

SLC35F2 の発現状態及び B 群ビタミンが肺腺がん細胞のゲフィチニブ感受性に及ぼす影響

神山 伸^{#†}, 土沼 侑佳[#], 塩沢 浩太, 萩原 真, 曾根 英行[†]
(新潟県立大学人間生活学部健康栄養学科*)

The effects of SLC35F2 expression and B-complex vitamins on gefitinib sensitivity of lung adenocarcinoma cells

Shin KAMIYAMA, Yuka DONUMA, Kota SHIOZAWA, Makoto HAGIWARA and Hideyuki SONE
Department of Health and Nutrition, Faculty of Life Studies, University of Niigata Prefecture

Summary

Human solute carrier family 35 member F2 (SLC35F2) belongs in drug/metabolite transporter superfamily and is suggested to be a potential oncogene of non-small cell lung cancer. In the present study, we investigated the involvement of SLC35F2 in cell proliferation and gefitinib sensitivity of lung adenocarcinoma using A549 (low gefitinib sensitivity) and PC-9 (high gefitinib sensitivity) cell lines. Gene silencing of SLC35F2 using siRNA suppressed cell proliferation and arrested cell cycle in both A549 and PC-9 cells. The expression of SLC35F2 gene was attenuated in gefitinib-resistant PC-9 cells; however, gene silencing of SLC35F2 did not affect gefitinib sensitivity in both A549 and PC-9 cells. None of thiamine, pyridoxine, folic acid, and nicotinamide had effects on SLC35F2 function and gefitinib sensitivity in both A549 and PC-9 cells. These results indicate that SLC35F2 plays a role in cell proliferation of lung adenocarcinoma but is not involved in its gefitinib sensitivity.

Solute carrier family 35 (SLC35) は核酸結合糖 (糖ヌクレオチド) を基質とする糖ヌクレオチド輸送体を中心に構成されている輸送体ファミリーであり¹⁾, 現時点で7個のサブファミリーに30のメンバーが分類されている。AからDまでのサブファミリーには輸送基質の異なる糖ヌクレオチド輸送体と, 硫酸化修飾に用いられる活性型硫酸である核酸結合硫酸 (3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate, PAPS) を輸送する PAPS 輸送体^{2,3)}が属している。一方, E～G グループの機能については明らかにされていないが, F グループについては植物のプリン塩基輸送体の近縁であり, 薬剤代謝輸送体に含まれることが示唆されている⁴⁾。F グループには6つの遺伝子が属しているが, その多くが組織特異的であるのに対し, SLC35F5 は広範に発現している⁵⁾。F グループメンバーの大部分についてその機能は不明であるが, その幾つかががん細胞の増殖や抗悪性腫瘍薬の感受性に関係していることが示唆されている⁶⁾。

当初, F グループには5つのメンバーが分類されていたが, Ashikov らは, 機能未知遺伝子である C2orf18 (chro-

mosome 2 open reading frame 18) についても SLC35F6 として F グループのメンバーに含めている⁷⁾。この C2orf18 遺伝子はその後, ミトコンドリアで膜透過性を調節している adenine nucleotide translocase 2 (ANT2) と相互作用することにより, 膵臓がん細胞のアポトーシスと関連していることが報告され, ANT2BP と命名されている⁸⁾。また, メンバーの一つである SLC35F5 に関して Matsuyama らは, 原発性大腸がんの肝臓転移において 5-fluorouracil (5-FU) の効果がみられなかった患者に比べ, 5-FU が有効であった患者の大腸がん組織でその発現が有意に増加していることを報告している⁹⁾。筆者らは, この SLC35F5 に関して, 大腸がん細胞である DLD-1 は 5-FU 耐性獲得により SLC35F5 の発現が大きく低下するが, 5-FU の感受性自体は変動しないことを報告した¹⁰⁾。F グループメンバーのほとんどで輸送基質は明らかにされていないが, SLC35F3 についてはビタミン B₁ の輸送活性を持ち, その一塩基多型 (SNP) が高血圧リスクと関係していることが報告されている¹¹⁾。

