

Thesis

卵巢癌TC療法新規投与方法 (カルボプラチン腹腔内投与／パクリタキセル週一回投与方法) におけるパクリタキセル血中動態と遺伝子多型の関連

臨床医学研究系 産科婦人科学

岩佐 紀宏

【背景】進行期卵巢癌の予後は依然として不良である。そこで、個別化治療の確立を念頭に、パクリタキセル (Paclitaxel, TXL) 経静脈週一回投与＋カルボプラチン (Carboplatin, CBDCA) 腹腔内投与併用療法 (新規TC療法) の臨床第2相試験と併行してゲノム薬理学研究を行った。TXLの経静脈週一回投与では総投与量が増加するため、これまでの3週1回投与方法に比べ、血液毒性を代表とする副作用が問題になる。治療効果の予測と併せて、TXLの血中動態を規定するバイオマーカーの策定が求められている。

【方法】研究への参加について、患者本人から文書による同意を得た。ゲノム薬理学解析を含む多施設共同臨床研究第Ⅱ相試験を行い、初回TXL投与時に、TXLの血中濃度の測定をした。さらに治療効果・有害事象関連遺伝子の多型解析を行い、TXL薬物動態パラメーターとの関連を解析した。

【結果】*GSTM1* 遺伝子の欠損多型と薬物動態パラメーター AUC (血中濃度曲線下面積)、また2種類の*ABCB1* 遺伝子多型 (2677G > T/A, 1236T > C) と薬物動態パラメーター Cmax (最高血中濃度) ならびに MRT (平均滞留時間) に有意な相関が認められた。さらに、*GSTM1* 欠損多型と*ABCB1* 2677G > T/A 多型を組み合わせることで、TXLのAUCが有意に高値となる患者集団を選別できる可能性が示唆された。

【結論】*GSTM1* 欠損多型ならびに*ABCB1* 遺伝子の2677G > T/A遺伝子多型が、新規TC療法におけるTXLの薬物動態と関連することが示された。

緒言

卵巢癌は初期症状が乏しく、また有効な検診法もないことから、進行期で発見されることが多く、その予後は依然として不良である¹⁾。卵巢癌の治療においては、腫瘍減量手術と薬物療法との複合療法が標準治療とされ^{2,3)}、進行期卵巢癌に対する初回薬物療法では、パクリタキセル (Paclitaxel, TXL) ＋カルボプラチン (Carboplatin, CBDCA) 経静脈投与併用療法 (TC療法) が広く推奨されている^{4,5)}。しかしながら、進行期卵巢癌の治療後再発率は70%と高く、中央値2年未満の短い期間に再発する。再発卵巢癌に対する有効な治療法はいまだ確立されておらず、より効果的な初回治療法の確立研究がいまも続けられている²⁻⁵⁾。

初回TC療法で、TXL, CBDCAの投与経路、投与量

ならびに投与スケジュールを変更して施行するTXL経静脈週一回投与とCBDCA腹腔内投与併用療法の有用性が示唆されている。プラチナ製剤の腹腔内投与に関しては、腹腔内投与群と経静脈投与群を比較したランダム化試験についてのメタアナリシスにおいて治療優位性が示されており⁶⁻¹⁰⁾、米国国立癌研究所 (NCI) は、腹腔内投与法を推奨している [Clinical Announcement on Intraperitoneal Chemotherapy in Ovarian Cancer (January 5, 2006), <http://ctep.cancer.gov/highlights/ovarian.html>]、さらにTXLの経静脈週一回投与も卵巢癌を含む複数の癌腫で試みられ、3週一回投与方法と同等ないしはそれ以上の効果が得られると報告されている¹¹⁻¹⁵⁾。

しかしながら、有効性 (奏効率) が期待される一方で、TXLの投与回数の増加と総投与量の増加により、有害事象の発現頻度・程度が標準治療を上回り、治療が完遂できなくなる可能性が高まることも予測さ

れる。実際、週一回 80 mg/m² TXL/3 週一回 AUC5-6 CBDCA 経静脈投与群 (dd-TC) と 3 週一回 180 mg/m² TXL/ AUC6 CBDCA 経静脈投与群 (c-TC) を比較した第 3 相臨床試験 (JGOG3016 試験) において、治療を完遂した患者を対象とした場合、PFS (無増悪生存期間)、OS (全生存期間) のいずれも dd-TC 群は c-TC 群に比べ有意に予後が良好であったが、dd-TC 群の副作用による治療中止症例数は 113 例と、c-TC 群の 69 例に比べ多かった。さらに血液毒性の占める割合が、60% 対 43% と有意に増加していた¹⁴⁾。

TC 療法の主な有害事象は、白血球減少、好中球減少、赤血球減少、血小板減少などの血液毒性、末梢神経障害、筋肉痛、関節痛、腹痛、循環器障害、消化器症状、皮膚症状、発熱、感染症などであるが²⁻¹⁵⁾、当該治療法に特有の腹腔リザーバーポートを介した合併症やその可逆性を考慮すると、重篤な血液毒性は、医療上大きな不利益をもたらす可能性がある。

重篤な有害事象を的確に予測できれば初回治療時に別の治療法を適用することができる¹⁶⁾。近年、こうした“薬の効果、作用、副作用”を左右するゲノム情報を明らかにするゲノム薬理学が急速に進歩した。TC 療法では、TXL の薬理効果には、薬剤排出・代謝・薬剤標的に関する遺伝子が関与すること、プラチナ製剤の薬理効果には細胞からの排出に関わる重金属トランスポーター遺伝子、代謝や DNA 損傷修復にかかわる遺伝子が関与することが示されている^{16,17)}。

これらの遺伝子には遺伝子の構造や機能、発現量に影響を与える遺伝子多型が知られている。

TXL の胆管への薬剤排出には、ABC トランスポーターである ABCB1, ABCC2 あるいは ABCC1 が重要な役割を果たす。ABCB1 2677G > T/A 多型 (rs2032582) は、893 番目のアミノ酸が Ala から Ser および Thr へと置換し、その結果、薬剤排出の活性に影響を与えられている。TXL の血中動態との関連では、ABCB1 2677G > T/A 多型が G/A 型のものが、G/G 型、T/T 型に比べ TXL の CL が有意に高いと報告されている¹⁸⁾。ABCB1 の 3435C > T 多型 (rs1045642) ならびに 1236C > T 多型 (rs1128503) は、いずれも mRNA の安定性に影響を与え、マイナーアリルである T を持つ遺伝子型では mRNA 量が低下すると報告されている^{19,20)}。これら 3 つの遺伝子多型 (1236C > T, 2677G > T/A, 3435C/T) は一つのハプロブロック (Block2) を形成している²¹⁾。これらとは別のハプロブロック (Block1) に位置する -129T > C 多型 (rs3213619) は 5' 非翻訳領域に位置し、T/C ヘテロの人は T/T ホモに比べ胎盤において有意に ABCB1 蛋白質の発現量が低いと報告されている²²⁾。

ABCC2 の 3972C > T 多型 (rs3740066) は、日本人集団

では 5' 非翻訳領域にある -24C > T 多型と強く連鎖してハプロタイプ*1C (TT) を構成しており²³⁾、*in vitro* の実験系で、このハプロタイプでは野生型に比べ蛋白量が少ないと報告されている²⁴⁾。また、ABCC1 遺伝子の 1299G > T 多型 (rs60782127) は Arg433Ser, 2168G > A 多型 (rs4148356) は Arg723Gln のアミノ酸置換を引き起こすが、TXL の排出能に関しては未だ不明である。

肝臓における TXL の代謝には種々のシトクローム P450 分子が関与している。CYP2C8 は TXL の 6 α 位の水酸化を触媒する。CYP2C8 986A > G 多型 (rs10509681) は Lys329Arg の、206G > A 多型 (rs11572080) は Arg69Lys の、582C > G 多型 (rs1058930) は Ile194Met のアミノ酸置換をそれぞれ引き起こす。この Arg69Lys および Lys329Arg の多型を持つハプロタイプ*3 ならびに、Ile194Met の多型を持つハプロタイプ*4 は、*in vitro* の実験で、野生型に比べ TXL の代謝活性が低いことが最近明らかにされた²⁵⁾。しかしながら、これらのハプロタイプは日本人集団では見つかっていない²⁶⁾。日本人で見られる CYP2C8 のハプロタイプで TXL の血中動態と関連するものとして、イントロンにある複数の SNP によって構成されるハプロタイプ*1G が挙げられる。このハプロタイプでは TXL の 3'-*p* 位の水酸化体の AUC が高くなることから、CYP2C8 の TXL の代謝活性の低下と関連すると考えられている²⁶⁾。

CYP3A4 は TXL の 3'-*p* 位の水酸化を触媒する酵素である。CYP3A4 の 554C > G 多型 (rs12721627) は Thr185Ser の、352A > G 多型 (rs55951658) は Ile118Val の、653C > G 多型 (rs55901263) は Pro218Arg の、664T > C 多型 (rs55785340) は Ser222Pro のアミノ酸置換をもたらす。一方、830_831insA 多型 (rs4646438) はコドン 277 において Frameshift を引き起こす。この中で、554C > G 多型はハプロタイプ*16B のタグ SNP であるが、このハプロタイプを有する日本人では、TXL の 3'-*p* 位の水酸化活性が低下することが報告されている²⁷⁾。

