

15-21 がん化学療法におけるドラッグデリバリーシステム

(DDS) の開発に関する研究

主任研究者 国立がんセンター 松村 保 広

本研究の成果については、病理、薬理、材料工学、生化、臨床的研究からもたらされた。Drug delivery system にとって腫瘍血管および腫瘍組織の構築を知ることは重要である。抗がん剤抵抗性の胃がんや膵がんの腫瘍血管の電顕的研究からこれらの腫瘍血管は基底膜が重層化し、筋繊維芽細胞は随所でがん細胞に密着している。また内皮細胞の腫大などみられ薬剤ががん細胞に到達しにくくなっていることが判明した。DDS 製剤としてはカンプトテシン、タキソール、シスプラチンのミセル化に成功した。リポソーム製剤ではフェージディスプレイ法で得られた腫瘍血内皮に親和性のあるペプチドを付加したアドリアマイシン内包リポソームが作製され抗腫瘍効果の増強が認められた。臨床ではアドリアマイシン内包イムノリポソーム MCC-465 の臨床第 1 相試験が行なわれている。ミセルではタキソール内包ミセル NK105 の臨床第 1 相が順調に進んでいる。

研究者名	所属施設および職名	分担研究課題
松村保広	国立がんセンター東病院 臨床開発センター 部長	1) 腫瘍脈管の特性に基づく DDS 製剤の開発
横山昌幸	神奈川科学技術アカデミー高分子ナノメ ディカルプロジェクトリーダー	2) 難溶性抗ガン剤の高分子ミセルによるターゲティング
奥 直人	静岡県立大学薬学部 教授	3) がん化学療法剤を用いた腫瘍新生血管標的化 DDS の開発
川口隆憲	福島県立医科大学病理学 講師	4) 腫瘍細胞と脈管の相互関係に関する病理組織学的、電顕的研究
濱口哲弥	国立がんセンター中央病院 医師	5) DDS 製剤の臨床導入に関する研究

総括研究報告

1 研究目的

化学療法は確実に進歩してはきているが、消化器系や呼吸器系のがんにおいてはまだ有効性が低く満足いく治療法として一般的に認知されていない。最近、分子標的薬剤が脚光を浴びているが、一部の悪性腫瘍を除き、がんは多数の遺伝子変化のうえに成立するし、また遺伝子の発現も強弱はあるものの真にがん特異的とはいえないので、ある特定の分子のみを阻害する、いわゆる分子標的剤のみではがんの根治は望めない。実際大腸がんの分子標的剤として VEGF 中和抗体アバスタチンが 5FU、CPT-11 との併用で生存を延ばすという報告があるが、あくまで

も抗がん剤との併用の時のみで、単剤では全く臨床的有用性はない。つまり分子標的剤は一部の特殊な腫瘍をのぞけば抗がん剤の補助的立場が明らかになってきた。逆に分子標的剤特有の有害事象が問題とされつつある。がん治療におけるドラッグデリバリーシステム (DDS) の役割は抗がん剤や毒素、あるいは放射性物質を化学修飾またはミセルやリポソームなどのナノキャリアに封入するという工夫をすることにより、抗がん剤などの正常組織への集積を抑えつつ、がん組織に選択的に集積させることにある。すでに国立がんセンターではアドリアマイシンあるいはタキソールそして最近では SN-38 内包ミセル

の臨床試験が始まっている。本研究班ではヒト固形腫瘍の間質や脈管の構造に基づく DDS 製剤の開発を旨とし、シスプラチンやタキソール、カンプトテシンなどの抗がん剤内包ミセルあるいは腫瘍血管指向性ペプチド付加リポソームの研究開発を行い、前臨床試験そして臨床試験のすみやかな開始を企てるものである。

2 研究成果

1) 腫瘍脈管の特性に基づく DDS 製剤の開発

(目的) SN-38 は camptothecin (CPT) 誘導体で、CPT の抗腫瘍効果を増強し、毒性を軽減する目的で開発された薬剤である。しかしながら SN-38 は不溶性であったため、臨床に使用されることはなかった。NK012 は SN-38 内包ミセル化抗がん薬であり、不溶性である SN-38 を可溶化し、*in vivo* 試験、さらには臨床試験での使用を可能にしたものである。高分子化合物の EPR 効果は、固形腫瘍における腫瘍血管の病態生理学的特徴に基づいて説明されている。一方腫瘍血管の増生は臨床における予後不良因子であることが数多く報告されている。今回我々は NK012 の抗がん薬としての薬効評価、特に腫瘍血管増生モデルにおける薬効について検討し、臨床試験における課題を提示することを目的とする。