さらに, メンバーの一つである SLC35F2 に関しては,

*所在地: 新潟県新潟市海老ヶ瀬471 (〒950-8680)

authors who equally contributed to this work

† corresponding authors

実験方法

その輸送基質は明らかにされていないものの、細胞表面でレトロウイルスの感染受容体として利用されており¹²⁾、また非小細胞肺癌の病理状態に関連して高度に発現していることが報告されている¹³⁾。扁平上皮肺癌由来細胞である H1299 細胞では、siRNA で SLC35F2 の発現を抑制すると細胞増殖と細胞遊走及び浸潤能が抑制されることが報告されている¹⁴⁾。さらに最近、SLC35F2 は非小細胞肺癌などにおいて抗腫瘍作用を持つサバイビン阻害剤 YM155 (sepantronium bromide) の細胞内への取り込みに寄与しており、YM155 の有効性は SLC35F2 の発現状態に依存していることが報告されている¹⁵⁾。

肺癌は小細胞肺癌 (small cell lung cancer: SCLC) と非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer: NSCLC) に大別され、進行の速さと治療反応性が大きく異なる。喫煙者に多く見られる小細胞肺癌は進行が早く転移しやすい一方、抗悪性腫瘍薬に対して高感受性であるため、化学療法が第一選択となる。これに対して、非小細胞肺癌は進行が遅いものの、化学療法に対する感受性が低く、手術適応ならば手術が第一選択となる。非小細胞肺癌は病理組織型として腺がん、扁平上皮がん、大細胞がんに分類されるが、女性を中心とする非喫煙者では肺腺がんが中心であり、その発生には発がんやがん悪性化に直接的に関与しているがん化責任変異 (ドライバー変異) が強く関与している。特にがん細胞の増殖や進展に深く関与する上皮成長因子 (epidermal growth factor: EGF) シグナルに関して、非小細胞肺癌では EGF 受容体 (EGFR) の高発現が予後不良と相関することが報告されているが¹⁶⁾、EGFR の自己リン酸化が異常亢進している EGFR のチロシンキナーゼドメイン変異も非喫煙者の肺腺がん患者の多くで見られる¹⁷⁾。この EGFR 変異型非小細胞肺癌の分子標的薬として、EGFR のチロシンキナーゼ阻害薬 (EGFR tyrosine kinase inhibitor: EGFR-TKi) である Gefitinib (Gefitinib, 商標名: イレッサ) やエルロチニブ (Erlotinib) が用いられている^{18,19)}。EGFR-TKi は EGFR の ATP 結合部位に ATP と競合的に結合することにより EGFR の自己リン酸化による活性を阻害し、EGFR に変異を持つ肺癌で高く奏功する一方、変異がない肺癌での有効性は低い²⁰⁾。

本研究では、SLC35F2 についてその発現状態が肺腺がん由来細胞の増殖にどのような影響を及ぼすかをみるとともに、EGFR 野生型及び変異型の非小細胞肺癌由来細胞における Gefitinib 感受性に及ぼす影響について検討した。さらに、F グループのファミリーメンバーである SLC35F3 がチアミンの輸送能を持つことから、SLC35F2 の機能とチアミン及びそれに類似した B 群ビタミンの取り込みとの関連性についても検討を行った。

細胞培養

A549 細胞は JCRB 細胞バンク、PC-9 細胞は RIKEN 細胞バンクより分譲されたものを用いた。細胞は DMEM/Ham's F12 1:1 培地 (和光純薬工業) にウシ胎児血清 (FBS, オーストラリア産, Biowest 社) を 10% 添加した培地を用いて培養し、3 日あるいは 4 日に一度継代培養した。細胞増殖は、Cell counting kit-8 (同仁化学研究所) を用いた WST-8 アッセイにより求めた。

ゲフィチニブ耐性 PC-9 細胞の作成

ゲフィチニブ耐性 PC-9 細胞は、段階的に異なる濃度のゲフィチニブともに培養することにより作成した。ゲフィチニブは dimethyl sulfoxide (DMSO, 和光純薬) に 100 μ M の濃度で溶解し、適宜希釈することにより培地中に DMSO が最終的に 0.1% になるように添加した。継代及び培地交換ごとにゲフィチニブの濃度を増加させ、ゲフィチニブ耐性細胞を作成した。0, 0.01, 0.01, 0.1, 1 μ M のそれぞれのゲフィチニブ濃度の耐性細胞から Trizol reagent (Thermo Fisher Scientific 社) を用いて RNA を抽出し、real-time PCR による発現解析のサンプルとした。

