

—Reviews—

がん化学療法におけるバイオマーカーの探索に関する研究森本 茂文^{*,a}, 田伏 克惇^b, 藤田 芳一^c**Research on Biomarkers in Cancer Chemotherapy**Shigefumi MORIMOTO^{*,a}, Katsuyoshi TABUSE^b, and Yoshikazu FUJITA^c^{a,b}*National Hospital Organization, Osaka Minami Medical Center,**2-1 Kidohigashi-machi, Kawachi-nagano, Osaka 586-8521, Japan*^c*Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1 Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan*

(Received October 29, 2010; Accepted November 30, 2010)

One reason for the considerable differences in the manifestation of efficacy and toxicity of anticancer drugs among individuals is thought to be the marked individual differences in the activity of drug-metabolizing enzymes. The measurement of biomarkers that reflect blood concentrations of anticancer drugs may offer a means to easily analyze these differences in enzyme activity in the clinical setting. If such measurement were realized, it would be possible to increase the concentration of anticancer drugs in the body, thereby making it possible to contribute to the development of individualized therapy.

In this study, urinary uracil levels were measured, which reflect the level of dihydropyrimidine dehydrogenase, an enzyme that is currently attracting attention because it enables prediction of both efficacy and adverse effects associated with 5-FU administration. The baseline urinary uracil level in cancer patients ranged from 0 to 60.5 $\mu\text{mol/g}\cdot\text{creatinine}$ ($n = 84$), and a negative correlation was observed between urinary uracil level and plasma 5-FU clearance. Moreover, in patients administered a more potent 5-FU preparation in the form of tegafur-gimeracil-oteracil potassium (TS-1), although favorable therapeutic effects were observed when urinary uracil levels were within the baseline level, in cases of elevated uracil levels, adverse effects appeared early on after administration.

The activity of taxane-based anticancer drugs is reflected in the AUC, and urinary glucuronic acid (GA) level was measured because it correlated with the activity of P450, which exerts an effect on both efficacy and adverse effects. A comparative study was conducted on the urinary GA levels in 16 patients taking antiepileptic drugs, in whom P450 had been induced, and 24 healthy subjects prior to evaluating the pharmacological efficacy of paclitaxel. The mean urinary $[(\text{GA}/\text{Cr}) \times 10]$ levels in the 24 healthy subjects and the 16 patients taking antiepileptic drugs were 0.19 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively, clearly indicating that the urinary GA levels in patients taking antiepileptic drugs are significantly higher than those in healthy subjects, and demonstrating that urinary GA levels reflect P450 activity. When urinary GA levels and blood concentrations of paclitaxel were measured in 8 patients administered paclitaxel on the basis of these

*.a 独立行政法人 国立病院機構 大阪南医療センター 薬剤科, 586-8521 大阪府河内長野市木戸東町 2 番 1 号
e-mail: morimots@ommc-hp.jp

b 独立行政法人 国立病院機構 大阪南医療センター 外科, 586-8521 大阪府河内長野市木戸東町 2 番 1 号

c 大阪薬科大学

本論考は、森本茂文の博士論文をもとに再構成したものである。

results, AUC tended to increase in cases in which urinary GA levels were low, suggesting that although adverse effects may be observed, therapeutic effects can also be expected.

In this study, the possibility of Therapeutic Drug Monitoring (TDM) was suggested as it is capable of minimizing adverse effects and maximizing therapeutic effects, by closely examining two types of anticancer drugs and the biomarkers that demonstrate a correlation therewith. The selection of the appropriate biomarker would provide important information in terms of setting the optimum dose of the anticancer drugs. With current progress being made in the field of gene therapy, the combined use of biomarkers and gene therapy is expected to greatly contribute to the further advancement of cancer chemotherapy.

Key words—Biomarker; tegafur-gimeracil-oteracil potassium (TS-1); dihydropyrimidine dehydrogenase; urinary uracil; paclitaxel; P450; urinary glucaric acid

はじめに

がんは、1981年以来本邦の死因の第一位を占め、2006年には、総死亡の31%の32万人、3人に1人ががんで死亡している^{1,2)}。そこで、厚生省（現厚生労働省）はがん対策として1984年から、がんの本態解明や診断・治療の向上に向けて、「第一次対がん10カ年総合戦略」を開始し、現在「第三次対がん10カ年総合戦略」に取り組んでいる。さらに2006年6月国会で「がん対策基本法」が成立し「がんの予防・診断・治療等に係わる技術の向上」、「がん医療水準均てん化」、「がん患者・国民に対して、がん医療、特に治療に関して十分な情報の提供」の3つの基本理念が示され、国家プロジェクトに発展している。

がん医療の変遷を考えると、以前はがんを早期に発見し、手術する原則に基づいた外科療法が主流であったが、外科的対応にはおのずと限界があり、最近ではがん細胞の縮小効果や進行がん、転移性がんなどの治療に威力を発揮するがん化学療法的重要性が益々高くなっている。

現在の実地医療においてのがん化学療法は、DLT (dose limiting toxicity) と考えられる高度の副作用が発現した場合には、次コースの投与量を20～25%減量して行うことが一般的である。投与量を減らすことで副作用が回避される

ことが多いが、抗がん剤の減量による治療効果や生存に与える負の影響については明かでない。Norton & Simonの提唱する理論に基づくと、完全奏効 (complete response: CR) を目指すには、治療の最終段階で治療強度を下げることは好ましくないと考えられる。したがって、治療に有効な濃度域が狭く、薬物体内動態の個人差が大きい抗がん剤については、TDM (Therapeutic drug monitoring) を実施し、毒性を最小限にして、最大の効果を得ることが治療成績の向上につながると考えられる。

抗がん剤の効果、毒性の発現は、個体差が著しく、体表面積当たり規定量を投与しても個体反応に相違を生じるが、その理由の一つとして薬物代謝酵素の活性の個体差が大きいことをあげることができる。したがって関与する酵素の活性を測定し、これを癌化学療法時の有力な情報として使用し、オーダーメイド治療に反映することが理想的であるが、酵素活性を直接測定することは操作が煩雑であるため臨床現場では困難である場合が多い。この酵素活性の差を簡便に精査するための一つの方策として、抗がん剤の血中濃度を反映するバイオマーカーを測定する方法が考えられ、これが実現できれば抗がん剤濃度を上げることに繋がり、更には治療の個別化の進展、すなわち抗がん剤の効果の向上や副作用の予知、ひいては生存期

間の延長に寄与することができると考えられる。現時点においては、抗がん剤に対応するバイオマーカーに関する研究はまだ少ないが、消化器癌の化学療法のKey drugである5-フルオロウラシル (5-FU) は、その90%を代謝するジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ (DPD) が治療効果および副作用予測の酵素として注目され、タキサン系抗癌剤については、P450で代謝されるため、その活性が血中濃度下時間面積 (Area Under the Curve: AUC) に反映し、効果や副作用に影響すると報告されている⁴⁾。

本研究では、5-FUに関してはDPD活性を反映する尿中ウラシル値、パクリタキセルにおいては、P450活性と相関する尿中グルカリン酸値が、副作用や治療効果を予測するバイオマーカーに使用できる可能性について考察した。

I. 代謝拮抗剤フルオロウラシルに関する研究

5-FUはピリミジン系代謝拮抗剤に分類され、細胞が分裂・増殖する際に必要な代謝物質に似た構造を持ち、本来の代謝物質の代わりにがん細胞に取り込まれることで、そのDNAの合成を阻害する特徴を持つ。しかし5-FUは体内で分解されやすく、効果の持続時間が短いため、注射では静脈内への持続点滴が使用される。この5-FUより長時間体内に留め、効果を高めるために改良された経口剤がUFT (一般名: テガフル・ウラシル) であり、次に、副作用を軽減するため工夫されたTS-1 (一般名: テガフル・ギメラシル・オテラシル) も開発されている。TS-1は、5-FUのプロドラッグであるテガフル (化学名: 5-Fluoro-1-[2(RS)-tetrahydrofuran-2-yl]uracil: FT) に強力なDPD阻害剤であるギメラシル (化学名: 5-chloro-2,4-dihydropyridine: CDHP) と5-FUのリン酸化によって発生する消化管毒性を抑制するオテラシルカリウム (化学

名: Potassium 1,2,3,4-tetrahydro-2,4-dioxo1,3,5-triazine-6-carboxylate: Oxo) の二つのモジュレーターを配合し副作用を軽減し、血中5-FU濃度を高く維持できるように開発された経口抗がん剤である。

1. DPDと尿中ウラシル値の関係及びがん患者における尿中ウラシル値の基準値

5-FU系抗がん剤はThymidine phosphorylase (TP), Orotate phosphoribosyl transferase (OPRT) 等で代謝され、主に血液中または肝臓のDPDにより分解される (Fig. 1)。分解経路の第一段階かつ律速段階を触媒する酵素であるDPDは、投与された5-FUの約85%を分解する酵素である。

