

## 5. 大腸がん二次治療においてベバシズマブの継続投与 (beyond progression) はすべきか？

### 1 序論

ベバシズマブ (BV) は血管内皮増殖因子 (VEGF) を標的とした分子標的薬である。BV のような抗 VEGF 療法を行うと腫瘍血管の退縮がみられるが、治療を中止すると速やかに腫瘍血管の再増殖が観察されること<sup>1)</sup>、BV の耐性化機序は、BV の VEGF に対する効果そのものが低下するのではなく、腫瘍のライフサイクルの後半においては VEGF 以外の血管新生因子 (bFGF や PDGF など) が惹起されるため、相対的に BV の効果が低下することによると考えられており、BV を継続投与することで部分的・相補的な効果は持続すると思われること<sup>2)</sup>など、前臨床で VEGF 経路を継続的に遮断することが重要であることが報告されている。これらの報告を根拠に、BV を含む化学療法が無効となった場合に BV を継続投与するアプローチ (BBP: bevacizumab beyond PD) が実臨床で用いられるようになってきている。現在、前向き臨床試験で BBP の有用性を検証中である。本稿では、切除不能・進行再発大腸がんにおける BBP の現状について概説する。

### 2 コンセンサス

切除不能・進行再発大腸がんにおいて BV を含む一次治療の効果が増悪 (PD) となった場合の二次治療における BV の継続投与の有用性については、観察研究の報告 (エビデンスの項参照) があるのみで、まだ一定の見解が得られていない。NCCN ガイドラインや本邦の大腸がん治療ガイドライン<sup>3)</sup>では BBP は推奨されておらず、BV は一次化学療法が PD となるまでの使用が標準的と考えられている。

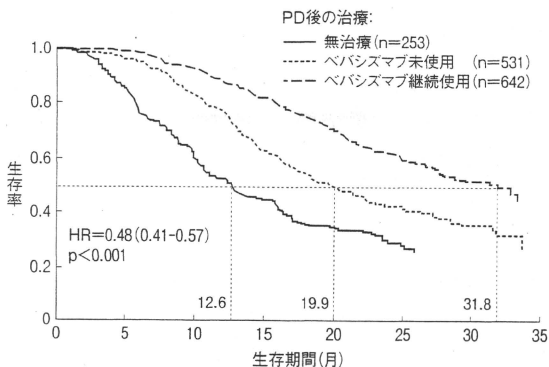
### 3 エビデンス

1) Grothey A, et al (J Clin Oncol. 2008; 26: 5326-34)<sup>4)</sup>

目的: 切除不能・転移性大腸がん患者の BV を含む一次治療例対象とした観察研究である BRiTE 試験の症例を対象に種々の治療前後の因子 (BBP を含む) と生存との関連を検討。

対象: 1953 例の登録例のうち BV を含む一次治療投与期間に増悪の確認をされた 1445 例。

方法: 観察的コホート研究。対象患者を PD 後に治療を行わなかった群 (非治療群, 253 例)、PD 後に BV を使用しない治療を行った群 (no BBP 群, 531 例)、PD 後に BV を含む治療を行った群 (BBP 群, 642 例) の 3 群に分類し安全性と有効性を評価。



【図1】 BRITE 試験: ペバシズマブ併用療法で PD 後の二次治療別の生存期間 (Grothey A. et al. J Clin Oncol. 2008; 26: 5326-34)<sup>4)</sup>

結果: BBP 群と no BBP 群の比較において, 一次治療からの全生存期間 (19.9 vs. 31.8 カ月) (図 1), 初回 PD 後の生存期間 (9.5 カ月 vs. 19.2 カ月) のいずれにおいても BBP 群で有意に良好であり, 多変量解析においても BBP は独立した予後因子であった。

## 2] Cohn AL, et al [J Clin Oncol. 2010; 28: 7s (suppl; abstr 3596)]<sup>5)</sup>

目的: 切除不能・転移性大腸がん患者の BV を含む一次または二次治療例対象とした観察研究である ARIES 試験の症例を対象に種々の治療前後の因子 (BBP を含む) と生存との関連を検討。

対象: 1546 例の登録例のうち BV を含む一次治療投与期間に増悪の確認をされた 1097 例。

方法: 観察的コホート研究。対象患者を PD 後に治療を行わなかった群 (非治療群, 127 例), PD 後に BV を使用しない治療を行った群 (no BBP 群, 417 例), PD 後に BV を含む治療を行った群 (BBP 群, 539 例) の 3 群に分類し二次治療の有効性と安全性を検討。

結果: 一次治療増悪後の生存期間は非治療群 5.2 カ月, no BBP 群 8.5 カ月, BBP 群 16.3 カ月。多変量解析において BBP は独立した予後因子であった。BV の継続使用によっても BV に特徴的な有害事象が増加することがなかった (消化管穿孔 0.2%, 血栓塞栓症 1.9%, 出血 3.7%)。

## 4 根拠となった臨床研究の問題と限界

BRITE 試験の BBP のデータは後解析であるのに対して, ARIES 試験は試験開始より BBP の検討が計画されていたという違いはあるが, 両試験とも観察的コホート研究である。そのため, 各患者群の振り分けは無作為化されていないためにいくつかの重要なバイアスが除去でき

ないことが大きな問題点としてあげられる。BRiTE 試験では一次治療で増悪した後の背景因子のうち予後不良とされる因子（腫瘍が増悪した時点での PS、合併症、急速な腫瘍の増悪、腹膜転移など）が明らかでないことが指摘されている<sup>6)</sup>。そのため BV 継続投与で予後が延長したのか、BV が継続できる全身状態だから予後が延長したのかは明確になっていない。

## 5 本邦の患者に適応する際の注意点

本邦では BV を含む一次治療で増悪した場合の BV 継続使用は保険適応があり、実臨床で BBP のアプローチを行うことは可能である。しかし、前項でも述べたように有効性に関して十分なエビデンスがないため、現在のところは、臨床試験にて行うべき使用方法であると考えられる。実臨床で BBP のアプローチを行う場合には、有効性が十分に検証されていないこと、BV に特有の重篤な有害事象（腸管穿孔、血栓症、高血圧など）や治療関連の費用の増加などのデメリットがあることを十分に説明したうえで投与を適応していく必要がある。

一次治療に BV が投与され、一次治療の効果が持続しているが、抗がん剤の有害事象により投与継続が困難になった場合に関しては BV を継続投与することが望ましいとされている<sup>3)</sup>。

## 6 コメント（今後の展望）

現在、KRAS wild type 症例の二次治療においては上皮成長因子（EGFR）を標的とした分子標的薬であるセツキシマブやパニツムマブの従来の化学療法（FOLFIRI, CPT-11 など）に対する上乗せ効果が報告されており、臨床導入を考慮しなければならない。

現在、BBP の妥当性検証や BBP と抗 EGFR 抗体併用療法との比較検証を行うべく、以下の3つの無作為化比較試験が進行中である。

AIO0504 試験（図2 上段）は BV を含む標準的な一次治療に無効となった症例を対象として標準的な二次化学療法単独を control arm, BV を継続し併用する群を試験 arm として BV の上乗せ効果（BBP の意義）を比較検証する第 III 相試験である<sup>7)</sup>。SWOG0600 試験（図2 下段）は BV を含むオキサリプラチンベースの一次治療に無効となった KRAS wild type 症例

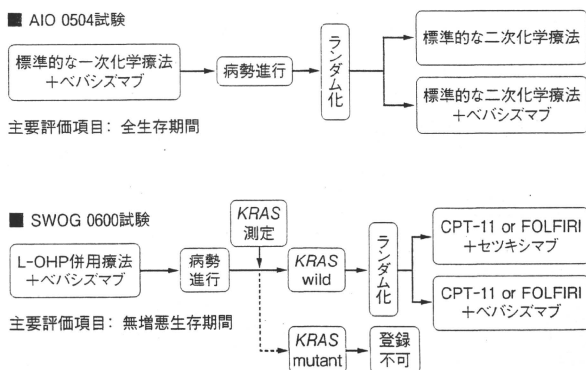


図2 現在進行中のBBPの有効性を検証する第III相試験

を対象として塩酸イリノテカンベース化学療法+セツキシマブと塩酸イリノテカンベース化学療法+ BV (BBP) を比較する第 III 相試験である。SPIRITT 試験は BV を含むオキサリプラチンベースの一次治療に無効となった *KRAS* wild type 症例を対象として FOLFIRI + パニツムマブと FOLFIRI + BV (BBP) を比較する第 II 相試験である<sup>8)</sup>。

これらの試験の結果により、BV を含む一次治療が無効となった場合の *KRAS* status を考慮した二次治療の治療戦略が明らかになると考えられ、その結果が待たれる。

#### ■文献■

- 1) Mancuso MR, Davis R, Norberg SM, et al. Rapid vascular regrowth in tumors after reversal of VEGF inhibition. *J Clin Invest.* 2006; 116: 2585-7.
- 2) Folkman J. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nat Rev Drug Discov.* 2007; 6: 273-86.
- 3) 大腸がん治療ガイドライン 医師用 2009年版. In: 大腸がん研究会, 編. 金原出版; 2010.
- 4) Grothey A, Sugrue MM, Purdie DM, et al. Bevacizumab beyond first progression is associated with prolonged overall survival in metastatic colorectal cancer: results from a large observational cohort study (BRiTE). *J Clin Oncol.* 2008; 26: 5326-34.
- 5) Cohn AL, Bekaii-Saab T, Bendell JC, et al. Clinical outcomes in bevacizumab (BV)-treated patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Results from ARIES observational cohort study (OCS) and confirmation of BRiTE data on BV beyond progression (BBP). *J Clin Oncol.* 2010; 28: 7s (suppl: abstr 3596).
- 6) Kopetz S, Abbruzzese JL. Hidden biases in an observational study of bevacizumab beyond progression. *J Clin Oncol.* 2009; 27: 1732-3.
- 7) Arnold D, Reinacher-Schick A, Müller A, et al. Bevacizumab (Bev) beyond progression (BP) in combination with second-line chemotherapy (CT) after failure of a Bev containing first-line CT in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC). Preliminary baseline and safety analysis from the AIO 0504/AGMT phase III study. ASCO-GI 2008 (abstr 469).
- 8) Cohn AL, Krishnan K, Hecht JR, et al. SPIRITT: A multicenter, open-label, randomized, phase II clinical trial evaluating safety and efficacy of FOLFIRI with either panitumumab or bevacizumab as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) with wild-type *KRAS* tumors. *J Clin Oncol.* 2010; 28: 7s (abstr TPS195).

