

## 抗がん剤の副作用回避のための Pharmacogenomics (PGx) 研究

齋藤 嘉朗

## Pharmacogenomic Research for Avoiding Adverse Reactions by Anti-cancer Drugs

Yoshiro SAITO

*Division of Medicinal Safety Science, National Institute of Health Sciences,  
1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan*

(Received September 13, 2010)

Anti-cancer drugs have relatively low effective rates and high frequencies of adverse reactions, occasionally leading to cessation of their treatments. Use of pharmacogenomic (PGx) information could be able to select the patients with high-response and less-adverse reactions, resulting in increase of patients' QOL and proper use of drugs. We have been collaborating with National Cancer Center for PGx analysis of anti-cancer drugs including irinotecan and gemcitabine in Japanese cancer patients. Irinotecan, now used for treatments of many cancers, is metabolically activated to SN-38 and then inactivated to SN-38 glucuronide by a UDP-glucuronosyltransferase UGT1A1. In the *UGT1A1* gene, two representative genetic polymorphisms, \*28 and \*6, were detected at 0.138 and 0.167, respectively in 177 Japanese cancer patients. When the patients were homozygotes of \*28 or \*6, or compound heterozygotes of them, statistically significant decreases were observed in the SN-38 glucuronidation activity and increases in the rate of severe neutropenia, compared to those in the patients without \*28 or \*6. Our results and papers were cited in the Japanese package inserts of irinotecan. Gemcitabine was inactivated by cytidine deaminase (CDA) into 2'-2'-difluorodeoxyuridine. A *CDA* polymorphism 208G>A (Ala70Thr) was detected at 0.037 frequency in 256 Japanese cancer patients and associated with reduced gemcitabine clearance as well as increased frequency of severe neutropenia. In the 4 patients suffered from very severe bone marrow toxicities, 3 patients were homozygous *CDA*\*3, suggesting that this polymorphism is exquisite for predicting severe adverse reactions by gemcitabine in Japanese.

**Key words**—pharmacogenomics; irinotecan; gemcitabine; adverse reaction

## 1. はじめに

医薬品の副作用発現には個人差や人種差が認められる。これらを規定する要因には、患者の性別、年齢等の背景因子、飲食物や喫煙等の環境的要因のほかに、遺伝的要因がある。近年のゲノム科学の進展に伴い、その遺伝的要因の1つとして、ゲノム上の個人差の存在が明らかとなってきた。ゲノム配列上には、約1000塩基に1カ所の割合で塩基置換があり、一塩基多型と呼ばれる。また塩基の欠失や挿入も認められる。これら遺伝子多型は、ときとして遺伝子発現やタンパク質機能に影響を及ぼすことにより、医薬品に対する反応性の個人差をもたらすので

ある。これらゲノムと薬効・副作用との関係を明らかにする研究は、ゲノム薬理学（ファーマコゲノミクス、PGx）と呼ばれる。

抗がん剤は一般に奏率が低い一方で、副作用発現頻度は比較的高く、副作用が原因で減量や投薬中止に至るケースも比較的多い。有効性が期待でき、副作用が起こり難い患者をあらかじめ識別し、各患者に適した抗がん剤を適した量投与することが可能となれば、患者のQOLの向上及び医薬品の適正使用につながると期待される。国立医薬品食品衛生研究所では、平成12年度のミレニアムゲノムプロジェクト開始以来の約10年間、国立がん研究センターと共同で、臨床上重要な計5種の抗がん剤に関してPGx解析を行ってきた。本稿ではその代表的な例として、イリノテカン及びゲムシタピンの解析結果を紹介する。なお、以下に紹介する研究は、「ヘルシンキ宣言」及び「ヒトゲノム・遺伝子解析