5-FU系抗がん剤の薬物動態には個人差があり、同一患者でも時間によって変動することが知られているが、その多くの場合は、DPDが原因と考えられている。末梢血単核球のDPD活性は5-FUのクリアランスと逆相関すること⁶⁾、また、腫瘍のDPD活性は5-FU系抗がん剤による化学療法の効果を左右することも報告されている⁷⁾。さらに5-FUの効果は、DPDが、むしろThymidylate synthase (TS) より先に規定する因子であると考えられている⁸⁾。

DPD活性の測定には、肝臓のDPD活性と弱い正の相関関係を示す末梢血単核球が、用いられてきたが、スクリーニングとして一般臨床で行うには測定操作が複雑であるため、近年では、より簡便な尿中のウラシル・チミン値やその代謝物の比でDPD活性の予測を行っている¹⁰⁾。その測定原理は、5-FU系抗がん剤と同時にDPDで代謝される核酸塩基の一種ウラシルとその代謝物を尿中にて測定し、DPD活性を間接的に予測しようとするものである (Fig. 2)¹¹⁾。

そこで今回、尿中ウラシル値と同時に、実際に5-FUを持続投与して算出した血漿の5-FUの消失値 (5-FUクリアランス) を算出し、5-FU系抗が

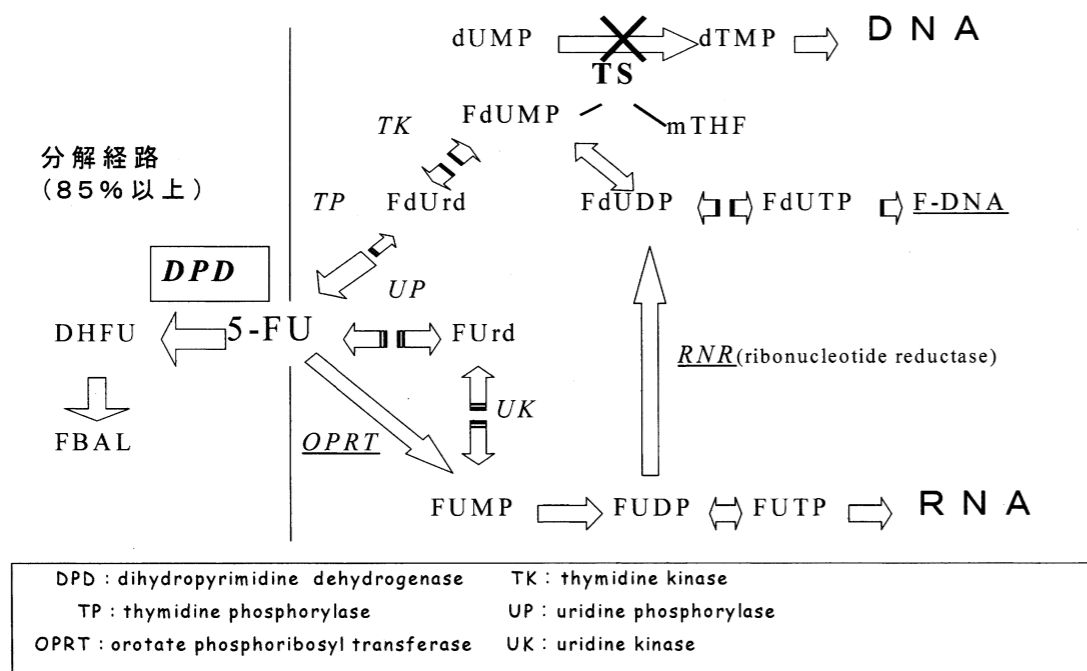


Fig. 1 Metabolism of 5-Fluorouracil

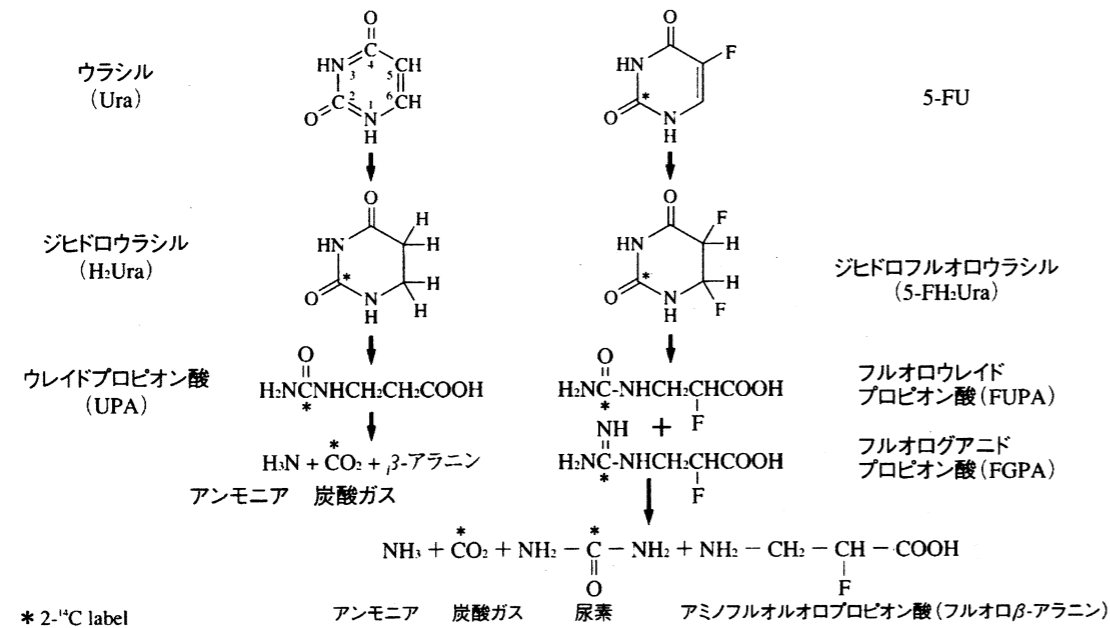


Fig. 2 Prediction of the dihydropyrimidine dehydrogenase activity by the urinary uracil level

ん剤の臨床効果と副作用の関係について検討した。さらに、尿中ウラシル値の癌患者の基準値を求めた。

1-1. 尿中ウラシル及び 5-FU 血中濃度測定患者の背景と方法

入院患者で、5-FU 系抗がん剤でがん化学療法の予定がある、または施行された進行癌患者のうち、文書にて同意の得られた男子 11 例、女子 4 例の合計 15 例の背景は、年齢は 29~76 歳(平均 54.7 歳)、体表面積は 1.28~1.82 m²(平均 1.58 m²)であった。原発は直腸癌 7 例、結腸癌 4 例、胃癌 2 例、乳癌 1 例、肺癌 1 例であり、病理組織はすべて腺癌であった。

尿中ウラシル測定のための採尿は、試験開始前の尿中ウラシル値の日内変動が少ないとされる午前 10 時の 2 番尿とし、採尿後 -30℃にて凍結保存した。尿中ウラシル値は大塚アッセイ研究所に依頼して、カラムスイッチ高速液体クロマトグラフ法 (HPLC) を用い測定し、クレアチニン値 (Cr 値) で補正した。

持続点滴において薬剤は半減期の 5 倍の時間で定常状態に達するので、5-FU の半減期が約 10 分であり、5 倍の 50 分後が定常状態であると考えられる。5-FU 注射液 (協和発酵) 250 mg/5ml/ アンプルを生理食塩水 20 ml に希釈し、持続シリンジを用いた精密持続点滴法にて 25 ml/h の一定速度で 60 分かけて静脈内投与し、50 分後に反対腕から採血した。検体にて測定された 5-FU の血中濃度より、血漿 5-FU クリアランスを算出し、体表面積あたりのクリアランスに補正した (点滴速度 / 定常状態の血中濃度 / 体表面積)。本試験は 5-FU の circadian rhythm を考慮し、午前 10 時の採尿に続いて実施した。

持続シリンジ静脈注射開始 50 分後に採血した検体から算出した血漿 5-FU クリアランスと尿中ウラシル値との関係を検討し、さらに各患者の

5-FU 系抗がん剤によるがん化学療法の奏効度・副作用の発現状況について調査した。

1-2. 基準値算出のための尿中ウラシル値測定患者の背景と方法

2001 年 6 月から 2005 年 6 月までの 4 年間に手術後の補助療法や再発、再燃治療のために 5-FU 系抗がん剤による化学療法が必要であり文書で同意を得られた胃癌、大腸癌患者 84 例の尿中ウラシル値を測定した。84 例の内訳は男性 48 例、女性 36 例、平均年齢 62.4 歳であり、癌腫は胃癌 64 例、大腸癌 20 例であった。