〈仁科智裕〉

## 第2章 治療

## 3) 薬物療法

## ④ 外来化学療法の実際（システムとマネジメントのポイント）

仁科智裕

がん外来化学療法はこの数年で急速に普及してきた。その理由として、患者生活の質の向上が求められていること、有効な薬剤の開発、有害事象対策の進歩などの医学的な側面や、医療費総額抑制政策、外来化学療法加算、診断分類別包括評価（DPC）の導入、病院-診療所連携の普及など社会的側面がある。外来化学療法を安全に実施するには、施設、設備などのハードウェア面、医師、看護師、薬剤師、その他のコメディカルなどのスタッフ面、セーフティマネジメントなどの運用面など充足すべき多くの課題がある。本稿では外来化学療法を安全・確実に実施するためのシステムと管理のポイントについて解説する。

## 1 外来化学療法のシステム

## 1) 外来化学療法に必要な設備および要件

## a. 外来化学療法室

外来化学療法加算の施設基準には、「①外来化学療法を行うにつき必要な体制が整備されていること ②外来化学療法を行うにつき必要な機器及び十分な専用施設を有していること」と記載されており、がん化学療法において専用の外来化学療法室が必要となる。なお、外来化学療法を実施している間は、当該治療室を外来化学療法その他の点滴注射（輸血を含む）以外の目的で使用することは認められないこととなっている。外来化学療法室に必要な物品・環境について表1に示す。

表1◆ 外来化学療法室に必要な物品・環境

- 専用のベッド（点滴注射による化学療法を実施するに適したリクライニングシートを含む）
- アナフィラキシーショックなどの緊急事態や血管外漏出に対する薬剤、物品などを備えた救急カート
- 酸素吸入設備
- アメニティ向上に対する配慮のための照明、音楽など

## b. 薬剤調整室

細胞毒性のある薬剤の調整には安全キャビネット内で無菌製剤処理ができる環境を整えることが望ましい。薬剤調整室を薬剤科に設置するセントラル調剤と外来化学療法室に設置するサテライト調剤がある。セントラル調剤では薬剤師の人員が集中できるため調剤効率が良いことがメリットとあげられる。サテライト調剤では多職種がそろっているためリアルタイムでの情報共有が可能であること、患者の待ち時間の軽減につながることなどのメリットがある。

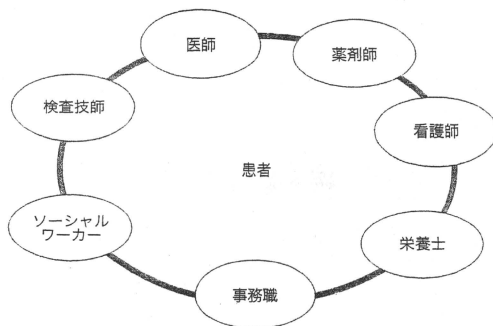


図1 ◆ 患者を中心としたチーム医療

memo

安全キャビネット

クラスⅠからⅢがあるが、抗がん剤調整にはクラスⅡが用いられる。キャビネット内の空気はHEPAフィルターでろ過・滅菌され、その空気によって前面の開口部にエアバリアーを作る構造になっている。そのため無菌的に調整ができるうえに、作業者の細胞毒性のある薬剤への被曝を防ぐことができる。

c. 必要なスタッフと役割

がん化学療法には多職種によるチーム医療が必須である。チーム医療を円滑に進めるためには各職種の役割分担を明確にすること、専門性を追求すること、そして緊密な連携をとっていくことが必要である。外来化学療法に必要なスタッフおよび化学療法加算における要件とそれぞれのスタッフの主な役割について述べる(図1)。

i 医師

化学療法の経験を5年以上有する専任の常勤医師が勤務していることが必要である。処方医である主治医と外来化学療法室の専任医師は別に設ける方がよい。また、専任医師はがん薬物療法専門医等の認定を受けていることが望ましい。

標準プロトコルの作成と登録、説明と同意、EBMに基づいた治療方針の決定・説明、治療効果・有害事象の評価、薬剤の処方などの役割がある。専任医師は外来化学療法室に常駐し血管確保や抗がん剤の漏出や急変時の対応、後述の外来化学療法の運営や管理などの委員会では中心的役割を担うことが望まれる。

ii 看護師

化学療法の経験を5年以上有する専任の常勤看護師が勤務していることが必要である。専門的な知識と経験が求められるため、がん化学療法看護認定看護師やがん専門看護師の認定を受けていることが望ましい。

治療の実施(前投薬の調製、薬剤科調製薬剤の確認、血管確保、点滴管理、有害事象の観察、報告、記録)、患者の教育・指導、各部署との調整、患者・家族の心理的支援、治療選択における意思決定への支援など多くの役割が求められる。

### iii 薬剤師

化学療法の実験を5年以上有する専任の常勤薬剤師が勤務していることが必要である。がん薬物療法認定薬剤師や専門薬剤師などの教育認定を受けていることが望ましい。内服薬が中心となる胃癌化学療法においては院外調剤薬局の薬剤師の役割も重要となる。

登録レジメンの管理、院内処方調剤・監査、レジメンの監査、抗がん剤無菌調製、外来患者への薬剤管理指導・副作用モニタリング、他職種への情報提供・研修会の企画など多くの役割を担う。

### iv 検査技師

血液検査（末梢血一般検査、白血球分類検査、生化学検査など）を担当する。

### v ソーシャルワーカー

地域医療連携や医療費問題（Pitfall参照）についての解決を行う。

### vi 事務職

全体的なシステムの管理、書類整理・作成、緊急入院の確保、施設費などの費用確保、診療報酬審査（レセプト）への対応などを担当する。

### vii 緩和医療チーム（精神科医、臨床心理士を含む）

進行再発症例では心理サポートや疼痛コントロールなどの緩和医療が重要となる。緩和医療チームとの治療開始早期よりの連携が望ましい。

### viii その他のスタッフ

栄養士、クラーク、臨床試験コーディネーター、各種の認定・専門看護師など、多くの職種が外来化学療法には必要となる。

## **pitfall**

### 医療費の問題

治療が長期になると医療費の負担が大きくなることや、外来治療では生命保険などの補填が少ないなどの経済的問題で治療継続が困難な症例が増えてきている。そのため高額な治療になる場合の費用説明は必要である。

経済的問題への対応方法として高額療養費制度がある。70歳未満では高額療養費貸付制度、高額療養費受領委任払制度が利用できる場合がある。そのほか利用できる制度の活用として、生命保険・傷病手当・雇用保険、障害年金・身体障害者手帳外来治療などがある。

医療従事者（特に医師）はこれらの制度があることを知り、相談を受けた場合はソーシャルワーカーに紹介するなどの対応を行う。

## d. 外来化学療法における診療報酬請求

2010年8月現在で外来化学療法加算、抗悪性腫瘍剤処方管理加算、無菌調剤処理料などがある。請求には前述のように施設基準が設けられており、施設内で十分に検討を行う必要がある。



### 院外調剤薬局との連携

医薬分業の推進に伴って院外処方箋の発行率が高くなっている病院では、S-1等の内服抗がん剤の場合には当該患者の情報管理が十分にできないことがある。そのため、院外薬局との情報共有が重要と考え、四国がんセンターでは院外保険薬局との研修会・協議会を定期的に行っている。また、患者・病院・薬局間の情報共有と意識の統一をはかるため、連携用の患者日誌（図2）を作成し使用している。共有情報の内容としては患者目標（医師からの病名・病状・治療法の説明内容、今後の目標）、身体状況（CTC-AEを基にした副作用自己評価）、支援内容などである。

あなたの病気の名前は		かかっている病院や診療所、開業の先生があれば教えてください。	
あなたの病気の状況は 【現病歴】		かかっている病院などの名前	かかっている病気の名前
ほかにかかっている病気 【既往歴】			
治療のスケジュールは（ ）週投薬（ ）週休み			
*医療スタッフのかたへ* 治療計画（レジメン）貼付をお願いします。		今、飲んでいるお薬（ほかの病院で処方されている）があれば教えてください。	
		*医療スタッフのかたへ* 既往歴と内服薬の確認をお願いします。 服薬指導薬をお持ちの場合はコピーをファイルしてください。 （または、用紙のファイルをお願いします）	

図2◆ 医療連携における患者日誌

## 2 外来化学療法の実際

### 1) 治療前日まで

#### a. 治療方針の決定

治療方針に関してはカンサーボード（memo参照）において多職種で検討されることが望ましい。

**memo**

#### カンサーボード

がん患者の病態に応じたより適切ながん医療を提供できるよう、手術、放射線療法および化学療法に携わる専門的な知識及び技能を有する医師、その他の専門を異にする職種によるがん患者の症状、状態及び治療方針などを意見交換・共有・検討・確認等するためのカンファレンスをいう。

#### b. インフォームドコンセント

診断確定後、病名告知および治療の説明が実施され、患者および家族の同意を得る。がん化学療法の目的・効果・副作用に関して十分な理解が得られるよう努める。

#### c. 患者へのオリエンテーション

外来化学療法の来院から治療終了までの流れについて医師・看護師・薬剤師などのスタッフより説明を行う。在宅時における重篤な副作用発現時、病状悪化時の緊急対応に関して施設での対応が可能かどうかを検討し、対応が困難な場合は連携病院への事前に紹介をしておくことが望まれる。

#### d. 診察および通院治療室の予約

担当医の診察および通院治療室の予約を原則とする。多職種による事前の監査が可能になることにより、安全に投与できる患者数を保つためにも重要である。



投与時間が長いレジメン、患者来院の都合、診察時間の都合などにより混雑時間ができると安全な投与への影響がでるため、開始時間や治療時間も考慮に入れた予約システムの構築を考える必要がある。

### e. レジメンの処方

レジメン登録（次項参照）されたレジメンに従い、前日までに指示をしておく。多職種による監査（薬剤師は薬剤の種類と投与量、投与間隔、看護師は指示の抜け落ちなど）を行う。

