究をマウスを対象に行った。

4. 投薬間隔と投薬順序²¹⁾

本研究では、投薬順序、投薬間隔及び生体リズムの観点より併用プロトコールの検討を行った。しかし、これらの因子を同時に検討するには煩雑で、評価が複雑になることから、まず投薬順序、投薬間隔について比較検討を行った。自由摂食摂水・明暗周期（明期7:00—19:00）環境下で飼育したマウスを対象に、ADR (5 mg/kg, *i.p.*) 及び DOC (12.5 mg/kg, *i.p.*) を投薬した。投薬群は、既存の併用方法である ADR・DOC 同時投薬群 (ADR/DOC)、ADR 投薬後12時間目に DOC を投薬する ADR 先行投薬群 (ADR-DOC)、DOC 投薬後12時間目に ADR を投薬する DOC 先行投薬群 (DOC-ADR) の3群に分け、副作用及び抗腫瘍効果を評価した。7日毎に計4回反復投薬を行い毒性死を評価したところ、投薬開始後35日目における生存率は、ADR/DOC 群で22.2%、ADR-DOC 群で34.5%、DOC-ADR 群で86.2%であり、DOC-ADR 群の生存率は、ADR/DOC 群及び ADR-DOC 群と比較し有意に高値を示した ($p < 0.01$; Fig. 2(A))。また、投与後3日目において、白血球減少は ADR/DOC 群と比較し DOC-ADR 群で有意に軽減した ($p < 0.05$)。さらに、腫瘍増殖は control (saline) 群と比較し、全投薬群の中で DOC-ADR 群において有意な抑制効果が認められた ($p < 0.05$)。また、投与後7日目における control 群に対する腫瘍増殖抑制率は、ADR/DOC 群と比較し DOC-ADR 群で約2倍高値を示した ($p < 0.05$; Fig. 2(B))。これらの機序を薬物動態学的側面より検討したところ、ADR/DOC 群では、DOC-ADR 群と比較し血中及び組織中薬物濃度の顕著な増加が認められた。したがって、これらの効果・副作用の差異には、薬物間相互作用による薬物体内動態が寄与していると考えられる。

