抗癌剤感受性試験

久 保 田 哲 朗

慶應義塾大学医学部外科学教室*

(平成 13 年 10 月 2 日受付・平成 13 年 10 月 23 日受理)

抗癌剤感受性試験は"同一の臓器由来で同一の組織型を有する癌においても抗癌剤に対する感受性は 異なる"という現象から開発されてきた。第 30 回制癌剤適応研究会における本邦の抗癌剤感受性試験 の臨床効果予測率調査においては、1,101 例の測定可能・評価可能病変を有する症例を対象とした抗癌 剤感受性試験の正診率は 74% であった。しかし,臨床奏効例の多くは partial response にとどまって おり、症例の生存期間延長に結びついていない。そこで、われわれは手術により腫瘍量を減少させた上 で、適応抗癌剤を投与すれば症例の生存期間の延長が図れるのではないかとの仮説をたて、補助化学療 法選択における抗癌剤感受性試験の有用性を明らかにした。また,少量の検体を用いた 5–fluorouracil (5-FU) 感受性の予測を目的とし、胃癌臨床検体を対象として、5-FU 感受性と dihydropyrimidine dehydrogenase equilibrative NBMPR-sensitive nucleoside transporter mRNA の関係を検討し、分 解酵素および膜輸送蛋白をコードする mRNA が高値であると 5-FU 感受性が低下することを示した。 現行の抗癌剤感受性試験は培養した癌細胞に抗癌剤をどっぷりつけ,その生き死にをなんらかの方法で 判定するどちらかといえば primitive な試験方法である。しかしながら、そのぶん臨床に密着しており、 少なくとも臨床的に無効な薬剤の除外が可能である。また、耐性機構の不明な新規抗癌剤についても、 臨床における薬物動態が判明した時点から応用できる利点がある。抗癌剤感受性試験の精度は,現在広 く臨床に応用されている抗菌薬感受性試験や乳癌におけるホルモンレセプター・アッセイとほぼ同程度 である。抗癌剤感受性試験により感受性を有する集団を特定できれば,既存の抗癌剤を用いたよりよい "Tailor-made therapy" が可能になると考えられる。

Key words: 抗癌剂,感受性試験,5-fluorouracil, mRNA, RT-PCR

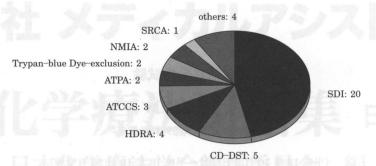
抗癌剂感受性試験は"同一の臓器由来で同一の組織型を有する癌においても抗癌剤に対する感受性は異なる"という現象から開発されてきた。抗癌剤感受性試験が広く臨床に応用されたのは、Hamburger AR、Salmon SEのHuman Tumor Clonogenic Assayを嚆矢としている。本アッセイはgrowth assayであり、試験管内で癌細胞を生体内で増殖させ抗癌剤感受性を確認するという理想的な主張を有していたため、一時的に世界的な普及をみた。しかしながら、その判定可能率の低さが臨床家の足を遠退かせ、臨床的検査に至るまでにはならなかった。このアッセイは「ヒトの癌をin vitro で培養し、その生物反応をin vitro で観察できる」ことを示した点で画期的な業績であったが、同時に本アッセイの臨床応用を30年近く遅らせるという不幸な星を背負っていた。

I. 抗癌剤感受性試験の方法

Fig. 1 に、1997 年の第 30 回制瘤剂適応研究会において行われた全国アンケートにおいて調査された、本邦で用いられている抗癌剤感受性試験の方法を示した。In vivo の方法はわずかにヌードマウス法 (NMIA) 2 施設、subrenal capsule assay (SRCA) 1 施設にとどまって

た。もっとも回答の多かった方法は、Kondo らの報告。を嚆矢とする succinic dehydrogenase inhibition(SDI)法であった。本法はミトコンドリアの活性を標的とした抗癌剂感受性試験であり、腫瘍組織を酵素的処理により単離細胞浮遊液を作製し、単層培養癌細胞と各種薬剤を48~72 時間接触させ、培養終了時に SD 活性を比色計で測定する方法である $^{4.5}$ 。現在は SD の基質として広く用いられているのは tetrazolium 塩であり、この基質の名称である $^{4.5}$ ーは MTである $^{4.5}$ ーは MTである $^{4.5}$ ーは MTである $^{4.5}$ ーは MTである $^{4.5}$ ーは MTである $^{4.5}$ ーは MTである $^{4.5}$ ーは MTであり、一般的には MTTで、サーマイと称されている $^{6.5}$ 。簡便・安価で $^{4.5}$ ーの 関定可能率を有することから広く臨床に応用されている。