## 2) 治療当日

### a. 治療前の情報共有

治療前に治療予定患者についての情報共有を行う。各施設の事情にもよるが多職種によるカンファレンスを設けることが望ましい。

### b. 診療の流れ

四国がんセンターにおける外来化学療法の診療の流れについて図3に示す。

抗がん剤投与における血管確保は医師または高度な知識・技術をもった専門の看護師が行うことが望ましい（memo参照）。

採血結果が治療実施の可否に必要なレジメンも多く、採血時間を始業よりも早めたり、人員の配置などにより迅速に採血結果を出せる体制（末梢血液一般検査、白血球分類検査は15分、生化学を含めて30分）を構築することが望まれる。

薬剤投与開始直後には、アナフィラキシーショックなどの過敏性反応が出る可能性がある。点滴開始時と終了時には、看護師の監視体制を強化するとともに、医師への緊急連絡体制を決めておく必要がある。

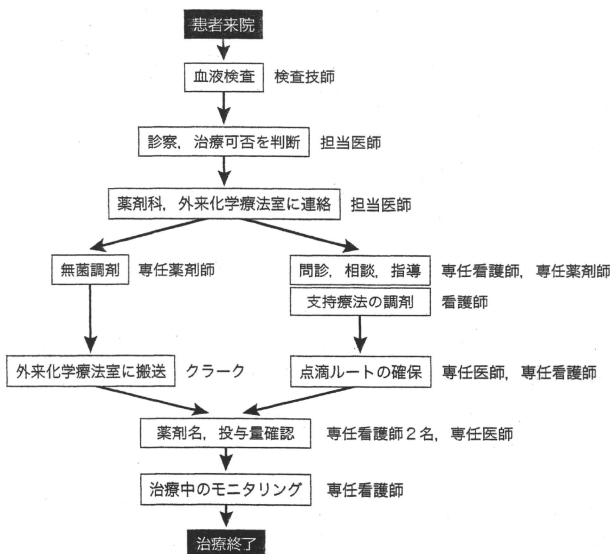


図3◆ 外来化学療法室を利用する化学療法における診療の流れ

## memo

## 抗がん剤投与における血管確保

看護師の静脈注射については、2002年9月30日「医師又は歯科医師の指示の下に、保健師、助産師、看護師および准看護師が行う静脈注射は、保健師助産師看護師法第5条に規定する診療の補助行為の範疇として取り扱う」との医政局長通知が出され、看護師の行うべき業務であることが確認されているが、抗がん剤については日本看護協会の静脈注射の実施に関する指針ではレベル3「一定以上の臨床経験を有し、かつ、専門の教育を受けた看護師のみが実施することができる」と明記されている。例としてがん化学療法看護認定看護師、がん専門看護師などがあげられている。施設内での専門の看護師を育成している施設もある。

## 3 外来化学療法のマネジメント

## 1) 委員会

## a. 委員会の概要と業務

がん化学療法（入院・外来）に関する企画・運営・管理を行う委員会を組織することが望ましい。委員会の具体的な業務としてはがん化学療法の運営、規程の改正、細則・実施基準の整備、レジメン管理、各部門の業務改善、マニュアルの整備、他の委員会との連携、外来化学療法室の運営などがあげられる。

## b. 委員会のメンバー

全体のまとめ役としての医師（委員長）、外来化学療法専任医師、各診療科の化学療法に関わる医師、看護師（外来化学療法室、外来、病棟）、薬剤師、病院事務などがあげられる。

## 2) レジメン管理の実際

## a. レジメンの管理

目的は医療安全の確保、がん薬物療法の標準化、院内業務の効率化であり、前述の委員会においてレジメンの審査、登録、見直し等を行う。

## b. レジメン事前登録（図4）

レジメン審査表（図5）を用いて事前に登録を行う。登録レジメンの医学的妥当性に関して前述の委員会では審査を行う。登録の具体的な内容としては支持療法、薬剤量、投与時間、投与間隔、主な副作用、減量基準、薬剤の投与量の上限、エビデンスの文献などである。レジメンに規定していない変更は認めないこととする。

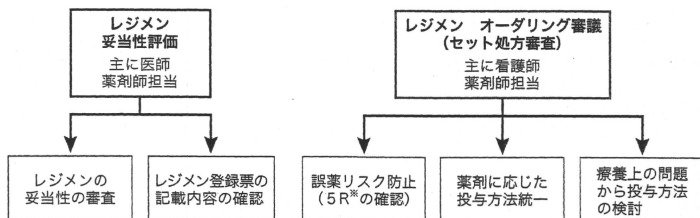


図4◆ 委員会によるレジメン審査

※5R：Right Patient, Right Drug, Right Dose, Right Route, Right Time

申請日 西暦 年 月 日

更新日 西暦 年 月 日

(登録レジメン名称)		申請グループ			
療法		代表医師			
対象がん腫	実施場所	臨床使用分類		投与時患者状態	
	<input type="checkbox"/> 入院のみ <input type="checkbox"/> 外来のみ <input type="checkbox"/> 入院、外来 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> 日常診療 <input type="checkbox"/> 単施設研究 (IRB 認可済) <input type="checkbox"/> 多施設研究 (IRB 認可済) <input type="checkbox"/> 市販後臨床試験 (IRB 認可済) <input type="checkbox"/> 治験 (IRB 認可済) <input type="checkbox"/> 保険適応外 (IRB 認可済)		<input type="checkbox"/> 初発 (1st line) <input type="checkbox"/> 再発・難治性 (2nd line) <input type="checkbox"/> 再発 (3rd line 以降) <input type="checkbox"/> 術後補助療法 <input type="checkbox"/> 術前補助療法 <input type="checkbox"/> 緩和療法	
番号	薬剤一般名	投与量 mg/m <sup>2</sup> or mg/kg or mg/body	投与時間 / 速度 (どちらか片方を記載)	投与経路 (経口 or 静脈 or 皮下 or 動脈)	投与日 (例: day1 - 5 or day8 等)
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
投与期間					
標準投与回数		最大投与回数			
最大投与量の規定					
休薬期間短縮規定					
予想される副作用					
減量基準					
増量基準					
最も重要な文献	タイトル				
	雑誌名				
	年号、巻、ページ				
	試験の種類 (いずれかを選択)	ランダム化比較試験のメタアナリシス (1a)、ランダム化比較試験 (1b)、ランダム割り付けを伴わない同時コントロールを伴うコホート研究 (2a)、ランダム割り付けを伴わない過去のコントロールを伴うコホート研究 (2b)、後方視的研究 (3)、対照群を伴わない研究 (4)、症例報告 (5)			
	総症例数				
	論文の要点 endpoint の結果は必須 PDF をメールに 添付し提出				

2009.9.7 独立行政法人国立病院機構四国がんセンター がん化学療法委員会

図5 ◆ レジメン審査表 (四国がんセンター版)

レジメンセットを作成し、処方の際にはセットを呼び出して処方する。個々の薬剤を呼び出し、その都度レジメンを構築することによる過誤を防ぐことができる。

### c. 支持療法や溶液の統一

同一薬剤の支持療法（悪心・嘔吐予防，アレルギー予防），レジメンの希釈液，希釈量における診療科ごとのばらつきは委員会の判断で整理統一する。

## 3) 患者教育と指導・支援

外来化学療法においては副作用のアセスメントと初期対応を行うのは患者本人である。胃癌化学療法におけるメインの薬剤は経口内服薬（S-1）であり，服薬管理も行う必要がある。そのため，抗がん剤による副作用症状の種類とその程度，対処方法や薬剤の管理についての教育・指導が非常に重要となる。

治療前にはセルフアセスメントや自己管理が可能か，身近に援助をしてくれる人は存在するかの確認を行う。教育・指導は目標を決めて，患者の理解度に合わせて段階的に行う。主には看護師・薬剤師が指導を行うが，専門職へのコンサルトを行うなど医療チームでの支援が望まれる。

## 4) 在宅時の緊急対応の体制

大部分の化学療法は，外来通院で安全に実施可能である。しかし，重篤な副作用や病状の悪化した場合の緊急対応の体制作りは必須である。前述の外来化学療法加算には，緊急事態に備え，患者が入院できる体制が確保されていること，または他の保険医療機関との連携により，緊急時に当該患者が入院できる体制が整備されていることも要件として求められている。

### a. 緊急連絡先について

緊急時の連絡先について施設内で統一化し，連絡先について患者に明示しておく（図6）。四国がんセンターでは業務時間内の対応は日中はがん相談支援・情報センターの専属の対応係（看護師，ソーシャルワーカーなど），夜間・休日は当直師長が対応を行う。電話による問診により状態を確認し対応可能であればその場で対応を行う。副作用や病状の程度で医師の対応が必要と判断した場合には，主治医だけでなく各種の専門スタッフにも連絡をとる。

### b. 他科や地域医療機関との連携

副作用の中には担当医では対応が困難なものもあり，院内の他科や地域医療機関と事前に連携を行っておくことで迅速な対応が可能となる。

### c. 緊急の入院体制

緊急入院に対応できるよう空床を確保し，その状態を把握しておく。

## Point

- ▶ 外来化学療法には多職種が連携したチーム医療が必須
- ▶ システムは委員会により組織的に企画・運営・管理する
- ▶ 患者自身による副作用対応・服薬管理が必要となるため教育・指導が重要
- ▶ 重篤な副作用や病状の悪化に対応できるシステムの構築が重要

## 患者に知らせておくべきこと

1. 緊急連絡が必要な症状について記載
2. 連絡先を明記  
①平日の8時30分～17時15分  
②夜間、休日  
それぞれの電話連絡と対応部署を明記
3. 電話連絡時に、何を伝えればいいのか、読めばいいように準備、説明
4. 電話を行っていいか迷ったときには電話をするように説明
5. 24時間連絡可能であることを説明