CYP3A5 も 3'-*p* 位の水酸化を触媒する酵素である。CYP3A5 6986G > A 多型 (rs776746) は、イントロン 3 におけるスプライシング異常を引き起こし、CYP3A5 蛋白質が産生されなくなる。

CYP1B1 は、エストラジオールを 4-水酸化エストラジオールに代謝し、これが酸化されエストラジオール-3,4-キノンとなると、タキソテルと結合して不活化することが報告されている²⁸⁾。この CYP1B1 の 1294C > G 多型 (rs1056836) は、Leu432Val のアミノ酸置換を起こす。

一方で、種々の薬物等の第二相代謝酵素であるグルタチオン-S-転移酵素 (GST) 分子種が固形腫瘍の予後や有害事象の出現と関連することが報告され

ている。中でも *GSTM1* と *GSTT1* には遺伝子が完全に欠損する多型 (null) があり, *GSTP1* 313A > G 多型 (rs1695) は Ile105Val のアミノ酸置換を引き起こすことから予後や有害事象との関連において注目されている。実際, プラチナ製剤をベースとした治療における生存リスクまたは有害事象と *GSTM1* および *GSTT1* の遺伝的欠損, *GSTP1* の機能低下型の多型 (313A > G/ Ile105Val) との関連性が報告されている²⁹⁻³⁶⁾。この効果については, プラチナ製剤がグルタチオン抱合を受けることから⁵¹⁾, 他剤との併用療法においてもプラチナ製剤への影響として捉えられてきた。しかしながら, 卵巣癌の治療において TXL を併用している症例を対象とした解析では, *GSTM1* の欠損が全生存期間 (OS) において有意に予後が良好である³¹⁾。一方, タキサンを一部しか含まない (65 症例 / 全 215 症例) 場合では, 無再発生存期間 (PFS) で有意差が認められるものの, 全生存では傾向を示すにとどまった³⁰⁾。また, 全 403 例中 340 例でシスプラチンが投与されているが, 併用薬が不明な症例の解析では, *GSTM1* 欠損型が野生型に比べ 5 年生存率がやや長いものの, 統計学的な有意差は得られていない²⁹⁾, など, *GSTM1* の欠損による治療効果への影響はプラチナ製剤のみでは説明がつかない。以上から, GST 酵素がタキサンの代謝にも関連する可能性が示唆されるが, これまで GST 遺伝子の遺伝子多型と TXL の血中動態との関連を見た研究は全く行われていない。

本研究では, 根治切除不能卵巣癌および腹膜癌を対象として計画・実施された, 「根治切除不能卵巣癌および腹膜癌に対する TC 療法の新規投与法 (腹腔内 Carboplatin/weekly Paclitaxel) の検討—ゲノム薬理学的解析を加えた第 II 相試験—」のうち, 遺伝子多型と TXL の血中動態との関連解析に絞って検討を行った。

方法と材料

対象および検体

卵巣癌および腹膜癌根治切除不能例 [術後に測定可能病変 (RECIST) を有する症例] で, 以下の基準を満たすものを臨床研究参加の対象とした: ①組織学的に上皮性卵巣癌あるいは腹膜原発癌の診断が得られている症例, ②臨床病期 II, III, IV の症例 (1988 FIGO 国際進行期分類³⁷⁾ に準ずる), ③腹腔内薬剤投与システム (Implantable Port System: IPS) として腹腔リザーバーポート (Bard IP port[®]) が設置されていること, ④当該疾患に対し, 化学療法または放射線療法による前治療が行われていないこと, ⑤手術施行から 6 週間以内に抗癌剤投与の予定であること, ⑥初回腫瘍減量手術後の評価で測定可能病変 (RECIST³⁸⁾) を有する症例, ⑦ 20 歳以上, ⑧ ECOG Performance Status が 0-2 であること³⁹⁾, ⑨

生存期間が 3 ヶ月以上期待できる症例, ⑩主要臓器 (骨髄, 心, 肺, 肝, 腎) に高度な障害がなく, かつ, 少なくとも投与前 7 日以内の臨床検査値が以下の規準を満たす症例: 好中球数 2,000 /mm³ 以上, 血小板数 100,000 /mm³ 以上, ALT, AST が施設の正常値上限の 2 倍以下 (但し, 肝転移による異常値はこの規定に拘束されない), 血清総ビリルビン 1.5 mg/dL 以下, 血清クレアチニン 1.5 mg/dL 以下, 心電図 (術前) 正常, ⑪本研究登録前に, 試料提供を含む研究への参加について患者本人から文書による同意が得られている症例。

なお, ①初回腫瘍減量手術で結腸切除術, 直腸切除術を行った症例, ②メラノーマ以外の皮膚癌を除く活動性の重複癌症例, ③他癌の既往があり, 腹部, 骨盤放射線照射を受けたもの, 腹部, 骨盤内腫瘍で前化学療法の既往があるもの, 乳癌で化学療法を受け, 前化学療法から 3 年以内のもの, 上記以外他癌腫で治療後 5 年以内のもの, ④重篤な合併症を有する症例 (重篤な心疾患または脳血管障害, コントロール困難な糖尿病または高血圧症, 重症感染症, 肺線維症, 間質性肺炎, 出血, 活動性の消化性潰瘍または重複癌, 重篤な神経疾患など), ⑤重篤な過敏症の既往歴のある症例, ⑥ポリオキシエチレンヒマシ油 (クレモホール EL[®]) 含有製剤 (シクロスポリンなど) および, 硬化ヒマシ油含有製剤 (注射用ビタミン剤など) に関連した過敏症の既往を有する症例, ⑦明らかな感染症を有する症例, ⑧ Grade 2 以上の神経障害 (知覚性・運動性) を有する症例, ⑨有症状脳転移など臨床上問題となる精神・神経疾患により登録が困難と判断される症例, ⑩妊娠中, 授乳中, または妊娠の可能性のある女性, ⑪本試験以外の治験薬剤が登録時に投与継続されている症例, ⑫その他, 責任医師などが本試験を安全に実施するのに不適当と判断した症例, はその対象から除外した。

有害事象と関連する遺伝子多型 / 変異を策定するゲノム薬理学および TXL 薬物動態解析用検体として, 前者では, 治療開始前に通常の採血手順により血液 (EDTA-2Na 加血 7 ml) を採取後, 遠心分離により Buffy coat を回収, 後者は, TXL 初回投与時のみ 0, 2, 8, 24 時間の 4 ポイントで, 各々 7 ml 採血 (EDTA-2Na 加血) し, 遠心分離により血漿を分画した後, -80℃ で一時保存した。いずれの検体も各施設で連結可能匿名化された後, 埼玉医科大学国際医療センタートランスレーショナルリサーチセンターに輸送, 解析を行った。

臨床試験のデザインと試験治療

多施設共同臨床研究とし, 埼玉医科大学国際医療センター婦人科腫瘍科, 岩手医科大学産婦人科, 自治医科大学産科婦人科, 鳥取大学医学部附属病院がんセンターの 4 施設で臨床試験を, 埼玉医科

大学国際医療センター・トランスレーショナルリサーチセンターおよび大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構ライフサイエンス統合データベースセンターで各々遺伝子・情報解析およびデータ解析を行った。

臨床試験は第II相試験デザインとし、全例を試験治療とした。試験治療は3週毎のCBDCA腹腔内投与 (AUC 6.0) およびTXL点滴静注 (80 mg/m²) の週1回投与とし、1サイクルとし21日周期で6サイクル以上投与した。TXLは、リン酸デキサメタゾンナトリウム注射液 (デキサメタゾンとして8 mg)、塩酸ジフェンヒドラミン錠 (塩酸ジフェンヒドラミンとして50 mg) の経口投与またはマレイン酸クロルフェニラミン注射液 (クロール・トリメトン® 注10 mg)、塩酸ラニチジン注射液 (ラニチジンとして50 mg) またはファモチジン注射液 (ファモチジンとして20 mg) の前投与のあとに投与し、生食または5%ブドウ糖液250 mLに溶解して1時間かけて点滴静注した。CBDCAは、TXL投与中に腹腔リザーバーポートを専用ニードルで穿刺し、生食または5%ブドウ糖液1000 mLをIPポートから腹腔内に投与、TXLの投与が終了した時点で、腹腔リザーバーポートから短時間投与した。試験治療3-5サイクル後に腫瘍量の減量を目的として腫瘍減量手術を行う場合は、術後さらに試験治療を追加し、トータルで6サイクル以上となるようにした。減量基準、休薬基準、中止基準は一般的臨床試験に準じた。顆粒球コロニー刺激因子 (granulocyte-colony stimulating factor: G-CSF) および制吐剤は、日本癌治療学会ガイドライン^{40, 41)}に沿った使用を推奨した。