(研究結果)

1. NK012 はブロックコポリマーの疎水性ポリマー (ポリグルタミン酸) の部分に SN-38 を化学的に結合させ、水中で自発的会合によりナノ集合体を形成したものである。平均粒径は約 20 nm で、ほぼ均一であった。また PBS 内で効率よく SN-38 をリリースした (37°C、48 時間で 70% 以上)。

2. EPR 効果による高分子薬剤の腫瘍への分布および抗腫瘍効果の増強が認められるか否かを検討するために、VEGF 発現ベクターを挿入した VEGF 強制分泌細胞 SBC-3/VEGF を用いて検討をおこなった。SBC-3/Neo (空ベクター挿入) および SBC-3/VEGF は *in vitro* では NK012 の抗腫瘍活性に差はなかった。SBC-3/VEGF 腫瘍片は *in vivo* において明らかな腫瘍血管増生がみられることを確認した。マウス移植腫瘍体積が 1500mm² 以上になった巨大な腫瘍に対しての抗腫瘍活性を検討した。担がんマウスに対して NK012 は 10 mg/kg, 20 mg/kg, CPT-11 は 15 mg/kg, 30 mg/kg を経静脈的に day0, 3, 8 の 3 回投与した。NK012 は CPT-11 に比較して、SBC-3/VEGF および SBC-3/Neo のいずれの株においても強い抗腫瘍効果を発揮した。特に VEGF 分泌 SBC-3/VEGF においては 10, 20

mg/kg 投与群のいずれにおいても巨大移植腫瘍を根絶した。これらのことから、NK012 は CPT-11 に比較してより強い抗腫瘍効果をもつばかりでなく、VEGF の高発現細胞において、抗腫瘍効果を明確に増強することが示唆された。

3. NK012 20 mg/kg, CPT-11 30 mg/kg を経静脈的に単回投与後に SBC-3/Neo および SBC-3/VEGF への遊離 SN-38 (free SN-38; ポリマー非結合 SN-38) の腫瘍内濃度を経時的に測定した。CPT-11 投与後は SN-38 濃度はすみやかに減少し、24 時間後には検出限界値以下であった。また SN-38 濃度は両腫瘍において 100 ng/g を超えることはなかった。一方 NK012 投与後は、長時間腫瘍内に薬剤が滞在し、投与 72 時間後においても検出可能であった。特に SBC-3/VEGF においては SBC-3/Neo に比較して有意に高濃度を維持し、72 時間後においても 50 ng/g 以上の高濃度を維持した。以上の検討から、NK012 は CPT-11 に比較して、その活性本体である SN-38 を腫瘍へ効率的に分布させ、特に VEGF 高発現株においては EPR 効果による、抗腫瘍効果の増強を期待できることが示唆された。

(まとめ) NK012 は強力な抗腫瘍活性を持つ SN-38 内包ミセル体であり、VEGF 高発現株においてその腫瘍活性を増強することから、腎細胞がん、脳腫瘍、肝細胞がんなどの VEGF 高発現腫瘍において、特にその有効性を発揮する可能性が考えられた。

2) 難溶性抗がん剤の高分子ミセルによるターゲティング

(目的) 高分子ミセルは疎水性抗がん剤のターゲティングシステムとして非常に有用であるが、薬物が高分子ミセルに封入されるだけでは不十分で、高分子の組成と薬物封入量を制御して初めてターゲティングが達成されることがわかっている。高分子ミセルを形成するブロックコポリマーの組成と薬物の化学構造・封入量は、粒径・表面物性・安定性・薬物放出速度等の高分子ミセル諸物性を規定し、この諸物性がターゲティングを決定する。しかし、これらの要素と相互の関連を系統的に解析した研究はない。本研究では、抗がん剤カンプトテシンを固形がんにも効率よくターゲティングする高分子ミセルシステムを得るとともに、非水溶性抗がん剤を安定にミセル内核に封入するための、高分子設計理論の構築を目的とする。

(方法及び結果) (1) カンプトテシン封入高分子ミセルの作製: 抗がん活性物質カンプトテシン (CPT) 封入高分子ミセルの作製は昨年と同様に行った。高分子ミセルを形成するブロックコポリマーの構造を図 2 に示す。ポリエチレングリコール-ポリ (アスパラギン酸) ブロックコ