次いで多数を占めたのはCollagen gel droplet embedded drug sensitivity test (CD-DST) であるで。本法は growth assay であり、コラーゲンゲル包埋法と画像解析定量法を組み合わせた方法で、抗癌剤感受性試験としては本邦で唯一特許を獲得している。腫瘍組織を細胞分解酵素液で処理して、コラーゲンゲルフラスコ内で24時間の予備培養を行い、コラーゲンゲルドロップ



Number indicates number of institutes (multiple answers)

Fig. 1. Chemosensitivity test undergone in Japan (30 th Japanese Society for Appropriate Cancer Therapy). Abbreviations: SDI, succinic dehydrogenase inhibition method: CD–DST, collagen droplet–drug sensitivity test: HDRA, histoculture drug response assay; ATCCS, adhesive tissue/cell culture system; ATPA, adenosine triphosphate method; NMIA, human tumor/nude mouse method; SRCA, subrenal capsule method (Kondo T, et al., Anticancer Res 20: 2389, 2000).

内で包埋培養を行う。さらに、コラーゲンゲルドロップ内の腫瘍細胞に対して、臨床における area under the curve に近い条件で薬剤接触を行い、7日間の無血清培養ののちに、ニュートラルレッドによる細胞の染色と腫瘍細胞の同定を行い、画像解析装置により癌細胞のみを解析して抗癌剤感受性を判定する方法である。この方法は微量の検体でもアッセイ可能であり、システムキットとして Primaster™(新田ゼラチン、大阪)が発売されている。

次いで Collagen matrix を用いた組織培養法が用いられていた。本法は Histoculture drug response assay (HDRA) とも呼ばれる組織培養法を応用した抗癌剤感受性試験である^{8,9)}。多くの in vitro 抗癌剤感受性試験が単離腫瘍細胞の単層培養法による初代培養細胞株を対象にしているのに対して、HDRA は増殖する癌組織を対象としているのが特長である。本法は新鮮手術材料を対象とした組織培養法による感受性試験であり、in vitroにおいて細胞間接着を有したまま 3 次元構造を保持した癌組織を対象とした感受性試験を可能とした。

Table 1 に第 30 回制癌剤適応研究会における本邦の 抗癌剤感受性試験の臨床効果予測率を示した²⁰。1,101 例の測定可能・評価可能病変を有する症例を対象とした 抗癌剤感受性試験の正診率は 74% であった。この正診

Table 1. Predictive value of chemosensitivity test

Assay result Clinical effect	Sensitive	Resistant	
Sensitive case	215*	45	1
Resistant case	246	595	

*Number of cases

Accuracy (S/S+R/R)/Total 1,101 cases: 74%

True positive rate (S/S)/(S/S+S/R): 46.6%

True negative rate (R/R)/(R/S+R/R): 93.0%

Sensitivity (S/S)/(S/S+R/S): 82.7%

Specificity (R/R)/(S/R+R/R): 70.7%

30th Annual Meeting of Japanese Society for Appropriate Cancer Therapy

率は真陽性例(アッセイで有効と判定された薬剤が臨床でも有効であった症例)+真陰性例(アッセイで無効と判定された薬剤が臨床でも無効であった症例)を全試験数で除した率である。この表で特徴的なことは偽陰性例(アッセイで無効であったが臨床では有効であった症例)が45症例と少なく、真陰性率が93%にのほった点である。すなわち、抗癌剤感受性試験で無効と判定された薬剤の9割以上は無効であり、真陽性率46.6%からは抗癌剤感受性試験で選択された薬剤の半分近くが臨床で有用であることが示されている。

