

Fig. 1 5-アミノレブリン酸 (5-ALA) の膀胱内注入による光力学的診断

A, Bは各々従来の白色キセノン光源を用いた膀胱鏡による観察と蛍光光源を用いた蛍光膀胱鏡による観察は同一部位を観察している。

A: 白色光源下の観察で膀胱後壁に比較的視認困難な小腫瘍 (腫瘍径約2mm) を認める。しかし、蛍光光源下の観察で同腫瘍は蛍光励起され、赤色に発光している。この腫瘍はTCC, pTa, G2と病理学的に診断された。

B: 白色光源下の観察で膀胱頸部に異常所見を認めない。しかし、蛍光光源下の観察で同部は軽度蛍光励起され、赤色に発光している。同部位は移行上皮癌 (上皮内癌), pTis, G3と病理学的に診断された。

33検体 (11.0%) を含む124検体 (検体陽性率41.2%) が病理学的に悪性と診断され、陽性として解析した。全検体の内、青色光源下 (BLE) 所見により軽度以上の蛍光励起を認めた検体 (BLE 1以上) は178検体で、その内112検体 (62.9%) が病理学的に悪性と診断され、その的中精度は73.8%、感度90.3%、特異度62.1%であった。また白色光源下 (WLE) 所見により、軽度以上の異常所見を認めた検体 (WLE 1以上) は117検体で、その内91検体 (77.8%) が病理学的に悪性と診断され、その的中精度は80.4%、感度73.4%、特異度85.3%であった。

2) 肉眼分類別診断結果 (Table 2)

肉眼分類に基づいて、隆起病変部検体 (68検体) と非隆起病変部検体 (233検体) で比較した場合、本診断的

中精度は隆起病変88.2%、非隆起病変69.5%で、感度96.6%、84.6%、特異度33.3%、63.7%であった。また白色光源下膀胱鏡診断的的中精度は隆起病変89.7%、非隆起病変77.7%で、感度100.0%、49.2%、特異度22.2%、88.7%であった。

また乳頭状病変部検体 (51検体) と非乳頭状部検体 (250検体) で比較した場合、本診断的的中精度は乳頭状病変86.3%、非乳頭状病変71.2%で、感度97.7%、86.3%、特異度14.3%、64.1%であった。また白色光源下膀胱鏡診断的的中精度は乳頭状病変86.3%、非乳頭状病変79.2%で、感度100.0%、58.8%、特異度0.0%、88.8%であった。

3) 病歴別診断結果 (Table 2)