測定した尿中ウラシル値より平均値、標準偏差、標準誤差を算出し、さらに基準値を規定した。

1-3. 尿中ウラシル値と 5-FU クリアランス値の関係

患者 15 例での尿中ウラシル値、血中 5-FU 濃度を測定し、それに基づき 5-FU クリアランスを算出したところ Fig. 3 に見られるように、尿中ウラシル値と血漿 5-FU クリアランスとは負の相関関係が認められた (Pearson's correlation coefficient test, $r = -0.5769$, $P = 0.0243$, $n = 15$)。

1-4. 尿中ウラシル値と臨床症状の関係

尿中ウラシル値が報告されている健常人を含んだ下限基準値 25.1 μmol/g・Cr より低い症例では、血漿 5-FU クリアランスが 4.383×10^3 から 3.096×10^3 と高値を示した。更にそれらの症例は 5-FU 系抗がん剤の無効例が多く、副作用はなかった。尿中ウラシル値が報告されている健常人を含んだ上限基準値 99.8 μmol/g・Cr より高い症例では重篤な口内炎、白血球減少などの副作用が強く発現し、血漿 5-FU クリアランスは 1.024×10^3 で、15 症例中での最低値を示した。しかし 5-FU 系抗がん剤の奏効度との関係は不明瞭で、尿中ウラシル値が基準値より高い症例にも無効例はあった。

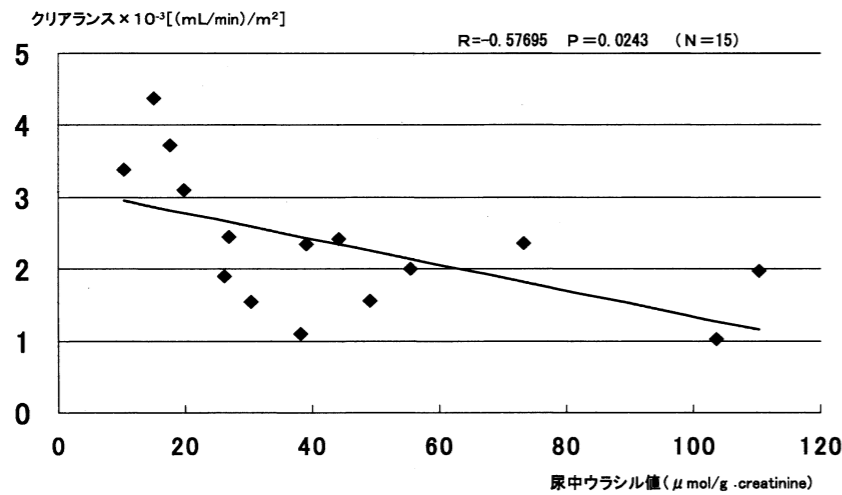


Fig. 3 Relations of urinary uracil level and plasma 5-FU clearance
尿中ウラシル値と血漿 5-FU クリアランスとは負の相関関係が認められた。
(Pearson's correlation coefficient test, $r = -0.5769$, $P = 0.0243$, $n = 15$)

1-5. 癌患者の尿中ウラシルの基準値

尿中ウラシル値の最低値 $5.9 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$, 最高値 $86.7 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$ で χ^2 適合度検定の結果, 正規分布であった (Fig.4). その平均値は $30.7 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$, 標準偏差は $14.9 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$, 標準誤差は $1.62 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$, 下限値は $-4.7 \sim 6.5 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$, 上限値は $54.9 \sim 66.1 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$ であった. この結果を踏まえて尿中ウラシル値の基準値を $0 \sim 60.5 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$ と設定した.

1-6. 考察

欧米では DPD 欠損症のスクリーニングの必要性が提唱され, 末梢血単核球の DPD 活性の測定が行われている¹⁷⁾. 国内では, 5-FU 含有製剤の投与除外基準として DPD の欠損症患者があげられているにもかかわらず, 一般的に 5-FU によるがん化学療法施行時の血中または腫瘍中の DPD 欠損のスクリーニングは行われていないのが現状である. この理由は, 検査の煩雑さが第一と考えられるが, 驚見らは 5-FU 系抗がん剤の副作用予知・

防止のために, 尿中ピリミジン濃度測定による尿スクリーニングを実施し, 無症状ピリミジン代謝異常患者の判別に良好な成績を報告している¹⁸⁾.

今回, 5-FU 系抗がん剤に対する代謝の個人差, 尿中ウラシル値と血漿 5-FU クリアランスさらに 5-FU 系抗がん剤の奏効度, 副作用の関係を検討した. その結果, 尿中ウラシル値と血漿 5-FU クリアランスの間には, 負の相関関係が認められ, 効果, 副作用との関係が示唆された. すなわち尿中ウラシル値が低く DPD 活性が高いと推測される症例では, 5-FU のクリアランスが大きいこと, 5-FU の血中濃度が低下し, 5-FU 系抗がん剤によるがん化学療法が無効になることが多かった. 一方尿中ウラシル値が高く DPD 活性が低いと推測される症例では, 5-FU のクリアランスが小さく, 5-FU 系抗がん剤の代謝が遅れ, 5-FU の血中濃度が高く持続し, 全身副作用が強く発現した. がん化学療法の効果との関係は見いだせなかったが, 5-FU 系抗がん剤の効果は, DPD 活性だけでなく, TS 活性や OPRT 活性, 感受性など他の多くの因子

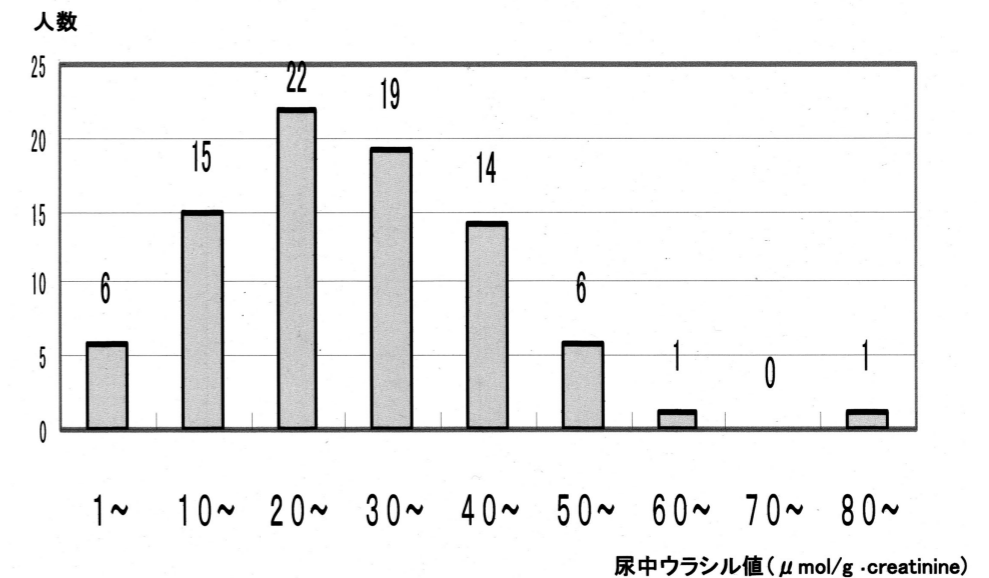


Fig. 4 The distribution of the urinary uracil level of the cancer patient ($n = 84$)

も起因するためと考えられた.

尿中ウラシル値は, 5-FU をはじめとするピリミジン系化学療法剤の副作用の予知, 防止を目的として考案され, 健常人を含む 1133 例を対象とした Hayashi, Sumi らの検討においては, 尿中ウラシル値の平均値が $63.81 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$, 標準偏差は $66 \mu\text{mol/g}\cdot\text{Cr}$ であり, 一般的に尿中ウラシル値が低値の程, DPD 活性は強く, 高値の場合はその活性が弱いとされている. 今回, 健常人を除くがん患者の尿中ウラシルの基準値を設定した結果, 尿中ウラシル値の平均値, 標準偏差とも Hayashi, Sumi らの報告より低値であった. これはがん細胞の DPD 活性が正常細胞の DPD 活性より強い²¹⁾ことが原因であると考えられた.

5-FU 系抗がん剤は, 強力な DPD 阻害剤を含有する TS-1, capecitabine の登場により新たな時代を迎えた. 両薬剤とも関連代謝酵素に対する特異性, 依存性が高められており, これは同時に関連酵素の効果予測因子としての意義も高まることを示唆している²²⁾. 尿中ウラシル値を測定することは,

遺伝子解析による DPD 活性の予想が不可能である現時点においては, 患者の QOL を損なうことなく副作用をより確実に防止できると期待される.

2. TS-1 の適正使用を目指した尿中ウラシル値の活用

DPD は 5-FU の体内の残存を規定するため, その酵素活性が 5-FU の抗腫瘍効果や副作用に影響するので²³⁾, 近年, 製剤においては TS-1, UFT などの DPD 活性をターゲットにした DPD inhibitory fluoropyrimidines (DIF) 製剤の開発²⁴⁾が主流となっている.