以上より、ADR/DOC 併用療法における投薬間隔・投薬順序の検討において、既存の併用方法

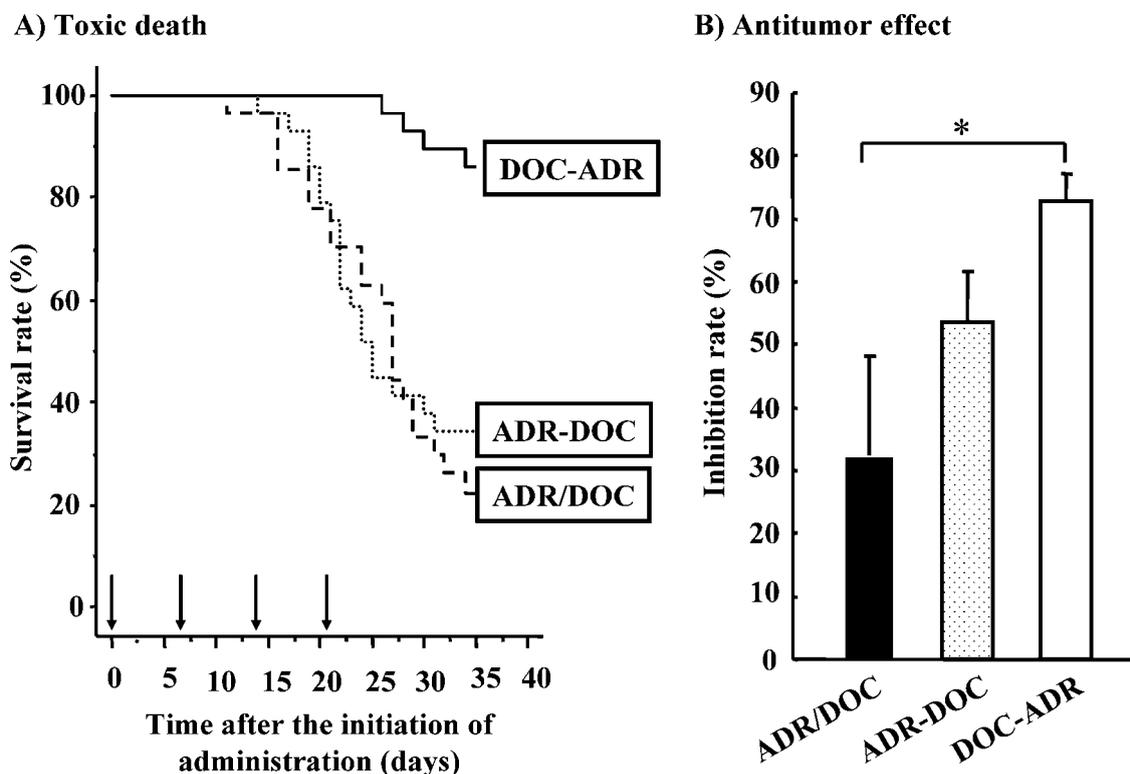


Fig. 2. Influence of Dosing-schedule on Tolerance (A) and Tumor Growth (B) during the Combined Administration of ADR (5 mg/kg, *i.p.*) and DOC (12.5 mg/kg, *i.p.*) in Mice²¹⁾

(A) ADR and DOC were administered simultaneously (ADR/DOC: broken line, $n=27$) or intermittently (ADR-DOC: dotted line, $n=29$ and DOC-ADR: thick line, $n=29$) every 7 days (total of 20 mg/kg of ADR and 50 mg/kg of DOC). Survival time was recorded for 35 days in each mouse. The mortality is significantly higher in the ADR/DOC and ADR-DOC groups compared with the DOC-ADR group ($p<0.01$, respectively, log-rank test). The survival rate on day 35 was 86.2% in the DOC-ADR group, 34.5% in the ADR-DOC group and 22.2% in the ADR/DOC group. (B) ADR and DOC were administered simultaneously (ADR/DOC) or intermittently (ADR-DOC and DOC-ADR). The values shown are means \pm S.E. *: $p<0.05$ using Scheffe's test. On day 7, the DOC-ADR group was the highest inhibition rate in the dosing groups and the inhibition rate increased approximately 1.4–2 times.

(ADR・DOCの同時投薬)と比較し、ADR投薬のわずか12時間前に抗癌剤のDOCを投与することによって、劇的に副作用を軽減できかつ抗腫瘍効果を向上できることが明らかとなった。

5. 時間薬理 (生体リズム)²²⁾

ADR, DOCの各薬剤における最適な投薬時刻の検討を先の実験環境に準拠し、6時点(9:00, 13:00, 17:00, 21:00, 1:00, 5:00)で検討したところ、ADRでは21:00, DOCでは9:00に副作用が最も軽減できることが明らかとなった。先の研究成果と本実験結果を踏まえて、ADR/DOC併用療法における時間薬理の検討には、DOCを9:00投薬後ADRを21:00に投薬するDOC9:00先行投薬群(DOC(9:00)-ADR(21:00))及びDOCを21:00投薬後ADRを9:00に投薬するDOC21:00先行投薬群(DOC(21:00)-ADR(9:00))の2群について、副作用及び抗腫瘍効果について検討した。

抗腫瘍効果については、両群ともcontrol群と比較し有意に腫瘍増殖を抑制したが($p<0.05$)、投薬群間における差異は認められなかった。また、生存率(毒性死)においても、投与開始後day35の生存率は、DOC(9:00)-ADR(21:00)群で86.7%, DOC(21:00)-ADR(9:00)群で85.7%と、両群とも非常に高い生存率を投薬時刻に依存せず維持できることが明らかとなった。

一方、体重変化を評価するとDOC(21:00)-ADR(9:00)群は、DOC(9:00)-ADR(21:00)群と比較し有意に体重が減少した($p<0.01$)。同様に白血球数もDOC(9:00)-ADR(21:00)群と比較しDOC(21:00)-ADR(9:00)群で顕著に減少した($p=0.052$; Fig. 3(A))。以上より、各薬剤の副作用が最も軽減できる投薬時刻に投薬したDOC(9:00)-ADR(21:00)群において、より安全に併用投薬が可能になることが明らかとなった。