国立医薬品食品衛生研究所医薬安全科学部（〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1）

e-mail: yoshiro@nihs.go.jp

本総説は、日本薬学会第130年会シンポジウムS13で発表したものを中心に記述したものである。

研究に関する倫理指針」に従い、国立医薬品食品衛生研究所及び国立がん研究センターの倫理委員会の承認を得て実施されたものである。

## 2. イリノテカン

抗がん剤イリノテカンは、喜樹の葉より抽出されたカンプトテシンの誘導体であり、その抗腫瘍効果はトポイソメラーゼ I 阻害作用によるとされる。わが国では 1994 (平成 6) 年に承認され、今日では肺がん、子宮がん、胃がん、結腸・直腸がん等に単剤又は併用として幅広く用いられる重要な医薬品である。本薬はプロドラッグであり、体内のカルボキシルエステラーゼにより数百倍薬効が強い活性代謝物 SN-38 (7-ethyl-10-hydroxycamptothecin) に変換される (Fig. 1)。<sup>1)</sup> SN-38 は、さらに UDP-グルクロン酸転移酵素 (UDP-glucuronosyltransferase, UGT) による抱合を受けて、SN-38 グルクロニド (SN-38G) に解毒代謝される。また原薬イリノテカンは、シトクロム P450 の 1 種である CYP3A4 により、不活性代謝物 APC 等にも変換される。これらの化合物は、P-糖タンパク質 (P-gP/ABCB1)、多剤耐性関連タンパク質 2 (MRP2/ABCC2) 及び乳がん耐性タンパク質 (BCRP/ABCG2) 等の ABC トランスポーター群により、肝臓から胆汁へと排泄

される。また、SN-38 の肝臓への取り込みには、有機アニオントランスポーター OATP1B1 の関与が報告されている。体外へは糞中排泄が主であるが、尿中へも排泄される。

このように、多くの薬物代謝酵素及びトランスポーターが体内代謝及び動態に関与するが、このうち副作用との関連で最も重要な分子は、解毒代謝を担う UGT である。すなわち、本酵素の活性低下は、解毒代謝の遅延による SN-38 の血中濃度時間曲線下面積 (area under the concentration-time curve, AUC) 値の上昇を招き、その過度の薬効による副作用が発現し易くなると考えられる。イリノテカンの用量制限毒性としては、好中球減少等の骨髄毒性及び下痢が知られている。筆者らは、イリノテカン投薬患者 177 名を対象に、その代謝・動態に関与する分子に関して PGx 解析を行った。

ヒト UGT には 15 種以上の分子種が知られるが、SN-38 のグルクロン酸抱合に関与することがインビトロ実験で明確に示されているのは、UGT1A1, UGT1A7, UGT1A9 及び UGT1A10 である。<sup>2)</sup> UGT1A 遺伝子複合体の各遺伝子は、個別のエクソン 1 と UGT1A 分子群で共通のエクソン 2-5 で構成されており、第 2 染色体上にタンデムに並んで存在する。