Real-time PCR による遺伝子発現測定

SLC35F2 遺伝子の発現状態は、SYBR 法による real-time PCR を用いて解析した。増幅に利用した配列プライマーは SLC35F2 の配列 (GeneBank accession No. NM_017515) をもとに primer 3 (<http://primer3.sourceforge.net>) を用いて設計し、エキソジャンクションを含む 199 塩基対の配列を増幅部位とする上流及び下流プライマー 5'-CTGGAAAATTGCCCTGCTGT-3' および 5'-AACCCACCATGATGACAGT-3' を使用した。また、発現補正用のコントロール遺伝子として β -actin 遺伝子 (GeneBank accession No. NM_001101.3) を用い、142 塩基対を増幅部位とする 5'-ACATCTGCTGGAAGGTGGA CAG-3' および 5'-ATTGCCGACAGGATGCAGAA-3' のプライマーを使用した。細胞より抽出した RNA は、PrimeScript RT Master mix (タカラバイオ社) を用いた逆転写反応によって cDNA を合成した。それぞれの cDNA に含まれる目的遺伝子産物の量を SYBR premix Ex taq II (タカラバイオ社) と Pikoreal real-time PCR system (Thermo Fisher Scientific 社) を用いて測定した。増幅サイクルは、90°C 30 秒の熱変性のあと、(95°C 5 秒 \rightarrow 60°C 30 秒) の 40 サイクル反応で行い、その後 60°C から 95°C の融解曲線測定より反応産物の特異性を解析した。

RNAi による遺伝子発現抑制

SLC35F2 遺伝子の発現抑制は、RNA 干渉 (RNAi) により行った。SLC35F2 をターゲットとする siRNA は、Thermo Fisher Scientific 社の BLOCK-iT RNAi Express

によりデザインされた2種類の validated Stealth siRNA を用いた (siRNA1: ID HSS123179, siRNA2: ID HSS123180)。SLC35F2 に対するそれぞれの siRNA あるいはコントロール siRNA (Stealth RNAi negative control, medium GC) を Lipofectamine RNAiMax (Thermo Fisher Scientific 社) を用いて 100 nM の濃度で細胞に導入した。RNAi の遺伝子発現抑制効率は、RNAi 処理後4日目に RNA を回収し、real-time PCR で定量することにより測定した。

細胞周期の測定

A549 あるいは PC-9 細胞を 12-well plate に 2×10^4 /well (A549) あるいは 4×10^4 /well (PC-9) の細胞密度で播種し、翌日 RNAi 処理を行った。siRNA は siRNA なし、コントロール siRNA, 2 種類の SLC35F2 siRNA を用いて行った。RNAi 処理4日後に膜透過処理を行った細胞の DNA を propidium iodide (PI) により染色し、個々の細胞の DNA 量をイメージサイトメーター (Tali image-based cytometer, Thermo Fisher Scientific 社) を用いて測定した。得られた DNA ヒストグラムを解析し、各期 (G1 期, S 期, G2/M 期) の割合を求めた。

ゲフィチニブ感受性の測定

A549 あるいは PC-9 細胞を 96-well plate に 2×10^3 /well (A549) あるいは 4×10^3 /well (PC-9) の細胞密度で播種し、種々の濃度のゲフィチニブを含む培地で培養した。4 日後に WST-8 アッセイによって生細胞数を測定することにより、細胞のゲフィチニブに対する感受性を測定した。ゲフィチニブによる 50% 生育阻害濃度 (IC_{50}) は、Image J プログラムの Curve Fitter を用いた 4 係数ロジスティック曲線から計算した。

RNAi 処理細胞のゲフィチニブ感受性は、RNAi 処理翌日より 96 well plate に細胞を播種し、cell counting Kit-8 を用いて細胞増殖を測定した。コントロール siRNA と

SLC35F2 siRNA2 を用いて RNAi 処理を行った。翌日、50% 阻害濃度のゲフィチニブを添加した培地と交換し、その4日後に細胞増殖を測定した。

B 群ビタミン添加の影響

前述の方法と同様にして 96 well plate に細胞を播種した翌日、チアミン塩酸塩, ピリドキシン塩酸塩, 葉酸 (ともに和光純薬), ニコチンアミド (Sigma-Aldrich 社) を培地中に溶解した溶液を加えるとともに、RNAi 処理を行った。siRNA はコントロール siRNA と SLC35F2 siRNA2 を用いて実験を行った。その4日後に Dojindo cell counting Kit-8 を用いて細胞増殖試験を行った。B 群ビタミン溶液の濃度は培地に含まれる濃度の約 10 倍を目安とし、それぞれ最終濃度が 100 μ M となるように加えた。