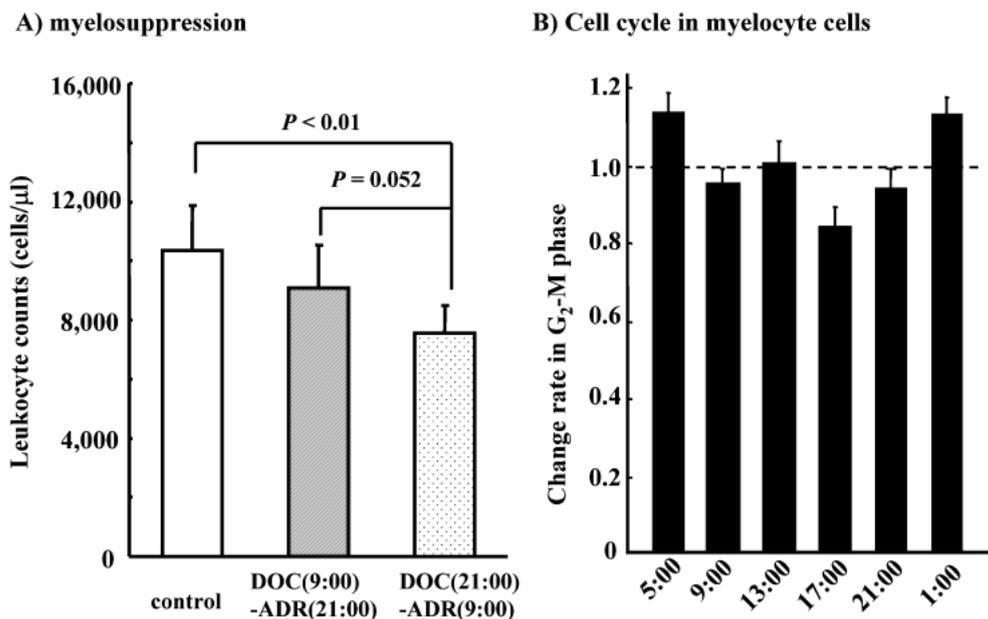


Fig. 3. Influence of Dosing Time on Leukocyte Counts on Day 10 after Twice-weekly ADR and DOC Injection (A) and the 24 h Rhythm of Cell Cycle G_2 -M Phase Distribution in Myelocyte Cells (B)²²⁾

(A) ADR (5 mg/kg, *i.p.*) and DOC (12.5 mg/kg, *i.p.*) were administered every 7 days intermittently (DOC (9 : 00)-ADR (21 : 00) ($n=10$) and DOC (21 : 00)-ADR (9 : 00) ($n=10$)) in mice. Each value is the mean \pm S.D. On day 10, the leukopenia in the DOC (21 : 00)-ADR (9 : 00) group was severer than that in the control and D (9 : 00)-A (21 : 00) group ($p<0.01$ and $p=0.052$, Scheffe's test). (B) The cell cycle G_2 -M phase distribution in myelocyte cells (1×10^7 cells) was measured at 9 : 00, 13 : 00, 17 : 00, 21 : 00, 1 : 00 or 5 : 00 ($n=7$ or 8). The change rate in the cell cycle (G_2 -M phase) sets the mean value of all times at 1. Each value is the mean \pm S.E. of 7 or 8. The G_2 -M phase of the cell cycle in myelocyte cells in non-treated mice showed a significant 24 h rhythm with a peak at 5 : 00 and trough at 17 : 00 (F from ANOVA=5.51, $p<0.01$; p from cosinor <0.01).

その機序解明を薬物動態学的側面より行ったが、DOC (9 : 00)-ADR (21 : 00) 群及び DOC (21 : 00)-ADR (9 : 00) 群間で両薬剤の血中濃度に差異は認められなかった。先行投薬する DOC は、細胞周期の G_2 -M phase 特異的に殺細胞作用を示す薬剤であり、³⁴⁾ その殺細胞作用は、 G_2 -M phase の日周リズムに依存することが報告されている。³⁵⁾ 本研究において、マウス骨髄細胞の細胞周期は、1 : 00 に高値、17 : 00 に低値を示す有意な日周リズムが認められた (F from ANOVA=5.51, $p<0.01$; p from cosinor <0.01 ; Fig. 3(B))。骨髄抑制は、 G_2 -M phase の割合が低い 9 : 00 と比較して、 G_2 -M phase の割合が増加し始める 21 : 00 に DOC を投薬することで重篤になることから、DOC の投薬時刻すなわち G_2 -M phase の日周リズムが骨髄抑制の程度に関与すると考えられる。