ポリマーの側鎖にベンジルエステルを63-71mol%導入した PEG-P(Asp(Bzl))である。また、100%ベンジル化で、アミノ酸ユニットが α -アミドのみの PEG-PBLAも用いた。また、酸加水分解により α -アミドのみで構成された PEG-P(Asp(Bzl))も用いた。薬物の封入は、カンプトテシン(CPT)とブロックコポリマーを CHCl₃ に溶かし、溶媒を蒸発させてから、蒸留水を入れて超音波照射をして高分子ミセルを得た。

(2) 担がんマウスでの体内分布および抗がん活性：担がんマウスに用いたブロックコポリマーは、ポリエチレングリコール (PEG) 鎖の分子量が5,000, ポリ(アスパラギン酸) (P(Asp)) のアスパラギン酸ユニット数が25, アスパラギン酸ユニットのベンジルエステル化率が70%であるものを用いた。カンプトテシン(CPT)をブロックコポリマーに対し、40wt.%封入したミセルを得た。マウスはC26大腸がん細胞を皮下に移植し、約100mm³程度になったモデルを用い、尾静脈より投与した。体内分布は投与して24時間後に各臓器・組織を採取し、そこからCPTを抽出してHPLCによって濃度を求めた。対照としたのはポリソルベート80やプロピレングリコールを用いて可溶化したエマルジョンである。両者を比較して特徴的なのは、高分子ミセル封入の場合のがんにおける集積量の大きさである。心臓でも対照に比べて大きな集積量であるが、その絶対値は他の臓器に比べて大きなものではない、脾臓でも対照に比べて大きい傾向であるが、有意差はない。腎臓は投与24時間経過してもなお高い血中濃度を単に反映したものであると考えられる。次に、C26に対する抗がん活性を1回投与で比較した。エマルジョン投与では、その水溶性の限界から1.5mg/kgが最大の投与量であり、中程度のがん増殖抑制効果を示すにすぎず、コントロールに比べて有意な差ではなかった。これに対し、ミセル封入CPTでは15mg/kgと30mg/kgとで有意ながん増殖抑制効果を得た。

(考察) 以上のことより、高分子ミセルにCPTを封入することで、EPR効果によってがん組織にターゲティングされて、抗がん活性を発揮することが示された。次年度はさらに高いターゲティング能を示すミセル組成を得ることが目標である。その目標のためには、ミセルを形成する高分子の構造のどの要素がターゲティング能に関連しているかを解析する必要がある。その点の解析を目指したのが次項の研究項目である。

3) 腫瘍新生血管標的化DDSによるがん治療

腫瘍血管新生は固形がんの維持、増殖に必須の現象であり、腫瘍はこの新生血管から栄養や酸素を補給し、成長する。さらに腫瘍新生血管は脆弱で透過性が亢進してお

り、悪性化したがん細胞が容易に血管内に進入するため、血行性転移を起こす原因ともなっている。血行性転移ががんの予後を悪化させ、死亡率を上げる原因となっていることから、新生血管の阻害によるがんの休眠療法と抗転移がこれまで多く検討されてきた。この脆弱な新生血管を介して100nm程度の薬剤キャリアがEPR効果によりパッシブに腫瘍間質に蓄積するために、これまでパッシブターゲティングを利用した抗がん剤のDDS製剤化が試みられてきた。しかしながらパッシブターゲティングには限界があり、キャリアを用いる利点は主に副作用の軽減に主眼がおかれてきた。より効率的なアクティブターゲティングが同時に試みられてきたが、がんを標的とする場合に血流からのがん組織への移行はパッシブターゲティングによらざるを得ない。

本研究は血流から直接標的化できる新生血管内皮細胞に着目し、標的化DDSの確立を目指してスタートした。本年度はこのリポソーム製剤が薬剤耐性がんにも有効に働くことを実証するため、アドリアマイシン(ADM)に感受性を有するP388細胞と耐性を有する亜株を用いて固形がんを作製し、ADM内封新生血管標的化リポソームと未修飾リポソームの腫瘍退縮効果について比較検討を行った。その結果、耐性細胞においても新生血管を標的とすることにより、腫瘍増殖に抑制的に働くことを明らかにした。