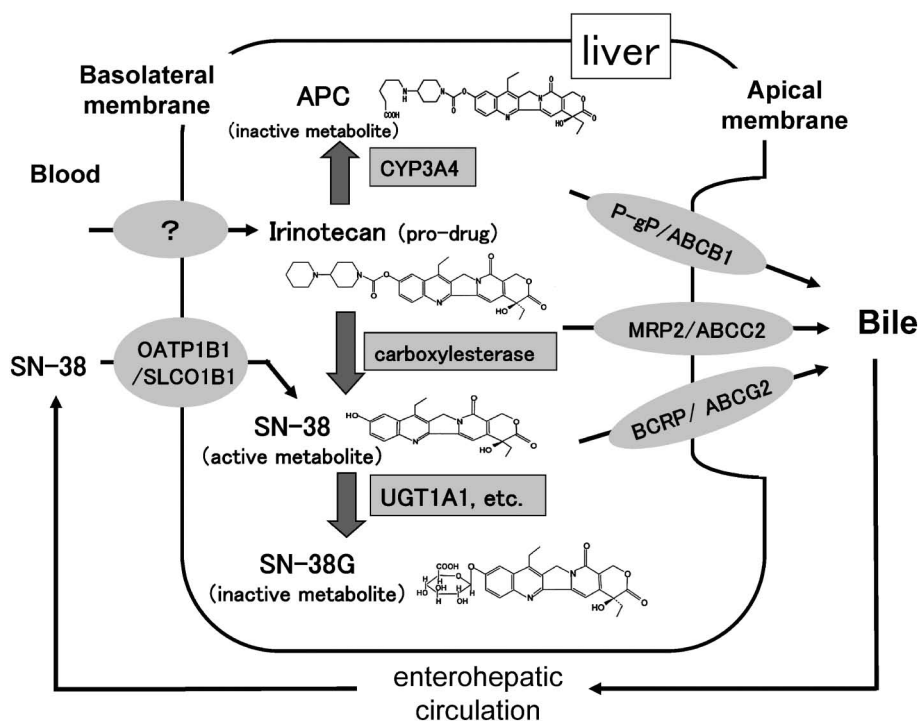


Fig. 1. Metabolic and Disposition Route of Irinotecan

UGT1A 遺伝子には 1A1 から 1A13 があり，このうち 1A2, 1A11, 1A12, 1A13 は偽遺伝子である．われわれは 9 種の活性型エクソンのうち，酵素活性が低い 1A5 を除く 8 種の分子のエクソン 1 及び共通エクソンの多型検出を行った．続いて，連鎖不平衡解析結果に基づき，UGT1A 遺伝子複合体を，5'側から UGT1A8-1A10, UGT1A9-1A6, UGT1A4, UGT1A3-1A1 の各エクソン 1 及び共通エクソン領域の 5 ブロックに分割し，各ブロックでハプロタイプ（ゲノム上での遺伝子多型同士の連鎖）解析を Expectation-Maximization 法により行った.<sup>3)</sup> また，強い多型間連鎖が認められた UGT1A9-1A1 間で，ブロックを越えたハプロタイプの組み合わせも明らかにした．本結果を用いて，生体内 UGT1A1 活性の指標である SN-38G と SN-38 との AUC（血中濃度-時間曲線下面積）比（AUC<sub>SN-38G</sub>/AUC<sub>SN-38</sub> 比）との関連を解析したところ，AUC 比への影響が UGT1A1 エクソンのハプロタイプに起因することが示された．したがって，UGT1A1 ハプロタイプと AUC 比との相関を詳細に解析した.<sup>4)</sup>

UGT1A1 の低活性型遺伝子多型の中，日本人で頻度が比較的高い多型に，いわゆる TATA ボックスに存在し遺伝子発現の低下を伴う UGT1A1\*28 [(TA)<sub>6</sub>>(TA)<sub>7</sub>]，エンハンサー領域にあり同じく発現低下を伴う\*60 (-3279T>G)，アミノ酸置換

により活性低下を引き起こす\*6 (211G>A, G71R) 及び\*27 (686C>A, P229Q) がある．日本人を対象にした筆者らの解析により，\*6 と\*28 は互いに別々のハプロタイプ上に排他的に存在すること，\*28 のほとんどが\*60 を同一ハプロタイプ上に伴っており，発現量低下の増強が考えられること，頻度の低い\*27 は\*28 ハプロタイプに含まれることが明らかにされ，その主なハプロタイプは，\*1（野生型），\*6（\*6 多型のみ），\*28（\*28 及び\*60 多型を含み，一部\*27 多型も含む），\*60（\*60 多型のみ）の 4 グループに分類された（Fig. 2）.<sup>2-5)</sup> \*28 の頻度は，欧米人（白人）やアフリカ人（黒人）ではアレル頻度約 0.35-0.45 であり，日本人の約 3-4 倍である．一方，\*6 は日本人以外に，韓国人（アレル頻度，約 0.22），中国人（0.10-0.19），タイ人（0.10）等で検出されているが，南アジア以西及び白人，黒人では極めて稀である.<sup>2)</sup>

歴史的に，イリノテカンの薬物動態及び副作用との相関に関しては，\*28 の解析が先行した．副作用に関しては，2000 年の安藤らによる 118 名の日本人患者を対象とした解析で，重篤副作用発現（グレード 3 以上の下痢又はグレード 4 の白血球減少）と\*28 とは有意な相関（オッズ比=7.23）がみられたが，\*6 とは，統計学的に有意な相関が得られなかったと報告されている.<sup>6)</sup> その後，欧米を中心