以上より、ADR/DOC 併用療法において、投薬間隔・投薬順序・生体リズムを考慮することで、既存の併用療法と比較し、抗腫瘍効果を約 2 倍向上でき、毒性死を約 65% 軽減でき、骨髄抑制を約 40% 軽減できることが明らかとなった。

6. 将来への展望

現在、他の併用療法においても同様に、投薬間隔・投薬順序・生体リズムを考慮し、至適投薬スケジュールの構築について研究を実施している。その 1 部を Fig. 4 に示す。Cisplatin (CDDP)/DOC 併用療法は非小細胞肺癌患者に用いられており、³⁶⁾ 従来の併用方法と比較し高い奏効率を示す一方、骨髄抑制や腎障害の発生が問題となっている。そこで、投薬間隔・投薬順序の違いによる副作用への影響を検討した。対象は、自由摂食摂水・明暗周期 (明期 7 : 00—19 : 00) 環境下で飼育したマウスであり、CDDP (7.5 mg/kg, *i.p.*) 及び DOC (12.5 mg/kg, *i.p.*) を 7 日毎に計 6 回投薬した。投薬群は、既存の併用方法である CDDP・DOC 同時投薬群 (CDDP/DOC)、CDDP 投薬後 12 時間目に DOC を投薬する CDDP 先行投薬群 (CDDP-DOC)、DOC 投薬後 12 時間目に CDDP を投薬する DOC 先行投薬群 (DOC-CDDP) の 3 群に分け、副作用を評価した。その結果、既存の併用方法である CDDP/DOC 群と比較し投薬間隔を 12 時間設ける CDDP-DOC 及び DOC-CDDP 群において有意に生存率 (毒性死)

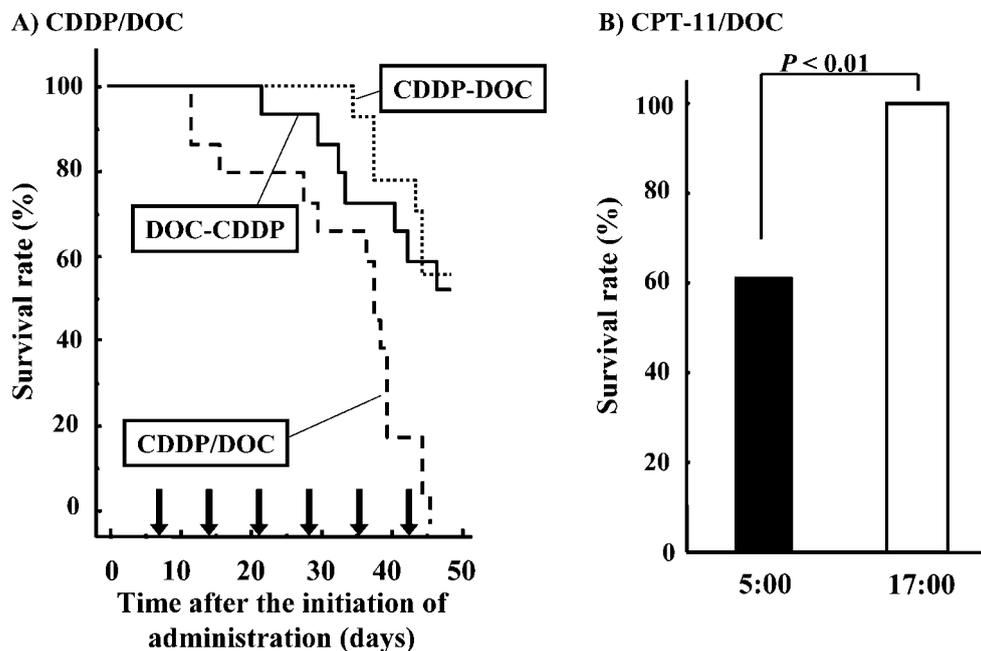


Fig. 4. Influence of Dosing-schedule on Tolerance after the Combined Administration of CDDP and DOC (A) and CPT-11 and DOC (B) in Mice