以上, 抗癌剤感受性試験は抗癌剤の臨床効果を74% の確率で予測したが、これらの成績の臨床奏効例の多く は partial response の効果にとどまっており、症例の生 存期間延長に結びつくことは少ない。このことは抗癌剤 感受性試験に限られた事象ではなく、固形癌に対する現 行抗癌剤全体がかかえる問題点である。そこで、われわ れは手術により極力腫瘍量を減少させた上で, 適応抗癌 剤を投与すれば症例の生存期間の延長が図れるのではな いかとの仮説をたて、補助化学療法選択における抗癌剤 感受性試験の有用性を検討した。1990年8月より1993 年6月まで参加45施設において手術施行された進行胃 癌症例 215 例を対象として HDRA の胃癌補助化学療法 選択における有用性を検討した100。本研究はブラインド 法により行われた。すなわち、参加施設は胃癌取扱い規 約第 11 版による Stage Ⅲ, Ⅳ 胃癌のうち腹膜播種・肝転 移・遠隔転移を有さない症例を対象としてD2以上の 根治手術を行い、単一プロトコールによる補助化学療法 を行った。このプロトコールは研究を開始した90年当 時には標準的治療法とされていた mitomycin C (MMC) と UFT の併用療法であり、MMC は 60 mg/body 以上 を目標とし、UFTは1年投与を目標に投与した。登録 215 症例中適格症例は 168 例, 完全症例は 128 症例で あった。感受性 (sensitive) 群と低感受性 (insensitive) 群の背景因子には推計学的に有意な隔たりは認められな かった。Kaplan-Meier 法による生存率の比較では,

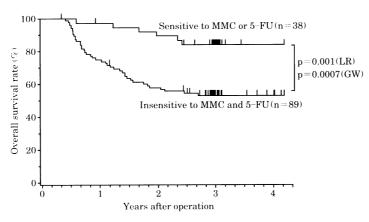
MMC または5-FU の どちらかに感受性を示した sensitive 群 38 例、どちらにも感受性を示さなかった insensitive 群 89 症例の背景因子は基本的に同一であったが、両群の生存率は推計学的に有意な差を示し、S 群の生存率は R 群に比べて良好であった(Fig. 2、p<0.0007)。

III. 5-FU に対する抗癌剤感受性予測

1957年 Heidelberger ら¹¹によって合成された5-fluorouracil(5-FU)は、40年来、各種固形癌の治療に用いられてきた。5-FUの活性化経路は複雑であり、

OPRT から始まるリン酸化の過程で三リン酸化 (FUTP) されて RNA ポリメラーゼを阻害する系¹²¹と、FUDP から RR による還元を受け、FdUDP より FdUMP に脱リン酸化された後に 5, 10−CH₂FH₄ を補酵素に DNA の de novo 合成酵素である thymidylate synthetase (TS) と 強固な三者共有結合体を形成して DNA 合成を阻害する系¹³¹が想定されている。一方、分解における律速酵素は dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) のみである¹⁴¹ (Fig. 3)。

われわれは、少量の検体を用いた 5-FU 感受性の予



LR: logrank test, GW: generalized Wilcoxon test

Fig. 2. Survival outcome of the patients with Stage III/IV gastric Cancer according to the results of an HDRA chemosensitivity assay.

Sensitive group (38 cases) to MMC and/or 5-fluorouracil (5-FU) had a favorable survival outcome comparing with resistant group (89 cases) whose tumors were resistant to MMC and 5-FU with a statistically significant difference at P<0.0007. There were no significant differences in the background factors between both the groups (Kubota T, et al., Clin Cancer Res 1: 1537, 1995).

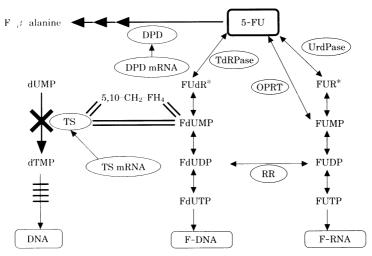
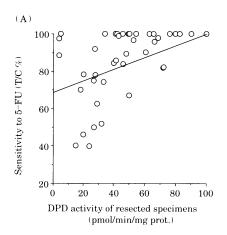


Fig. 3. Metabolic pathway of 5-fluorouracil (5-FU). 5-FU will be phophorylated from the initial enzyme of orotate phopsphribosyl transferase (OPRT) until fluorouridine triphosphate (FUTP) and inhibit RNA polymerase. In the other pathway, ribonucleotide reductase (RR) will metabolize fluorouridine diphosphate (FUDP) to fluorodeoxyuridine diphate (FdUMP), which will be dephosphorylated to fluorodeoxyuridine monophosphate (FdUMP), which binds 5, 10-CH₂FH₄ and thymidylate synthetase (TS), which is a de novo DNA synthetic enzyme. The rate-limiting catabolic enzyme is dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD). *indicated the substrates of NBMPR-sensitive nucleoside transporter (es NT).



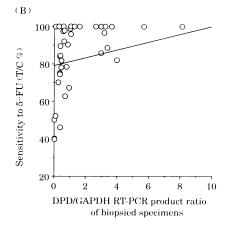


Fig. 4. Correlation of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) level and sensitivity to 5–fluorouracil of gastric cancer specimens.