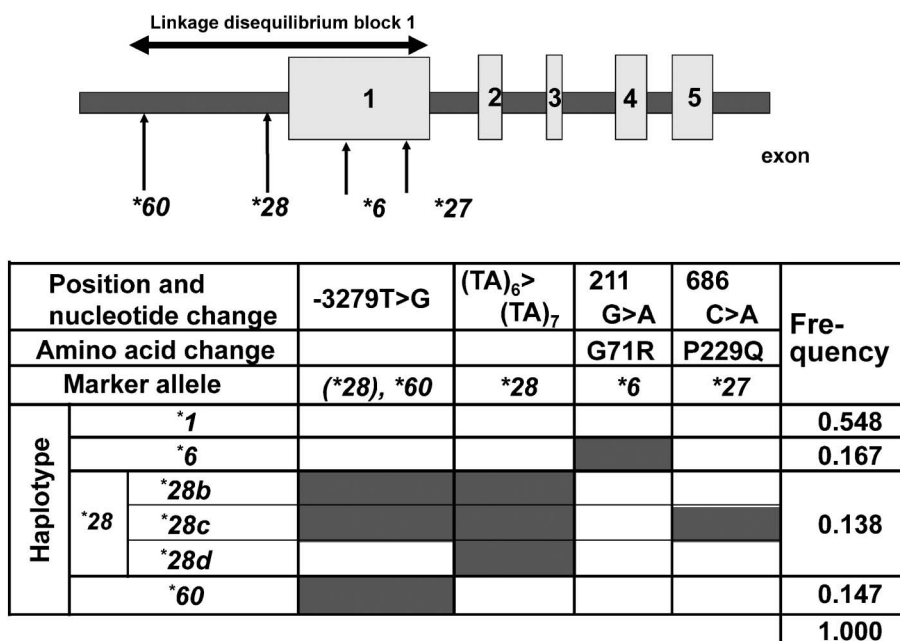


Fig. 2. Haplotype Structure of UGT1A1 in Japanese

に、\*28 が好中球減少症と有意に相関するという報告が相ついでなされ、<sup>7-9)</sup> これを受けて、2005 年に米国食品医薬品局は、「\*28 ホモ接合の患者では好中球減少症のリスクが高まるため、初回投与時の投薬量を少なくとも 1 レベル下げること考えるべきである」旨、本薬の添付文書に追記することを承認し、さらにインバーダー法による\*28 多型の診断キットを認可した。前述のように、\*28 の頻度は、白人や黒人で高く、約 12-20% が\*28 ホモ接合の低活性型となる。

一方、筆者らが行った、177 名の日本人患者を対象にした、ハプロタイプに基づく解析では、\*6 は、\*28 と同程度に、生体内の UGT1A1 活性の指標である SN-38 グルクロニド (SN-38G) と SN-38 との AUC 比 (AUC<sub>SN-38G</sub>/AUC<sub>SN-38</sub> 比) の低下をもたらすこと、\*6 又は\*28 のホモ接合 (\*6/\*6 又は\*28/\*28)、及び\*6/\*28 複合ヘテロ接合の患者では、\*6 又は\*28 を全く有しない患者に比べ、SN-38 の AUC 値が約 2 倍に上昇することを明らかとした。<sup>4)</sup> \*6/\*6、\*6/\*28、\*28/\*28 の頻度の和は、日本人で約 6-9% である。\*60 (\*28 多型を同一染色体上に有しない\*60 多型単独のハプロタイプ) については、AUC<sub>SN-38G</sub>/AUC<sub>SN-38</sub> 比の低下をもたらすものの、その程度は小さく、さらに副作用発現との有意な相関は得られていない。<sup>4,5)</sup>

前述のように、イリノテカンの副作用としては好中球減少等の骨髄毒性及び下痢が知られており、投薬量を制限する因子となっている。国立がん研究センターと筆者らとの共同研究では、\*6 又は\*28 のホモ接合、及び\*6/\*28 の患者では、副作用発現との相関で、グレード 3 以上の好中球減少を示した患者の割合は、\*6 又は\*28 を有する染色体の数が多いほど高くなることが示された。また多変量解析でも好中球減少 (最悪値) について、\*6 又は\*28 は有意な説明変数となった (Table 1)。一方、下痢については、有意な相関が得られていない。\*6 に関しては、別群の日本人を対象とした研究 (イリノテカン単剤投与患者) でも、グレード 3 以上の好中球減少症との相関が確認された。<sup>10)</sup> また、シスプラチンとの併用療法を施された韓国人でも、\*6 ホモ接合の患者で、グレード 4 の好中球減少症が有意に起こり易いとの報告がある。<sup>11)</sup> さらに最近では、他の研究グループによっても、「\*6 又は\*28」の重要性が追

Table 1. Effects of UGT1A1\*6 or \*28 on Severe Neutropenia by Irinotecan

Diplotype (+ = *6 or *28)	Number	Number with $\geq$ grade 3 (Frequency)	
		Diarrhea	Neutropenia
Irinotecan alone			
-/-	21	3 (14.3%)	3 (14.3%)
+/-	29	2 (6.90%)	7 (24.1%)
+/+	5	1 (20.0%)	4 (80.0%)
<i>p</i> value*		0.850	0.012
With cisplatin			
-/-	35	1 (2.90%)	20 (57.1%)
+/-	20	2 (10.0%)	14 (70.0%)
+/+	7	1 (14.9%)	7 (100%)
<i>p</i> value*		0.175	0.032

\* Chi-square test for trend.