TXL薬物動態解析

検体処理・保存が可能な施設のみを対象とし、初回投与終了後、0, 2, 8, 24時間の4ポイントで採血 (EDTA-2Na加血) した血液を速やかに3,000 rpmにて10分間遠心分離して血漿を分画採取し、解析まで-80℃で保存した。血漿中のTXLは、SRL研究所 (八王子、東京) にて逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィーにより分離し、UV吸光度により測定した。採血可能であった73名中、70名の血漿中TXLが解析可能で、薬物動態パラメーターと遺伝子多型の関連性について解析を行った。薬物動態パラメーターとして血中濃度曲線下面積 (Area Under the Curve, AUC)、クリアランス (CL)、および平均停留時間 (mean residence time, MRT) は非コンパートメント理論に基づくPKパッケージ (PK version 1.2-5, Thomas Jaki and Martin J. Wolfsegger) を利用し、統計解析言語環境 R (R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.) により算出し、最高血中濃度 (Cmax) は初回投与終了後0時間のTXL濃度とした。

遺伝子多型解析

EDTA-2Na加血 (7 ml) より採取したバフィーコートより、NucleoSpin Tissue kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) を用い、その手順書に従い、ゲノムDNAを抽出した。ABCB1 (rs3213619, rs1128503, rs2032582, rs1045642), ABCC1 (rs60782127, rs4148356), ABCC2 (rs3740066), CYP1B1 (rs1056836), CYP2C8 (rs10509681, rs11572080, rs1058930, rs11572093), CYP3A4 (rs12721627, rs4646438, rs55951658, rs55901263, rs55785340), CYP3A5 (rs776746, rs10264272) およびGSTP1 (rs1695) の一塩基多型 (SNP) 解析は、TaqMan PCR (polymerase chain reaction, ポリメラーゼ連鎖反応) 法にて行い、TaqMan® Drug Metabolism Genotyping Assays または TaqMan® SNP Genotyping Assays (Life Technologies Co., Carlsbad, CA, USA), LightCycler® 480 Probes Master (Roche Applied Science, Indianapolis, IN, USA) およびLightCycler® 480 System (Roche Applied Science) を用いた。GSTT1およびGSTM1の欠損多型は、Medeirosらの手法³¹⁾に準じPCR増幅後のアガロースゲル電気泳動法によってこれを解析した。

統計解析

統計解析はすべて、統計ソフトJMP9.0.3 (SAS institute, Cary, NC, USA) を用いて行った。

倫理的配慮

本研究は、UMIN 臨床試験登録システムに登録 (ID: UMIN000001713) し、すべての研究参加施設の倫理審査委員会 (IRB) の承認を受けた [埼玉医科大学 申請番号 565「根治切除不能卵巣癌および腹膜癌 に対するTC療法の新規投与方法 (腹腔内 Carboplatin/weekly Paclitaxel) の検討—ゲノム薬理的解析を加えた第II相試験—」平成21年2月2日承認通知、同年3月10日修正版受理]。検体の提供を含めた研究の全容について、試験参加前に、口頭および施設の倫理委員会の承認を得た説明・同意文書を用いて十分説明した上で、文書で本人の同意を得て行われた。

結果

TXL血中動態パラメーター、および遺伝子型解析

平成21年3月から平成24年3月までの3年間に臨床試験に本登録され、試験治療を受けた症例は77例であった (表1)。このうち、TXL血中動態パラメーターおよび遺伝子型の解析両者ともに行えた70症例について解析を行った。

試験治療の投与サイクル数の中央値は5サイクルで、目標とした6サイクル以上の治療が行われた症例数は33例 (45.2%) であった。試験治療中止理由として最多だったのは、治療毒性・有害事象関連であった [45例 (61.6 %)]。このうちの9例 (12.3 %) は腹腔リザーバーポートに関連するトラブルで、これを除く

36例(49.3%)で、grade3以上の非血液毒性(NCI-CTC「血液／骨髄」区分以外の有害事象)の発現、ないしは有害事象による規定を超えた治療開始の遅延が認められた。アナフィラキシー反応による試験の中止は3例であった。試験治療による死亡は認められなかった。

表2にTXL薬物動態パラメーターの、表3には遺伝子型の解析結果を示した。なお、遺伝子型解析において、*ABCC1* rs60782127, *CYP2C8* rs10509681, *CYP2C8* rs1058930, *CYP3A5* rs10264272, *CYP3A4* rs4646438, *CYP3A4* rs55951658, *CYP3A4* rs55901263, *CYP3A4* rs55785340, および *CYP3A5* rs10264272は、日本人にはきわめてまれな一塩基多型(SNP)とされ

ており^{23, 42-44)}、本解析でも1例も同定されなかった。他のアレル頻度に関しては日本人における過去の解析結果とよく一致していた^{23, 42-48)}。

遺伝子型とTXL血中動態パラメーターとの関連性解析

TXL血中動態パラメーターと遺伝子多型の関連解析を行った結果、*GSTM1*の欠損多型および*ABCB1* 2677G > T/A, *ABCB1* 1236T > Cの3遺伝子型がTXL血中動態に関連する可能性が示唆された。

*GSTM1*の欠損多型を有する症例のAUC平均値は5633 ng・hr/mlであったのに対し、*GSTM1*野生型では4645 ng・hr/mlで、欠損多型群で有意に高かった(P = 0.037, Welch's t-test) (図1A)。

表 1. 患者背景

		数(人)
背景		
年齢	37-80歳(中央値62歳)	
ECOG Performance Status ³⁰⁾	0	60
	1	10
	2	7
Stage (卵巣癌国際進行期分類) (FIGO 1988) ²⁸⁾	IIb	1
	IIIa	0
	IIIb	1
	IIIc	45
	IV	30
組織型	漿液性腺癌	54
	粘液性腺癌	2
	類内膜腺癌	3
	明細胞癌	3
	中胚葉性混合腫瘍	3
	未分化癌	5
	その他	7
治療		
TC療法*施行サイクル数	1-10(中央値5)	
TC療法中止の有無	有	63
	無	14
中止の理由	原病悪化	9
	毒性(治療開始遅延を含む)	45
	患者拒否	7
	その他	2
二次腫瘍減量手術	有	45(腫瘍完全摘出38)
	無	32

* TC療法新規投与法(CBDCA腹腔内投与／パクリタキセル週一回投与法)

表 2. パクリタキセル薬物動態パラメーター

薬物動態パラメーター	平均値	95%信頼区間(CI, Confidence interval)
AUC(ng・hr/ml)	5195	4702-5688
Cmax(ng/ml)	2431	2162-2700
CL(l/hr)	0.0251	0.0228-0.0272
MRT(hr)	5.46*	5.05-5.90

AUC(血中濃度曲線下面積), Cmax(最高血中濃度), CL(クリアランス), MRT(平均停留時間). *幾何学的平均値.

ABCB1 2677G > T/A 多型の解析では、先行研究¹⁸⁾によりAアレルの有無がTXLの動態に関与することが想定されたため、Aアレルの有無によって2群に分けて解析を行った。*ABCB1* 2677G > T/A多型でAアレルを有する群において、Cmax が平均値で1993 ng/ml、一方の群の2659 ng/mlよりも有意に低く、また、MRT(相乗平均値6.29時間)に関しても、有意な延長が認められた(Aアレルを持たない群：

5.08時間)(各々 P = 0.009, P = 0.021, Welch's t-test)(図 1B)。一方、*ABCB1* 2677G > T/As 多型のTアレルを有する群とそれ以外の群の間では、こうした関連は認められなかった。また、*ABCB1* 1236T > C 多型においても同様の結果が認められた。マイナーアレルであるCアレルを有する群(T/C, C/C)のCmax(平均値2148 ng/ml)はT/Tホモの症例(平均値3048 ng/ml)よりも有意に低く(P = 0.011, Welch's t-test), MRT

表 3. 遺伝子多型頻度

遺伝子名	多型	dbSNP (一塩基多型 データベース)	遺伝子型	数 (人)	頻度 (%)
<i>GSTM1</i>	Deletion		欠損型	39	55.7
			野生型	31	44.3
<i>GSTT1</i>	Deletion		欠損型	30	42.9
			野生型	40	57.1
<i>GSTP1</i>	Ile105Val	rs1695	A/A	52	74.2
			A/G	16	22.9
			G/G	2	2.9
<i>ABCB1</i>	-129T>C	rs3213619	T/T	58	82.9
			T/C	12	17.1
	1236C>T	rs1128503	T/T	22	31.4
			T/C	36	51.4
			C/C	12	17.2
	2677G>T/A	rs2032582	T/T	12	17.1
			A/T	12	17.1
			G/T	20	28.6
			G/G	14	20.0
			G/A	10	14.3
			A/A	2	2.9
	3435C>T	rs1045642	T/T	15	21.4
			C/T	29	41.4
			C/C	26	37.2
<i>ABCC1</i>	2168G>A	rs4148356	A/A	2	2.9
			A/G	12	17.1
			G/G	56	80.0
<i>ABCC2</i>	3972C>T	rs3740066	C/C	48	68.6
			C/T	19	27.1
			T/T	3	4.3
<i>CYP1B1</i>	4326C>G	rs1056836	C/C	1	1.4
			C/G	22	31.4
			G/G	47	67.2
<i>CYP2C8</i>	9849G>A	rs11572093	G/G	66	94.3
			G/A	4	5.7
<i>CYP3A4</i>	554C>G	rs12721627	C/G	3	4.3
			C/C	67	95.7
<i>CYP3A5</i>	c.219-237G>A	rs776746	A/A	4	5.7
			A/G	17	24.3
			G/G	49	70.0

(相乗平均値 5.86 時間) が他の症例 (4.66 時間) に比べ有意に延長していた ($P = 0.002$, Welch's t-test) (図 1C).