ところで、膵がんは血管系の構築が疎であることが知られている。膵がんは難治がんであり、その有効な治療法を確立できれば医療に対して大いに貢献することになる。腫瘍新生血管傷害療法は血管内皮細胞の傷害により、がん細胞への酸素や栄養を断つことができ、間接的にがん細胞を殺傷する治療法である。この療法が有効な理由として、がん細胞に数十分の1しかない血管内皮細胞を傷害することでがん治療が可能になることが挙げられる。すなわち、がん細胞を傷害するよりも少ない数の細胞を傷害することで同様な治療効果が得られることになる。そう考えるとより血管系の発達していない膵がんにおいては、腫瘍新生血管傷害療法がより有効になる可能性がある。

このことを実証するために、ヒト由来のSUIT2膵がん細胞を用い同所移植モデルの作製を試みた。ヌードマウスにSUIT2膵がん細胞を皮下、あるいは同所移植し、がん部位の血管密度をCD31抗体を用いた組織面染色により確認した。その結果、細胞の皮下移植による固形がんに比べ、同所移植ではがん組織中の血管密度が明らかに少ないことが判明した。このことからSUIT2膵がん細胞の同所移植モデルは、血管系の構築に関してはヒトの

膵がん類似している可能性が示唆された。そこで、腫瘍新生血管標的化リポソームと未修飾リポソームを用い、ADMを内封させて、SUIT2 膵がん細胞の同所移植モデルに対する治療効果を検討した。その結果、新生血管標的化リポソームは、未修飾リポソームに比べて有意に腫瘍の増殖を抑制することが明らかとなった。以上の結果から、腫瘍新生血管を標的とすることは直接がん細胞を標的とするよりも効果的ながん治療が可能であり、APRPG-PEG修飾リポソームは腫瘍新生血管傷害療法の新規 DDS キャリアとして有用であることが示されたのみならず、血管系の発達していない難治がんである膵がんへの応用が有効である可能性が示唆された。APRPG-PEG 修飾リポソームが、腫瘍新生血管に到達しやすいことから、このリポソームに新生血管阻害剤を内封した場合には、送達生の改善から抗新生血管作用の増強が考えられる。そこで、血管新生阻害剤である SU1498 をリポソーム化し、検討を行った。ポリエチレングリコール (PEG) 修飾、PEG の末端に新生血管結合ペプチドを修飾した SU1498 含有リポソームを C26NL17 (マウス大腸がん細胞) に尾静脈内投与し、腫瘍内の血管密度、さらに担がんマウスの生存日数を測定した。まず 血管新生阻害剤 SU1498 はホスファチジルコリンを主な構成脂質としたリポソームに封入できること、また血管内皮細胞の増殖試験の結果からリポソーム化によって SU1498 活性に変化を与えないことを確認した。そこで *in vivo* での効果を調べるため、C26NL17 担がんマウスを用いて腫瘍内血管密度測定実験を行った。その結果、PEG 修飾リポソーム化 SU1498 投与群ではコントロール群と比較して血管密度に変化はなかったものの、新生血管標的リポソーム投与群では有意に血管密度が減少していた。さらに新生血管標的リポソーム投与群では有意な延命効果がみられた。このことから新生血管標的化リポソームは血管新生阻害剤の DDS にも有効であることが示唆された。

4) 腫瘍細胞と脈管の相互関係に関する病理組織学的、電顕的研究

昨年まで硬癌の脈管系が乏しい理由をおもに膵臓癌を用いて研究し、膵臓癌が筋線維芽細胞の増生を強く惹起する結果腫瘍血管の増生が阻害されることが硬癌発生の機序と想定された。今回は逆に腫瘍血管を強く誘導するラット腹水肝癌 AH109A を用い、腫瘍血管発生、血管の改変 (remodeling)、転移との関係について研究した。

ラット腹水肝癌 AH109A 細胞を腹部正中線上皮下に 2×10^6 個/0.5ml 注入し、腫瘍成長を計量した。ラット体重が 100 ~ 120 g の群と 160 g の群の腫瘍成長動態を求めた。腫瘍増殖いずれの群も同様で、腫瘍成長が開始さ