## 連絡先について患者に配布している用紙

### 化学療法を受けられる方へ

化学療法を受けている間は、治療後の副作用や患者さんの状態が非常に重要です。次に示すことがありましたら、速やかに連絡ください。

- 下痢 治療前に比べて1日の排便回数が 回以上に増えた場合  
(ストーマの方はストーマからの排出が治療前に比べて増え、日常生活に支障が出る場合)
- 1日6回以上の嘔吐がある場合
- 2～3日間、ほとんど水分も食事も取れない場合
- 38℃以上の熱が2日間以上続く場合
- 会話ができない、意識が朦朧とするなどの症状がある場合
- 胸が苦しい、息苦しい、激しい痛みなどの症状がある場合
- その他、治療前後で全身が悪化していると感じられる場合

● \_\_\_\_\_  
● \_\_\_\_\_  
● \_\_\_\_\_

[病院への連絡先]  
平日：8：30から17：15 がん相談支援・情報センターが対応します  
000-000-0000 (直通)  
平日夜間と土日の終日：当医師長が対応します 000-000-1111 (代表)  
<以下をお伝えください>

私は \_\_\_\_\_ (ご自身のお名前) \_\_\_\_\_ です。  
診察券の番号は \_\_\_\_\_ です。  
\_\_\_\_\_ 科 \_\_\_\_\_ 医師の外来で抗がん剤化学療法を受けています。  
今困っていることは \_\_\_\_\_ です。

図6◆在宅時の緊急連絡の体制

## 文 献

- 1) 「がん外来化学療法マニュアル」(国立がんセンター中央病院、病院治療センター編)、南江堂、2009
- 2) 「外来がん化学療法マニュアル」(佐々木康綱 監修)、文光堂、2009  
→上記2書は外来化学療法についてのシステムから実際について大変参考になるマニュアルである。
- 3) 「胃がん標準化学療法の実際」(山口研成 編)、金原出版、2007  
→胃癌の化学療法についてチーム医療における実地臨床の役割分担の詳細が述べられている。
- 4) 「抗がん剤レジメン管理ガイド」(国立がんセンター中央病院 薬剤部 編)、じほう、2008  
→がん化学療法に必須のレジメン管理についてのすべてが記載されており参考となる。
- 5) 「チームで進めるがん外来化学療法」(藤原康弘 監修)、日経メディカル開発、2009  
→地域調剤薬局との連携についても記載されており参考になる。

## Profile

仁科智裕 (Tomohiro Nishina)

四国がんセンター 消化器内科 医員

1996年3月岡山大学卒業、2001年8月より現職。医学博士。日本臨床腫瘍学会がん薬物療法専門医。

研究テーマ：消化器悪性腫瘍に対する薬物療法

## SNP Communication

### Genetic Variations and Haplotypes of *ABCC2* Encoding MRP2 in a Japanese Population

Kimie SAI<sup>1,2,\*</sup>, Yoshiro SAITO<sup>1,2</sup>, Masaya ITODA<sup>1</sup>, Hiromi FUKUSHIMA-UESAKA<sup>1</sup>,  
Tomoko NISHIMAKI-MOGAMI<sup>2</sup>, Shogo OZAWA<sup>1,3,a</sup>, Keiko MAEKAWA<sup>1,2</sup>, Kouichi KUROSE<sup>1,4</sup>,  
Nahoko KANIWA<sup>1,4</sup>, Manabu KAWAMOTO<sup>5</sup>, Naoyuki KAMATANI<sup>5</sup>, Kuniaki SHIRAO<sup>6,b</sup>,  
Tetsuya HAMAGUCHI<sup>6</sup>, Noboru YAMAMOTO<sup>6</sup>, Hideo KUNITOH<sup>6</sup>, Yuichiro OHE<sup>6</sup>,  
Yasuhide YAMADA<sup>6</sup>, Tomohide TAMURA<sup>6</sup>, Teruhiko YOSHIDA<sup>7</sup>, Hironobu MINAMI<sup>8,c</sup>,  
Yasuhiro MATSUMURA<sup>9</sup>, Atsushi OHTSU<sup>10</sup>, Nagahiro SAJIO<sup>11</sup> and Jun-ichi SAWADA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Project Team for Pharmacogenetics, <sup>2</sup>Division of Functional Biochemistry and Genomics,

<sup>3</sup>Division of Pharmacology, <sup>4</sup>Division of Medicinal Safety Science,  
National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan

<sup>5</sup>Division of Genomic Medicine, Department of Advanced Biomedical Engineering  
and Science, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

<sup>6</sup>Division of Internal Medicine, National Cancer Center Hospital

<sup>7</sup>Genomics Division, National Cancer Center Research Institute, National Cancer Center, Tokyo, Japan

<sup>8</sup>Division of Oncology/Hematology,

<sup>9</sup>Investigative Treatment Division, Research Center for Innovative Oncology,

<sup>10</sup>Division of GI Oncology/Digestive Endoscopy,

<sup>11</sup>Deputy Director, National Cancer Center Hospital East, Chiba, Japan

Full text of this paper is available at <http://www.jstage.jst.go.jp/browse/dmpk>

**Summary:** The multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) encoded by the *ABCC2* gene is expressed in the liver, intestine and kidneys and preferentially exports organic anions or conjugates with glucuronide or glutathione. In this study, all 32 exons and the 5'-flanking region of *ABCC2* in 236 Japanese were resequenced, and 61 genetic variations including 5 novel nonsynonymous ones were detected. A total of 64 haplotypes were determined/inferred and classified into five \*1 haplotype groups (\*1A, \*1B, \*1C, \*1G, and \*1H) without nonsynonymous substitutions and \*2 to \*9 groups with nonsynonymous variations. Frequencies of the major 4 haplotype groups \*1A (-1774delG), \*1B (no common SNP), \*1C (-24C>T and 3972C>T), and \*2 [1249G>A (Val417Ile)] were 0.331, 0.292, 0.172, and 0.093, respectively. This study revealed that haplotype \*1A, which has lowered activity, is quite common in Japanese, and that the frequency of \*1C, another functional haplotype, was comparable to frequencies in Asians and Caucasians. In contrast, the haplotypes harboring 3972C>T but not -24C>T (\*1G group), which are reportedly common in Caucasians, were minor in Japanese. Moreover, the allele 1446C>T (Thr482Thr), which has increased activity, was not detected in our Japanese population. These findings imply possible differences in MRP2-mediated drug responses between Asians and Caucasians.

**Keywords:** *ABCC2*; MRP2; genetic variation; haplotype; amino acid change

Received; October 15, 2007, Accepted; December 5, 2007

\*To whom correspondence should be addressed: Kimie SAI, Ph.D., Division of Functional Biochemistry and Genomics, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan. Tel: +81-3-3700-9478, Fax: +81-3-3707-6950, E-mail: [sai@nih.go.jp](mailto:sai@nih.go.jp)

<sup>a</sup>Present address: Department of Pharmacodynamics and Molecular Genetics, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Iwate Medical University, Iwate, Japan.

<sup>b</sup>Present address: Department of Medical Oncology, OITA University Faculty of Medicine, Yufu, Japan

<sup>c</sup>Present address: Medical Oncology, Department of Medicine, Kobe University Hospital and Graduate School of Medicine, Kobe, Japan.

As of October 7, 2007, the novel variations reported here are not found in the database of Japanese Single Nucleotide Polymorphisms (<http://snp.ims.u-tokyo.ac.jp/>), dbSNP in the National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>), or PharmGKB Database (<http://www.pharmgkb.org/>).

This study was supported in part by the Program for the Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation, and Health and Labor Sciences Research Grants from the Ministry of Health, Labor and Welfare.

## Introduction

The multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) or canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT) is a 190–200 kDa transmembrane glycoprotein comprised of 1545 amino acids and belongs to the superfamily C of ATP-binding cassette (ABC) transporters. This transporter is expressed on hepatic canalicular membranes, intestinal apical membranes, luminal membranes of renal proximal tubules, placental epithelial cells, and the blood brain barrier.<sup>1)</sup> MRP2 exports endogenous and exogenous substances, preferentially organic anions or conjugates with glucuronide, glutathione and sulfate.<sup>1–3)</sup> This protein originally identified in cisplatin-resistant tumor cells<sup>4)</sup> is shown to confer drug resistance to other anti-cancer drugs, such as vincristine and doxorubicin.<sup>5,6)</sup>

MRP2 is encoded by the *ABCC2* gene located on chromosome 10q24 and consists of 32 exons (31 coding exons) and spans 69 kb. Several *ABCC2* genetic variations have been detected in patients with Dubin-Johnson syndrome (DJS), an autosomal recessive disease characterized by hyperbilirubinemia with conjugated bilirubin or increased coproporphyrin excretion in urine.<sup>2,7)</sup> Recent studies on *ABCC2* have identified common single nucleotide polymorphisms (SNPs) such as  $-24C>T$  and  $-3972C>T$  (Ile1324Ile) among several ethnic populations, and several studies have suggested their association with altered MRP2 expression or function.<sup>8–17)</sup> In more recent studies on *ABCC2* haplotypes covering an extended 5'-flanking region, close linkages were found among  $-1549A>G$  in the 5'-flanking region and two common SNPs  $-24C>T$  and  $-3972C>T$  (Ile1324Ile).<sup>8)</sup> In addition, as possible functional SNPs,  $-1774delG$  in Koreans<sup>9)</sup> and  $-1019A>G$  in Caucasians<sup>10)</sup> were reported. However, there is little information on detailed haplotype structures throughout the gene, and comprehensive haplotype analysis in Japanese has not yet been conducted.

We previously analyzed *ABCC2* genetic variations within all 32 exons and the proximal 5'-flanking region (approximately 800 bp upstream of the translation initiation site) using established cell lines derived from Japanese cancer patients to obtain preliminary information on *ABCC2* SNPs in Japanese.<sup>18)</sup> In this study, to reveal *ABCC2* haplotype structures in Japanese, we resequenced the *ABCC2* gene including the distal 5'-upstream region (approximately 1.9 kb upstream from the translation initiation site) as well as all 32 exons in 236 Japanese subjects and conducted haplotype analysis using the detected genetic polymorphisms.

## Materials and Methods

**Human DNA samples:** Genomic DNA samples were obtained from blood leukocytes of 177 Japanese cancer patients at two National Cancer Center Hospitals (Tokyo and Chiba, Japan) and Epstein-Barr virus-transformed lymphoblastoid cells prepared from 59 healthy Japanese volun-

teers at the Tokyo Women's Medical University under the auspices of the Pharma SNP consortium (Tokyo, Japan). Written informed consent was obtained from all subjects. Ethical review boards of all participating organizations approved this study.