統計学的解析

全ての測定値は、平均値 \pm 標準偏差 (SD) で示した。測定値統計解析には、R プログラム (v 3.1.3) を用いて行った。検定は一元配置分散分析とともに、Dunnnett 法あるいは Tukey's HSD 法による多重比較で行った。全ての検定において、有意水準は P 値 < 0.05 とした。

結果と考察

SLC35F2 の発現抑制が肺腺がん細胞株の細胞増殖に及ぼす影響

ヒト肺腺がん由来の細胞株として、EGFR 野生型である A549 細胞と EGFR 変異型の PC-9 細胞の 2 種類を用いた。A549 はヒト肺腺基底上皮腺がん由来細胞株であり、EGFR-TKi であるゲフィチニブに対する感受性は比較的低い。PC-9 細胞は分化型のヒト肺腺がん由来細胞株であり、Exon19 の欠失変異 (del E746~A750) を持つことにより、ゲフィチニブに高い感受性を示す。これらの細胞株

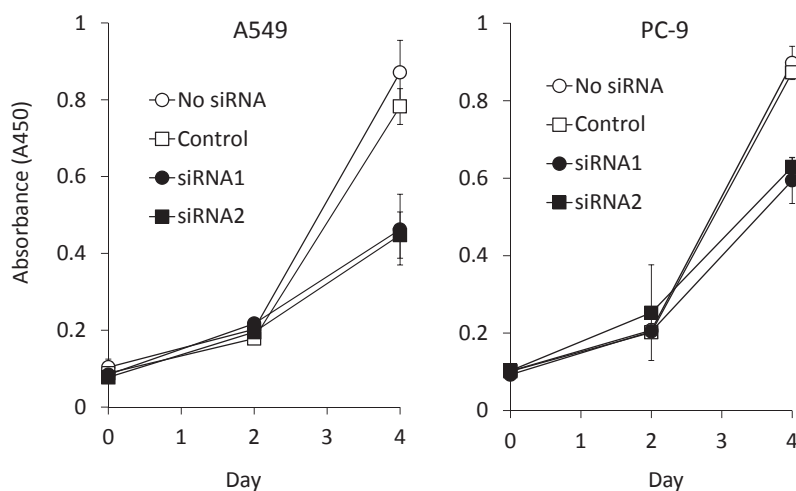


Fig. 1 Proliferation of A549 and PC-9 cells treated with siRNA for SLC35F2.

Cells were seeded onto a 96-well plate and treated with each siRNA. The number of cells was quantified at days 0, 2, 4 using a WST-8 assay. Values shown are means \pm SD obtained from three experiments. No siRNA, cells treated with vehicle; control, cells treated with control siRNA; siRNA1 and siRNA2, cells treated with either of two siRNA for SLC25F2.

で、siRNAを用いたRNAiによってSLC35F2の遺伝子発現を抑制した場合、それぞれの細胞増殖がどのようになるかをWST-8アッセイにより測定した。

細胞増殖はRNAi開始4日後に測定したが、図1に示したようにA549細胞、PC-9細胞ともに、SLC35F2遺伝子の発現を抑制することにより細胞増殖が有意に低下した。real-time PCRで測定した遺伝子発現抑制効率は、A549細胞ではsiRNA1が42%、siRNA2が10%、PC-9細胞ではsiRNA1が39%、siRNA2が22%と、ともに4日後においても半分以下に低下していた。

SLC35F2の発現抑制が肺腺がん細胞株の細胞周期に及ぼす影響

PI染色とサイトメーターを用いた解析により、SLC35F2発現抑制細胞の細胞周期状態を測定した。A549細胞、PC-9細胞のどちらにおいても、SLC35F2遺伝子の発現抑制によりG1/G0期(増殖停止期)の細胞が増加し、G2/M期(増殖期)の細胞が有意に減少した(図2)。このことから、SLC35F2遺伝子の発現抑制は、これらの細胞において細胞周期を停止させることによって細胞増殖を抑制することが示された。A549細胞とPC-9細胞との間で相違が認められなかったことから、SLC35F2遺伝子の発現抑制による増殖の低下は、EGFRの機能亢進型変異に依存していないことが示された。

SLC35F2の発現状態がゲフィチニブ感受性に及ぼす影響

ゲフィチニブのようなEGFR-TKiは、EGFRに変異を持つ非小細胞肺がんにも効果を示すが、長期間投与するとEGFRのT790M突然変異などの変異を招き、EGFR-TKiに対する薬剤耐性を獲得することが知られている。PC-9