Fig. Indicates the correlation of DPD enzymatic activity of surgical specimens and the sensitivity to 5–FU (A), and the correlation of DPD mRNA expression (ratio to GAPDH) of biopsied specimen and sensitivity to 5–FU. High DPD expression resulted in low sensitivity to 5–FU $(Ishikawa,\ Y,\ et\ al.,\ Jpn\ J\ Cancer\ Res\ 91:\ 105,\ 2000)$.

測を目的とし、ヒト胃癌臨床検体を対象として、5-FU 感受性と標的酵素 TS および分解酵素 DPD の酵素活性 および messenger RNA (mRNA) レベルの関係を検討 した¹⁵⁾。また nucleoside の促進拡散を制御する膜輸送 蛋白である equilibrative NBMPR-sensitive nucleoside transporter (es NT) をコードする mRNA レベルを測 定し、5-FU 感受性との相関を明らかにした。

1. 対象と方法

5-FU は協和発酵工業株式会社 (東京) より購入した。 TS 酵素活性の測定は Spears らの TS-binding assay 法¹⁶にもとづいて行った。DPD の測定は、Naguib¹⁷らの radioenzymatic assay にもとづいて行った。TS/DPD /es NT mRNA の測定は Takechi らの内部標準として用いた glyceraldehyde – 3 – phosphate dehydrogenase (GAPDH) との比較による Semi-quantitative RT-PCR 法¹⁸にもとづいて行った。

1997年5月から1998年7月までの間に、当院にて胃癌と診断され、手術を施行された胃癌患者41症例を対象とした。術前の胃内視鏡生検により、 $2\sim3$ mm 角の腫瘍を計5個採取し、ただちに液体窒素にて凍結後-80° に冷凍保存し、mRNAの測定に用いた。また、手術によって切除された原発巣の標本から腫瘍組織を採取し、検体を2分割した。一方の検体を用いて MTT assay^{4.5}を行い、もう一方はただちに液体窒素を用いて凍結後-80° に冷凍保存し、TS/DPD 酵素活性と TS/DPD/es NTmRNAの測定に供した。MTT assay による5-FU 感受性と酵素活性、mRNA レベルの相関を相関係数により検討した。

2. 結果

臨床における術前生検組織の mRNA と手術検体の酵素活性との相関関係では、TS レベルにおいても、DPD

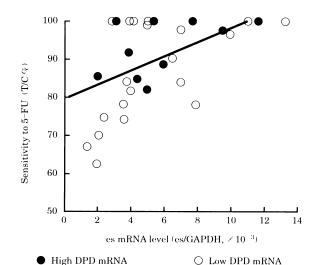


Fig. 5. Correlation between equilibrative NBMPR—sensitive nucleoside transporter (es NT) mRNA and sensitivity to 5—fluorouracil.

es NT is known as a membranous transporter of nucleosides including active metabolites of 5–FU (5–fluorouridine and 5–fluorodeoxyuridine). Higher expression of es NT mRNA concerned with less sensitivity to 5–FU. In addition, the expression of es NT mRNA did not have a significant correlation with the expression of DPD mRNA, and the gastric cancer specimens with low es NT mRNA and high DPD mRNA (●) were resistant to 5–FU. The resistance to 5–FU seemed to be regulated by catabolizing rate-limiting enzyme (DPD) and membranous transporter (es NT), independently.

y=79.9+1.83 x, r=0.48, P=0.0053

レベルにおいても有意な相関関係が示された。手術検体における TS 酵素活性と 5-FU 感受性との間、術前生検組織における TS mRNA と 5-FU 感受性との間には、明らかな相関関係は認められなかった。しかし、手術検

体における DPD 酵素活性と 5-FU 感受性に関しては、 Fig. 4Aに示すように推計学的に有意な相関関係が認め られた (P=0.0015)。 術前生検組織中の DPD mRNA と 5-FU 感受性においても、有意な相関関係が認められた (P=0.0078, Fig. 4 B)。すなわち、高い DPD 酵素活性、 高い DPD mRNA は 5-FU 低感受性に、逆に、それら の低値は5-FU高感受性に帰結した。同一症例を対象 として、5-FU 感受性と es NT mRNA との相関関係を Fig. 5 に示した。es NT は 5-FU の代謝産物である fluorouridine, fluorodeoxyuridineをはじめとする nucleoside を基質として細胞外へ排出する膜蛋白であ る。本蛋白をコードする mRNA レベルは DPD mRNA と同程度の 5-FU 感受性との相関を示し, es NT mRNA が高い、すなわち、nucleoside 排出膜蛋白をコードす る mRNA レベルが高いほど、5-FU 感受性が低い相関 が示された。さらに, es NT mRNA と DPD mRNA 問 の相関性は低く, es NT mRNA レベルが低くても 5-FU 低感受性である胃癌株の DPD mRNA は高い傾向が示 された。代謝律速酵素 (DPD) と排出膜蛋白 (es NT) の mRNA が、それぞれ別個に 5-FU 耐性を制御してい る可能性が示され、これらの組み合わせは分子生物学的 手法による 5-FU 感受性試験の精度向上により有効で あろうと考えられた。