**PCR conditions for DNA sequencing:** We sequenced all 32 exons of the *ABCC2* gene and approximately 800 bp upstream of the translation initiation codon (proximal 5'-flanking region) as described previously and also extended the sequenced region to 1.9 kb upstream of the translation initiation site (distal 5'-flanking region). Briefly, for amplification of the proximal 5'-flanking region and 32 exons, 5 sets of multiplex PCR were performed from 200 ng of genomic DNA using 1.25 units of Z-taq (Takara Bio. Inc., Shiga, Japan) with 0.3  $\mu$ M each of the mixed primers as shown in **Table 1** [1st PCR]. The first PCR conditions consisted of 30 cycles of 98°C for 5 sec, 55°C for 5 sec, and 72°C for 190 sec. Next, each exon was amplified separately using the 1st PCR product by Ex-Taq (0.625 units, Takara Bio. Inc.) with appropriate primers (0.3  $\mu$ M) (**Table 1**) [2nd PCR]. The conditions for the second round PCR were 94°C for 5 min, followed by 30 cycles of 94°C for 30 sec, 55°C for 1 min, and 72°C for 2 min, and then a final extension at 72°C for 7 min. For amplification of the distal 5'-flanking region, multiplex PCR was performed from 25 ng of genomic DNA using 1 unit of Ex-Taq (Takara Bio. Inc.) with 0.4  $\mu$ M each of the 2 sets of primers as shown in **Table 1** [PCR]. The PCR conditions were 94°C for 5 min, followed by 30 cycles of 94°C for 30 sec, 60°C for 1 min, and 72°C for 2 min, and then a final extension at 72°C for 7 min.

Following the PCR, products were treated with a PCR Product Pre-Sequencing Kit (USB Co., Cleveland, OH, USA) and directly sequenced on both strands using an ABI BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) with the sequencing primers listed in **Table 1** (Sequencing). Excess dye was removed by a DyeEx-96 kit (Qiagen, Hilden, Germany), and the eluates were analyzed on an ABI Prism 3700 DNA Analyzer (Applied Biosystems). All variations were confirmed by sequencing PCR products generated from new amplifications from genomic DNA. Genbank NT\_030059.12 was used as the reference sequence.

**Linkage disequilibrium (LD) and haplotype analyses:** Hardy-Weinberg equilibrium and LD analyses were performed using SNPalyze 3.1 software (Dynacom Co., Yokohama, Japan). Pairwise LDs were shown as rho square ( $r^2$ ) and  $|D'|$  values in **Figure 1**. Diploidy configurations (haplotype combinations) were inferred by LDSUPPORT software, which determined the posterior probability distribution of diploidy configurations for each subject based on estimated haplotype frequencies<sup>19)</sup>.

## Results and Discussion

In this study, sixty-one *ABCC2* genetic variations including 36 novel ones were detected in 236 Japanese subjects

**Table 1. Primer sequences used in this study**

Amplified or sequenced region	Forward primer (5' to 3')	Reverse primer (5' to 3')	Amplified region <sup>a</sup>
PCR (Ex-taq)			
5'-Flanking (for -1.9 k to -1.7 k)	CCACCAGTCCAAGAGAAGTAT	CACAAGTCATCTGAAAAACACA	20289134-20289443
5'-Flanking (for -1.7 k to -950)	ATGAGGTGGTATCTAACTGTGG	AAATGTTTTCTGTAGGGACGGG	20289392-20290182
1st PCR (Z-taq)			
5'-Flanking (for -1.2 k) to exon 6	ATACTGCATGGGTGGTTATG	AACCTGCCTCCAAATTTTTTC	20289942-20303347
Exons 7 to 11	GGAGAATCACTTTGAAGCCG	CTAGCAAGTGTGAGGGGTGT	20304874-20314079
Exons 12 to 19	TCTGTGAATGTGGCAAACT	GGATCTACCAAGAATTTAGC	20315189-20328004
Exons 20 to 25	GATGAGCATTTTCAATTTAC	TCAGTTCACCCAGCACTTAT	20338211-20344941
Exons 26 to 32	GAGCAAGACCTTGTCTCATA	CCATGGATGAATCTCAGATA	20349821-20360334
2nd PCR (Ex-taq)			
5'-Flanking (for -880 to -130)	GGAAGATCGCTTGAACCCAT	TCATCCCAACCATTTAATCG	20290245-20290994
Exon 1	TTGTTGGCCAGCTCTGTTG	TTCTGGTTCCTGTTGGTGAC	20290810-20291254
Exon 2	GGGTAAGGCTGGATATGGAT	CTGGCTCTACCTGAGACAAT	20292767-20293194
Exon 3	CACCGAAACCATTCTGTTC	TTTGCCTCACTATGGATCCC	20300442-20300773
Exon 4	GCCAGATTAGTCAAGACAGT	CCAAAGGAAGTCTACATGGCC	20301708-20302134
Exon 5	CAGGTAAGGAAAAAAGAGTGG	CCTTGTCAAAAAATGGTCTG	20301966-20302418
Exon 6	TATGCCAGAAAATCTGATTA	AGGTGGAACATGAGCTTGAGT	20302499-20303070
Exon 7	GGTGGAGATAGCCTCTGACC	TGCACTGAGAAGTATGAAGTGC	20305320-20305728
Exon 8	CCTGTACAGAGAAGGCCACG	TGCGGTCTTCATGAACACA	20307385-20307816
Exon 9	GGCTTTGGACAATTCTGGTC	TCCACCCATTGTCTGTGAAC	20308539-20309038
Exon 10	AGGCAAGAAGTCACAGTGCC	TTGCCCAAACCTCCCATTAAG	20312158-20312650
Exon 11	ACAGTCAGGCAAGGGCTATG	GACAGGAGGACATGAAACAA	20313420-20313873
Exon 12	GATTTCTATTCACCATTT	GAGCTGGGGGTATGGTACAA	20315554-20315983
Exon 13	GTGACCTTGGAGAAGATATT	CTCTTAAAAGTTTACCAGCA	20316189-20316623
Exon 14	TTGCTCAAGGACTGAAATAG	CCTGCTTATCCTCAGAAGAG	20318223-20318732
Exon 15	GGTCTCATGGTCTCATTCTA	GGGTTTATCCTGCACTAGTA	20319650-20320025
Exon 16	AGAAGCACCTTGGGGTCTTGTA	GCTGAAATGGGAAGGAGAATC	20321144-20321581
Exon 17	GCTGAAAAACGATAGTCCAA	TCAACTAGATTACCCCTGTGT	20325354-20325863
Exons 18 and 19	TCACAGGGTGACAAGCAAC	TTGAATCTCTGGGTAGTTTG	20326820-20327678
Exon 20	GAAACCAGCAAGATCAGAGGA	TCACTCAGCTGGCATCAAAG	20338493-20338929
Exon 21	TGACTGTGACATCTGCTTGC	GGACAGAGGACATATTGCTCC	20338927-20339248
Exons 22 and 23	GCATTGTATTTACGACATTGT	ACAGTGTGTCTAGGGGGAC	20339701-20340506
Exon 24	GAACACACAGAATCCAACAGA	TCACTTCAGCTTCAGACAGT	20342562-20343001
Exon 25	TCTCATTGGTCTCCTCCTCG	AATTCACACCCTAGCCAT	20344186-20344672
Exon 26	GAGGCATTGCCTAAGAGTGC	AAAGATGGAGCCAGGGTTTG	20350122-20350523
Exons 27 and 28	GGCAAGGATTGTCTTTCTTA	CGACAGCTGCGGTAACTCTG	20351928-20352954
Exon 29	AGAGATGGAGTAGCCAGTCAC	CAGCCACAATGCATATTACC	20353790-20354262
Exon 30	GAAGCTCAACCACAAACCAG	GCTCGACCAGTTTTCAAGAG	20355106-20355610
Exon 31	GCAAGGTACAGCTAGTTGAA	GCGTGATGTAATAATTTGGC	20358730-20359248
Exon 32	GCTGTGGCTCATTGATTTTC	AAGGTGATAAAACAGAAATG	20359651-20360213
Sequencing			
5'-Flanking (for -1.7 k)	CCACCAGTCCAAGAGAAGTAT	CACAAGTCATCTGAAAAACACA <sup>b</sup>	
(for -1.7 k to -1.3 k)	GGTATCTAACTGTGGTTTTG	GAAGGAAAGGAGTCAAAGGAAC	
(for -1.5 k to -950)	TCCCACACTGAATGCTGCCTTT	TAGGGACGGGGTCTCACTAT	
(for -880 to -400)	GGAAGATCGCTTGAACCCAT <sup>b</sup>	ATGTGCAGTTTCGCTTCTG	
(for -570 to -130)	CATATAGGCTCACACTGGAT	TCATCCCAACCATTTAATCG <sup>b</sup>	
Exon 1	TGGTTCCTTTTATGTATGGC	GTTCTTGTGGTGACCACCC	
Exon 2	AAAGCAGTGGGATGTGCTG	TGTCTCTACTGTGACCACAGG	
Exon 3	CACCGAAACCATTCTGTTC <sup>b</sup>	TTTGCCTCACTATGGATCCC <sup>b</sup>	
Exon 4	CCTCCTTCTTCCCATGTTTC	CTCAACTGATGCCATTTAC	
Exon 5	TGGGGCAACCTCTAACTCATA	TGAGACCCAGACATCTTAAA	
Exon 6	TTAGGGTCTCCAAATAAACA	ACTTTCAGAGGAGTGAGAGAGT	
Exon 7	GGTGGAGATAGCCTCTGACC <sup>b</sup>	TGCACTGAGAAGTATGAAGTGC <sup>b</sup>	
Exon 8	CCTGTACAGAGAAGGCCACG <sup>b</sup>	CACAATGCTGTAAGGTTAAG	
Exon 9	GGCTTTGGACAATTCTGGTC <sup>b</sup>	TCCACCCATTGTCTGTGAAC <sup>b</sup>	
Exon 10	GTGCCCTTGGAGAAGCTGTGT	TTGCCCAAACCTCCCATTAAG <sup>b</sup>	
Exon 11	TCACTGGGCACCTCAAGTTC	GGAATCCATCACCTCTACCA	
Exon 12	ACATTTTGGGGACTATATCT	ATGCCAGCTAGTCTATCAA	
Exon 13	GGAGGCTGGATGATCCTTAAG	CTCTTAAAAGTTTACCAGCA <sup>b</sup>	
Exon 14	CATCTGTCTATGGTGGGATA	ATAGGCTCAAGACAAATCTC	
Exon 15	GATTTCAATCACCTCCTGTT	CATTTCCCATGCATTCTAT	
Exon 16	CCAATCTTGGGGGAAATCT	TCCAAGACCTCACCTACTAGC	