(A) CDDP (7.5 mg/kg, *i.p.*) and DOC (12.5 mg/kg, *i.p.*) were administered simultaneously (CDDP/DOC : broken line) or intermittently (CDDP-DOC: dotted line and DOC-CDDP: thick line) every 7 days (total of 45 mg/kg of CDDP and 75 mg/kg of DOC, $n=14-15$). Survival time was recorded for 49 days in each mouse. The survival rate on day 49 was 57.1% in the CDDP-ADR group, 53.3% in the ADR-DOC group and 0% in the CDDP/DOC group. (B) CPT-11 (100 mg/kg, *i.p.*) and DOC (12.5 mg/kg, *i.p.*) was administered simultaneously at 5 : 00 or 17 : 00 in mice ($n=13$, respectively). The survival rate in the group treated at 5 : 00 decreased significantly compared with that at 17 : 00 on day 7 ($p<0.01$).

が改善した ($p<0.01$; Fig. 4(A)). また, 全投薬群中 CDDP/DOC 群で最も腎毒性が重篤となり, その機序として CDDP の薬物動態が関与することが明らかとなった。

また, CPT-11/DOC 併用療法はわが国ではまだ未承認であるが, 現在多くの臨床試験が検討されており, 非小細胞肺癌に対する有用性が期待されている.³⁷⁾ しかし, 重篤な副作用発現が用量規制因子となっている。そこで, 投薬時刻の違いによる副作用への影響を検討した。自由摂食摂水・明暗周期 (明期 7 : 00—19 : 00) 環境下で飼育したマウスを対象に, CPT-11 (100 mg/kg, *i.p.*) 及び DOC (20 mg/kg, *i.p.*) を投薬し, 投薬群を CPT-11 と DOC を 17 : 00 に同時に投薬する 17 : 00 同時投薬群及び 5 : 00 に同時に投薬する同 5 : 00 同時投薬群の 2 群とし, 副作用を評価した。その結果, 投薬後 7 日目の生存率は, 5 : 00 同時投薬群で 61.5%, 17 : 00 同時投薬群で 100% と有意な差異が認められた ($p<0.01$; Fig. 4(B))。また, 体重及び白血球もまた, 17 : 00 同時投薬群と比較し, 5 : 00 同時投薬群で顕著に減少した。

以上のように, 既存の併用方法と比較し, 投薬間隔・投薬順序・生体リズムを考慮することで, 他の抗癌剤併用療法においてもより安全かつ効果的な投薬スケジュールを提案できると考えられる。

7. おわりに

Evidence based medicine (EBM) の下で科学的な根拠が治療に求められる今日, 多くの臨床試験や薬物療法において医師の経験 (匙加減) に基づく治療, 臨床試験からの脱却が試みられている。抗癌剤併用療法においても例外ではなく, 2004 年に日本癌治療学会より第 I/II 相試験を対象にした「抗癌剤併用療法探索的試験ガイドライン # 1」³⁸⁾ が報告され, 一定の評価基準の下, 効率的, 倫理的かつ科学的な臨床試験が実施されるようになった。しかし, このようなガイドライン作成及び臨床試験計画の作成に薬剤師の関与はほとんどなく, また基礎実験による情報を利用することは皆無に等しい。

我々, 薬剤師及び薬学研究者は, 常に薬のポテンシャルを最大限に発揮できる投与方法を模索し, TDM や薬物相互作用, 遺伝子多型の研究分野を開拓し, 臨床現場に還元してきた。このような背景の

中、われわれは既存の抗癌剤併用療法において特に効果が注目され、また重篤な副作用が問題となっている ADR/DOC 併用療法に着目し、薬物間相互作用及び生体リズムの観点から投薬順序・投薬間隔・投薬時刻を網羅的に検討し、副作用及び抗腫瘍効果の影響を評価した。その結果、わずかな投薬方法の変更にも関わらず、既存の投薬方法と比較し、劇的に副作用を軽減しかつ抗腫瘍効果を向上できる投与方法を明らかにした。²¹⁾ また、本研究で特に注目すべき点は、投薬時刻（生体リズム）を考慮することで最も安全かつ効果的な投与方法が構築できたことにある。²²⁾ 以上の結果より、抗癌剤の併用プロトコール作成には、生体リズムを主体とした投薬タイミングを基礎研究によって包括的に検討し、基礎的な研究成果を含めた十分なエビデンスに基づき構築する必要があると考えられる。したがって、われわれは本研究を基礎実験によるエビデンスを基に至適抗癌剤の併用療法の構築を目指すトランスレーショナルリサーチの一法として研究を進展させたいと考えている。