病歴に基づいて、初発症例 (24症例, 185検体)、再発症例 (14症例, 116検体) で比較した。本

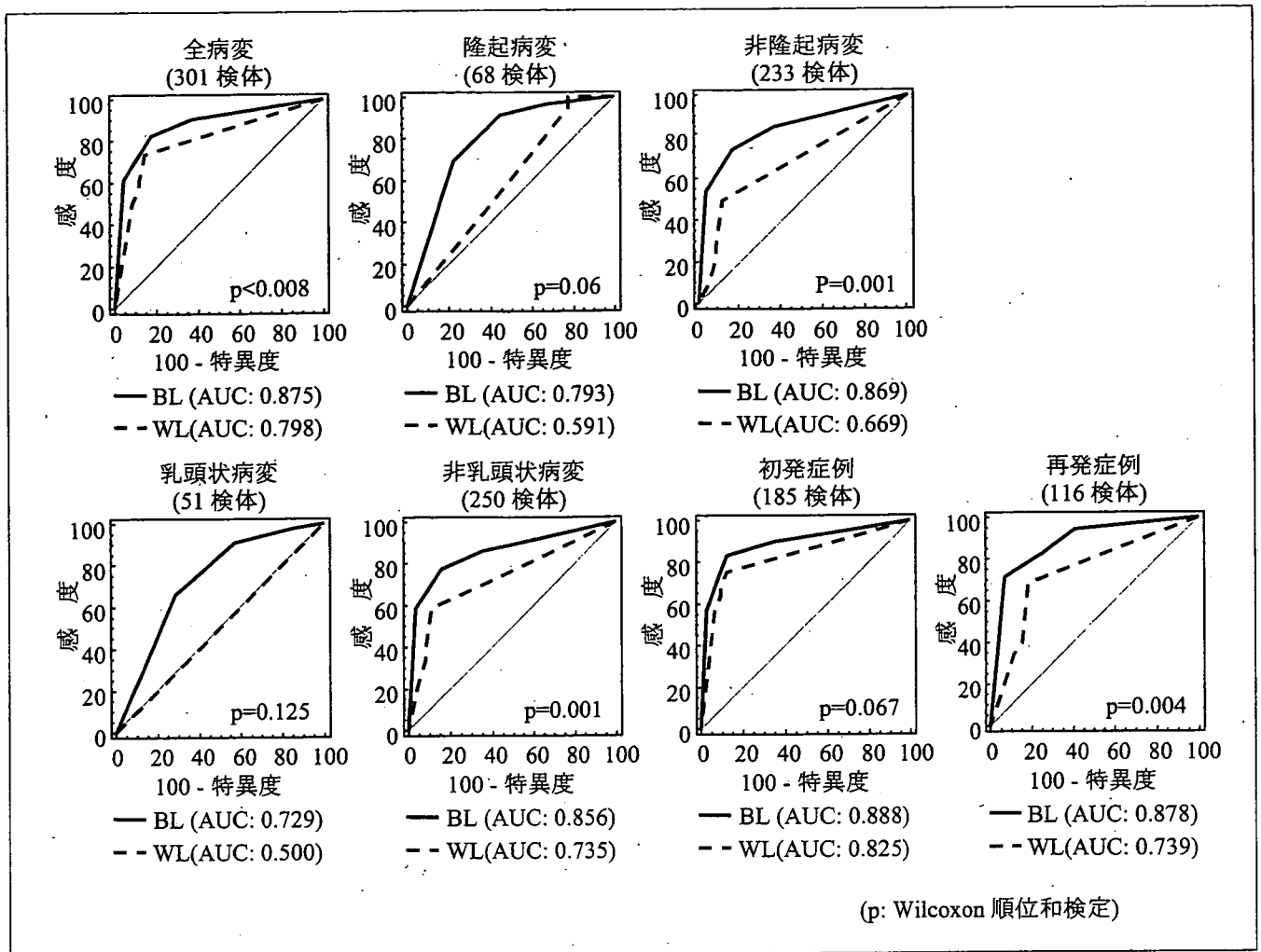


Fig. 2 ROC曲線を用いた診断能力の比較

光学的診断および白色光源下診断の診断能力を、ROC曲線よりAUCを算出し、評価した。AUCの有意差検定にはWilcoxon 検定を用いた。

BLE: blue light endoscopy (青色光源下蛍光膀胱鏡), WLE: white light endoscopy (白色光源下膀胱鏡), ROC (receiver operative characteristic) 曲線, AUC: area under curve (曲線下面積)

診断の的中精度は初発症例75.4%, 再発症例70.8%で、感度88.8%, 94.3%, 特異度64.2%, 59.2%であった。また白色光源下膀胱鏡診断の的中精度は、初発症例82.1%, 再発症例77.4%で、感度75.3%, 68.6%, 特異度87.7%, 81.7%であった。

4) ROC曲線を用いた診断能力の比較 (Fig. 2)

本診断および白色光源下膀胱鏡診断の診断能力をROC曲線下面積 (AUC) で比較評価した。AUCは全症例 ($p < 0.008$) のみならず、いずれの場合も本診断が白色光源下膀胱鏡診断を上回り、特に非隆起病変 ($p = 0.001$), 非乳頭状病変 ($p = 0.001$), 再発症例 ($p = 0.004$) では有意差を認めた。

5) 病理診断・組織学的異型度別診断結果 (Table 3)

また、病理学的に悪性と診断した124検体の内訳は、移行上皮癌91検体、異形成33検体であった。移行上皮癌の異型度 (Grade (G)) は、G1が18検体、G2が26検体、G3が47検体 (G3-pTis 24検体を含む) で、蛍光強度と有意な相関を認めた ($p < 0.0001$)。