認されている。<sup>12,13)</sup> したがって、\*6 の頻度が高い東アジア人では、イリノテカン投与に当たって、\*28 と\*6 の両者を指標にすべきと考えられた。

日本においては、2008 年 6 月、塩酸イリノテカンの添付文書が改訂され、そこでは、「本剤の活性代謝物 (SN-38) の主な代謝酵素である UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) の 2 つの遺伝子多型 (UGT1A1\*6, UGT1A1\*28) について、いずれかをホモ接合体 (UGT1A1\*6/\*6, \*28/\*28) またはいずれもヘテロ接合体 (\*6/\*28) (筆者註: 複合ヘテロ接合体) としてもつ患者では、UGT1A1 のグルクロン酸抱合能が低下し、SN-38 の代謝が遅延することにより、重篤な副作用 (特に好中球減少) 発現の可能性が高くなることが報告されているため、十分注意すること」と追記された。また同時に、UGT1A1\*6 と\*28 の体外診断薬キットの販売が承認され、同年 11 月に診断薬の保険適用も認可され、2009 年 3 月に販売が開始された。

筆者らはさらに、原薬及び代謝物の体内動態への関与が示唆されている薬物トランスポーター 4 種について、その機能低下が知られているハプロタイプとグレード 3 以上の好中球減少との相関解析を、単剤投与患者及びシスプラチン併用患者を対象に行った。<sup>14)</sup> 好中球減少作用が強い「UGT1A1\*28 又は\*6」の影響を考慮し、これらの野生型、ヘテロ接合、ホモ接合の 3 群に分けて解析した。単剤投与では、ABCC2\*1A (-1774delG), ABCG2\*IIB [421C>A (Q141K)], IVS12+49G>T], 及び SLCO1B1\*15・

\*17 [521T>C (V174A)] が、併用投与では、*ABCBI*\*2 [1236C>T, 2677G>T (A893S), 3435C>T], *ABCG2*\*IIB, *SLCO1B1*\*15・\*17が、それぞれ好中球減少との相関を示した。「*UGT1A1*\*28 又は \*6」の遺伝子型が野生型又はヘテロ接合の場合、上記のハプロタイプにアミノ酸置換を伴うマイナー多型を含めて、トランスポーター分子の異型を2つ以上有すると好中球減少が顕著であった。また、単剤投与の場合にグレード3以上の、併用投与の場合にグレード4以上の好中球減少を示す患者の80%以上が2つ以上のトランスポーター分子の異型を有していた。したがって、これらトランスポーター多型の相加的な影響が示唆された。より症例数を多くし、再度、効果の確認をする必要があると思われるが、トランスポーター遺伝子の多型は、イリノテカンによる重篤副作用予測において、予測精度を上げるなどの改善をもたらす可能性がある。

### 3. ゲムシタビン

抗がん剤ゲムシタビンは膵臓がん、非小細胞肺癌、胆道がん等の治療に用いられる。本薬もプロドラッグであり、リン酸化を受けた二リン酸化体（ジフルオロ-dCDP）及び三リン酸化体（ジフルオロ-dCTP）が薬効をもたらす。本薬の多くは、静注後、速やかにシチジンデアミナーゼ（CDA）により解毒代謝されて腎排泄される（Fig. 3）。

筆者らは国立がん研究センターと共同でゲムシタビン投与患者の薬物動態及び遺伝子多型を解析したが、特に重篤な副作用（特に一時期、好中球数が0になるなどの非常に重篤な骨髄毒性）を示すシスプラチン併用患者が含まれていた。この患者は、*in vitro*でCDAの酵素活性低下が示されている *CDA*\*3 [208G>A (A70T), アレル頻度 0.037] をホモ接合で有しており、\*3を有しない患者に比べて、ゲムシタビンのAUC値が約5倍の高値を、血漿CDA活性が異常な低値を示した。<sup>15)</sup>そこで、約250人のゲムシタビン投与患者につき\*3の影響を検討したところ、\*3のアレル数依存的なゲムシタビンAUC値の上昇及び血漿CDA活性の低下が見い出された。<sup>16)</sup>また、5-フルオロウラシルやシスプラチン等との併用療法において、\*3を有する患者では、グレード3以上の好中球減少の発生頻度が有意に高かった。なお、上記以外に非常に重篤な副作用を発現した患者は認められず、また\*3のホモ接合も見い出されなかった。\*3であるAla70Thr置換を有するCDAタンパク質は、*in vitro*でシタラビン等に対する酵素活性の低下が示されている。したがって、本アミノ酸置換によるCDA活性の低下による解毒代謝の遅延により、血中ゲムシタビン濃度が上昇し、過度の薬効による重篤な副作用が発現したものと考えられた。しかし\*3のアレル数依存的なゲム