Table 1. continued

Amplified or sequenced region	Forward primer (5' to 3')	Reverse primer (5' to 3')	Amplified region <sup>a</sup>
Exon 17	GTGGAATAACTACAAGCAGC	TCAACTAGATTACCCTGTG <sup>b</sup>	
Exon 18	GGTGACAAGCAACAAAAC	CCACACTCTCCCTGTCTTA	
Exon 19	GATGCTCATGTAGGAAAACA	TTTACCATTCCACCCATGGC	
Exon 20	GGTTCCTCTCCTTTGTTCA	CAAAGAAACAAAGGAGAGC	
Exon 21	TGACTGTGACATCTGCTG <sup>b</sup>	GGACAGAGGACATATTGCTC <sup>b</sup>	
Exon 22	GCATTGTATTGACGATTG <sup>b</sup>	GATATTGTATGCATGGACGA	
Exon 23	GAATCTGCTGGACCCGTGA	GTCTAGGGGGACATAAAT	
Exon 24	ACACACAGAAATCCAACAGAT	TCAACATATGACTAAATGGC	
Exon 25	GGAGCCCTCATCTTCTGC	TTTACACACACTAGCCATGC	
Exon 26	CCGATCAAGTCAAACCTCT	TTTGAACCTCAGTCTCTTT	
Exon 27	TTTCTTACTCCCTGTAGA	AAACTTTAGGGACCCATTAT	
Exon 28	CTGCTACCCTTCTCCTGTTC	CCTTCCCTGTACTCTGTG	
Exon 29	TACCTCCTGTGACTGTGAAT	CAGCCACAATGCATATTAC <sup>b</sup>	
Exon 30	GCCAGTCTATCCACCATCT	AAACAGGCAACACAGAGGAG	
Exon 31	GATCTGGAACATGAAAATGG	TTTGGCCAGTACTTGAC	
Exon 32	GCTCATGATTTCCTACTGCT	AAGGCAAAGGAATAATTCG	

<sup>a</sup>The reference sequence is NT\_030059.12.

<sup>b</sup>The same primer that was used for the 2nd PCR.

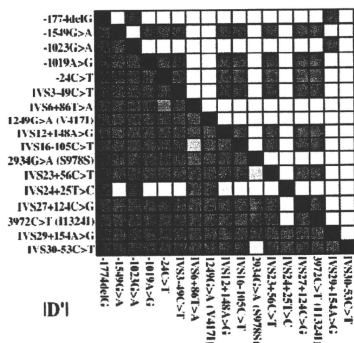


Fig. 1. Linkage disequilibrium (LD) analysis of *ABC2*. Pairwise LD ( $r^2$  values and  $ID'$ ) of polymorphisms detected in no less than 3% of allele frequencies is shown as a 10-graded blue color.

(Table 2). All detected variations were in Hardy-Weinberg equilibrium ( $p > 0.05$ ). Novel variations consisted of 5 non-synonymous and 4 synonymous variations in the coding region, 22 in the intronic regions, 3 in the 5'-flanking region, 1 in the 3'-flanking region, and 1 in the 3'-UTR. The novel non-synonymous variations were 1177C>T (Arg393Trp), 1202A>G (Tyr401Cys), 2358C>A (Asp786Glu), 2801G>A (Arg934Gln), and 3320T>G (Leu1107Arg), and their frequencies were 0.002. No statistically significant differences were found in the allele frequencies of all variations between 177 cancer patients and 59 healthy subjects ( $P > 0.05$ , Fisher's exact test),

although a larger number of subjects would be needed to conclude.

The frequency of the known common SNP  $-24C>T$  (0.173) was comparable to those reported in Asians (0.17–0.25)<sup>8,12,20</sup> and Caucasians (0.15–0.23)<sup>9,10,14,15,21</sup>. The allele frequency of another common SNP, 3972C>T (Ile1324Ile) (0.216), was also comparable to those in Asians (0.22–0.30)<sup>8,12,20</sup> but lower than those in Caucasians (0.32–0.37)<sup>9,10,14,15,21</sup>. The other major variations in the 5'-flanking region,  $-1774delG$  and  $-1549G>A$ , were found at frequencies of 0.343 and 0.203, respectively, and these values were similar to those obtained in Koreans (0.34 and 0.21, respectively).<sup>9</sup> However, the relatively frequent SNPs 1446C>G (Thr482Thr) (allele frequency = 0.125), IVS15-28C>A (0.333) and IVS28+16G>A (0.167) in Caucasians<sup>17</sup> were not detected in our study.

The LD profile of the *ABC2* variations (no less than 3% allele frequency) is shown in Figure 1. As assessed by  $r^2$  values, close linkages were observed among  $-1774delG$ ,  $-1023G>A$  and IVS29+154A>G, and among  $-1549G>A$ ,  $-1019A>G$ ,  $-24C>T$ , IVS3-49C>T, IVS12+148A>G, IVS15+169T>C, IVS16-105C>T, IVS23+56C>T, IVS27+124C>G, and 3972C>T (Ile1324Ile). It must be noted that complete linkage was observed between  $-1549G>A$  and  $-1019A>G$  in our population. In  $ID'$  values, strong LD was also observed almost throughout the region analyzed. Overall, since close associations between the variations were observed throughout the entire *ABC2* gene, the region sequenced was analyzed as a single LD block for the haplotype inference.

The *ABC2* haplotype structures were analyzed using 61 detected genetic variations and a total of 64 haplotypes were identified/inferred. Figure 2 summarizes the haplotypes and their grouping. Our nomenclature system is based on the recommendation of Nebert.<sup>22</sup> Haplotypes without