6) 副作用 (Table 4)

本診断法の副作用として、萎縮膀胱などの重篤な局所障害や全身的吸収による光線過敏症や肝障害などの全身性副作用は認めず、下腹部疼痛および尿意切迫などの膀胱刺激症状を認めた。その程度はNCI共通毒性基準 (日本語訳JCOG版) に準じて、Grade1 (軽度の膀胱刺激症状) 症

Table 3 病理診断・組織学的異型度別診断結果

	青色光源下蛍光膀胱鏡 (BLE) 診断				合計
	0	1	2	3	(検体)
正常上皮	111	35	23	8	177
異形成	8	5	6	14	33
TCC G1	0	1	4	13	18
G2	0	2	5	19	26
G3	4	0	4	15	23
G3-pTis	0	2	7	15	24
合計 (検体)	123	45	49	84	301

蛍光強度と移行上皮癌の異型度の相関: $p < 0.0001$ (χ^2 検定)

	白色光源下膀胱鏡 (WLE) 診断				合計
	0	1	2	3	(検体)
正常上皮	151	5	6	15	177
異形成	20	8	1	4	33
TCC G1	4	2	1	11	18
G2	0	2	0	24	26
G3	1	0	1	21	23
G3-pTis	8	4	10	2	24
合計 (検体)	184	21	19	77	301

肉眼的悪性度の程度と移行上皮癌の異型度の相関: $p < 0.0001$ (χ^2 検定)

BLE所見

- BLE 0: 蛍光励起なし
- BLE 1: 蛍光励起軽度
- BLE 2: 蛍光励起中等度
- BLE 3: 蛍光励起高度
- BLE 1, 2, 3を陽性とした

WLE所見

- WLE 0: 異常所見なし
- WLE 1: 軽度異常
- WLE 2: 中等度異常
- WLE 3: 高度異常

Table 4 副作用

全身性副作用	
光線過敏症	0
肝障害	0
その他	0
合計 (症例)	0

局所性副作用

膀胱刺激症状*	
Grade1 (軽度の膀胱刺激症状認める)	9
Grade2 (中等度の膀胱刺激症状認める)	3
その他	0
合計 (症例)	12

*NCI共通毒性基準 (日本語訳JCOG版)

際は20 - 150分 (中央値80分) であった。全症例における5-ALA 膀胱内暴露時間と蛍光強度の関連性をFig. 3の散布図に示し、 χ^2 検定にて有意差検定を行った。本診断における蛍光強度 (BLE 0-3) と5-ALA 膀胱内暴露時間とは有意な相関は認めなかった。

考 察

膀胱癌に対する光力学的診断は、1964年Whitmore WF Jrら⁴⁾の報告が最初である。その後約20年を経て1980年代後半、ヘムの前駆物質で内因性ポルフィリン物質である5-ALAが悪性腫瘍に対する光線力学診断・治療における光感受性物質として報告され、注目された。5-ALAは細胞質内に取り込まれた後、ミトコンドリアでProtoporphyrin IX (PpIX) に生合成され、375-445nmの青色光で励起され赤色の蛍光を発光する⁵⁾。また5-ALAは特異的に腫瘍に集積するとされ、その割合は尿路上皮においては17:1といわれる^{5,6)}。その後光力学的診断の基礎的研究や光源装置の開発が進み、1994年のKriegmair Mらの膀胱癌に対す

例が9例、非ステロイド抗炎症薬を対症的に投与した症例 (Grade2) が3例で、いずれも術後同症状は消失した。

7) 5-ALA 膀胱内暴露時間と蛍光強度の関連性 (Fig. 3)

5-ALA膀胱内暴露時間は原則120-150分とした。しかし、膀胱刺激症状2症例、広範な腫瘍に伴う膀胱萎縮3症例、患者の誤認による排液3症例と、貯留が60分未満の症例が8症例あり、手術予定や麻酔時間の都合などの影響もあり、実