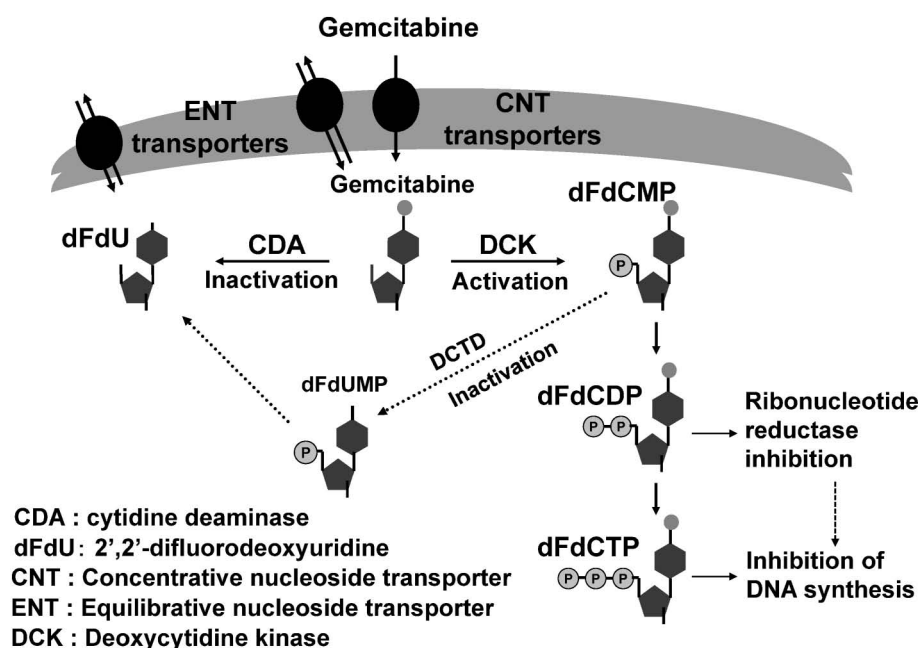


Fig. 3. Metabolic and Disposition Route of Gemcitabine

シタピン AUC 値の上昇は、ヘテロ接合では野生型の 1.3 倍程度であり、約 5 倍の AUC 値上昇がみられた上記ホモ接合 (1 例) の場合とかけ離れているため、臨床的にはホモ接合が特に重要と考えられた。そこで、*CDA\*3* ホモ接合の臨床的意義を検証するため、追加の膵がん患者 242 名から、入院による集中的な処置を要したグレード 4 の重篤な骨髄抑制等の副作用を発症した 3 例を抽出し、*CDA* 多型、*CDA* 活性及び薬物動態解析を行った。<sup>17)</sup> その結果、3 例のうち 2 例は *CDA\*3* をホモ接合で有しており、血漿 *CDA* 活性は *\*3*-非保有者の約 1/4 と、前記の 1 例と同様な異常低値を示した (Fig. 4)。さらに薬物動態解析が可能であった 1 例において、ゲムシタピン投与量により補正された AUC 値は、*\*3*-非保有者の約 5.7 倍であった。*\*3* を保有しない残りの 1 例については、*CDA* 活性が高値であり、また *CDA* 遺伝子及びゲムシタピンの代謝活性化の初段階を担う酵素であるデオキシチジンキナーゼをコードする *DCK* 遺伝子において機能変化と関連する多型は検出されず、*CDA* 以外の因子が副作用の原因であると示唆された。このように、ゲムシタピンによる非常に重篤な骨髄抑制を伴う副作用を発症した 4 例中 3 例で *CDA\*3* のホモ接合が見い出されたことは、日本人におけるゲムシタピンの重篤副作用発症の主な原因が、*CDA\*3* ホモ接合であることを示している。

なお健常人における *CDA\*3* のアレル頻度は、日本人 206 例で 0.022、韓国人 200 例で 0.005 であり、中国系米国人 (200 例)、白人系米国人 (150 例)、黒人系米国人 (150 例) では検出されなかった。<sup>18)</sup>