関連性が示唆された遺伝子多型の組み合わせと TXL 血中動態パラメーターとの関連性解析

GSTM1 欠損多型の頻度が 44.3 % と高くかつ AUC 高値と強く関連すること, また, *ABCB1* 遺伝子の 2677G > T/A 多型の A アレルと C_{max} ならびに MRT との関連から, *GSTM1* 欠損多型あるいは *ABCB1* 2677G > T/A 多型の A アレルの有無が, 互いの遺伝子多型と TXL 血中動態パラメーターとの関係に影響を及ぼす可能性が考えられたため, これらについて層別化を行い, さらに検討した。

まず *GSTM1* 欠損多型で層別化を行い, MRT と各遺伝子多型との関連を調べたところ, *GSTM1* 野生型を有する症例において, *ABCB1* 2677G > T/A 多型の A アレルを有する群, また, *ABCB1* 1236T > C 多型の

C アレルを有する群が, それ以外に比べ, MRT が有意に延長していた ($P = 0.009$, $P = 0.020$, Welch's t-test, 図 2A 上および図 2B 上). 一方, *GSTM1* 欠損多型例においては, *GSTM1* 野生型での結果と異なり, *ABCB1* 2677G > T/A 多型と MRT との関連が認められず ($P = 0.35$, Welch's t-test 図 2A 下), *ABCB1* 1236T > C 多型と MRT 延長の関連性も弱まる ($P = 0.073$, Welch's t-test 図 2B 下) ことが明らかとなった。

次に C_{max} との関連についても解析を行ったところ, *GSTM1* 欠損多型例では *ABCB1* 1236T > C 多型において, C アレルを有することが C_{max} の低下に有意に関連することが示された (2194 vs. 3519 ng/ml, $P = 0.005$, Welch's t-test, 図 2C 下). 以上の結果より, *GSTM1* 欠損多型の有無が TXL 血中動態パラメーターとの関係に影響を与え, *ABCB1* の遺伝子多型と TXL 血中動態パラメーターとの関連性にも変化をもたらしている可能性が示された。

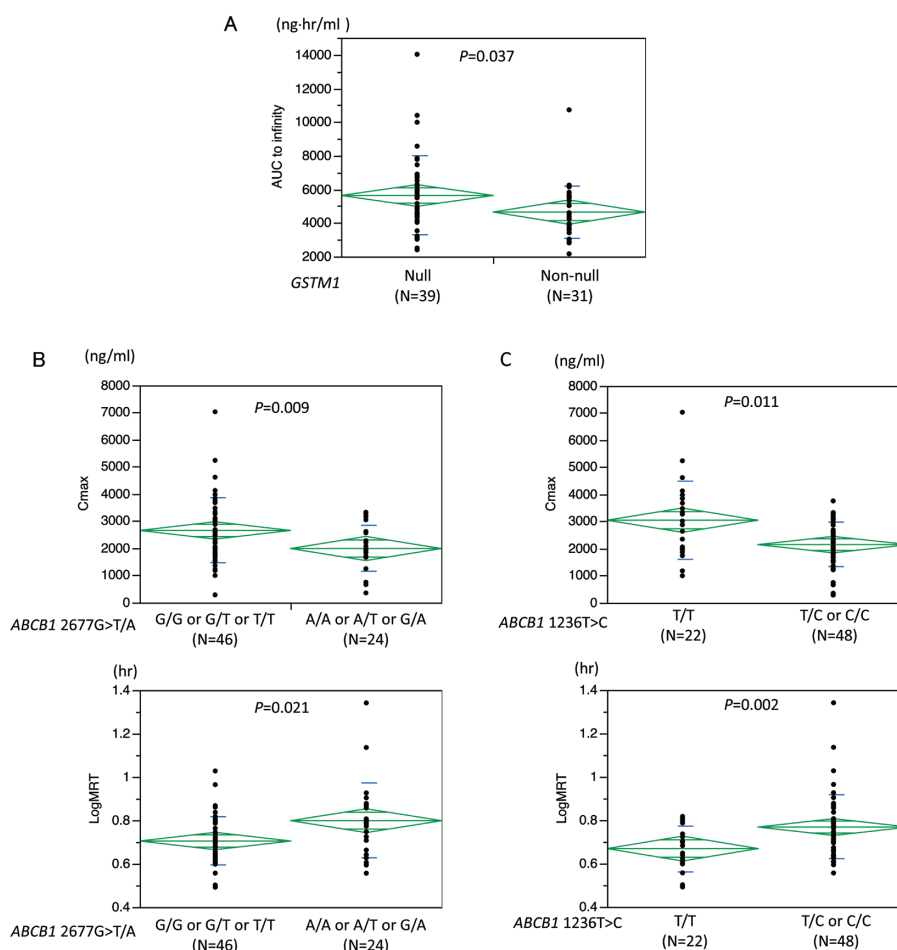


図 1. 遺伝子多型と各種パクリタキセル (TXL) 薬物動態パラメーターとの関連. A) *GSTM1* 欠損多型と TXL 血中濃度曲線下面積 (AUC) (Welch's t-test). B) *ABCB1* 2677G > T/A A アレル多型と TXL 最高血中濃度 (C_{max}) (上図) および平均停留時間 (MRT) (下図). MRT は常用対数変換して解析に用いた. (Welch's t-test). C) *ABCB1* 1236T > C 多型と TXL 最高血中濃度 (C_{max}) (上図) および平均停留時間 (MRT) (下図) MRT は常用対数変換して解析に用いた. (Welch's t-test).

次に *ABCB1* 2677G > T/A 多型の A アレルの有無で層別化を行うと, A アレルを有しない群では, *GSTM1* が欠損しているものが野生型に比べ, 1) AUC が有意に高値を示し (6000 vs. 4690 ng · hr/ml, $P = 0.044$, Welch's t-test, 図 3A 上), 2) MRT が有意に延長し (5.43

vs. 4.60 時間, $P = 0.022$, Welch's t-test, 図 3B 上), 3) CL が有意に低下していたが (0.0221 vs. 0.0276 l/hr, $P = 0.046$, Welch's t-test, 図 3C 上), このような関連は A アレルを有する症例では, 認められなかった ($P = 0.70$, $P = 0.90$, $P = 0.82$, Welch's t-test, 図 3A 下,