Table 2. Summary of ABCC2 variations detected in this study

This Study	SNP ID		Reference	Location	Position		Nucleotide change	Amino acid change	Frequency (total = 472)
	dbSNP (NCBI)	JSNP			NT_030059.12	From the translational initiation site or from the end of the nearest exon			
MPJ6_AC 2082			8	5'-Flanking	20289354	-1774	actactctgtgG/_ttrtttttt		0.343
MPJ6_AC 2078*				5'-Flanking	20289538	-1590	ttattttgtaG/Agagatgtgtc		0.002
MPJ6_AC 2079			8, 10, 17	5'-Flanking	20289579	-1549	tctctaaagtaG/Anagagattata		0.203
MPJ6_AC 2080				5'-Flanking	20290105	-1023	tggggagcagG/Agcaagagattg		0.343
MPJ6_AC 2081			10, 17	5'-Flanking	20290109	-1019	agcccagcagA/Gagatgtttgaa		0.203
MPJ6_AC 2082*				5'-Flanking	20290395	-733	acagtcttcagG/Tactgtgcacc		0.004
MPJ6_AC 2029				5'-Flanking	20290395	-733	acagtcttcagG/Aactgtgcacc		0.002
MPJ6_AC 2030*				5'-Flanking	20290715	-413	ttagcagcagG/CTgaaactgcat		0.002
MPJ6_AC 2003	ssJ0000371		9, 12, 15-18, 20, 26	Exon 1	20291104	-24	tgaagagcttcG/Trttccagcga		0.174
MPJ6_AC 2004			18	Exon 1	20291105	-23	agaagagcttcG/Accaagcgcag		0.006
MPJ6_AC 2031	ssJ0000386		17, 26	Intron 3	20301785	IVS3 -49	cttcccctagcG/CTtctgtgagc		0.203
MPJ6_AC 2032*				Intron 6	20302837	IVS6 +86	tattttattT/Atttrtttggat		0.076
MPJ6_AC 2033*				Exon 7	20305479	732	caaagtgtaacG/Accaagcagga	Thr244Thr	0.002
MPJ6_AC 2066*				Intron 7	20307421	IVS7 -69	acagctgtcagC/Accctggcagc		0.002
MPJ6_AC 2067*				Intron 7	20307423	IVS7 -67	acagctgtcagC/Accctggcagc		0.002
MPJ6_AC 2068*				Exon 9	20308814	1177	gggttaaagA/CTTggcagcattc	Arg393Tyr	0.002
MPJ6_AC 2035*				Exon 9	20308839	1202	tgtctctgAT/Gtaaaagaaag	Tyr401Cys	0.002
MPJ6_AC 2036*				Intron 9	20308859	IVS9 +13	gtaacagataC/Tggcagttacc		0.002
MPJ6_AC 2037*				Exon 10	20312319	1227	gacctatccaC/Trttgccaagag	Am409Am	0.002
MPJ6_AC 2009	ssJ0000388		17, 18, 20, 23-26	Exon 10	20312341	1249	aaggaagcaccG/Artggagaagc	Val417Ile	0.097
MPJ6_AC 2010			18	Exon 10	20312549	1457	ccaagatgagC/Trttctctctc	Thr486Ile	0.019
MPJ6_AC 2069*				Intron 11	20315600	IVS11 -67	taaaacaatggG/Agatcaatacc		0.002
MPJ6_AC 2038	ssJ0000390		26	Intron 12	20315952	IVS12 +148	occccactccG/Atcttttcccct		0.210
MPJ6_AC 2039*				Intron 13	20318344	IVS13 -73	tcattgactaacG/Acaaaaaccaaa		0.002
MPJ6_AC 2070*				Intron 14	20318515	IVS14 +14	taataaaatggG/Taagtgtctccc		0.002
MPJ6_AC 2071*				Intron 14	20318521	IVS14 +20	attttggaagt(g/ins)caaaaactga		0.002
MPJ6_AC 2041*				Intron 14	20318594	IVS14 +93	agcaactgagG/Tagagtggtggag		0.002
MPJ6_AC 2042*				Intron 14	20319757	IVS14 -62	cggagagagcA/CTggagagcagc		0.006
MPJ6_AC 2043	ssJ0000393		26	Intron 14	20319758	IVS14 -61	ggagagagcA/Agagagcagca		0.006
MPJ6_AC 2044*				Intron 15	20320054	IVS15 +169	aaagaaaatgT/Ccaagcccctcc		0.210
MPJ6_AC 2045*				Intron 15	20321170	IVS15 -131	gctttgatcC/Gaagcaaatrt		0.004
MPJ6_AC 2046				Intron 16	20325422	IVS16 -169	tggcctctgAT/Tgtggccaagtc		0.004
MPJ6_AC 2046	ssJ0000396		17	Intron 16	20325486	IVS16 -105	tgcacatgattC/Taaatttaagtc		0.214
MPJ6_AC 2072*				Exon 18	20327159	2358	tctcttaataG/Caccctgtctca	Asp786Glu	0.002
MPJ6_AC 2012			18, 20, 23	Exon 18	20327167	2366	atgacccccctG/Tgcaagtgatgc	Ser789Phe	0.008
MPJ6_AC 2073*				Intron 19	20327555	IVS19 +3	gagaccacagG/Agtgaaagaat		0.002
MPJ6_AC 2047*				Intron 19	20327645	IVS19 +93	agatccagcA/Ttcatgattgaa		0.002
MPJ6_AC 2048				Intron 20	20338745	IVS20 +29	gctggcagccC/Atgacactctaa		0.002
MPJ6_AC 2049*				Exon 21	20339052	2801	ccctgaaccactG/Agagtgatag	Arg934Gln	0.002
MPJ6_AC 2015	ssJ0000398		8, 18, 26	Exon 22	20339944	2934	aggtgttttcG/Ataattctaac	Ser978Ser	0.040
MPJ6_AC 2051*				Exon 22	20340061	3051	cggtatcaagA/Gctcagagggc	Ala1017Ala	0.002
MPJ6_AC 2052				Exon 23	20340337	3181	caacagcactG/CTgacataatcc	Leu1061Leu	0.002
MPJ6_AC 2074*	ssJ0000399		17, 26	Intron 23	20340470	IVS23 +56	gattcttctcG/CTggaggaatgac		0.222
MPJ6_AC 2053				Exon 24	20342724	3320	tatcactctcG/Tgggggataatag	Leu107Arg	0.002
MPJ6_AC 2075*				Intron 24	20342843	IVS24 +25	atggcaagcaT/Ccctctctctcc		0.030
MPJ6_AC 2054				Intron 24	20342880	IVS24 +62	agccagcctctT/Ccctggaaactc		0.002
MPJ6_AC 2055*				Intron 24	20342926	IVS24 +108	caactactctcG/CTcctagcactc		0.023
MPJ6_AC 2056*				Intron 24	20344318	IVS24 -56	agaaggggaaG/Atatgtgtgagc		0.002
MPJ6_AC 2057*				Intron 26	20352061	IVS26 -21	atgatatttcA/Gctctctgtttt		0.002
MPJ6_AC 2058	ssJ0000404		17, 26	Intron 27	20352227	IVS27 +44	agcaaaaacacA/Gctctctgttt		0.008
MPJ6_AC 2076				Intron 27	20352307	IVS27 +124	aaagtctttcG/Gctcaactcaaa		0.222
MPJ6_AC 2022	ssJ0000407		8, 12, 13, 17, 18, 20, 26	Exon 28	20352688	3927	ccaagtg_ggaG/CTgactgagctc	Tyr1309Tyr	0.002
MPJ6_AC 2059*				Exon 28	20352733	3972	caactgagcactG/Tggagcagagag	Ile1324Ile	0.216
MPJ6_AC 2060*				Intron 28	20352920	IVS28 -172	agggagagagG/Tggcagaggtca		0.004
MPJ6_AC 2061	ssJ0000408		26	Intron 29	20354201	IVS29 +136	cttggcagctG/CTcctcaggggac		0.002
MPJ6_AC 2062*	IMS-JST090926		17	Intron 29	20354219	IVS29 +154	gagtgcaactG/Atcttcaaacctc		0.367
MPJ6_AC 2063				Intron 29	20355209	IVS29 -35	ctttccagctG/Agcccaccacagc		0.015
MPJ6_AC 2065*				Intron 30	20358793	IVS30 -92	gggggtttgA/Gagctctgtctgg		0.008
MPJ6_AC 2064	IMS-JST187550			Intron 30	20358832	IVS30 -53	cccccttgcG/CTtctctctggc		0.051
MPJ6_AC 2077				3'-UTR	20359975	'61'	taattattT/Gtaataaatagc		0.002
MPJ6_AC 2065*				3'-Flanking	20360190	'193+83'	tattcttccG/Ccttactctgc		0.0028

\*Novel genetic variation

\***delGCTCCCAAACTATTCCGAGTACTGGCCAGAAATTTGATAATACAGAGCTAGTAGTAAATTTACTC**

\*Numbered from the termination codon.

Site	E1		E2		E3		E4		E5		E6		E7		E8		E9		E10		E11		E12		E13		E14		E15		E16		E17		E18		E19		E20		E21		E22		E23		E24		E25		E26		E27		E28		E29		E30		E31		E32		E33		E34		E35		E36		E37		E38		E39		E40		E41		E42		E43		E44		E45		E46		E47		E48		E49		E50		E51		E52		E53		E54		E55		E56		E57		E58		E59		E60		E61		E62		E63		E64		E65		E66		E67		E68		E69		E70		E71		E72		E73		E74		E75		E76		E77		E78		E79		E80		E81		E82		E83		E84		E85		E86		E87		E88		E89		E90		E91		E92		E93		E94		E95		E96		E97		E98		E99		E100		E101		E102		E103		E104		E105		E106		E107		E108		E109		E110		E111		E112		E113		E114		E115		E116		E117		E118		E119		E120		E121		E122		E123		E124		E125		E126		E127		E128		E129		E130		E131		E132		E133		E134		E135		E136		E137		E138		E139		E140		E141		E142		E143		E144		E145		E146		E147		E148		E149		E150		E151		E152		E153		E154		E155		E156		E157		E158		E159		E160		E161		E162		E163		E164		E165		E166		E167		E168		E169		E170		E171		E172		E173		E174		E175		E176		E177		E178		E179		E180		E181		E182		E183		E184		E185		E186		E187		E188		E189		E190		E191		E192		E193		E194		E195		E196		E197		E198		E199		E200																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
	Position	174	156	153	1019	723	34	1057	1055	1177	1202	1240	1407	1657	1654	1054	1057	1055	1056	1057	1058	1059	1060	1061	1062	1063	1064	1065	1066	1067	1068	1069	1070	1071	1072	1073	1074	1075	1076	1077	1078	1079	1080	1081	1082	1083	1084	1085	1086	1087	1088	1089	1090	1091	1092	1093	1094	1095	1096	1097	1098	1099	1100	1101	1102	1103	1104	1105	1106	1107	1108	1109	1110	1111	1112	1113	1114	1115	1116	1117	1118	1119	1120	1121	1122	1123	1124	1125	1126	1127	1128	1129	1130	1131	1132	1133	1134	1135	1136	1137	1138	1139	1140	1141	1142	1143	1144	1145	1146	1147	1148	1149	1150	1151	1152	1153	1154	1155	1156	1157	1158	1159	1160	1161	1162	1163	1164	1165	1166	1167	1168	1169	1170	1171	1172	1173	1174	1175	1176	1177	1178	1179	1180	1181	1182	1183	1184	1185	1186	1187	1188	1189	1190	1191	1192	1193	1194	1195	1196	1197	1198	1199	1200	1201	1202	1203	1204	1205	1206	1207	1208	1209	1210	1211	1212	1213	1214	1215	1216	1217	1218	1219	1220	1221	1222	1223	1224	1225	1226	1227	1228	1229	1230	1231	1232	1233	1234	1235	1236	1237	1238	1239	1240	1241	1242	1243	1244	1245	1246	1247	1248	1249	1250	1251	1252	1253	1254	1255	1256	1257	1258	1259	1260	1261	1262	1263	1264	1265	1266	1267	1268	1269	1270	1271	1272	1273	1274	1275	1276	1277	1278	1279	1280	1281	1282	1283	1284	1285	1286	1287	1288	1289	1290	1291	1292	1293	1294	1295	1296	1297	1298	1299	1300	1301	1302	1303	1304	1305	1306	1307	1308	1309	1310	1311	1312	1313	1314	1315	1316	1317	1318	1319	1320	1321	1322	1323	1324	1325	1326	1327	1328	1329	1330	1331	1332	1333	1334	1335	1336	1337	1338	1339	1340	1341	1342	1343	1344	1345	1346	1347	1348	1349	1350	1351	1352	1353	1354	1355	1356	1357	1358	1359	1360	1361	1362	1363	1364	1365	1366	1367	1368	1369	1370	1371	1372	1373	1374	1375	1376	1377	1378	1379	1380	1381	1382	1383	1384	1385	1386	1387	1388	1389	1390	1391	1392	1393	1394	1395	1396	1397	1398	1399	1400	1401	1402	1403	1404	1405	1406	1407	1408	1409	1410	1411	1412	1413	1414	1415	1416	1417	1418	1419	1420	1421	1422	1423	1424	1425	1426	1427	1428	1429	1430	1431	1432	1433	1434	1435	1436	1437	1438	1439	1440	1441	1442	1443	1444	1445	1446	1447	1448	1449	1450	1451	1452	1453	1454	1455	1456	1457	1458	1459	1460	1461	1462	1463	1464	1465	1466	1467	1468	1469	1470	1471	1472	1473	1474	1475	1476	1477	1478	1479	1480	1481	1482	1483	1484	1485	1486	1487	1488	1489	1490	1491	1492	1493	1494	1495	1496	1497	1498	1499	1500	1501	1502	1503	1504	1505	1506	1507	1508	1509	1510	1511	1512	1513	1514	1515	1516	1517	1518	1519	1520	1521	1522	1523	1524	1525	1526	1527	1528	1529	1530	1531	1532	1533	1534	1535	1536	1537	1538	1539	1540	1541	1542	1543	1544	1545	1546	1547	1548	1549	1550	1551	1552	1553	1554	1555	1556	1557	1558	1559	1560	1561	1562	1563	1564	1565	1566	1567	1568	1569	1570	1571	1572	1573	1574	1575	1576	1577	1578	1579	1580	1581	1582	1583	1584	1585	1586	1587	1588	1589	1590	1591	1592	1593	1594	1595	1596	1597	1598	1599	1600	1601	1602	1603	1604	1605	1606	1607	1608	1609	1610	1611	1612	1613	1614	1615	1616	1617	1618	1619	1620	1621	1622	1623	1624	1625	1626	1627	1628	1629	1630	1631	1632	1633	1634	1635	1636	1637	1638	1639	1640	1641	1642	1643	1644	1645	1646	1647	1648	1649	1650	1651	1652	1653	1654	1655	1656	1657	1658	1659	1660	1661	1662	1663	1664	1665	1666	1667	1668	1669	1670	1671	1672	1673	1674	1675	1676	1677	1678	1679	1680	1681	1682	1683	1684	1685	1686	1687	1688	1689	1690	1691	1692	1693	1694	1695	1696	1697	1698	1699	1700	1701	1702	1703	1704	1705	1706	1707	1708	1709	1710	1711	1712	1713	1714	1715	1716	1717	1718	1719	1720	1721	1722	1723	1724	1725	1726	1727	1728	1729	1730	1731	1732	1733	1734	1735	1736	1737	1738	1739	1740	1741	1742	1743	1744	1745	1746	1747	1748	1749	1750	1751	1752	1753	1754	1755	1756	1757	1758	1759	1760	1761	1762	1763	1764	1765	1766	1767	1768	1769	1770	1771	1772	1773	1774	1775	1776	1777	1778	1779	1780	1781	1782	1783	1784	1785	1786	1787	1788	1789	1790	1791	1792	1793	1794	1795	1796	1797	1798	1799	1800	1801	1802	1803	1804	1805	1806	1807	1808	1809	1810	1811	1812	1813	1814	1815	1816	1817	1818	1819	1820	1821	1822	1823	1824	1825	1826	1827	1828	1829	1830	1831	1832	1833	1834	1835	1836	1837	1838	1839	1840	1841	1842	1843	1844	1845	1846	1847	1848	1849	1850	1851	1852	1853	1854	1855	1856	1857	1858	1859	1860	1861	1862	1863	1864	1865	1866	1867	1868	1869	1870	1871	1872	1873	1874	1875	1876	1877	1878	1879	1880	1881	1882	1883	1884	1885	1886	1887	1888	1889	1890	1891	1892	1893	1894	1895	1896	1897	1898	1899	1900	1901	1902	1903	1904	1905	1906	1907	1908	1909	1910	1911	1912	1913	1914	1915	1916	1917	1918	1919	1920	1921	1922	1923	1924	1925	1926	1927	1928	1929	1930	1931	1932	1933	1934	1935	1936	1937	1938	1939	1940	1941	1942	1943	1944	1945	1946	1947	1948	1949	1950	1951	1952	1953	1954	1955	1956	1957	1958	1959	1960	1961	1962	1963	1964	1965	1966	1967	1968	1969	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	2025	2026	2027	2028	2029	2030	2031	2032	2033	2034	2035	2036	2037	2038	2039	2040	2041	2042	2043	2044	2045	2046	2047	2048	2049	2050	2051	2052	2053	2054	2055	2056	2057	2058	2059	2060	2061	2062	2063	2064	2065	2066	2067	2068	2069	2070	2071	2072	2073	2074	2075	2076	2077	2078	2079	2080	2081	2082	2083	2084	2085	2086	2087	2088	2089	2090	2091	2092	2093	2094	2095	2096	2097	2098	2099	2100	2101	2102	2103	2104	2105	2106	2107	2108	2109	2110	2111	2112	2113	2114	2115	2116	2117	2118	2119	2120	2121	2122	2123	2124	2125