#### 4. おわりに

イリノテカンとゲムシタピンの解析例を紹介したが、いずれもホモ接合 (イリノテカンでは複合ヘテロ接合を含む) 患者で、重篤な好中球減少発現頻度の有意な上昇が認められたものである。しかし、その情報の添付文書における記載は、イリノテカンの方に留まっている。この理由として、1) 多型の頻度の違い、2) 同様の結果を有する追試験の存在が考えられる。「多型頻度の違い」としては、リスク型の頻度がイリノテカンで約 10% であるものの、ゲムシタピンでは約 0.1-0.2% と低いものである。また「同様の結果を有する追試験の存在」としては、イリノテカンでは人種を越えて、5 グループ以上が追試し、同様の結果が得られているものの、ゲムシタピンでは国立衛研のグループからしか報告がない。本 2 点 (特に後者の点) は、PGx 情報の臨床応用に関して重要と考えられる。一方で、解析が進んでいるイリノテカンの場合でも、*UGT1A1* の遺伝子多型のみでは十分説明できない部分が残されている。これらが他の遺伝子の多型によるものか、若しくは飲食等の環境要因によるものか、今後さらな

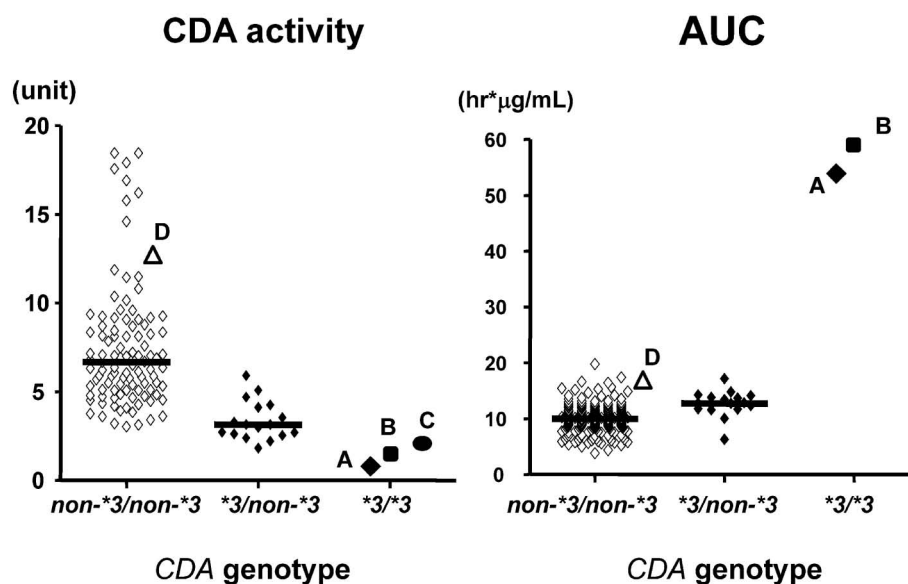


Fig. 4. Effect of *CDA\*3* on Plasma *CDA* Activity and Gemcitabine AUC

る検討が必要とされる。

現在、添付文書に、遺伝子多型が薬物動態及び有効性・副作用発現に対して影響を有するとの記載がある医薬品数は14種以上に上っており、影響がないという記載を含めれば、より多くの医薬品で認められる。今後の研究の進展により、薬物投与前の遺伝子多型診断の有用性が広く国民に認知され、より適切な個別化治療が早期に実現することを期待する。

**謝辞** 本稿で紹介した筆者らの報告の一部は、「保健医療分野における基礎研究推進事業」[研究代表者：澤田純一（～2008年度）、奥田晴宏（2009年度）]の支援を受けて得られたものである。また、臨床検体・情報の収集、遺伝子多型及び薬物動態の測定及び解析に携わった国立医薬品食品衛生研究所及び国立がん研究センターにおける共同研究者の方々、特にイリノテカンでは国立がん研究センターの南博信（現・神戸大学教授）、松村保広、国立医薬品食品衛生研究所の佐井君江、佐伯真弓、ゲムシタピンでは国立がん研究センターの奥坂拓志、上野秀樹、国立医薬品食品衛生研究所の鹿庭なほ子、金秀良、杉山永見子の、各先生方に深く感謝申し上げる。