細胞をゲフィチニブによって長期間処理することにより、耐性獲得細胞を樹立することができる。PC-9細胞を段階的に高濃度にしたゲフィチニブで処理することにより作成したゲフィチニブ耐性細胞では、ゲフィチニブの濃度が増加するに従いSLC35F2遺伝子の発現は低下し、1 μ Mゲフィチニブの耐性細胞では非耐性細胞の74%まで遺伝子発現が低下した(図3)。このことから、SLC35F2遺伝子の発現状態は、EGFR変異細胞におけるゲフィチニブ耐性獲得と関連している可能性が示唆された。

そこで、EGFR野生型と変異型の肺腺がん由来細胞でSLC35F2遺伝子の発現抑制を行うことにより、ゲフィチニブ感受性に影響がみられるかどうかについて検討した。ゲフィチニブ感受性の低いA549細胞と、感受性の高いPC-9細胞のそれぞれについてゲフィチニブのIC₅₀濃度決定を行ったところ、それぞれ15 μ M、0.05 μ Mと算定されたため、RNAi処理とともにこの濃度のゲフィチニブを添加することにより、ゲフィチニブ感受性に変化が見られるかどうかを検討した。図4に示したように、ゲフィチニブ処理による細胞増殖の阻害率は、A549細胞ではコントロールが28.5 \pm 7.5%、siRNAが33.8 \pm 11.2%、PC-9細胞ではコントロールが86.5 \pm 1.4%、siRNAが81.9 \pm 6.9%であり、いずれも有意差はみられなかった。これらのことから、A549細胞、PC-9細胞ともにSLC35F2の発現抑制ではゲフィチニブ感受性は変化せず、SLC35F2はゲフィチニブの輸送には機能していないことが示唆された。なお、A549細胞とPC-9細胞とでIC₅₀濃度のゲフィチニブ処理による増殖阻害率が大きく異なっていたことは、RNAiによる細胞の変化によりゲフィチニブに対する感受性が変動したためであると考えられる。

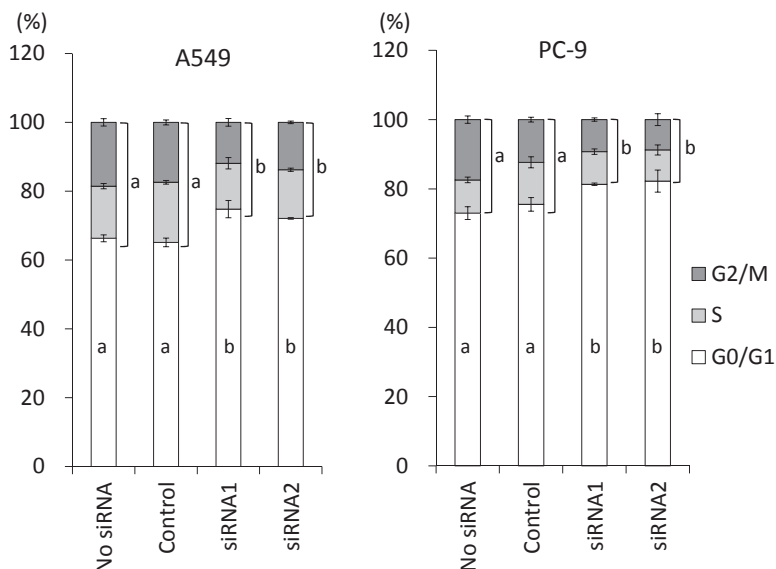


Fig. 2 Cell cycle progression of A549 and PC-9 cells treated with siRNA for SLC35F2.

Cells were seeded onto a 12-well plate and treated with each siRNA. The percentages of cells in G0/G1, S, and G2/M were determined at day 4 by DNA content analysis using propidium iodide and an image cytometer. Values shown are means \pm SD obtained from three experiments. Means (G0/G1 or S+G2/M) with different letters are significantly different ($P < 0.05$). Control, cells treated with control siRNA; siRNA1 and siRNA2, cells treated with either of two siRNA for SLC25F2.