IV. お わ り に

近年, 抗癌剤の耐性因子の研究が進み, DNA microarray を用いて個々の抗癌剤耐性およびその克服 に関する機構が明らかになってきている™。こういった 研究は、耐性症例の診断のみならず、耐性克服を介した 新たな治療法の開発へも有用であると考えられる。しか U, National Cancer Institute O Screening cell line 60 株の薬剤感受性を DNA microarray による遺伝子解析 と組み合わせた報告においても p53 などの唯一蛋白な いし遺伝子が薬剤感受性を規定する現象は認められてい ない20。一方、現行の抗癌剤感受性試験は培養した癌細 胞に抗癌剤をどっぷりつけ、その生き死にをなんらかの 方法で判定するどちらかといえば primitive な試験方法 である。しかしながら、そのぶん臨床に密着しており、 少なくとも臨床的に無効な薬剤の除外が可能である。ま た, 耐性機構の不明な新規抗癌剤についても, 臨床にお ける薬物動態が判明した時点から応用できる利点があ る。抗癌剤感受性試験の精度は、現在広く臨床に応用さ れている抗菌薬感受性試験や乳癌におけるホルモンレセ プター・アッセイとほぼ同程度である。また, 抗癌剤感 受性試験導入による抗癌剤市場の衰退を憂う向きもある ものの、その錯誤は、tamoxifen 導入時における estrogen receptor assay を考えれば、tamoxifen (抗癌剤) が estrogen receptor 陽性乳癌という標的 (抗癌剤感受性 癌)を得ることにより、その確固たる基盤を得たことか ら明らかである。さらに、近年開発されつつある分子標

的薬剤である herceptin や STI 579 については、その分子標的(her 2/neu、c-kit)が明確であることから、当該分子標的を発現している症例のみを対象として臨床開発が進められてきている。既存の抗癌剤に関しても、その分子標的は明らかにされつつあるものの、これまではすべての症例を対象とした blind therapy が行われてきたのが現状である。現行の抗癌剤感受性試験は薬剤の作用機序に関係せずに耐性を予測することが可能な whole cell assay であることから、本アッセイにより感受性(分子標的)を有する集団を特定できれば、既存の抗癌剤を用いたよりよい "Tailor-made therapy" が可能になると考えられる。

あくまで本試験は研究ではなく検査であり、今後は感受性試験をまず保険適応なり高度先進医療として臨床におけるルーチンな検査とし、しかるのちに臨床試験の組み立てや臨床における耐性克服の解決を図るべきものと考えられる。現在、抗癌剤感受性試験は高度先進医療として、当学を含む全国5施設(和歌山県立医科大学第二外科、大阪医科大学一般・消化器外科、慶應義塾大学一般・消化器外科、大阪市立大学第一外科、名古屋大学第二外科:認可順)において厚生労働省より認可されている。さらに、2002年度の保険大改正に向けての保険適応が、日本胃癌学会より内科系保険連合会を通じて申請中である。

文 献

- 1) Hamburger A W, Salmon S E: Primary bioassay of human tumor stem cells. Science 197: $461 \sim 463$, 1977
- 2) Kondo T, Kubota T, Tanimura T, et al.: Cumulative results of chemosensitivity tests for antitumor agents in Japan. Anticancer Res 20: 2389~2392, 2000
- 3) Kondo T, Imamura T, Ichihashi S: *In vitro* test for sensitivity of tumor to carcinostatic agents. Gann 57: 113∼121, 1966
- Suto A, Kubota T, Shimoyama Y, et al.: MTT assay with reference to the clinical effect of chemotherapy. J Surg Oncol 42: 28~32, 1989
- 5) Saikawa Y, Kubota T, Furukawa T, et al.: Single –cell suspension assay with an MTT endpoint is useful for evaluating the optimal adjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer. Jpn J Cancer Res 85: 762~765, 1994
- 6) Mosmann T: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival, application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 65: 55~ 63, 1983
- 7) Kobayashi H, Higashiyama M, Minamigawa K, et al.: Examination of in vitro chemosensitivity test using collagen gel droplet culture method with colorimetric endpoint quantification. Jpn J Cancer Res 92: 203~210, 2001
- 8) Hoffman R M: In vitro assay for chemosensitivity. Crit Rev Oncol Hematol 15: $99 \sim 111$, 1993