## REFERENCES

- 1) Sai K., Sawada J., Minami H., *Yakugaku Zasshi*, **128**, 575–584 (2008).
- 2) Saito Y., Maekawa K., Ozawa S., Sawada J., *Curr. Pharmacogenomics Person. Med.*, **5**, 49–78 (2007).
- 3) Saeki M., Saito Y., Jinno H., Sai K., Ozawa S., Kurose K., Kaniwa N., Komamura K., Kotake T., Morishita H., Kamakura S., Kitakaze M., Tomoike H., Shirao K., Tamura T., Yamamoto N., Kunitoh H., Hamaguchi T., Yoshida T., Kubota K., Ohtsu A., Muto M., Minami H., Saijo N., Kamatani N., Sawada J., *Pharmacogenomics J.*, **6**, 63–75 (2006).
- 4) Minami H., Sai K., Saeki M., Saito Y., Ozawa S., Suzuki K., Kaniwa N., Sawada J., Hamaguchi T., Yamamoto N., Shirao K., Yamada Y., Ohmatsu H., Kubota K., Yoshida T., Ohtsu A., Saijo N., *Pharmacogenet. Genomics*, **17**, 497–504 (2007).
- 5) Sai K., Saeki M., Saito Y., Ozawa S., Katori N., Jinno H., Hasegawa R., Kaniwa N., Sawada J., Komamura K., Ueno K., Kamakura S., Kitakaze M., Kitamura Y., Kamatani N., Minami H., Ohtsu A., Shirao K., Yoshida T., Saijo N., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **75**, 501–515 (2004).
- 6) Ando Y., Saka H., Ando M., Sawa T., Muro K., Ueoka H., Yokoyama A., Saitoh S., Shimokata K., Hasegawa Y., *Cancer Res.*, **60**, 6921–6926 (2000).
- 7) Iyer L., Das S., Janisch L., Wen M., Ramirez J., Karrison T., Fleming G. F., Vokes E. E., Schilsky R. L., Ratain M. J., *Pharmacogenomics J.*, **2**, 43–47 (2002).
- 8) Innocenti F., Undevia S. D., Iyer L., Chen P. X., Das S., Kocherginsky M., Karrison T., Janisch L., Ramirez J., Rudin C. M., Vokes E. E., Ratain M. J., *J. Clin. Oncol.*, **22**, 1382–1388 (2004).
- 9) de Jong F. A., de Jonge M. J., Verweij J., Mathijssen R. H., *Cancer Lett.*, **234**, 90–106 (2006).
- 10) Sai K., Saito Y., Sakamoto H., Shirao K., Kurose K., Saeki M., Ozawa S., Kaniwa N., Hirohashi S., Saijo N., Sawada J., Yoshida T., *Cancer Lett.*, **261**, 165–171 (2008).
- 11) Han J. Y., Lim H. S., Shin E. S., Yoo Y. K., Park Y. H., Lee J. E., Jang I. J., Lee D. H., Lee J. S., *J. Clin. Oncol.*, **24**, 2237–2244 (2006).
- 12) Takano M., Kato M., Yoshikawa T., Sasaki N., Hirata J., Furuya K., Takahashi M., Yokota H., Kino N., Horie K., Goto T., Fujiwara K., Ishii K., Kikuchi Y., Kita T., *Oncology*, **76**, 315–321 (2009).
- 13) Yamamoto N., Takahashi T., Kunikane H., Masuda N., Eguchi K., Shibuya M., Takeda Y., Isobe H., Ogura T., Yokoyama A., Watanabe K., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **85**, 149–154 (2009).
- 14) Sai K., Saito Y., Maekawa K., Kim S. R., Kaniwa N., Nishimaki-Mogami T., Sawada J., Shirao K., Hamaguchi T., Yamamoto N., Kunitoh H., Ohe Y., Yamada Y., Tamura T., Yoshida T., Matsumura Y., Ohtsu A., Saijo N., Minami H., *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **66**, 95–105 (2010).
- 15) Yonemori K., Ueno H., Okusaka T., Yamamoto N., Ikeda M., Saijo N., Yoshida T., Ishii

- H., Furuse J., Sugiyama E., Kim S. R., Kikura-Hanajiri R., Hasegawa R., Saito Y., Ozawa S., Kaniwa N., Sawada J., *Clin. Cancer Res.*, **11**, 2620–2624 (2005).
- 16) Sugiyama E., Kaniwa N., Kim S. R., Kikura-Hanajiri R., Hasegawa R., Maekawa K., Saito Y., Ozawa S., Sawada J., Kamatani N., Furuse J., Ishii H., Yoshida T., Ueno H., Okusaka T., Saijo N., *J. Clin. Oncol.*, **25**, 32–42 (2007).
- 17) Ueno H., Kaniwa N., Okusaka T., Ikeda M., Morizane C., Kondo S., Sugiyama E., Kim S. R., Hasegawa R., Saito Y., Yoshida T., Saijo N., Sawada J., *Br. J. Cancer*, **100**, 870–873 (2009).
- 18) Sugiyama E., Lee S. J., Lee S. S., Kim W. Y., Kim S. R., Tohkin M., Hasegawa R., Okuda H., Kawamoto M., Kamatani N., Sawada J., Kaniwa N., Saito Y., Shin J. G., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **24**, 553–556 (2009).