B 群ビタミンが SLC35F2 発現抑制による細胞増殖低下に及ぼす影響

SLC35F2 の輸送基質は不明であるが、SLC35F メンバーの一つである SLC35F3 は、ビタミン B₁ (チアミン) の輸送機能を持つことが示されている¹¹⁾。SLC35F2 の発現抑制による細胞増殖の低下がチアミンとそれに類似した構造を持つ B 群ビタミン 3 種 (ピリドキシン, ナイアシン, ニコチンアミド) によりレスキューできるかどうかを調べることにより、SLC35F2 がこれらのビタミンの輸送に関与しているかどうかを検討した。それぞれのビタミンは培地中と同じ遊離型とし、細胞増殖に大きな影響を与えない濃度として、培地に含まれる濃度の 10 倍量を目安に

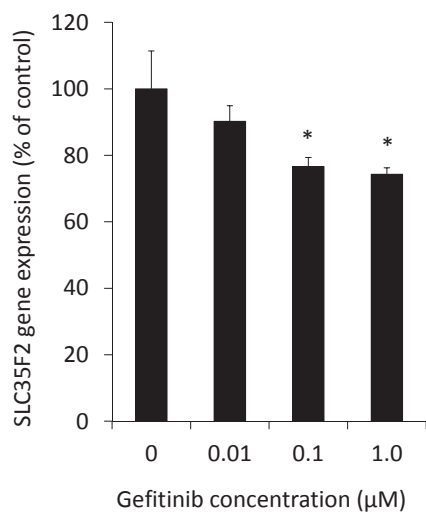


Fig. 3 Gene expression of SLC25F2 in the gefitinib-resistant PC-9 cells.

Cells were treated with 0, 0.01, 0.1 and 1 μM gefitinib and the relative amounts of SLC25F2 transcript were determined by real-time PCR method. Values shown are means±SD obtained from three experiments. Asterisks indicate significant differences from cells treated with 0 μM gefitinib (Dunnett's test, $P < 0.05$).

100 μM となるように添加した。

A549 細胞及び PC-9 細胞を RNAi 処理するとともに B 群ビタミンのそれぞれを加え、4 日後に細胞増殖に与える影響を検討した。図 5 に示したように、A549 細胞、PC-9 細胞のどちらにおいても、B 群ビタミンのいずれも RNAi による細胞増殖の低下に大きな影響を与えなかった。今回の実験では、SLC35F2 によるこれらのビタミンの輸送活性や、発現抑制による細胞内でのビタミン濃度の変化を測定していないことから、SLC35F2 がこれらのビタミンの輸送に関与しないかどうかについては確定していないが、少なくとも SLC35F2 の発現抑制による細胞増殖の低下はこれらのビタミンの輸送とは関連していないものと考えられる。

また、ゲフィチニブ基本骨格であるキナゾリン環はこれらの B 群ビタミンと類似した構造をもつことから、これらの B 群ビタミンがゲフィチニブ感受性に及ぼす影響についても検討したが、A549, PC-9 細胞どちらの細胞においても B 群ビタミンの添加によってゲフィチニブ感受性に大きな変化は認められなかった (データは不掲載)。これらのことから、これらの細胞において B 群ビタミンはゲフィチニブの感受性にも影響しないものと考えられる。

結 論

本研究は、SLC35F2 が非小細胞肺がんの増殖とゲフィチニブ感受性に及ぼす作用について明らかにすることを目的として行った。本研究の結果より、非小細胞肺がん由来細胞において SLC35F2 遺伝子の発現を抑制することによって、細胞周期が停止することにより細胞増殖が抑制されることが示された。また、A549 細胞と機能亢進型の EGFR 変異を持つ PC-9 細胞との間で相違は認められなかったことから、SLC35F2 遺伝子の発現抑制による増殖

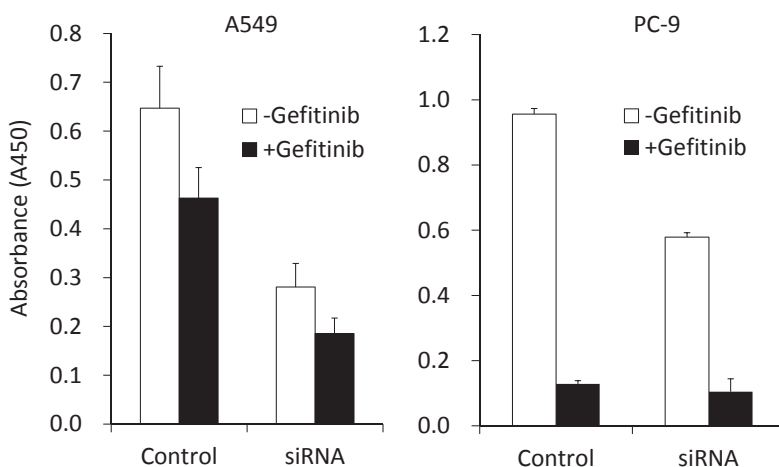


Fig. 4 Gefitinib sensitivity of A549 and PC-9 cells treated with siRNA for SLC35F2.