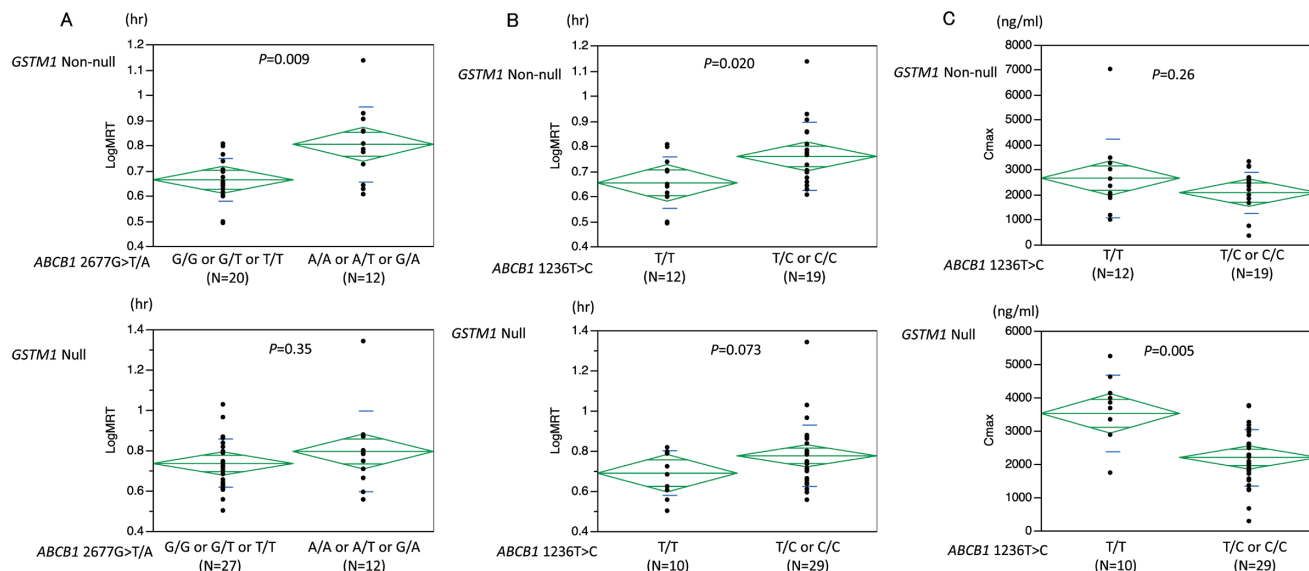


図 2. *GSTM1* 欠損多型での層別化における, 各種遺伝子多型とパクリタキセル (TXL) 薬物動態パラメーターの相関. A) *ABCB1* 2677G > T/A A アレル多型と TXL 平均停留時間 (MRT): *GSTM1* 非欠損多型症例 (上図), *GSTM1* 欠損多型 (下図) MRT は常用対数変換して解析に用いた. (Welch's t-test). B) *ABCB1* 1236T > C 多型と TXL 平均停留時間 (MRT): *GSTM1* 非欠損多型症例 (上図), *GSTM1* 欠損多型 (下図) MRT は常用対数変換して解析に用いた. (Welch's t-test). C) *ABCB1* 1236T > C 多型と TXL 平均停留時間 (MRT): *GSTM1* 非欠損多型症例 (上図), *GSTM1* 欠損多型 (下図) MRT は常用対数変換して解析に用いた. (Welch's t-test).

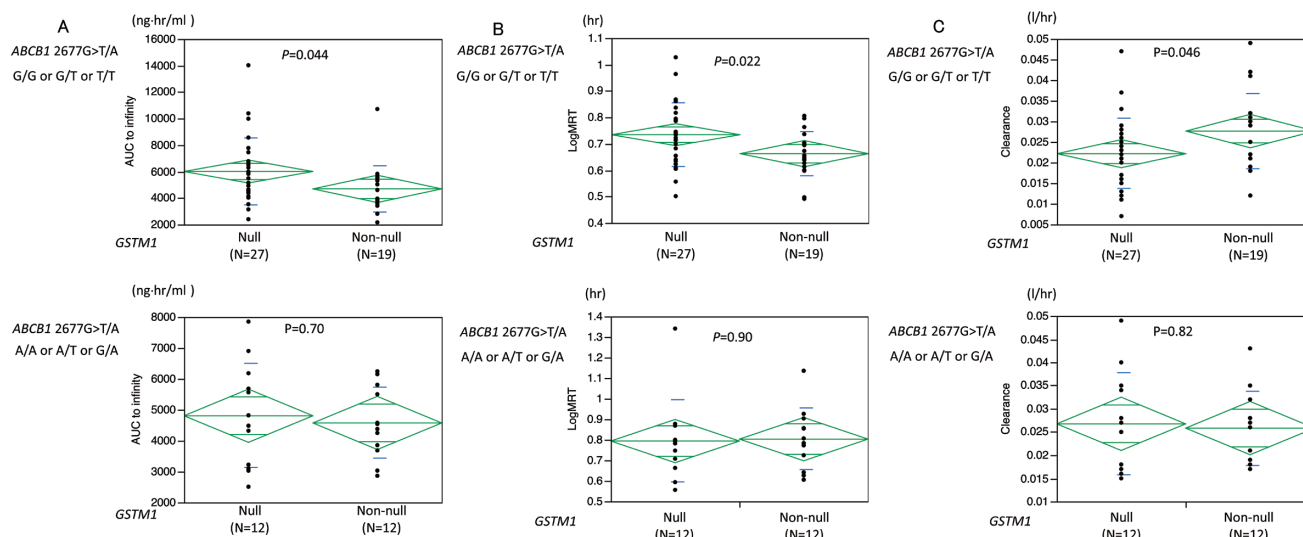


図 3. *ABCB1* 2677G > T/A A アレル多型の有無における, 各種遺伝子多型とパクリタキセル (TXL) 薬物動態パラメーターの相関. A) *GSTM1* 欠損多型と TXL 血中濃度曲線下面積 (AUC): *ABCB1* 2677G > T/A 非 A アレル型 (上図), *ABCB1* 2677G > T/A A アレル型 (下図) (Welch's t-test). B) *GSTM1* 欠損多型と TXL 平均停留時間 (MRT): *ABCB1* 2677G > T/A 非 A アレル型 (上図), *ABCB1* 2677G > T/A A アレル型 (下図) MRT は常用対数変換して解析に用いた. (Welch's t-test). C) *GSTM1* 欠損多型と TXL クリアランス (CL): *ABCB1* 2677G > T/A 非 A アレル型 (上図), *ABCB1* 2677G > T/A A アレル型 (下図) (Welch's t-test).

図3B下, 図3C下).

以上の結果から, *GSTM1*の欠損多型ならびに *ABCB1* 2677G > T/A 多型においてAアレルを有しないことが, TXLの血中動態に影響することが示唆されたため, これら2つの多型を有する患者とそれ以外の患者の2群間で比較を行った. すると, *GSTM1*が欠損しかつ*ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルを有しない患者 (n = 27) は, それ以外の患者 (n = 63) に比べ, 有意にAUCが高値を示し, (6000 vs. 4690 ng · hr/ml, P = 0.020, Welch's t-test, 図4上), また, CLが有意に低下していた (0.0221 vs. 0.0269 l/hr, P = 0.032, Welch's t-test, 図4下).

さらに, *ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルの有無で層別化を行ない, 他のSNPとTXL血中動態パラメーターとの関連を検討したところ, *ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルを有しない症例において, *ABCB1* -129T > CのCアレルを有する群が, 有しない群に比較し, CLが有意に低く (0.0178 vs. 0.0252 l/hr, P = 0.020, Welch's t-test), *ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルを有する症例でのみ, *CYP1B1* 1294G > C多型のCアレルを有する群は, それ以外に比較して, AUCが有意に低下し (3943 vs. 5138 ng · hr/ml, P = 0.031, Welch's t-test), CLが増大していた (0.0321 vs. 0.0233 l/hr, P = 0.039, Welch's t-test). なお, これらの結果は, 全症例を対象とした場合, 関連は見いだされなかった.

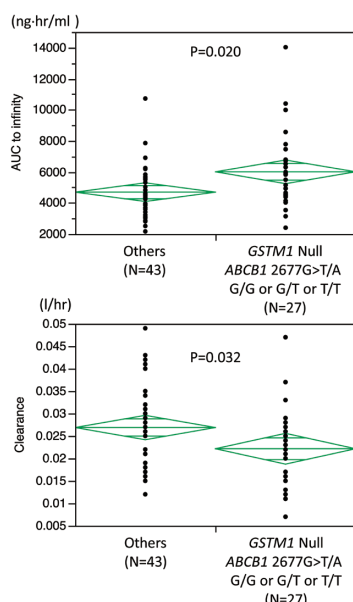


図4. *GSTM1*欠損多型と*ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルの有無の組み合わせによるパクリタキセル (TXL) 薬物動態パラメーターとの相関. *GSTM1*欠損型でかつ*ABCB1* 2677G > T/A多型でAアレルを有さない患者群 (n = 27) とそれ以外の患者群 (n = 63) での比較. AUC (上図), CL (下図) (Welch's t-test).

考 察

本研究では, 卵巢癌TC療法新規投与法 (CBDCA腹腔内投与/パクリタキセル週一回投与法) の第II相試験に並行して行った70例のゲノム薬理学的解析において, 1) *GSTM1* 遺伝子の欠損多型とTXLの薬物動態パラメーター AUCとの間に有意な相関が認められること, 2) *ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルおよび1236T > C多型と薬物動態パラメーター CmaxならびにMRTとの間に有意な相関が認められること, 3) *GSTM1*欠損多型により層別化した解析において, 上記の2種類の*ABCB1* 遺伝子多型とTXLの薬物動態パラメーター (MRTとCmax) との間に相関が特定の*GSTM1*遺伝子型を持つ患者にのみ見出されること, 4) *ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルの有無と*GSTM1*の欠損多型を組み合わせることにより, *GSTM1*欠損でかつ*ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルを有さない患者でAUCが高値となること, などが見いだされた. 特に*GSTM1*欠損多型とTXLの薬物動態とに関する関連はいずれも全く新たな知見であり, TC療法新規投与法におけるTXLの薬物動態に*GSTM1*遺伝子多型が深く関わっていることを示している.