本研究の最終目標は、各抗癌剤併用療法において個々の薬剤のポテンシャルを最大限引き出すことが可能な投薬方法を構築することと、各薬剤間の投薬タイミングを規定する指標を同定することである。現在特に、この指標の同定法の確立に力を注いでおり、これを確立することでより科学的な根拠に基づき患者個々に対し安全かつ効果的な抗癌剤併用療法を提供できるようになると考えている。

これまで、抗癌剤併用療法の計画立案から臨床試験まで、すべての評価は医師主導で実施されてきた。本研究システムの構築が達成されれば、薬剤の特性をより理解している薬剤師・薬学研究者も共同参画し、新規抗癌剤併用療法の計画立案や既存の併用療法の改善に寄与することが可能となり、“薬学”から発信する新たな薬物投与設計・薬物療法になると期待している。

謝辞 本研究の実施に際し、ご指導、ご鞭撻を賜りました諸先生方に心より感謝いたします。また、昼夜を問わず本研究に協力いただきました九州大学大学院薬学研究院薬物動態学分野の学生諸氏に深く感謝いたします。

REFERENCES

- 1) Scheving L. E., “Chronobiology of Cell Proliferation in Mammals” ed. by Edmunds Jr. L. N., Cell Cycle Clocks, Marcel Dekker, Inc., 1984, pp. 455–500.
- 2) Ogawa N., Ohdo S., *Nihon Rinsho*, **51**, 2778–2787 (1993).
- 3) Potten C. S., Jessup B. A., Croxson M. B., *Cell Tissue Kinet.*, **4**, 413–421 (1971).
- 4) Arkininstall W. W., *Am. J. Med.*, **85**, 60–63 (1988).
- 5) Tojo K., *Iyaku J.*, **35**, 106–111 (1999).
- 6) D’Alonzo G. E., Smolensky M. H., Feldman S., Gianotti L. A., Emerson M. B., Staudinger H., Steinijans V. W., *Am. Rev. Resp. Dis.*, **142**, 84–90 (1990).
- 7) Jamali F., Thomson A. B., Kirdeikis P., Tavernini M., Zuk L., Marriage B., Simpson I., Mahachai V., *J. Clin. Pharmacol.*, **35**, 1071–1075 (1995).
- 8) Matsunaga N., Nakamura N., Yoneda N., Tian Q., Terazono H., To H., Higuchi S., Ohdo S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **311**, 594–600 (2004).
- 9) Viyoch J., Matsunaga N., Yoshida M., To H., Higuchi S., Ohdo S., *J. Biol. Chem.*, **280**, 6309–6315 (2005).
- 10) Yoshida M., Koyanagi S., Matsuo A., Fujioka T., To H., Higuchi S., Ohdo S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **315**, 1119–1124 (2005).
- 11) Ushijima K., Sakaguchi H., Sato Y., To H., Koyanagi S., Higuchi S., Ohdo S., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **315**, 764–770 (2005).
- 12) Ohdo S., Koyanagi S., Suyama H., Higuchi S., Aramaki H., *Nat. Med.*, **7**, 356–360 (2001).
- 13) Li X. M., Tanaka K., Sun J., Filipinski E., Kayitalire L., Focan C., Lévi F., *Br. J. Cancer*, **92**, 1684–1689 (2005).
- 14) Lévi F., Zidani R., Misset J., *Lancet*, **350**, 681–686 (1997).
- 15) Hrushesky W. J., *Science*, **228**, 73–75 (1985).
- 16) To H., Saito T., Ohdo S., Higuchi S., Fujimura A., Kobayashi E., *Drug R&D*, **6**, 101–107 (2005).
- 17) Kobayashi M., To H., Tokue A., Fujimura A., Kobayashi E., *Chronobiol. Int.*, **18**, 851–