Cells were seeded onto a 96-well plate and treated with each siRNA and the IC₅₀ doses of gefitinib. The number of cells was quantified at day 4 using a WST-8 assay. Values shown are means±SD obtained from three experiments. Control, cells treated with control siRNA; siRNA, cells treated with a siRNA2 for SLC25F2.

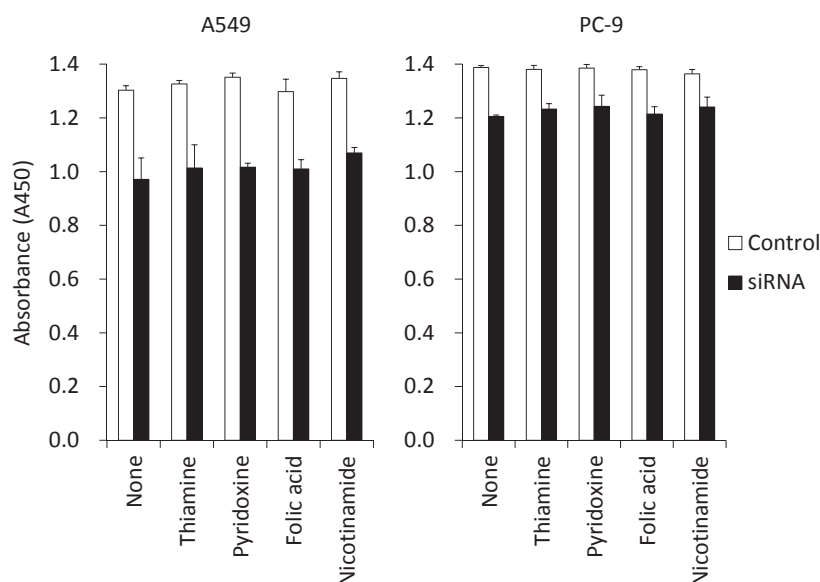


Fig. 5 Effect of B-complex vitamins on the proliferation of A549 and PC-9 cells treated with siRNA for SLC35F2. Cells were seeded onto a 96-well plate and transfected with each siRNA and B-complex vitamins. The number of cells was quantified at day 4 using a WST-8 assay. Values shown are means±SD obtained from three experiments. Control, cells treated with control siRNA; siRNA, cells treated with a siRNA2 for SLC25F2.

の低下は、EGFRの変異によらないことが示された。一方、SLC35F2遺伝子の発現量はゲフィチニブ耐性PC-9細胞で低下していたことから、SLC35F2はゲフィチニブ耐性獲得に関与する可能性が示唆されたが、A549細胞、PC-9細胞ともにSLC35F2遺伝子の発現抑制によりゲフィチニブ感受性に変化が見られなかったことから、SLC35F2はゲフィチニブの輸送には機能しないことが示唆された。また、B群ビタミンの添加は、A549細胞とPC-9細胞のいずれにおいても、SLC35F2による増殖抑制にもゲフィチニブ感受性にも影響を与えなかった。

これらの結果から、SLC35F2の発現状態は肺腺がん細胞の増殖に関与しているが、その作用はB群ビタミンの輸送によるものではないものと考えられる。また、その作用はEGFRの変異に無関係であり、ゲフィチニブ感受性にも影響しない可能性が示された。