れるまでの I 期、対数曲線的に増殖する II 期、緩やかに成長する III 期に分けられた。移植後 3~4 週後に全例に肉眼でリンパ節転移が確認できた。肺にも高頻度に転移がみられたが、ほとんどが顕微鏡的にしか確認できない小さなものであった。腫瘍移植後、3 日、5 日 ~ 1 週、2 週 3 週、7 週後に屠殺し、腫瘍と主な組織を組織学的、免疫組織学的、一部は透過型電顕的に研究した。移植後 3 日では腫瘍間質の形成はなかった。1 週後で腫瘍血管を含む間質の導入があった。腫瘍細胞は 2~数個単位で胞巣状構造の中に存在し、周囲に腫瘍血管・間質がみられた。2 週間後までは腫瘍胞巣は増大したが、それ以降腫瘍は随所で変性・壊死をおこし、線維増生や巨大類洞血管がみられた。3 週、7 週ではさらに腫瘍の間質の改変がおこって小葉構造が明瞭となり、腫瘍胞巣周囲の巨大な脈管腔には癌細胞が多数塞栓していた。

腫瘍脈管 (血管、リンパ管)、間質形成で特記すべき事項が 3 つみられた: 1) 動脈性毛細血管を主体とし線維・線維芽細胞の著明な増生、リンパ球・マクロファージの浸潤、などが一つの組織体を形成し腫瘍細胞塊と隣接していた (類組織体の形成); 2) 筋膜の外側に幼弱な腔様構造を有する脈管様構造体が出現した。これらの細胞は c-kit(+), CD34(+) であった; 3) 腫瘍細胞を含む小嚢胞状構造が形成され腫瘍細胞が増殖することによって胞巣構造が形成された。癌胞巣周囲の血管は抗 CD 31 に強く陽性であったが、胞巣壁の腫瘍血管内皮細胞は抗 CD31 抗体にほとんど反応しなかった。

移植後 1 週で腫瘍を切除した場合転移は全くみられず動物は腫瘍死を免れた。2 週後に腫瘍を切除した場合は約半数でリンパ節転移が生じ動物は死亡、移植後 3 週で腫瘍を切除した場合は全例にリンパ節転移が生じ腫瘍死した。したがってリンパ節を含む転移は腫瘍移植後 2 週間後で生じていると考えられた。

別の研究からこの腫瘍細胞は N-acetylgalactosamine 残基を有する異型 MUC1 蛋白を発現していることがあきらかになったので、MUC1 蛋白が接着できる分子であることが知られる ICAM-1 の発現を調べたところ、腫瘍移植 2 週間後に腫瘍内や腫瘍に隣接する脈管内皮細胞に ICAM-1 が発現することがあきらかになった。

5) DDS 製剤の臨床導入に関する研究

本研究では国内の優れたナノテクノロジー技術により開発された DDS 化抗癌剤を臨床導入するための臨床試験体制の構築をめざす。近年、このような EPR 効果のコンセプトのもと種々の DDS 化抗癌剤が海外で開発され、すでに臨床使用されている薬剤もある。国内でも以前より DDS 化抗癌剤の基礎的研究はなされているものの、それ

らるを評価するための臨床試験体制の整備が立ち遅れており、臨床開発において海外から大きく水を開けられている状況にある。

タキソールやSN-38はリポソーム封入が困難であり、そのリポソーム製剤は作製され臨床試験が行われたものの期待された効果は得られなかった。国内でタキソールをミセル化することに成功し、それらの基礎的研究では腫瘍指向性を高めることにより抗腫瘍効果の増強および副作用の軽減が可能となることが示されている。

本研究では、国内で開発されたこれらのミセル製剤を、科学的・倫理的に整備された臨床試験において正しく評価していくための研究体制の構築をおこなう。

2) タキソール内包ミセル

我々はタキソール内包ミセル(NK105)の臨床第I相試験をおこなった。標準治療に不応となった固形癌患者18名に投与を行った。用量制限毒性は好中球減少症であり、神経毒性も軽微であった。リポソーム製剤でみられるようなacute infusion related reactionはみられず、またミセル材料によると考えられる毒性もみられなかった。ゲムシタビン不応な膀胱癌症例でPRが得られ、約11ヶ月間の治療が可能であった。第II相試験での推奨投与量は150mg/m²であり、今後、膀胱癌や卵巣癌を対象とした臨床第II相試験を計画中である。