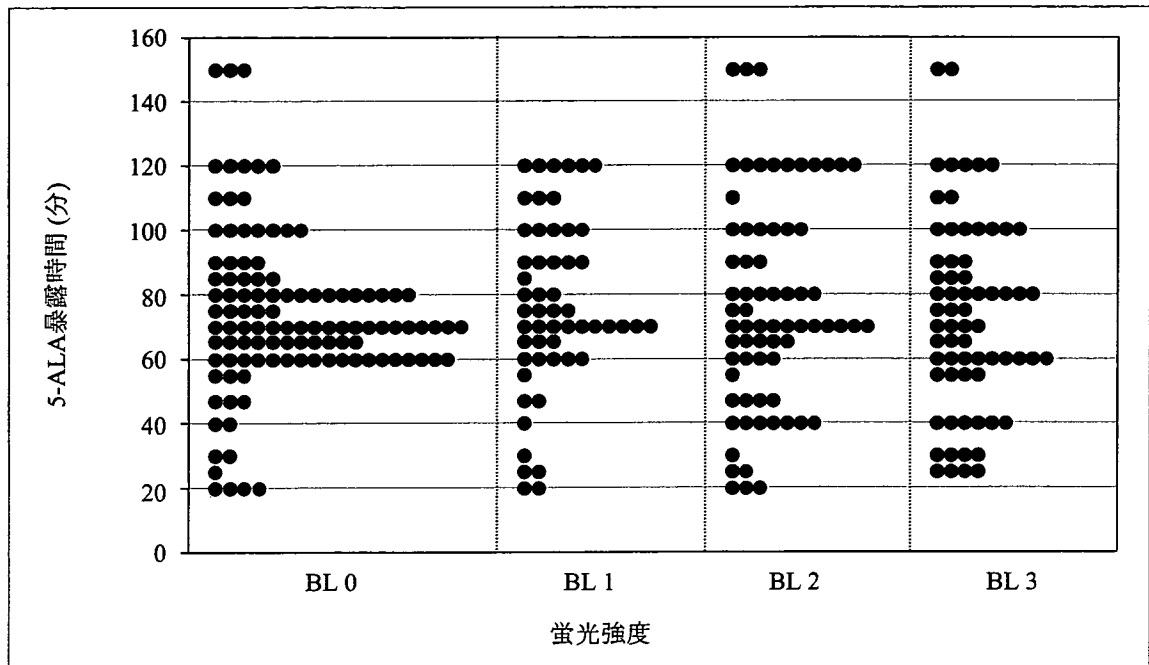


Fig. 3 5-ALA膀胱内暴露時間と蛍光強度の関連性
 5-ALA膀胱内暴露時間は120-150分を原則としたが、結果は20-150分（中央値80分）であった。
 蛍光強度: BLE 0 (蛍光励起なし), BLE 1 (蛍光励起軽度), BLE 2 (蛍光励起中等度), BLE 3 (蛍光励起高度)

る臨床報告⁵⁾を初めとして、欧米を中心に大規模臨床試験が行われ、数多くの臨床報告がみられるようになった。本邦でも光力学的診断は行われるようになったが、泌尿器科領域における現行の光力学的診断としては我々が報告した膀胱癌18症例における初期経験が初めてである²⁾。

光力学的診断の診断精度に関して、前述のKriegmair Mら⁵⁾は、膀胱癌68症例（299生検検体）において、感度100.0%、特異度68.5%であったと初めて報告した。その後彼らは従来の白色光源下診断との比較検討を行い、特異度は光力学的診断66.6%、白色光源下診断68.5%と差は認めなかったが、感度は光力学的診断96.9%、白色光源下診断72.7%と光力学的診断が有意に高く、診断率を20%向上したと報告した⁷⁾。さらに現時点で最多症例での報告を行ったZaak Dら⁸⁾も、膀胱癌713症例1414回の光力学的診断（3834生検検体）における比較検討で、特異度は光力学的診断65.0%、白色光源下診断43.0%と差は認めなかったが、感度は白色光源下診断73.0%と比較して光力学的診断は97.0%と有意に高かったと報告している。我々の結果では、的中精度73.8%、感度90.3%、特異度62.1%とやや特異度が低いものであった。しかし、AUCで表した診断能力は非隆起病変部検体、非乳頭状部検体および全検体いずれ