TS-1 単剤での奏効率は 53.6% ²⁵⁾と高く, 単剤でも十分, 抗腫瘍効果が期待できる. 一方, DPD 欠損患者に投与した場合, 投与初期に重篤な副作用が発現するとの報告があり, Grade 3 以上の白血球減少が数%認められる²⁵⁾のも, DPD 活性の個人差が一因とも考えられる. また DPD 活性が強い患者は, 従来の 5-FU 系抗がん剤が無効になる可能

性が高く、従来の 5-FU 系抗がん剤の漫然投与を回避し、TS-1 やイリノテカン、タキサン系抗がん剤へ変更する必要性がある。したがって今回、尿中ウラシル値が TS-1 投与時の臨床効果、副作用の判断材料としてなりうるか否かを検証した。

2-1. TS-1 服用患者の内訳と方法

2001 年 6 月から 2002 年 7 月までの進行胃癌患者で TS-1 投与予定の同意を得られた 22 例（男性 15 例、女性 7 例）とそれに加えて 2002 年 8 月から 2005 年 6 月までの 62 例で算出された基準値以上の症例を対象として、尿中ウラシル値の測定を実施し、TS-1 との臨床効果、副作用をステージ、根治度別に比較検討した。さらに基準値外であった患者の副作用発現を調査した。なお Table 3 の症例 d に関しては、5-FU 注射液 750 mg を 1 時間で輸液ポンプにて注入し、注入開始後の 5-FU の定常状態と考えられる 50 分時点の血液を用いファルコバイオシステムズにて 5-FU の血中濃度を測定、5-FU クリアランスを算出し、先に報告した尿中ウラシル値と 5-FU クリアランス値と比較した。

2-2. 尿中ウラシル値が基準値内の症例の TS-1 の臨床効果

2001 年 6 月から 2002 年 7 月までの進行胃癌による TS-1 投与 22 例のうち副作用のために早期に離脱した症例や非継続投与症例、PS 3 以上のため効果の判定が不可能であった 4 例を除いた進行胃癌ステージⅢ患者 7 例とステージⅣ患者 11 例の合計 18 例（平均年齢 61 歳、平均体表面積 1.5 m²）の解析をおこなった。

(1) 算出したウラシル値基準値で平均値 30.7 μmol/g・Cr 以上、上限値 54.9～66.1 μmol/g・Cr 以下の基準値内の 10 例について、

①ステージⅢの補助療法 2 例 (Table 1 症例番号 10, 12) においては再発はなかった。さらにステージⅢ根治度 B 再発症例 (Table 1 症例番号 14) に

おいては 1 年以上の生存が認められた。

②ステージⅣ根治度 B 再発症例 (Table 1 症例番号 18) においては TS-1 を 10 クール施行後 CPT-11 との併用にて 1 年以上の生存が認められた。

③ステージⅣ根治度 C の 6 例中 5 例 (Table 1 症例番号 9, 11, 13, 16, 17) が腫瘍マーカー (CEA, CA19-9) の上昇もなく、無変化 (No Change: NC) が 1 年以上継続する良好な結果となった。残りの 1 例 (Table 1 症例番号 15) については 2 クール施行にて、腫瘍径はほとんど変化なく一時的に食欲が増加したが、その後食欲低下、発熱、全身倦怠感を訴え、最終的には効果がみられなかった。

④副作用においては、グレード 2 の口内炎やグレード 2 の血小板減少のほか重篤な副作用の発現はなかった。

(2) ウラシル値が平均値 30.7 μmol/g・Cr 以下、下限値 0～6.5 μmol/g・Cr 以上の 8 例について

①ステージⅢ 3 例 (Table 2 症例番号 4, 7, 8) とステージⅣ根治度 B (Table 2 症例番号 6) 症例の補助療法においては再発はなかった。

②癌性腹膜炎を伴う手術不能例 (Table 2 症例番号 3) で基準量にて、胃内癌病変の著明な退縮と腹水の減少がみられ部分奏効 (partial response: PR) が 3 ヶ月以上観察された。

③ステージⅣ根治度 C の 1 例 (Table 2 症例番号 5) が体表面積に合わせた基準量にて全身発疹、下痢、倦怠感などの副作用を発現したため 60 mg/日に減量投与したところ、腫瘍マーカーの上昇もなく NC が 10 ヶ月以上継続する良好な結果となった。

④ウラシル値が最も低いステージⅢ b 根治度 B 再発症例 (Table 2 症例番号 1) は無効であった。さらに 2 番目に低いステージⅣ根治度 B 再発症例 (Table 2 症例番号 2) では発疹が出現したため投与を中止し、5-FU クリアランス確認試験を実施した。その結果、5-FU クリアランスは 3.38 × 10⁻³/m² と高値であり、DPD 活性が高いことが確認された。TS-1 投与続行が適切と考えられるため、用量を 100 mg/日より 80 mg/日に減量し、化

Table 1 The clinical response of the case in the standard value

ステージ	根治度	症例番号	尿中ウラシル値	臨床効果	
Ⅲ	A	B	10	33.6	再発なし
			12	36.8	
	B	B(再発)	14	42.0	PR
Ⅳ	C	B(再発)	18	51.2	NC1年以上
			9	31.1	NC1年以上
			11	36.5	
			13	38.7	
			15	45.4	PD
			16	47.3	NC1年以上
		17	51.0		

- ・完全奏効 (complete response: CR) すべての標的病変の消失
- ・部分奏効 (partial response: PR) 30%以上の縮小
- ・無変化 (No Change: NC) PRおよびPD基準に満たないもの
- ・進行 (progressive disease: PD) 20%以上の増大
- ・ステージ (がんの進行の具合や深さ、転移の状態が決まる、I～IVの数字が大きい程、またAよりもBが進行している)
- ・根治度 (がんの遺残状態の程度が決まる、C: 確実に遺残のあるもの)

Table 2 The clinical response of the general case in the standard value

ステージ	根治度	症例番号	尿中ウラシル値	臨床効果
Ⅲb	B(再発)	1	6.7	PD
		4	19.5	再発なし
	B	7	20.8	
		8	21.0	
Ⅳ	B(再発)	2	10.4	PD
	C(手術不能)	3	15.2	PR3ヶ月以上
	C	5	19.6	NC10ヶ月以上
	B	6	20.7	再発なし

学療法を続行したがリンパ節転移増大のため進行 (progressive disease: PD) の判定となった。副作用においては、口内炎や発汗部の湿疹、流涙などの副作用が出現した。

2-3. 尿中ウラシル値が基準値以上の症例の TS-1 の臨床効果

尿中ウラシル値が上限値 54.9 μmol/g・Cr 以上の患者は 84 例中 4 例に認められた。症例 b, c, d では DIF 製剤である TS-1 を標準量, 1 段階減量で投与初期より副作用が認められた (Table 3)。さらに症例 d の 5-FU のクリアランスを算出した結果, 0.732 × 10⁻³/m²となった。さらに算出された 5-FU クリアランス値 0.732 × 10⁻³/m²を, 以前, 報告した尿中ウラシル値と 5-FU クリアランス相関グラフ (Fig. 3)²⁶⁾ にプロット (△印) すると, Fig. 5 に見られるように尿中ウラシル値が高

値, 5-FU クリアランスが低値であることが確認された。

2-4. 測考察 その 1 (尿中ウラシル値が基準値内の症例)

強力な DPD 阻害剤を含有する TS-1 は 5-FU が高濃度になるため従来の 5-FU 系抗がん剤より治療効果が期待される。実際の TS-1 開発には標準的な DPD 活性を基準として DPD 阻害剤が配合されているため, ウラシル値が基準値内である場合は十分な血中濃度が維持され, 大半の症例で効果は良好である。しかし無効となる場合は TS 活性など他の因子が関与しているものと考えられる。

ウラシル値が下限値以上の症例では, 従来の 5-FU 系抗がん剤では DPD による分解代謝が盛んなため抗がん効果が期待できる十分な血中濃度の維持がなく, 強力 DPD 阻害剤を含有している

Table 3 The side effect expression situation of patients more than urinary uracil upper limit value

症例	年齢・性別	癌種	ウラシル値	使用薬剤	TS-1 投与量 (mg/m ² /日)	副作用発現状況
a	35・F	胃	66.1	(5-FU 注 500mg/日 × 5 + CDD P 注 10mg/日 × 1) × 2 クール後、UFT 顆粒 400mg/日	-	特になし
b	58・M	胃	57.5	TS-1	120mg/日	84 開始当初より全身倦怠感・嘔吐・腹痛・下痢で服用中止
c	73・F	胃	57	TS-1	80mg/日	58 開始二日目より全身倦怠感・食欲不振・軽度吐気・Grade 5 下痢で服用中止
d	72・F	十二指腸	86.7	(5-FU 注 530mg/m ² + レボホリナート注 210mg/m ² /週) × 6 × 3 クール後、TS-1	100mg/日	73 5-FU 注による副作用なし、TS-1 開始当初より全身倦怠感・食欲不振・嘔吐・下痢で服用中止