これまで*GSTM1*遺伝子多型は, TXLよりもプラチナ製剤およびその併用療法において, また, むしろ有害事象よりも治療反応性に深く関連する因子と捉えられており, 実際, 効果・治療応答の有力な予測マーカー候補であることが示されてきた. これまで卵巢癌においても多くの検討がなされ, Howellsらの報告では, 78例の患者群において*GSTM1*および*GSTT1*遺伝子の両方の欠損多型は, CBDCA単剤投与 (59例) を主とする様々な治療レジメンにおける全生存期間 (OS) (P = 0.001) および 無増悪生存期間 (PFS) (P = 0.003) と関連し, *GSTM1*欠損多型単独でみると, 同多型保持者の全生存期間 (P = 0.060) がより短くなる傾向を示している⁴⁹⁾. またMedeirosらは*GSTM1*欠損多型を持つ患者はプラチナ製剤 + TXLの化学療法において, 野生型*GSTM1*を持つ患者に比して, 有意に長いPFS (P = 0.024) とOS (P = 0.006) を示すことを, 比較的小規模の進行卵巢がん患者群で報告している³¹⁾. また, Beeghlyらも77名のプラチナ製剤 + TXLを含む化学療法を受けた患者において, *GSTM1*欠損多型の患者が*GSTM1*野生型患者と比してより長いOS (ハザード比: 0.35, 95%信頼区域: 0.15-0.84) を示すことを報告した³⁰⁾. 同じ研究で, プラチナ単剤で治療した181名では, *GSTM1*欠損型は野生型に比べOSがハザード比 0.63 (95%信頼区域: 0.41-0.96) と有意に長いものの, 併用療法群での観察に比べ高いハザード比を示したことを報告している³⁰⁾. 一方, 様々な治療を受けた患者を対象とした, 他グループによる研究では*GSTM1*多型と全生

存期間に相関を見出せなかったものも存在する^{29, 50)}。これらの結果を考慮すると、*GSTM1*多型の全生存に対する影響は、卵巢癌治療における単剤での治療に比べ、プラチナ製剤+TXLの併用療法でより顕在化する可能性があり、遺伝子多型の予後への影響を調べる場合、同一レジメンで治療された患者群で調べるのが重要であることを示唆している。

これまで*GSTM1*の生存期間に対する影響は、プラチナ製剤の代謝への関与によるものと考えられてきた。これはグルタチオン-プラチナ複合体が白血病細胞で検出され、この複合体の形成がGST阻害薬で阻害されるという報告に基づいている^{51, 52)}。しかしながら、主要なGSTであるGSTP1はシスプラチン代謝に関わっていないとの報告もあり、どのGSTのアイソタイプがプラチナ製剤代謝の責任酵素であるかは今も明らかではない。一方、今回の研究は、*GSTM1*遺伝子多型がTXLの作用・代謝機序において重要な役割を果たしていることを示唆するもので、きわめてユニークである。

GST酵素(*GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*)とTXLのグルタチオン化など、両者の間に直接的な関連性を示す報告は無く、ラットおよびイヌを用いた解析でもTXLのグルタチオン抱合体は検出されていない⁵³⁾。ほとんどのTXLとその水酸化代謝物は*ABCB1*をはじめとするP糖蛋白により胆汁へ排出されることから⁵⁴⁾、これまでGSTはTXLの代謝に直接関与していないと考えられてきた。詳細は現在も不明であるが、本研究において、CBDCAの投与前(0時間)のTXL濃度(Cmax)に*GSTM1*の有無で有意差が認められなかったことから(P = 0.40)、TXLの代謝にCBDCAが影響を与えている可能性も考えられる。一方、多くの脂溶性薬剤では、酸素添加反応を受けた後、グルタチオン等の抱合を受けることにより、ABCC1などの薬剤排出ポンプにより効率よく排出される⁵⁵⁾。ヒトにおいてもTXLが第一相薬物代謝酵素であるCYP2C8、CYP3A4ならびにCYP3A5によって水酸化を受けた後に*GSTM1*等のGSTによりグルタチオン抱合を受ける可能性も完全には否定できない。すなわち、グルタチオン化されたTXLが胆汁中に排泄された後、急速に脱グルタチオン化されるメカニズムが存在するかもしれない。今回の知見がより大規模な臨床研究で再確認されれば、将来的にTXLグルタチオン抱合体の同定、代謝システムの見直しなどが必要となろう。

本研究では*GSTM1*遺伝子多型のみではなく、*ABCB1* 2677G > T/AのAアレルの重要性も示唆された。同アレルは全員を対象とした解析においてTXLのCmax低値およびMRTの延長と深く関連していた。先行研究では、*ABCB1* 2677G > T/A多型がG/A型(n = 3)のものが、G/G型、T/T型に比べTXLのCLが有意に高いと報告されているが¹⁸⁾、今回の我々の

単変量での解析ではこの多型とTXLのCLとの有意な関係は見いだせなかった。しかし、*GSTM1*の欠損多型と組み合わせることで、この多型がTXLのAUCならびにCLと相関することを明らかにし(図4)、この多型がTXLの血中動態に深く関与することが示された。*ABCB1* 2677G > T/A多型と卵巢癌の予後との関連についてはいくつかの報告が示されている。

TXLとCBDCAの併用療法を行った卵巢癌患者の解析において、Gr  en等は、*ABCB1* 2677G > T/A多型でT/TあるいはT/Aの遺伝子型を有する患者が、G/TあるいはG/G型の患者より統計学的には有意でないがPFSが長いことを示し^{56, 57)}、またJohnatty等も全例を対象とした解析で、G/G型に比べ、G/A、G/T、T/TあるいはT/A型の患者のPFSが有意に延長する事を報告している⁵⁸⁾。一方で、TXLとタキサン類の併用療法を行った卵巢癌の大規模な解析では、G/G型と、G/T + G/A、あるいはT/T + T/A型のものとの間にPFS、OSのいずれも有意な相関を見だしていない⁵⁹⁾。SNP500 Cancerデータベースにおいて、これらの研究の対象となっている人種では*ABCB1* 2677G > T/A多型(rs2032582)のAアレルの頻度が低く⁶⁰⁾、そのため、AアレルとTアレルを合わせたマイナーアレル群として解析されている。しかしながら、今回の解析では、Aアレルとは異なり、Tアレルを有することと薬物動態パラメーターとの相関は全く認められなかった。また、G/A型のものが、T/T型に比べTXLのCLが有意に高い¹⁸⁾という報告からも、安易にT、A両マイナーアレルを束ねることにより重要な相関を見過ごす危険性ははらんでいると推察される。よってT/Aアレル複合群による解析法は、必ずしも的確なアプローチではなく、これを使用した過去の研究において、薬物動態パラメーターや治療反応性、治療毒性と遺伝子多型の相関に関して一定しない結果の一因となっている可能性が考えられる^{17, 18, 26, 56, 58, 61-66)}。日本人などアジア人を対象にした場合、この多型におけるAアレルの頻度が欧米人よりも高いので、十分な研究対象数が得られる場合には、この遺伝子多型は別々に解析され再評価されることが望ましい。

今回の解析結果により、*ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルの有無と*GSTM1*の欠損多型を組み合わせることにより、TXLのAUCが高値を示す集団が選別できる可能性が示唆された。TXL 80 mg/m²を週1回投与するdd-TC療法は、今後卵巢癌などの薬物治療において主流になることが予想され、これらのTXLの血中動態に関与する遺伝子多型のバイオマーカー候補としての重要性も高まることが期待される。

また、*ABCB1*遺伝子では2677G > T/A多型の他に、1236T > C多型もTXLの薬物動態と強く相関することが見いだされた。これらのSNPは同一の

ハプロブロックに位置しており、強い連鎖が報告されている²¹⁾。実際に今回の解析でも、1236T > CがC/Cホモの症例では、全例が2677G > T/A多型でTアレルを持たず、一方、T/Tホモの症例では全例がAアレルを有さない (data not shown)。これらのSNPは遺伝子上で19 kbp離れており、そのため実験的に直接個別のハプロタイプを決定することは困難であり、実際に決定したという報告も無い。しかしながら1236T > CはmRNAの安定性に影響するとの報告も有ることから、単に連鎖による影響のみならず、2677G > T/A多型によってもたらされるアミノ酸置換と相まって複雑な質的・量的変化を来しTXLの血中動態に影響を与える可能性も考えられる。

ABCB1 2677G > T/A多型のAアレルで層別化することにより、*ABCB1*-129T > C多型とCLの相関、*CYP1B1* の1294C > G多型とAUCおよびCLとの相関も認められている。これらの結果は、*GSTM1* 欠損多型とともに、*ABCB1* 2677G > T/A多型のAアレルも、TXLの薬物動態、TC療法の有害事象発現に重要な役割を果たしている可能性を示唆している。*ABCB1* -129T > C多型も*ABCB1*の発現量との相関が報告されており²²⁾、2677G > T/A等のSNPとは別のハプロブロックに位置することから²¹⁾、-129T > C多型もTXLの血中動態に影響を与える可能性は否定できない。

現在進行中の第2相臨床試験では、毒性の出現と併せて治療効果についても評価を行う予定であり、今回見いだされた種々の遺伝子多型、特に*GSTM1*の欠損多型と*ABCB1*の2677G > T/A多型との相関について解析する予定である。毒性出現ならびに治療効果の結果の如何によっては、これらの遺伝子多型を踏まえた新たな忍容性試験を行い、患者により適切な投与量を検討する可能性も考えられる。