参考文献

- 1) 神山伸, 西原祥子 (2008) 糖ヌクレオチド輸送体・PAPS輸送体による糖鎖合成の制御. 蛋白質核酸酵素 53: 1486-1494.
- 2) Kamiyama S, Suda T, Ueda R, Suzuki M, Okubo R, Kikuchi N, Chiba Y, Goto S, Toyoda H, Saigo K, Watanabe M, Narimatsu H, Jigami Y, Nishihara S (2003) Molecular cloning and identification of 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporter. J Biol Chem 278: 25958-25963.
- 3) Kamiyama S, Sasaki N, Goda E, Ui-Tei K, Saigo K, Narimatsu H, Jigami Y, Kannagi R, Irimura T, Nishihara S (2006) Molecular cloning and characterization of a novel 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporter, PAPST2. J Biol Chem 281: 10945-10953.
- 4) Gillissen B, Burkle L, Andre B, Kuhn C, Rentsch D, Brandl B, Frommer WB (2000) A new family of high-affinity transporters for adenine, cytosine, and purine derivatives in Arabidopsis. Plant Cell 12: 291-300.
- 5) Nishimura M, Suzuki S, Satoh T, Naito S (2009) Tissue-specific mRNA expression profiles of human solute carrier 35 transporters. Drug Metab Pharmacokinet 24: 91-99.
- 6) 神山伸, 曾根英行, 榎本秀一 (2012) SLC35Fファミリー遺伝子の取得と機能解析. 人間生活学会誌 3: 19-25.
- 7) Ashikov A, Routier F, Fuhlrott J, Helmus Y, Wild M, Gerardy-Schahn R, Bakker H (2005) The human solute carrier gene SLC35B4 encodes a bifunctional nucleotide sugar transporter with specificity for UDP-xylose and UDP-N-acetylglucosamine. J Biol Chem 280: 27230-27235.
- 8) Kashiwaya K, Hosokawa M, Eguchi H, Ohigashi H, Ishikawa O, Shinomura Y, Nakamura Y, Nakagawa H (2009) Identification of C2orf18, termed ANT2BP (ANT2-binding protein), as one of the key molecules involved in pancreatic carcinogenesis. Cancer Sci 100: 457-464.
- 9) Matsuyama R, Togo S, Shimizu D, Momiyama N,

- Ishikawa T, Ichikawa Y, Endo I, Kunisaki C, Suzuki H, Hayasizaki Y, Shimada H (2006) Predicting 5-fluorouracil chemosensitivity of liver metastases from colorectal cancer using primary tumor specimens: three-gene expression model predicts clinical response. *Int J Cancer* 119: 406-413.
- 10) 神山伸, 曾根英行, 石黒真理子, 榎本秀一 (2013) 大腸癌細胞における SLC35F5 輸送体の発現と 5-fluorouracil 感受性について. *人間生活学会誌* 4: 137-145.
- 11) Zhang K, Huentelman MJ, Rao F, Sun EI, Corneveaux JJ, Schork AJ, Wei Z, Waalen J, Miramontes-Gonzalez JP, Hightower CM, Maihofer AX, Mahata M, Pastinen T, Ehret GB, International CFBPG-WAS, Schork NJ, Eskin E, Nievergelt CM, Saier MH, O'Connor DT (2014) Genetic implication of a novel thiamine transporter in human hypertension. *J Am Coll Cardiol* 63: 1542-1555.
- 12) Sarangi A, Bupp K, Roth MJ (2007) Identification of a retroviral receptor used by an envelope protein derived by peptide library screening. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 11032-11037.
- 13) Bu L, Jiang G, Yang F, Liu J, Wang J (2011) Highly expressed SLC35F2 in non-small cell lung cancer is associated with pathological staging. *Mol Med Report* 4: 1289-1293.
- 14) Li X, Li J, Jiang G, Bu L, Yang F, Liu J, Wang J (2013) Influence on the behavior of lung cancer H1299 cells by silencing SLC35F2 expression. *Cancer Cell Int* 13: 73.
- 15) Winter GE, Radic B, Mayor-Ruiz C, Blomen VA, Trefzer C, Kandasamy RK, Huber KV, Gridling M, Chen D, Klampfl T, Kralovics R, Kubicek S, Fernandez-Capetillo O, Brummelkamp TR, Superti-Furga G (2014) The solute carrier SLC35F2 enables YM155-mediated DNA damage toxicity. *Nat Chem Biol* 10: 768-773.
- 16) Nicholson RI, Gee JM, Harper ME (2001) EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer* 37 Suppl 4: S9-15.
- 17) Mitsudomi T, Yatabe Y (2007) Mutations of the epidermal growth factor receptor gene and related genes as determinants of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors sensitivity in lung cancer. *Cancer Sci* 98: 1817-1824.
- 18) Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG, Louis DN, Christiani DC, Settleman J, Haber DA (2004) Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 350: 2129-2139.
- 19) Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, Herman P, Kaye FJ, Lindeman N, Boggon TJ, Naoki K, Sasaki H, Fujii Y, Eck MJ, Sellers WR, Johnson BE, Meyerson M (2004) EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 304: 1497-1500.
- 20) Mitsudomi T, Kosaka T, Yatabe Y (2006) Biological and clinical implications of EGFR mutations in lung cancer. *Int J Clin Oncol* 11: 190-198.