TS-1 投与が有用と考えられる。同じステージで同じ根治度の症例を Table 4 にまとめると, ステージ III b 根治度 B の再発 2 例において尿中ウラシル値が 42 μmol/g・Cr で平均値以上の症例 14 には効果が認められ, ウラシル値が 6.7 μmol/g・Cr で DPD 活性が非常に強いと思われる症例 1 では, 良好な治療成績は得られなかった。

平林らは, 胃癌および乳癌組織における腫瘍 DPD 活性と臨床病理学的所見との関連性について検討し, 治療効果との比較では, DPD 活性が 100 pmol/mg protein/min 以上の症例では 5-FU + CDDP 療法や 5-FU (DIV) 療法では有効例を認めなかったが, 28.7 pmol/mg protein/min と低値の症例では著効を認め, TS-1 を用いた症例では DPD

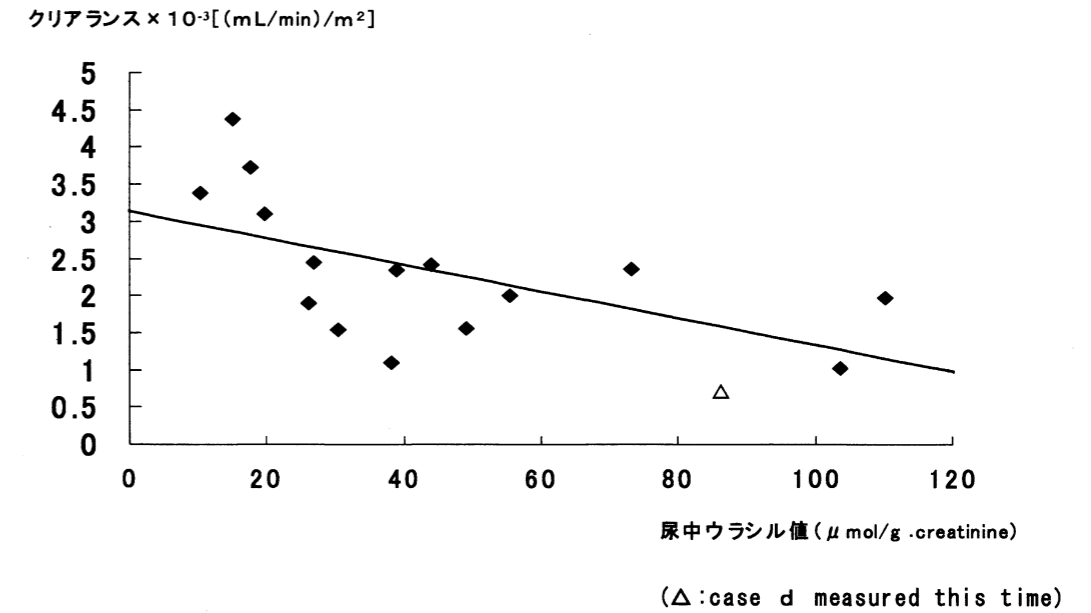


Fig. 5 Urinary uracil level / 5-FU clearance correlation graph and case d

Table 4 Results of cases 1 and 14

ステージ	根治度	症例番号	尿中ウラシル	臨床効果
III	B (再発)	14	42.0	PR
		1	6.7	PD

活性高値 272 pmol/mg protein/min の症例にも有効例を認めたと報告している。平林らの腫瘍 DPD 活性測定による報告と同様に、尿中ウラシル値から判断した DPD 活性が高値の症例にも TS-1 は有効であるが、尿中ウラシル値が $6.5 \mu\text{mol/g} \cdot \text{Cr}$ 以下で DPD 活性が非常に強い下限値境界の症例には無効になる可能性がある。また従来の 5-FU 系抗がん剤では副作用の出現のないと考えられるウラシル値が基準値内の症例でも、TS-1 投与により口内炎や発汗部の湿疹、流涙の副作用が認められた。これは TS-1 に含まれる強力 DPD 阻害剤 CDHP により DPD が阻害された結果、5-FU 血中濃度が高く維持され、5-FU の移行性の高い口腔などの部位での炎症反応が出現したものと推察される。これらの症例に対しては、副作用を軽減できるとされる投与方法（2 週投与 1 週休薬法、隔日投与方法設定で投与を継続することにより、有効になる可能性が考えられる。

2-5. 考察 その 2（尿中ウラシル値が基準値以上の症例）

近年、本邦において TS-1 は、再発進行胃癌の第一選択薬³¹⁾となっているが、副作用が投与初期で出現し、投与中止を余儀なくされる症例がある。これは、DPD 活性が個体の差があるにもかかわらず、含有される DPD 阻害剤ギメラシルの用量が、日本人の平均 DPD 活性に対して固定されているため^{33,34)}と考える。また、尿中ウラシル値が基準値よりも高値である 4 例のうち TS-1 を使用していた 3 例で投与初期に副作用が出現した。このことは TS-1 使用開始前に尿中ウラシルを測定することが大変有意義と考えられる。

症例 d は化学療法開始前に尿中ウラシル値を測定すると $86.7 \mu\text{mol/g} \cdot \text{Cr}$ で基準値を大幅に上回る値であり、5-FU クリアランスは $0.732 \times 10^{-3} / \text{m}$ と算出された。DPD 阻害剤を含有しない 5-FU 注射剤で腫瘍マーカーの低下が認められ、続く TS-1 投与では、食欲不振、嘔吐、下痢、血管色素沈着

などが初期に見られたため、DPD 阻害剤を含有しない Doxifluridine（フルツロン^R）に変更することで副作用の出現もなく経過は良好であった。尿中ウラシル値が高値の場合、DPD 活性が弱く、5-FU が代謝されにくいいため、DPD 阻害剤を含有する DIF 製剤では副作用が発現することが、5-FU クリアランス値を測定することで示唆された。

DPD 欠損症は 1985 年に Tuchman³⁵⁾により最初に報告されたが、日本人は外国人と比較し少ないとされるものの、本邦でも 4 例の報告^{36,37)}が見られる。そのうち橋本らの報告では、標準量の TS-1 が投与され、投与 5 日目までに Grade 2 の悪心・食欲不振、Grade 1 の歯肉出血・発熱の発現を認めているが、重篤な副作用には至らず、直接的検出法である末梢単核球で DPD 活性の低値が後日、確認されているが、このような症例において投与に注意が必要であり、投与前に尿中ウラシル値を測定し、事前に DPD 活性の予測することが、TS-1 投与初期に出現する副作用を予測できる可能性がある。

TS-1 投与時に事前に DPD 活性を尿中ウラシル値や血清 5-FU クリアランス値で予想することは、TS-1 有効症例の鑑別のほか、従来の 5-FU 系抗がん剤で無効と予想される症例に対し TS-1 を有効に使用する簡易な方法になり、奏効率の向上にも関与できる可能性がある。更に副作用の程度を予測することにより、インフォームド・コンセントが充実し、患者を精神面で支援できるものと考えられる。

II. 微小管機能障害剤パクリタキセルに関する研究

1970 年代アメリカの国立がん研究所が中心になって行った探査プロジェクトの最大の成果は、イチイの樹皮から分離されたパクリタキセル（商品名：タキソール）が発見されたことである。パクリタキセルが乳癌などの治療に有効な薬剤であ

ることは動物実験などで確認されたが有効成分が、イチイにはごく微量しか含まれていなかったため、すぐには臨床応用に至らなかった。本格的な臨床研究が始まったのは、1990 年代に入って人工的に合成できる方法が明らかになってからであるが、パクリタキセルは体内に入ると細胞の骨格を形成する微小管に結合し、腫瘍細胞が分裂時にできる紡錘糸の形成を阻害する抗がん剤である。

1. 尿中グルカリン酸測定の意義

薬物代謝酵素チトクローム P450（以下 P450）は、多くの薬物を代謝し解毒する生体内酵素である。その活性の個人差は、薬物体内動態を決定し、薬物の効果や副作用に影響を及ぼしている。現在、臨床の場合での P450 活性の予測には尿中ヒドロコルチゾール比^{44,45)}等が考案されているが、確立された方法はほとんどなく、P450 活性を反映する日常的な指標の構築が期待されている。一方、Hunter46) は、肝 P450 に誘導されるグルクロン酸代謝系の最終代謝産物であるグルカリン酸（以下 GA、サッカリン酸）の尿排泄量が、間接的に P450 活性を反映しその指標となる可能性を提言している。

P450 を誘導する薬物として、抗てんかん剤のフェノバルビタールやカルバマゼピンがよく知られている。今回、パクリタキセルの薬効評価に先立ち、P450 活性誘導が示唆されている抗てんかん剤服用患者の尿中 GA 値と健常人の尿中 GA 値を測定し、尿中 GA 値が P450 活性の指標になる可能性を検討した。