も、白色光源下診断と比較して有意に高かった。さらに今回、本診断で検出しえたCISの33.3%（8/24検体）や異形成の36.4%（12/33検体）は、従来の白色光源では確認しえない病変であった。前述のZaak Dら⁸⁾も、検出しえたCISの52.8%や異形成の30.3%は、従来の白色光源で確認しえない病変であると報告しており、本診断は特に非隆起病変や非乳頭状病変の診断に有用であるといえる。さらに本光源装置の特性として、瞬時に白色光源と蛍光光源の切り替えが可能であり、実際には白色光源下での肉眼的悪性度の程度と蛍光光源下での蛍光強度という二つの指標を組み合わせ検査することで、さらに診断精度を向上しうると考えた。

次にTURBTや膀胱内注入療法などの前治療の既往を有する再発症例において、前治療の光力学的診断に対する影響も検討した。我々の検討では、初発症例における有意差は認めなかったが、特に再発症例でのAUCで表した診断精度は従来の白色光源での診断と比較して有意に高いものであった。しかし6週間以内のTURBTの既往がある症例⁹⁾やTURBT後Bacille Calmette-Guérin (BCG)などの膀胱内注入療法を行った症例¹⁰⁾では疑陽性率が有意に高いとの報告もあり、やはり前治療の既往を有する再発症例の観察

には嚴重な注意が必要であると考へた。

蛍光強度に関して、正常尿路上皮と比較して悪性上皮は蛍光強度が高く、組織学的異型度との相関もあり、さらに5-ALA膀胱内暴露時間に依存して蛍光強度は増強すると報告されている¹¹⁾。本検討でも、異型度が高い検体はその蛍光強度が有意に高かったが、蛍光強度と5-ALA膀胱内暴露時間との間に有意な相関は認めなかった。

また、蛍光検査においてPhotobleaching現象は重要な問題である。腫瘍部で励起された赤色蛍光は励起光照射後約10秒から照射時間に依存して減衰し、70秒以降は励起を示さない周囲正常部との有意差がないとの報告¹²⁾に加え、本検討でも数十秒程度の光照射で蛍光強度が減衰した症例もあった。今回蛍光減衰に関して客観的に評価していないが、時間的な制約を考慮し、計画性を持った手際良い検査の遂行が求められる。

本診断法において、光線過敏症を主とする光毒性反応や肝障害が最も危惧される副作用である。今回38症例中12症例(31.6%)において軽度の膀胱刺激症状を認めたのみで、Grade3以上の重篤な副作用は認めていない。前述したZaak Dら⁹⁾も、1414回の光学的診断において光線過敏症を認めていない。これら良好な結果は5-ALAの投与方法、つまり膀胱内投与が寄与していると考えられる。膀胱内投与法は副作用の素因であるProtoporphyrin IX (PpIX)の血漿中の濃度を必要最低限に抑制しようと薬理的にも証明されており^{13,14)}、5-ALA膀胱内投与した症例に対して試験的な紫外線暴露を行った実際の検討でも、日光過敏症の発症は認めず、発症防御は不必要であるとの報告もある¹⁵⁾。

本検討では、光学的診断および従来の白色光源下膀胱鏡診断の有用性を、各々の内視鏡下における肉眼的観察所見を半定量的に各々4段階に大別することで評価し、これまでの多くの報告と相違ない結果を得ることができた。しかし、Zaak Dら¹⁶⁾は、膀胱癌25症例(53生検検体)における検討で、蛍光強度の定量化を試み、疑陽性率を30%にまで減少しえたことを報告しており、今後診断精度および再現性の向上にむけてこのような蛍光強度の定量化も重要であると考へた。