3) SN-38内包ミセル

SN-38内包ミセル(NK102)を作製し、基礎的検討にて血中滞留性に優れ、抗腫瘍効果の増強および下痢などの消化管障害が軽減することを前臨床試験で確認している。とくにVEGF産生腫瘍に対して強力な抗腫瘍効果を発揮している。本年3月より国立がんセンターにおいてSN-38内包ミセルの臨床第I相試験を開始した。現在、レベル1(2 mg/m²)にて毒性、薬物動態および効果を検討しているところである。今後は現在臨床で使用されているイリノテカンとの比較試験をおこない、ミセル化製剤の臨床的有用性を検証する予定である。

研究成果の刊行発表

外国語論文

1. Y Bae, Y Matsumura, et al. Preparation and biological characterization of polymeric micelle drug carriers with intracellular pH-Triggered Drug Release property: tumor permeability, controlled subcellular drug distribution, and enhanced in vivo antitumor efficacy. *Bioconjugate Chem.*, 16:122-130, 2005.
2. T Hamaguchi, Y Matsumura, et al. NK105, a

paclitaxel-incorporating micellar nanoparticle formulation, can extend in vivo antitumor activity and reduce the neurotoxicity of paclitaxel. *Brit J Cancer.* 92:1240-1246, 2005.

3. H Uchino, Y Matsumura, et al. Cisplatin-Incorporating Polymeric Micelles (NC-6004) Can Reduce Nephrotoxicity and Neurotoxicity of Cisplatin in Rats. *Brit J Cancer.* 93: 678-687, 2005.
4. Praneet Opanasopit, Masayuki Yokoyama, et al., Influence of serum and albumins from different species on stability of camptothecin-loaded micelles, *J. Controlled Release*, **104** 313-321 (2005)
5. Shigeru Kawakami, Masayuki Yokoyama et al., Biodistribution Characteristics of All-trans Retinoic Acid Incorporated in Liposomes and Polymeric Micelles Following Intravenous Administration, *Journal of Pharmaceutical Science*, **94(12)**, 2606-2615 (2005)
6. M Yokoyama. "Polymeric Micelles for the Targeting of Hydrophobic Drugs" *Drug and Pharmaceutical Sciences vol.148 Polymeric Drug Delivery Systems Taylor & Francis*, pp.533-575 (2005)
7. K. Ichikawa, N. Oku, et al.: Antiangiogenic photodynamic therapy (PDT) by using long-circulating liposomes modified with peptide specific to angiogenic vessels *Biochim. Biophys. Acta*, 1669, 69-74 (2005)
8. K. Shimizu, N. Oku, et al.: Applicability of anti-neovascular therapy to drug-resistant tumor: Suppression of drug-resistant P388 tumor growth with neovessel-targeted liposomal adriamycin. *Int. J. Pharm.*, 296, 133-141 (2005)
9. N. Oku and Y. Namba: Glucuronate-modified, long-circulating liposomes for the delivery of anticancer agents *Methods in Enzymology*, 391, 145-162 (2005)
10. T. Asai and N. Oku: Liposomalized oligopeptides in cancer therapy: *Methods in Enzymology*, 391, 163-176 (2005)
11. N. Oku and T. Asai: Imaging Cell Trafficking *Molecular Imaging of the Lungs*, 349-364 (2005)

12. Suzuki S, Kawaguchi T, et al: Prognostic impact of p53 protein overexpression in patients with node-negative lung adenocarcinoma. Cancer Letters, in press, 2005
13. Kawaguchi T, et al: Lack of polymorphism in MUC1 tandem repeats in cancer cells is related to breast cancer progression in Japanese women. Breast Cancer Research and Treatment 92: 223-230, 2005
14. Kawaguchi T: Cancer metastasis: Characterization and identification of the behavior of metastatic tumor cells and the cell adhesion molecules, including carbohydrates. Current Drug Targets-Cardiovascular & Hematological Disorders 5: 39-64, 2005
15. Ayumu Hosokawa, Tetsuya Hamaguchi, et al. Small cell carcinoma of the esophagus. Analysis of 14 cases and literature review. Hepato-Gastroenterol 52: 1738-1741, 2005
16. Yasuhide Yamada, Tetsuya Hamaguchi, et al. Phase I/II study of oxaliplatin with weekly bolus fluorouracil and high-dose leucovorin as first-line therapy for patients with colorectal cancer. Jpn J Clin Oncol (in press)
17. Ayumu Goto, Tetsuya Hamaguchi, et al. Phase II study of combination therapy with S-1 and irinotecan in patients with advanced colorectal cancer. Ann Oncol (in press)