結 論

根治切除不能卵巣癌および腹膜癌に対するTC療法の新規投与法の臨床研究に並行したゲノム薬理学的研究により、*GSTM1* 欠損多型ならびに*ABCB1* 遺伝子の2677G > T/Aをはじめとする複数の多型とTXLの薬物動態との関連を見出した。このことはTC療法における毒性ならびに治療効果の予測において、これらの遺伝子多型が重要なバイオマーカーとなり得ることを示唆する。現在進行中の臨床試験で、これらについて検証を進め、より大規模な臨床検証試験を企画・実施すべくさらに検討を継続する。

謝 辞

項を終えるにあたり、ご指導を賜りました埼玉医科大学国際医療センター婦人科腫瘍科 藤原恵一教授、群馬大学大学院医学系研究科病態腫瘍薬理学

西山正彦教授、埼玉医科大学ゲノム医学研究センタートランスレーショナルリサーチ部門 江口英孝准教授、埼玉医科大学情報技術支援推進センター 和田智助教に心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) 厚生労働省大臣官房統計情報部編. 人口動態統計 (2006年)
- 2) Hoskins WJ, McGuire WP, Brady MF, Homesley HD, Creasman WT, Berman M, et al. The effect of diameter of largest residual disease on survival after primary cytoreductive surgery in patients with suboptimal residual epithelial ovarian carcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170(4):974-9.
- 3) Bristow RE, Gossett DR, Shook DR, Zahurak ML, Tomacruz RS, Armstrong DK, et al. Survival effect of maximal cytoreductive surgery for advanced ovarian carcinoma during the platinum era: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2002;20(5):1248-59.
- 4) du Bois A, Lück HJ, Meier W, Adams HP, Möbus V, Costa S, et al. A randomized clinical trial of cisplatin/TXL versus CBDCA/TXL as first-line treatment of ovarian cancer. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(17):1320-9.
- 5) 日本婦人科腫瘍学会編. 卵巣癌治療ガイドライン. 東京: 金原出版; 2007.
- 6) Alberts DS, Liu PY, Hannigan EV, O'Toole R, Williams SD, Young JA, et al. Intraperitoneal cisplatin plus intravenous cyclophosphamide versus intravenous cisplatin plus intravenous cyclophosphamide for stage III ovarian cancer. *N Engl J Med* 1996; 335(26):1950-5.
- 7) Markman M, Bundy BN, Alberts DS, Fowler JM, Clark-Pearson DL, Carson LF, et al. Phase III trial of standard-dose intravenous cisplatin plus TXL versus moderately high-dose CBDCA followed by intravenous TXL and intraperitoneal cisplatin in small-volume stage III ovarian carcinoma: an intergroup study of the Gynecologic Oncology Group, Southwestern Oncology Group, and Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2001;19(4):1001-7.
- 8) Armstrong DK, Bundy B, Wenzel L, Huang HQ, Baergen R, Lele S, et al. Intraperitoneal cisplatin and TXL in ovarian cancer. *N Engl J Med* 2006;354(1):34-43.
- 9) Jaaback K, Johnson N. Intraperitoneal chemotherapy for the initial management of primary epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;(1):CD005340.

- 10) Elit L, Oliver TK, Covens A, Kwon J, Fung MF, Hirte HW, et al. Intraperitoneal chemotherapy in the first-line treatment of women with stage III epithelial ovarian cancer: a systematic review with metaanalyses. *Cancer* 2007;109(4):692-702.
- 11) Belani CP, Ramalingam S, Perry MC, LaRocca RV, Rinaldi D, Gable PS, et al. Randomized, phase III study of weekly paclitaxel in combination with carboplatin versus standard every-3-weeks administration of carboplatin and paclitaxel for patients with previously untreated advanced non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(3):468-73.
- 12) Sparano JA, Wang M, Martino S, Jones V, Perez EA, Saphner T, et al. Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer. *N Engl J Med* 2008;358(16):1663-71.
- 13) Fennelly D, Aghajanian C, Shapiro F, O'Flaherty C, McKenzie M, O'Connor C, et al. Phase I and pharmacologic study of paclitaxel administered weekly in patients with relapsed ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1997;15(1):187-92.
- 14) Katsumata N, Yasuda M, Takahashi F, Isonishi S, Jobo T, et al; Japanese Gynecologic Oncology Group. Dose-dense paclitaxel once a week in combination with carboplatin every 3 weeks for advanced ovarian cancer: a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2009;374:1331-8.
- 15) Rose PG, Smrekar M, Fusco N. A phase II trial of weekly paclitaxel and every 3 weeks of carboplatin in potentially platinum-sensitive ovarian and peritoneal carcinoma. *Gynecol Oncol* 2005;96(2):296-300.
- 16) Watters JW, McLeod HL. Cancer pharmacogenomics: current and future applications. *Biochim Biophys Acta* 2003;1603(2):99-111.
- 17) Marsh S, Paul J, King CR, Gifford G, McLeod HL, Brown R. Pharmacogenetic assessment of toxicity and outcome after platinum plus taxane chemotherapy in ovarian cancer: the Scottish Randomised Trial in Ovarian Cancer. *J Clin Oncol* 2007;25(29):4528-35.
- 18) Gréen H, Söderkvist P, Rosenberg P, Mirghani RA, Rymark P, Lundqvist EA, et al. Pharmacogenetic studies of Paclitaxel in the treatment of ovarian cancer. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2009; 104(2):130-7.
- 19) Wang D, Johnson AD, Papp AC, Kroetz DL, Sadée W. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15(10):693-704.
- 20) Bergmann TK, Brasch-Andersen C, Gréen H, Mirza MR, Skougaard K, Wihl J, et al. Impact of ABCB1 variants on neutrophil depression: A pharmacogenomic study of paclitaxel in 92 women with ovarian cancer. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2011 Sep 28. doi: 10.1111/j.1742-7843.2011.00802.x. [Epub ahead of print]
- 21) Vaclavikova R, Nordgard SH, Alnaes GI, Hubackova M, Kubala E, Kodet R, Mrhalova M, Novotny J, Gut I, Kristensen VN, Soucek P. Single nucleotide polymorphisms in the multidrug resistance gene 1 (ABCB1): effects on its expression and clinicopathological characteristics in breast cancer patients. *Pharmacogenet Genomics* 2008;18(3):263-73.
- 22) Tanabe M, Ieiri I, Nagata N, Inoue K, Ito S, Kanamori Y, Takahashi M, Kurata Y, Kigawa J, Higuchi S, Terakawa N, Otsubo K. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297(3):1137-43.
- 23) Sai K, Saito Y, Itoda M, Fukushima-Uesaka H, Nishimaki-Mogami T, Ozawa S, et al. Genetic variations and haplotypes of ABCC2 encoding MRP2 in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet* 2008;23(2):139-47.
- 24) Laechelt S, Turrini E, Ruehmkorf A, Siegmund W, Cascorbi I, Haenisch S. Impact of ABCC2 haplotypes on transcriptional and posttranscriptional gene regulation and function. *Pharmacogenomics J* 2011;11(1):25-34.
- 25) Yu L, Shi D, Ma L, Zhou Q, Zeng S. Influence of CYP2C8 polymorphisms on the hydroxylation metabolism of paclitaxel, repaglinide and ibuprofen enantiomers in vitro. *Biopharm Drug Dispos* 2013;34(5):278-87.
- 26) Saito Y, Katori N, Soyama A, Nakajima Y, Yoshitani T, Kim SR, et al. CYP2C8 haplotype structures and their influence on pharmacokinetics of paclitaxel in a Japanese population. *Pharmacogenet Genomics* 2007;17(7):461-71.
- 27) Nakajima Y, Yoshitani T, Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Kaniwa N, Kurose K, Ozawa S, Aoyagi N, Kamatani N, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Tamura T, Yoshida T, Minami H, Saijo N, Katori N, Sawada J. Impact of the haplotype CYP3A4*16B harboring the Thr185Ser substitution on paclitaxel metabolism in Japanese patients with cancer. *Clin Pharmacol Ther* 2006;80(2):179-91.
- 28) Sissung TM, Danesi R, Price DK, Steinberg SM,