5-ALAの膀胱内注入による蛍光膀胱鏡を用いた光学的診断は、安全かつ有用な膀胱癌診断法である。今後症例を重ねるとともに、診断特異度の改善、Photobleaching現象の対策、診断の客観性の追求などの問題点、さらに長期

観察の上、膀胱内再発率についても検討する予定である。

文 献

- 1) Lee R, Droller MJ (2000) The natural history of bladder cancer. Implications for therapy. *Urol Clin North Am* 27 : 1-13
- 2) 井上啓史, 辛島 尚, 鎌田雅行, 他 (2006) 5-アミノレブリン酸 (5-ALA) 膀胱内注入による蛍光膀胱鏡を用いた膀胱癌の光学的診断. *日本泌尿器科学会雑誌* 97 : 719-729
- 3) 三好憲雄, 小笠原利行, 小川 透, 他 (2002) 5-aminolevulinic acid (5-ALA) を投与した腫瘍内代謝物 protoporphyrin-IX (Pp-IX) の蛍光分析. *日本レーザー医学会誌* 23 : 81-88
- 4) Whitmore WF Jr, Bush IM, Esquivel E (1964) Tetracycline ultraviolet fluorescence in bladder carcinoma. *Cancer* 17 : 1528-1532
- 5) Kriegmair M, Baumgartner R, Knuechel R, et al. (1994) Fluorescence photodetection of neoplastic urothelial lesions following intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid. *Urology* 44 : 836-841
- 6) Steinbach P, Weingandt H, Baumgartner R, et al. (1995) Cellular fluorescence of the endogenous photosensitizer protoporphyrin IX following exposure to 5-aminolevulinic acid. *Photochem Photobiol* 62 : 887-895
- 7) Kriegmair M, Baumgartner R, Knuechel R, et al. (1996) Detection of early bladder cancer by 5-aminolevulinic acid induced porphyrin fluorescence. *J Urol* 155 : 105-109
- 8) Zaak D, Hungerhuber E, Schneede P, et al. (2002) Role of 5-aminolevulinic acid in the detection of urothelial premalignant lesions. *Cancer* 95 : 1234-1238
- 9) Filbeck T, Roessler W, Knuechel R, et al. (1999) 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence endoscopy applied at secondary transurethral resection after conventional resection of primary superficial bladder tumors. *Urology* 53 : 77-81
- 10) Grimbergen MC, van Swol CF, Jonges TG, et

- al. (2003) Reduced specificity of 5-ALA induced fluorescence in photodynamic diagnosis of transitional cell carcinoma after previous intravesical therapy. *Eur Urol* 44 : 51-56
- 11) Olivo M, Lau W, Manivasager V, et al. (2003) Fluorescence confocal microscopy and image analysis of bladder cancer using 5-aminolevulinic acid. *Int J Oncol* 22 : 523-528
- 12) Stepp H, Wagner S, Zaak D, et al. (2004) Photo-bleaching. In : Baumgartner R (eds) Fluorescence diagnosis of bladder tumor using 5-aminolevulinic acid -Fundamentals and Results-. 1st ed. Verlag Endo-Press TM, Tuttlingen, Germany, pp33
- 13) Rick K, Sroka R, Stepp H, et al. (1997) Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX in skin and blood. *J Photochem Photobiol B* 40 : 313-319
- 14) Popken G, Schultze-Seemann W, Seiler KU, et al. (2000) Intravesical administration of 5-aminolevulinic acid (5-ALA). Safety and pharmacokinetics of 5-ALA and its metabolite protoporphyrin IX. *Eur J Clin Pharmacol* 56 : 241-246
- 15) Filbeck T, Wimmershoff MB, Pichlmeier U, et al. (2000) No generalized skin phototoxicity after intravesical application of 5-aminolevulinic acid for fluorescence diagnosis of superficial bladder cancer. *Urol Int* 64 : 126-128
- 16) Zaak D, Frimberger D, Stepp H, et al. (2001) Quantification of 5-aminolevulinic acid induced fluorescence improves the specificity of bladder cancer detection. *J Urol* 166 : 1665-1668