- Furukawa T, Kubota T, Hoffman R M: Clinical application of histoculture drug response assay. Clin Cancer Res 1: 305 ~ 311, 1995
- 10) Kubota T, Sasano N, Abe O, et al.: The potential of the histoculture drug response assay to contribute to cancer patient survival. Clin Cancer Res 1: 1537 ~1543, 1995
- 11) Heidelberger C, Chaudhuri N K, Danenberg P, et al.: Fluorinated pyrimidines, a new class of tumor—inhibitory compounds. Nature 179: 663~666, 1957
- 12) Matsuoka H, Ueo H, Sugimachi K, et al.: Preliminary evidence that incorporation of 5–fluorouracil into RNA correlates with antitumor response. Cancer Invest 10: 265~269, 1992
- 13) Langenback R J, Danenberg P V, Heidelberger C: Thymidylate synthethase: mechanism of inhibition by 5-fluoro-2'-deoxyuridylate. Biochem Biophys Res Commun 48: 1565~1571, 1972
- 14) Diasio R B, Harris B E: Clinical pharmacology of 5– fluorouracil. Clin Pharmacokinet 16: 215~237, 1989
- 15) Ishikawa Y, Kubota T, Otani Y, et al.: Dihydro-

- pyrimidine dehydrogenase and messenger RNA levels in gastric cancer: Possible predictor for sensitivity to 5–fluorouracil. Jpn J Cancer Res 91: $105 \sim 112$, 2000
- 16) Spears C P, Shahinian A H, Moran R G, et al.: In vivo kinetics of thymidylate synthetase inhibition in 5–fluorouracil–sensitive and –resistant murine colon adenocarcinomas. Cancer Res 42: 450~456, 1982
- 17) Naguib F N M, el Kouni M H, Cha S: Enzymes of uracil catabolism in normal and neoplastic human tissues. Cancer Res 45: 5405~5412, 1985
- 18) Takechi T, Okabe H, Fujioka A, et al.: Relationship between protein levels and gene expression of dihydropyrimidine dehydrogenase in human tumor cells during growth in culture and in nude mice. Jpn J Cancer Res 89: 1144~1153, 1999
- 19) 久保田哲朗, 菅沼和弘, 大谷吉秀, 他:抗癌剤感受性 とマイクロアレイ。臨床外科 24: 1785~1789, 2001
- Scherf Y, Ross D T, Waltham M, et al.: A gene expression database for the molecular pharmacology of cancer. Nat Gen 24: 236~244, 2000

Chemosensitivity test on antitumor agents

Tetsuro Kubota

Department of Surgery, School of Medicine, Keio University, Shinanomachi 35, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan

The chemosensitivity test was developed to assess differences in chemosensitivity among tumors originating in the same tissue and of similar histological type. At the 30 th Annual Meeting of the Japanese Society for Appropriate Cancer Therapy, the overall accuracy of the chemosensitivity test was 74% for 1,101 casee between 1994 and 1996 in Japan. However, only a partial response was recorded in the majority of cases, which does not result in any survival benefit. We believe that the chemosensitivity test is useful for evaluating appropriate adjuvant cancer chemotherapy regimens after surgery, enabling the tumor-burden to be reduced as much as possible. Further study has confirmed that molecular biological assays in which the mRNA of dihydropyrimidine dehdrogenase (a rate-limiting catabolic enzyme) and a membranous equilibrative nucleoside transporter are assessed, are useful for predicting the effect of 5fluorouracil. The conventionally available chemosensitivity test is a whole cell assay, in which the whole cancer cells are directly incubated with antitumor agents. This assay allows ineffective antitumor agents to be eliminated from treatment regimens, and is applicable to newly developed antitumor agents, in which the mechanisms of resistance and the pharmacokinetics pharmacodynamics are unclear. The accuracy of the chemosensitivity test is almost equivalent to that of hormone receptor assays and bacillus sensitivity tests. When customized therapies become available, the chemosensitityity test will be widely used in clinics, when its used will be supported by national health insurance.