- 863 (2001).
- 18) Ohdo S., Makinosumi T., Ishizaki T., Yukawa E., Higuchi S., Nakano S., Ogawa N., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **283**, 1383–1388 (1997).
- 19) Kobayashi M., To H., Yuzawa M., Hakamata Y., Higuchi S., Tokue A., Fujimura A., Kobayashi E., *J. Pharm. Pharmacol.*, **52**, 1233–1237 (2000).
- 20) To H., Kikuchi A., Tsuruoka S., Sugimoto K., Fujimura A., Higuchi S., Kayama F., Hara K., Matsuno K., Kobayashi E., *J. Pharm. Pharmacol.*, **52**, 1499–1504 (2000).
- 21) To H., Shin M., Tabuchi M., Sakaguchi H., Takeuchi A., Matsunaga N., Higuchi S., Ohdo S., *Clin. Cancer Res.*, **10**, 762–769 (2004).
- 22) Tabuchi M., To H., Sakaguchi H., Goto N., Takeuchi A., Higuchi S., Ohdo S., *Cancer Res.*, **65**, 8448–8454 (2005).
- 23) To H., Ohdo S., Shin M., Uchimarui H., Yukawa E., Higuchi S., Fujimura A., Kobayashi E., *J. Pharm. Pharmacol.*, **55**, 803–810 (2003).
- 24) Koyanagi S., Kuramoto Y., Nakagawa H., Aramaki H., Ohdo S., Soeda S., Shimeno H., *Cancer Res.*, **63**, 7277–7283 (2003).
- 25) Hortobagyi G. N., *New Eng. J. Med.*, **339**, 974–984 (1998).
- 26) Stockler M., Wilcken N. R., Ghersi D., Simes R. J., *Cancer Treat. Rev.*, **26**, 151–168 (2000).
- 27) Valero V., Hortobagyi G. N., *J. Clin. Oncol.*, **21**, 959–962 (2003).
- 28) Nabholz J. M., Falkson C., Campos D., Szanto J., Martin M., Chan S., Pienkowski T., Zaluski J., Pinter T., Krzakowski M., Vorobiof D., Leonard R., Kennedy I., Azli N., Murawsky M., Riva A., Pouillart P., *J. Clin. Oncol.*, **21**, 968–975 (2003).
- 29) Valero V., Holmes F. A., Walters R. S., Theriault R. L., Esparza L., Fraschini G., Fonseca G. A., Bellet R. E., Buzdar A. U., Hortobagyi G. N., *J. Clin. Oncol.*, **13**, 886–894 (1995).
- 30) Diéras V., *Oncology*, **11** (6 suppl.), 17–20 (1997).
- 31) Minckwitz G., Costa S. D., Raab G., Blohmer J.-U., Eidtmann H., Hilfrich J., Merkle E., Jackisch C., Gademann G., Tulusan A. H., Eiermann W., Graf E., Kaufmann M., *J. Clin. Oncol.*, **19**, 3506–3515 (2001).
- 32) Sparano J. A., O'Neill A., Schaefer P. L., Falkson C. I., Wood W. C., *J. Clin. Oncol.*, **18**, 2369–2377 (2000).
- 33) Zeng S., Chen Z. Y., Fu L., Johnson K. R., Fan W., *Clin. Cancer Res.*, **6**, 3766–3773 (2000).
- 34) Haldar S., Basu A., Croce C. M., *Cancer Res.*, **57**, 229–233 (1997).
- 35) Tampellini M., Filipinski E., Liu X. H., Lemaigre G., Li X. M., Vrignaud P., François E., Bissery M. C., Lévi F., *Cancer Res.*, **58**, 3896–3904 (1998).
- 36) Kubota K., Watanabe K., Kunitoh H., Noda K., Ichinose Y., Katakami N., Sugiura T., Kawahara M., Yokoyama A., Yokota S., Yoneda S., Matsui K., Kudo S., Shibuya M., Isobe T., Segawa Y., Nishiwaki Y., Ohashi Y., Niitani H., *J. Clin. Oncol.*, **22**, 254–261 (2004).
- 37) Masuda N., Negoro S., Kudoh S., Sugiura T., Nakagawa K., Saka H., Takada M., Niitani H., Fukuoka M., *J. Clin. Oncol.*, **18**, 2996–3003 (2000).
- 38) Kohgo Y., Maehara Y., Ohe Y., Sasaki T., Akaza H., Sone S., Saijo N., Ohashi Y., Tsuruo T., Akita H., Okabe S., Kamura T., Kitagawa T., Kubota T., Tahara H., Hayauchi N., Fujiwara Y., Kubota K., Shimamoto E., Miyanaga N., Watanabe N., *Int. J. Clin. Oncol.*, **9** (suppl.), 50–68 (2004).