1-1. 抗てんかん剤服用尿中グルカリン酸測定患者の背景と方法

抗てんかん剤服用患者 16 例（男：5 例、女 11 例、平均年齢 56 歳）と、健常人 24 例（男：15 例、女 9 例、平均年齢 27.5 歳）との尿中 GA 値を比

較した。てんかん患者の服用している抗てんかん剤は、カルバマゼピン、フェノバルビタールなど 5 種類の抗てんかん剤で、服用期間は 5 年以上が 11 人で全体の 6 割を占め長期服用であった。

尿検体としてそれぞれの間尿 5 ml を採尿し、 -30°C にて凍結保存した。健常人および患者の尿すべてについて、特別な前処理は行わず、水で解凍後そのまま使用した。尿中 GA 値の測定はフェノールフタレイン法による吸光度測定法で行った。測定原理を Fig. 6 に示すが、GA を酸性条件下で加熱すると、D-グルカロ-1,4-ラクトン (GL, D-glucaro-1,4-lactone) と平衡状態となる。一方、 β -グルクロニダーゼは、基質であるフェノールフタレインモノグルクロナイドと反応して、フェノールフタレインを生成する。GL は β -グルクロニダーゼの阻害剤となるため、基質からのフェノールフタレインの生成を濃度依存的に抑制し、その結果生じる吸光度差を求める。すなわち、GA の脱水縮合物である GL が酵素の β -グルクロニダーゼを阻害するが、この酵素は基質のフェノールフタレインモノグルクロナイドを測定化学種のフェノールフタレインに加水分解するので、GL 量すなわち GA 量が測定できる。

尿中 GA 値は、同時に測定した尿中クレアチニン（以下 Cr）の値で補正、すなわち、尿中 GA の測定値 ($\mu\text{g/ml}$) を Cr の測定値 ($\mu\text{g/ml}$) で割り、10 をかけた値 $[(\text{GA 値}/\text{Cr 値}) \times 10]$ として示した。なお、この研究は大阪南医療センターの倫理委員会の承認を受け、患者、健常人ともに同意を得た。

1-2. 抗てんかん剤服用患者と健常人の尿中グルカリン酸値の比較

P450 誘導の報告のある抗てんかん剤服用患者 16 例及び健常人 24 例での平均値±標準偏差はそれぞれ $0.98 \mu\text{g/ml} \pm 0.91$, 0.19 ± 0.07 であり、抗てんかん剤投与患者で有意（ウェルチの t 検定： $P = 0.0036$ ）に高値であることが認められた (Fig. 7)。

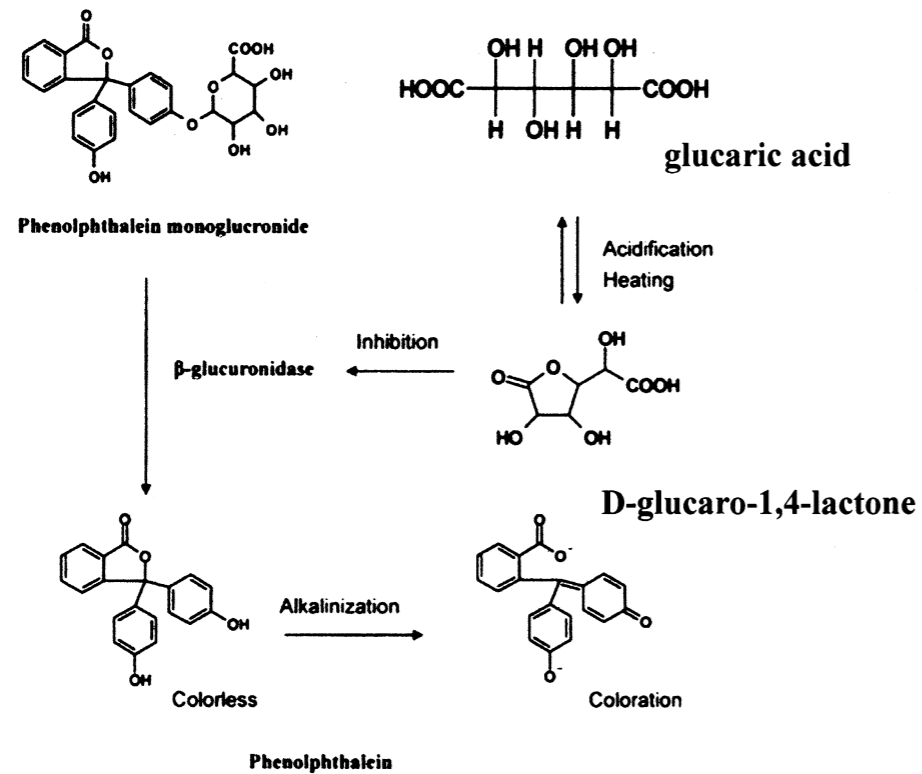


Fig. 6 Principle of glucuronic acid assay

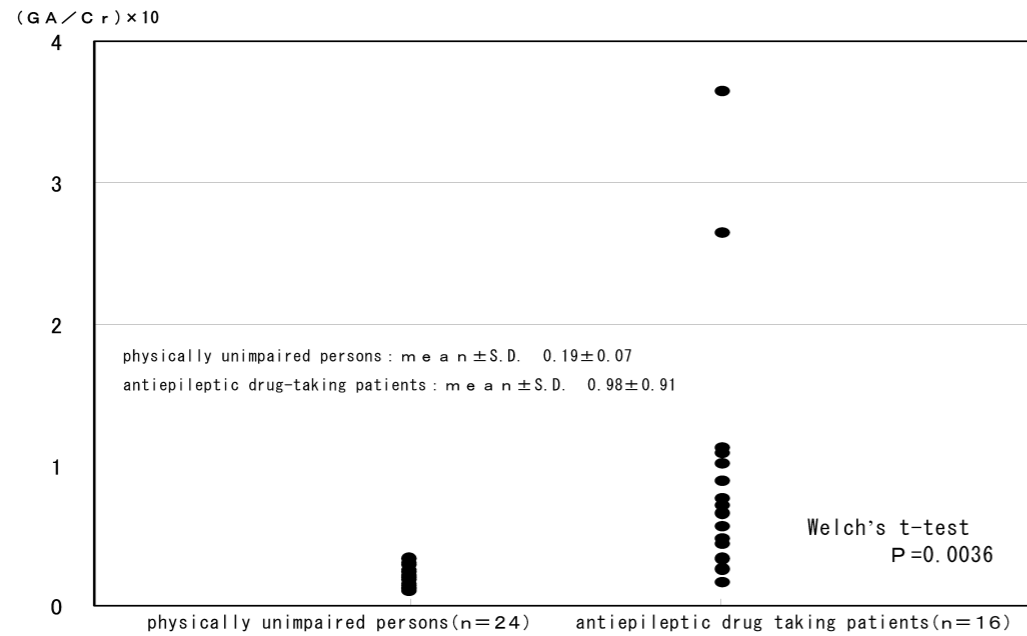


Fig. 7 The glucuronic acid value in the urine of the physically unimpaired person and the antiepileptic drug-taking patients

1-3. 考察

グルカリン酸 (GA) は、グルクロン代謝系の最終産物で、尿中に排泄されるが、GA の尿中濃度が低値であるほど P450 代謝活性が低く代謝が遅延するため、薬物 AUC が上昇することが予想され、尿中 GA 値の測定は間接的に P450 代謝活性に反映すると考えられる。しかしながら尿中 GA 値の測定として報告されているフェノールフタレイン法^{48,49,50,51)}は操作、感度の面などにおいて欠点を有しているため、筆者らは本フェノールフタレイン法を実用に適用できるように (1) 操作時間の短縮 (2) 前処理操作の簡便化 (3) 発色したフェノールフタレインの退色防止を改良⁵²⁾し尿中 GA 値を測定した。その結果、健康人及び抗てんかん剤服用患者の尿中 [(GA/Cr) × 10] 値の平均値 ± 標準偏差はそれぞれ 0.19 μg/ml ± 0.07, 0.98 μg/ml ± 0.91 であり、抗てんかん剤服用患者の尿中 GA 値が、健康人に比べ有意に高値であることを認めた。

薬物代謝部位における相互作用のうち 8 割以上

は P450 が介したものと⁵³⁾考えられており、P450 活性を簡便に測定することは临床上非常に重要である。本実験により非侵襲で簡便な採尿により尿中 GA 値を測定することにより P450 活性を予測できることが示唆された。

2. パクリタキセル療法への応用

パクリタキセルは、乳癌を始め、胃癌、肺癌、婦人科癌に適応されるが、特に胃癌に対しては TS-1 の無効症例に著効する報告⁵⁴⁾もあり、临床上非常に重要な位置付けとなっている。ヒトにおける主代謝物は、タキサン環 6 位の水酸化及び 3' 位フェニル基の水酸化体 (Fig. 8) で、これらの代謝には P450 の CYP2C8, CYP3A4 等の分子種が関与している。^{55,56)}