- de Wit R, Zahid M, Gaikwad N, Cavalieri E, Dahut WL, Sackett DL, Figg WD, Sparreboom A. Association of the CYP1B1*3 allele with survival in patients with prostate cancer receiving docetaxel. *Mol Cancer Ther* 2008;7(1):19-26.
- 29) Nagle CM, Chenevix-Trench G, Spurdle AB, Webb PM. The role of glutathione-S-transferase polymorphisms in ovarian cancer survival. *Eur J Cancer* 2007;43(2):283-90.
- 30) Beeghly A, Katsaros D, Chen H, Fracchioli S, Zhang Y, Massobrio M, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and ovarian cancer treatment and survival. *Gynecol Oncol* 2006;100(2):330-7.
- 31) Medeiros R, Pereira D, Afonso N, Palmeira C, Faleiro C, Afonso-Lopes C, et al. Platinum/paclitaxel-based chemotherapy in advanced ovarian carcinoma: glutathione S-transferase genetic polymorphisms as predictive biomarkers of disease outcome. *Int J Clin Oncol* 2003;8(3):156-61.
- 32) Stoecklacher J, Park DJ, Zhang W, Yang D, Groshen S, Zahedy S, et al. A multivariate analysis of genomic polymorphisms: Prediction of clinical outcome to 5-FU/oxaliplatin combination chemotherapy in refractory colorectal cancer. *Br J Cancer* 2004;91(2):344-54.
- 33) Booton R, Ward T, Heighway J, Ashcroft L, Morris J, Thatcher N. Glutathione-S-transferase P1 isoenzyme polymorphisms, platinum-based chemotherapy, and non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2006;1(7):679-83.
- 34) Yokomizo A, Yamamoto K, Kinukawa N, Tsunoda T, Koga H, Naito S. Association analysis of glutathione-S-transferase P1 (GSTP1) polymorphism with urothelial cancer susceptibility and myelosuppression after M-VAC chemotherapy. *Int J Urol* 2007;14(6):500-4.
- 35) Oldenburg J, Kraggerud SM, Brydøy M, Cvancarova M, Lothe RA, Fossa SD. Association between long-term neuro-toxicities in testicular cancer survivors and polymorphisms in glutathione-S-transferase-P1 and -M1, a retrospective cross sectional study. *J Transl Med* 2007;5:70.
- 36) Lecomte T, Landi B, Beaune P, Laurent-Puig P, Lloriot MA. Glutathione S-transferase P1 polymorphism (Ile105Val) predicts cumulative neuropathy in patients receiving oxaliplatin-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2006;12(10):3050-6.
- 37) Berek JS, Crum C, Friedlander M. Cancer of the ovary, fallopian tube, and peritoneum. *Int J Gynaecol Obstet* 2012;119(Suppl 2):S118-29.
- 38) Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009;45(2):228-47.
- 39) Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, Carbone PP. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982;5(6):649-55.
- 40) 日本癌治療学会編. G-CSF 適正使用ガイドライン (2001年版). 東京: 金原出版; 2001.
- 41) 日本癌治療学会編. 制吐薬適正使用ガイドライン (第1版). 東京: 金原出版; 2001.
- 42) Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Maekawa K, Hasegawa R, Suzuki K, Yanagawa T, et al. Genetic variations and haplotype structures of the ABC transporter gene ABCC1 in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet* 2007;22(2):129-35.
- 43) Nakajima M, Fujiki Y, Noda K, Ohtsuka H, Ohkuni H, Kyo S, et al. Genetic polymorphisms of CYP2C8 in Japanese population. *Drug Metab Dispos* 2003;31(6):687-90.
- 44) Fukushima-Uesaka H, Saito Y, Watanabe H, Shiseki K, Saeki M, Nakamura T, et al. Haplotypes of CYP3A4 and their close linkage with CYP3A5 haplotypes in a Japanese population. *Hum Mutat* 2004;23(1):100.
- 45) Saeki M, Saito Y, Nakamura T, Murayama N, Kim SR, Ozawa S, et al. Single nucleotide polymorphisms and haplotype frequencies of CYP3A5 in a Japanese population. *Hum Mutat* 2003;21(6):653.
- 46) Komiya Y, Tsukino H, Nakao H, Kuroda Y, Imai H, Katoh T. Human glutathione S-transferase A1, T1, M1, and P1 polymorphisms and susceptibility to prostate cancer in the Japanese population. *J Cancer Res Clin Oncol* 2005;131(4):238-42.
- 47) Sai K, Kaniwa N, Itoda M, Saito Y, Hasegawa R, Komamura K, et al. Haplotype analysis of ABCB1/MDR1 blocks in a Japanese population reveals genotype-dependent renal clearance of irinotecan. *Pharmacogenetics* 2003;13(12):741-57.
- 48) Watanabe J, Shimada T, Gillam EM, Ikuta T, Suemasu K, Higashi Y, et al. Association of CYP1B1 genetic polymorphism with incidence to breast and lung cancer. *Pharmacogenetics* 2000;10(1):25-33.
- 49) Howells RE, Redman CW, Dhar KK, Sarhanis P, Musgrove C, Jones PW, et al. Association of glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 null genotypes with clinical outcome in epithelial ovarian

- cancer. *Clin Cancer Res* 1998;4(10):2439-45.
- 50) Kim HS, Kim MK, Chung HH, Kim JW, Park NH, Song YS, et al. Genetic polymorphisms affecting clinical outcomes in epithelial ovarian cancer patients treated with taxanes and platinum compounds: a Korean population-based study. *Gynecol Oncol* 2009;113(2):264-9.
 - 51) Ishikawa T, Ali-Osman F. Glutathione-associated cis-diamminedichloroplatinum(II) metabolism and ATP-dependent efflux from leukemia cells. Molecular characterization of glutathione-platinum complex and its biological significance. *J Biol Chem* 1993; 268(27): 20116-25.
 - 52) Sadzuka Y, Shimizu Y, Takino Y, Hirota S. Protection against cisplatin-induced nephrotoxicity in the rat by inducers and an inhibitor of glutathione S-transferase. *Biochem Pharmacol* 1994;48(3):453-9.
 - 53) パクリタキセル注射液 医薬品インタビューフォーム 改訂第7版. ブリストル・マイヤーズ株式会社.
 - 54) Spratlin J, Sawyer MB. Pharmacogenetics of paclitaxel metabolism. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 61(3):222-9.
 - 55) Conseil G, Deeley RG, Cole SP. Polymorphisms of MRP1 (ABCC1) and related ATP-dependent drug transporters. *Pharmacogenet Genomics*. 2005;15(8):523-33.
 - 56) Gréen H, Söderkvist P, Rosenberg P, Horvath G, Peterson C. mdr-1 single nucleotide polymorphisms in ovarian cancer tissue: G2677T/A correlates with response to paclitaxel chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2006;12(3 Pt 1):854-89.
 - 57) Marsh S, King CR, McLeod HL, Paul J, Gifford G, Brown R. ABCB1 2677G>T/A genotype and paclitaxel pharmacogenetics in ovarian cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12(13):4127;author reply 4127-9.
 - 58) Johnatty SE, Beesley J, Paul J, Fereday S, Spurdle AB, Webb PM, et al. AOCs Study Group, Harnett PR, Brown R, DeFazio A, Chenevix-Trench G. ABCB1 (MDR1) polymorphisms and progression-free survival among women with ovarian cancer following paclitaxel/carboplatin chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2008;14(17):5594-601.
 - 59) Tian C, Ambrosone CB, Darcy KM, Krivak TC, Armstrong DK, Bookman MA, Davis W, Zhao H, Moysich K, Gallion H, DeLoia JA. Common variants in ABCB1, ABCC2 and ABCG2 genes and clinical outcomes among women with advanced stage ovarian cancer treated with platinum and taxane-based chemotherapy: a Gynecologic Oncology Group study. *Gynecol Oncol* 2012;124(3):575-81.
 - 60) Packer BR, Yeager M, Burdett L, Welch R, Beerman M, Qi L, et al. SNP500Cancer: a public resource for sequence validation, assay development, and frequency analysis for genetic variation in candidate genes. *Nucleic Acids Res* 2006;34(Database issue):D617-21.
 - 61) Sissung TM, Mross K, Steinberg SM, Behringer D, Figg WD, Sparreboom A, et al. Association of ABCB1 genotypes with paclitaxel-mediated peripheral neuropathy and neutropenia. *Eur J Cancer* 2006;42(17):2893-6.
 - 62) Nakajima M, Fujiki Y, Kyo S, Kanaya T, Nakamura M, Maida Y, et al. Pharmacokinetics of paclitaxel in ovarian cancer patients and genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP3A4, and MDR1. *J Clin Pharmacol* 2005;45(6):674-82.
 - 63) Yamaguchi H, Hishinuma T, Endo N, Tsukamoto H, Kishikawa Y, Sato M, et al. Genetic variation in ABCB1 influences paclitaxel pharmacokinetics in Japanese patients with ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16(3):979-85.
 - 64) Jiko M, Yano I, Sato E, Takahashi K, Motohashi H, Masuda S, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel with carboplatin or gemcitabine, and effects of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms in patients with urogenital cancers. *Int J Clin Oncol* 2007;12(4):284-90.
 - 65) Bergmann TK, Gréen H, Brasch-Andersen C, Mirza MR, Herrstedt J, Hølund B, et al. Retrospective study of the impact of pharmacogenetic variants on paclitaxel toxicity and survival in patients with ovarian cancer. *Eur J Clin Pharmacol* 2011;67(7):693-700.
 - 66) Bergmann TK, Brasch-Andersen C, Gréen H, Mirza M, Pedersen RS, Nielsen F, Skougaard K, Wihl J, Keldsen N, Damkier P, Friberg LE, Peterson C, Vach W, Karlsson MO, Brogren K. Impact of CYP2C8*3 on paclitaxel clearance: a population pharmacokinetic and pharmacogenomic study in 93 patients with ovarian cancer. *Pharmacogenomics J* 2011;11(2):113-20.