any amino acid substitution were assigned as the \*1 group and named with small alphabetical letters in descending frequency order (\*1a to \*1x). Haplotypes with nonsynonymous variations were assigned from \*2 to \*9 groups, and their subtypes were named with small alphabetical letters. The haplotypes (\*7a to \*9a) were inferred in only one patient and described with “?” due to their ambiguity. Also, ambiguous rare haplotypes in the \*1 and \*2 groups were classified as “Others” in **Figure 2**. The \*1 haplotypes were further classified into the \*1A, \*1B, \*1C, \*1G and \*1H groups (capital alphabetical letters of the most frequent haplotypes were used) according to the common tagging SNPs, such as -1774delG, -24C>T, 3972C>T (Ile1324Ile), and 2937G>A (Ser978Ser).

The most frequent \*1 group, \*1A, harbors the common SNPs -1774delG and -1023G>A in the 5'-flanking region and mostly IVS29+154A>G, and the frequency of \*1A (0.331) is almost the same as that in healthy Koreans (0.323) reported by Choi *et al.*<sup>8</sup> They have shown that -1774delG reduced promoter activity both at the basal level and after induction by chenodeoxycolic acid (CDCA), a component of bile acids, and that the haplotype bearing -1774delG is associated with chemical-induced hepatitis (cholestatic and mixed types).<sup>8</sup> Therefore, it is possible that \*1A can affect the pharmacokinetics or pharmacodynamics of MRP2-transported drugs.

The \*1B group haplotypes (0.292 frequency) harbor no or any intronic or synonymous variations the functions of which are unknown. The functional significance of variations in the \*1B group, including the most frequent SNP IVS24+25T>C, needs further confirmation.

The third group \*1C (0.172 frequency) harbors the known common SNPs -1549G>A, -1019A>G, -24C>T, IVS3-49C>T, and 3972C>T (Ile1324Ile), except for one rare ambiguous haplotype lacking 3972C>T (Ile1324Ile). The \*1C haplotypes also harbor IVS12+148A>G, IVS15+169T>C and IVS16-105C>T. The haplotypes bearing -1549G>A, -24C>T and 3972C>T (Ile1324Ile) are commonly found in Korean populations (frequency 0.14–0.25)<sup>8</sup> and Caucasians (0.14–0.17).<sup>10,14,21</sup> The functional importance of the tagging SNP in the \*1C group, -24C>T, has been reported by several researchers; *e.g.*, reduced promoter activity,<sup>8,11</sup> reduced mRNA expression in the kidney,<sup>11</sup> association with chemical-induced hepatitis (hepatocellular type),<sup>8</sup> and influence on irinotecan-pharmacokinetics and pharmacodynamics.<sup>12,16</sup> For other SNPs in the \*1C group, functional alterations *in vitro* have not been shown; no change in promoter activity by -1549G>A, no influence of IVS3-49C>T on splicing, and no change induced by 3972C>T (Ile1324Ile) on MRP2 expression or transporter activity.<sup>8</sup> Although -24C>T caused reduced promoter activity in the absence of the bile acid CDCA,<sup>8,11</sup> enhanced promoter activity of -24C>T under induction by CDCA has been demonstrated.<sup>8</sup> Therefore the function of this SNP

might depend on cholestatic status.

Our data demonstrated that -1019A>G was closely associated with the other \*1C SNPs (complete linkage with -1549G>A). The close linkage between -1019A>G and -1549G>A was also observed in Caucasians, but their linkages with -24C>T and 3972C>T were relatively weak.<sup>14</sup> In contrast, another study on Caucasians reported that -1019A>G was exclusive to -1549G>A, -24C>T and 3972C>T.<sup>10</sup> Although the reasons for these discrepancies are not clear, some ethnic differences might exist in the 5'-flanking region.

The \*1G group harbors 3972C>T (Ile1324Ile) but not -24C>T. Caucasians have haplotypes bearing 3972C>T (Ile1324Ile) without -24C>T at frequencies of 0.15–0.20.<sup>10,21</sup> In contrast, the frequency of the corresponding haplotype group in our study (\*1G) was much lower (0.044). Although no *in vitro* effect of 3972C>T (Ile1324Ile) was shown,<sup>8</sup> its *in vivo* association with increased area under the concentration-time curve of irinotecan and its metabolites was reported in Caucasians.<sup>13</sup>

The \*1H group (\*1h and \*1s) harbors a synonymous substitution of 2934G>A (Ser978Ser) (0.03 frequency). No influence of 2934G>A (Ser978Ser) on MRP2 expression or transport activity has been shown.<sup>8</sup>

As for haplotypes with nonsynonymous substitutions, eight haplotype groups (\*2 to \*9) were identified. The \*2 [including 1249G>A (Val417Ile)] was the most frequent among them, and its frequency (0.093) was similar to those for Asians (0.10–0.13)<sup>8,12,20</sup> and slightly lower than those for Caucasians (0.13–0.22).<sup>9,10,14,15,21</sup> The haplotype frequencies of \*3 [harboring 1457C>T (Thr486Ile)] and \*4 [2366C>T (Ser789Phe)] were 0.019 and 0.008. Other rare haplotypes with novel nonsynonymous variation, \*5 [2801G>A (Arg934Gln)], \*6 [3320T>G (Leu1107Arg)], \*7 [1177C>T (Arg393Trp)], \*8 [1202A>G (Tyr401Cys)], and \*9 [2358C>A (Asp786Glu)] were found each in only one subject as heterozygote at a 0.002 frequency. No functional significance of the marker SNP [1249G>A (Val417Ile)] of \*2 has been shown *in vitro*,<sup>8,23</sup> but its *in vivo* associations with lower MRP2 expression in the placenta<sup>24</sup> and chemical-induced renal toxicity<sup>25</sup> have been reported. The variation 2366C>T (Ser789Phe) (\*4) has been shown to cause reduced MRP2 expression and alter localization *in vitro*,<sup>23</sup> but clinical data are limited. Functional changes in \*3 [1457C>T (Thr486Ile)] and \*5 to \*9 (novel nonsynonymous variations) are currently unknown. Possible effects of these amino acid substitutions were speculated using PolyPhen analysis (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph>); its prediction is based on the analysis of substitution site [*e.g.*, a substitution in transmembrane domain is assessed by the predicted hydrophobic and transmembrane (PHAT) matrix score], likelihood of the substitution assessed by the position-specific independent count (PSIC) profile scores, and protein 3D structures. This analysis predicted a possible functional change of Leu1107Arg (\*6) due to substitution in