抗がん剤は効果の発現する血中濃度域が中毒域と隣接しているため、その血中濃度の測定は重要であるが、⁵⁷⁾パクリタキセルは P450 で代謝^{55,56)}され

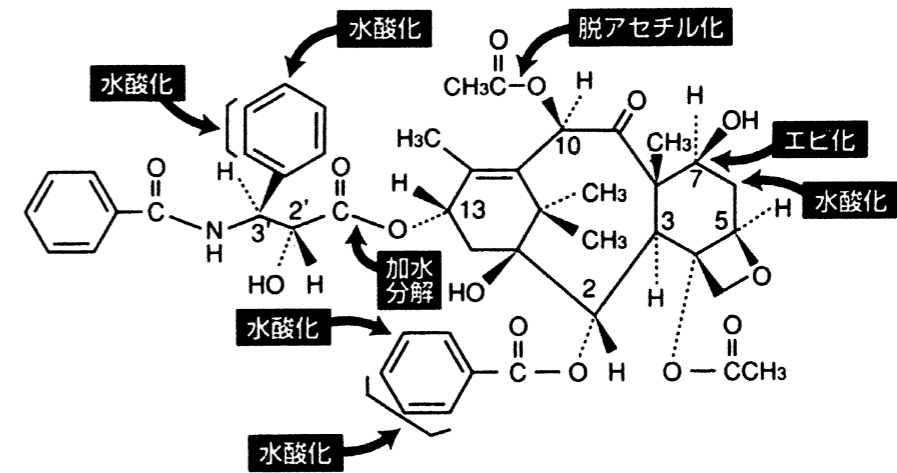


Fig. 8 Metabolism part of paclitaxel

ることが知られており、パクリタキセル投与時に尿中 GA 値を用いて P450 代謝活性を予測し、個別の血中濃度の推測が可能になれば、パクリタキセルの効果や副作用の発現予想の有力な情報源となる。

2-1. パクリタキセル療法施行中の尿中グルカリン酸測定患者の内訳と方法

がん患者 9 例（胃癌:3 例, 乳癌:6 例）において、パクリタキセルを 60 mg/m² を 5% ブドウ糖液 250ml で 60 分持続点滴し点滴開始前、点滴終了直後、終了 2 時間後、6 時間後、1 日後、2 日後、3 日後の午前 6 時の 7 点採血した血液をそれぞれ 3000 回転で 10 分間の遠心分離後、その血漿を -30℃にて凍結保存した。本検体の血中パクリタキセル濃度の測定は株式会社エスアールエルに依頼した。測定は HPLC 法で波長は 227 nm、検出器は UV、最低下限測定濃度は 10 ng/mL であった。結果に基づき台形法にて AUC を算出し、AUC と点滴開始前の尿より測定した尿中 [(GA/Cr) ×

10] 値とを比較検討した。この研究については大阪南医療センター倫理委員会の承認を受け、患者に同意を得た。

2-2. パクリタキセル療法施行中患者の尿中グルカリン酸と AUC との関係

パクリタキセルの AUC と尿中 [(GA/Cr) × 10] 値は、負の相関傾向（相関係数:r = 0.571, n = 8）が見られた（Fig. 9）。

尿中 GA/Cr 値が低く、AUC が 5000 ng・hr/ml 以上の症例は効果は PR（30%以上縮小）を示し、副作用は Grade 1～2 の好中球減少が出現した。しかし尿中 GA/Cr 値が高く AUC が 3000ng・hr/ml 付近の症例は効果が PD（20%以上増）であった。

2-3. 考察

今回、フェノバルビタール、カルバマゼピンなど、P450 誘導が確実な抗てんかん剤服用患者と健常人との尿中 GA 値を比較検討した結果、抗て

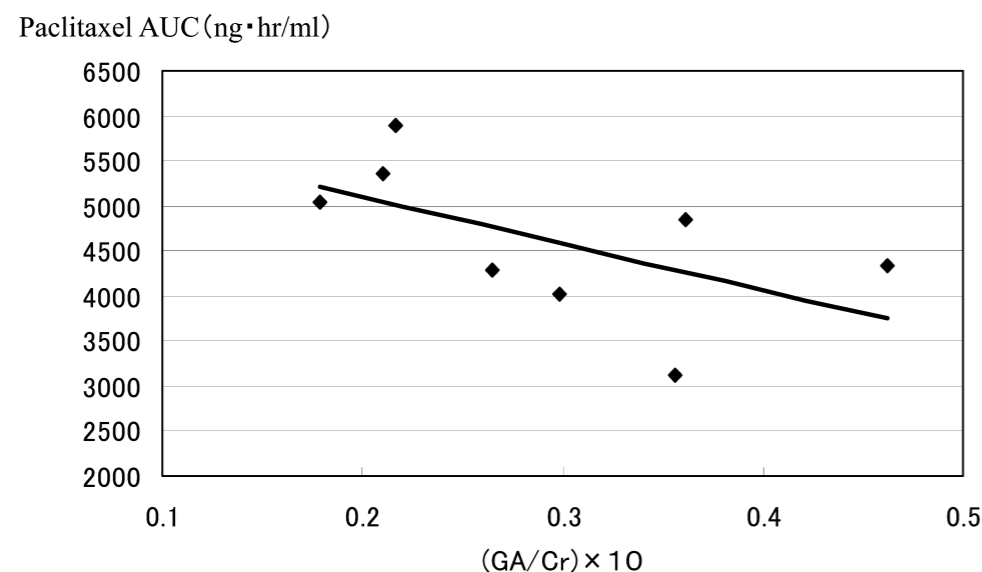


Fig. 9 Relations of Paclitaxel AUC and (GA/Cr) × 10

んかん剤服用患者では、尿中 [(GA/Cr) × 10] 値が高値であったことより、尿中 GA 値の測定は、P450 活性の予測に有用であると示唆された。更にパクリタキセル療法に応用した場合、尿中 [(GA/Cr) × 10] 値が低値である症例では、P450 活性が低く代謝が遅いため AUC が大きくなったと推察された。Villikka⁵⁸⁾らはカルバマゼピンやフェニトインがビンカルカロイドの代謝を促進することを報告している。また Susan⁵⁹⁾らは、抗てんかん剤併用と非併用患者のパクリタキセルの最高血中濃度 (Cmax) とクリアランスを検討し、非併用群のパクリタキセル 240 mg/m² と併用群のパクリタキセル 360 mg/m² 投与がほぼ同様の結果を示すので、抗てんかん剤を併用した症例では抗てんかん剤により肝ミクロゾームの P450 が誘導され、パクリタキセルの肝臓における代謝が亢進した結果であると考察している。筆者らの抗てんかん剤服用患者及びパクリタキセル使用患者の尿中 GA 値の測定の本実験において、Susan⁵⁹⁾らが示唆した推察を支持する結果を得ることができた。

P450 は多くの分子種⁶⁰⁾が存在するが、パクリタキセルは CYP2C8 と CYP3A4 で代謝されフェノバルビタールやカルバマゼピンは CYP3A4 を誘導⁶¹⁾することが知られている。抗がん剤を代謝する酵素、抗てんかん剤が誘導する酵素は CYP3A4 で共通しているため、尿中 GA 値が反映する薬物代謝酵素 P450 の分子種は CYP3A4 と考えられる。

尿中グルカリン酸を測定することで P450 代謝抗がん剤パクリタキセルの血中濃度を推測できる可能性が示唆されたが、血中濃度を推測できれば副作用の発現程度が予測されるため、患者の負担を軽減することができ、さらに抗がん剤感受性試験を併用すれば、効果の予測もできるので、がん化学療法での目標である「最大の治療効果と最小の毒性」⁶²⁾にあった治療が、実践できる可能性がある。⁶³⁾

結論

がん化学療法におけるバイオマーカーの探索に関する研究を実施したことで、以下のように極めて有意義な知見を得ることができた。

(1) 代謝拮抗剤フルオロウラシルに関する研究において、がん患者における尿中ウラシル値の基準値は 0～60.5 μmol/g・creatinine (n = 84) であり、尿中ウラシル値と血漿 5-FU クリアランスとは負の相関関係が認められた。更により効果が強い FU 製剤のテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム (TS-1) 投与患者においては、ウラシル値が基準値内では、良好な治療効果が認められるが、ウラシル値が高値である場合、副作用が投与初期において出現した。したがって尿中ウラシル値は、5-FU 系抗がん剤の代謝異常を発見する第一スクリーニングとなり、奏効度と副作用の予測が可能であることが示唆された。

(2) 微小管機能障害剤パクリタキセルに関する研究において、パクリタキセルの薬効評価に先立ち、P450 酵素誘導のある抗てんかん剤服用患者 16 例と健常人 24 例との尿中 GA 値の比較試験を行ったところ、健常人及び抗てんかん剤服用患者の尿中 [(GA/Cr) × 10] 値の平均値はそれぞれ 0.19 μg/ml, 0.98 μg/ml を示し、抗てんかん剤服用患者の尿中 GA 値が、健常人に比べ有意に高値であり尿中 GA 値が P450 活性を反映することを認めた。この結果を踏まえてパクリタキセル投与患者 8 例の尿中 GA 値とパクリタキセルの血中濃度を測定したところ、尿中 GA 値が低値である症例においては、本薬物の AUC が大きくなる傾向を示し、副作用の出現が認められるものの治療効果も期待できることが示唆された。この様に非侵襲で簡便な尿中 GA 値を測定することにより P450 活性を予測しパクリタキセルの血中濃度を推測することは、治療効果及び副作用の発現予測に極めて有用であると考えられる結果を得ることができた。

今日のがん化学療法は、患者個人の病態とそれが

んの特異性を考慮したテーラーメイド治療を選択すべき時代となりつつあるが、癌治療のガイドラインに従って選択してきた抗がん剤による治療成績は、患者個人に対して確実に有効なエビデンスとはならない。本研究において、抗がん剤とそれに関連する指標を精査することにより、副作用を最小限にし、最大の治療効果を発揮できるTDMの可能性が示唆された。抗がん剤の血中濃度測定やその指標となるバイオマーカーの選定は、抗がん剤の最適用量設定に重要な情報となり、遺伝子治療が進歩する昨今、これと組み合わせることにより更なるがん化学療法の進展に大きく寄与できると考えられる。

REFERENCES

- 厚生労働省：報道発表資料「第3次対がん10ヶ年総合戦略」について、(2003)。
- 財団法人がん研究振興財団：がんの統計2007年版、(2007)。
- Terashima M, Fujiwara H, Takagane A, *et al*, *Eur J Cancer*, **38**, 2375 (2002).
- Chang S M, John G K, Jinee R, *et al*, *J Clin Oncol*, **16**, 2188 (1998).
- Harris B, Song R, Soong S, *et al*, *Cancer Res*, **50**, 197 (1990)
- Fleming R, Milano G, Thyss A, *et al*, *Cancer Res*, **52**, 2899 (1992).
- Etienne M, Cheradame S, Fischel J, *et al*, *J Clin Oncol*, **13**, 1663 (1995).
- 久保田 哲朗, *癌と化学療法*, **28**, 433 (2001).
- Chazal M, Etienne M, Renee N, *et al*, *Clin Cancer Res*, **2**, 507 (1996).
- 木戸内 清, 林 勝男, 加藤 敏行・他, *医学のあゆみ*, **179**, 901 (1996).
- 杉町 圭蔵, 前原 喜彦, *5-FUの歴史と展望*, 協和発酵, 13 (1999).
- 近藤 雅信, 細川 幹夫, 小平 司・他, *TDM研究*,

- 14**, 57 (1997).
- Sumi S, Kidouchi K, *et al*, *J Chromatogr B*, **672**, 233 (1995).
- 谷川原 祐輔, *癌と化学療法*, **28**, 711 (2001).
- 花上 仁, 菅野 公司, 奥村 輝・他, *日本消化器外科会誌*, **25**, 1358 (1992).
- Hayashi K, Kidouchi K, Sumi S, *et al*, *Clin Cancer Res*, **2**, 1941(1996).
- Robert B D, Zhihong L, *Journal of Clinical Oncology*, **12**, 2239 (1994).
- 鷺見 聡, 和田 義郎, *医学のあゆみ*, **188**, 1030 (1999).
- Hayashi K, Kidouchi K, Sumi S, *et al*, *Clinical Cancer Research*, **2**, 1937(1996).
- Sumi S, Kidouchi K, Imaeda M, *et al*, *Japan research foundation for clinical pharmacology*, **22**, 61 (2001).
- Fukushima M, Morita M, Ikeda K, *et al*, *International journal of molecular medicine*, **12**, 839 (2003).
- 戸井 雅和, *治療*, **82**, 122 (2000).
- Kubota T, *Jpn J Cancer Chemother*, **28**, 433 (2001).
- Robert B D, *Oncology*, SUPPLEMENT No. **9**, 19(2000).
- 前原 喜彦, 杉町 圭蔵, 栗原 稔・他, *癌と化学療法*, **26**, 476 (1999).
- Morimoto S, Mishima H, Tsujinaka T, *et al*, *Jpn J Cancer Chemother*, **30**, 89 (2003).
- 平林 直樹, 弘中 克治, 大下 純子・他, *第72回日本胃癌学会抄録集*, 125 (2000).
- 柳澤 繁孝, 小野 敬一郎, 河村 哲夫・他, *口腔腫瘍*, **2**, 1, (1990).
- 木村 豊, 吉川 宣輝, 飯島 正平・他, *癌と化学療法*, **29**, 1403 (2002).
- 荒井 涉, 細谷 好則, 俵藤 正信・他, *癌と化学療法*, **29**, 1651 (2002).
- Abe S, Kojima M, Tamura H, *et al*, *Jpn J Cancer Chemother*, **30**, 963 (2003).
- Ogura K, Ohnuma T, Minamide Y, *et al*, *Clinical*

- Cancer Research*, **11**, 5104 (2005).
- Shirasaka T, Shimamoto Y, Ohshimo H, *Anti-Cancer drugs*, **7**, 548(1996).
- Shirasaka T, Shimamoto Y, Kato T, *Jpn J Cancer Chemother*, **25**, 371 (1998).
- Tuchman M, Stoeckeler J, Kiang DV, *et al*, *New Eng J Med*, **313**, 245 (1985).
- Ogura K, *Jpn J Cancer Chemother*, **33**, 1041 (2006).
- Sharon J G, Evan J B, Bridget A R, *Adv Drug React Toxicol Rev*, **21**, 1 (2002).
- Kouwaki M, Hamajima N, Sumi S, *et al*, *Clin Cancer Res*, **4**, 2999 (1998).
- Inada T, Jotsuka T, Matsuda G, *et al*, *Int J Clin Oncol*, **4**, 54 (1999).
- Kobayashi K, Sumi S, Kidouchi K, *et al*, *Jpn J Cancer Chemother*, **25**, 1217(1998).
- Hashimoto T, Arai K, Iwasaki Y, *et al*, *Jpn J Cancer Chemother*, **33**, 985 (2006).
- Gibson G G, Skett P, *新版薬物代謝学*, 講談社, 3 (1995).
- Sato R, *Drug Metabolism*, 講談社, 104 (1973).
- Ohnishi C, Goto M, Yamashina H, *et al*, *Jpn J Clin Pharmacol Ther*, **15**, 383 (1984).
- Konishi H, Ono T, Shimakawa H, *Jpn J Clin Pharmacol Ther*, **19**, 431 (1988).
- Hunter J, *et al*, *Biochem Pharm*, **22**, 743 (1973).
- Gibson G G, Skett P, *新版薬物代謝学*, 講談社, 88 (1995).
- Colomni A, Maroni M, Antonini C, *et al*, *Clin Chim Acta*, **128**, 337 (1983).
- Sandle L N, Braganza J M, *Clin Chim Acta*, **162**, 245 (1987).
- Mocarelli P, Brambilla P, Colombo L, *et al*, *Clin Chem*, **34**, 2283 (1988).
- Endo R, Soda N, Yamane T, *et al*, *医学検査*, **40**, 1545, (1991).
- Hasegawa K, Shimizu K, Morimoto S, *et al*, *Yakugaku Zasshi*, **128**, 135 (2008).
- Kato R, Kamataki T, *Introduction to Drug Metabolism First Edition*, 東京化学同人, 51 (1995).
- Imamura H, Furukawa H, Kishi K, *et al*, *Jpn J Cancer Chemother.*, **31**, 1693 (2004).
- Harris J W, Rahman A, Kim B R, *et al*, *Cancer Res*, **54**, 4026 (1994).
- Creteil T, Monsarrat B, Alvinerie P, *et al*, *Cancer Res*, **54**, 386(1994).
- Saijo N, *Clinical Oncology*, 癌と化学療法社, 510 (1999).
- Villikka K, Kivisto K T, Maenpaa H, *et al*, *Clin Pharm Ther*, **66**, 589(1999).
- Chang S M, John G K, Jinee R, *et al*, *J Clin Oncol*, **16**, 2188 (1998).
- Rendic S F, Di-Carlo J, *Drug Metab Rev*, **29**, 413 (1997).
- Oomori S, *Gekkan Yakuji*, **42**, 299(2000).
- Tanigawara Y, *Jpn J Cancer Chemother.*, **28**, 711 (2001).
- Saijo N, Yamamoto N, *診療手帖*, **150**, 10 (2001).