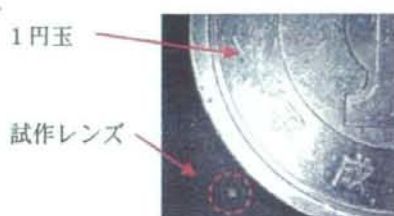


生し易い傾向も見られた。



レンズの外径は0.35mm

図3：試作凹レンズ（側面方向）

次に、内視鏡先端に設ける被誘導体に関して、同じ形状で磁性ステンレスと純鉄の磁化特性を確認した。

測定結果を図4に示す。

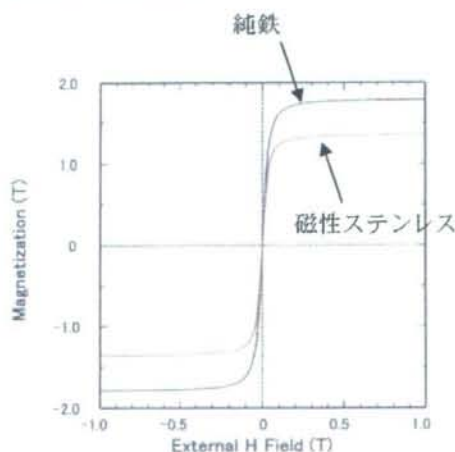


図4：被誘導体磁化特性測定結果

測定値から、従来の磁性ステンレスに比べて純鉄のほうが1.3倍程度、値が大きいことがわかった。

以上の検討結果を基に試作した実験用微細内視鏡を図5に、挿入先端部を図6に、仕様を表1に示す。

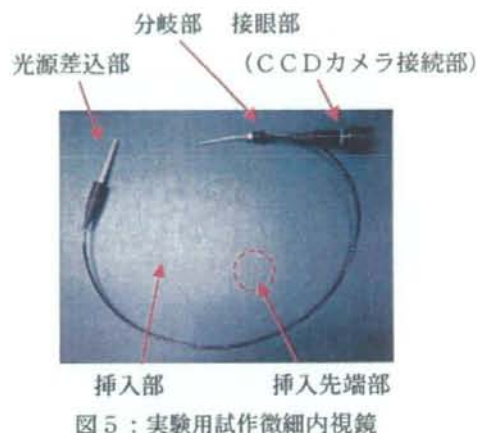
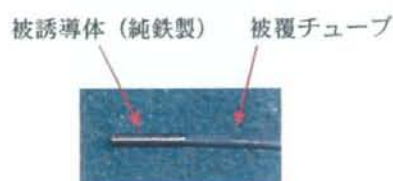


図5：実験用試作微細内視鏡



※被誘導体：外径0.8mm、長さ5mm

図6：実験用試作微細内視鏡挿入先端部

視野角	90°
先端部径	φ0.8mm
挿入部径	φ0.54~0.62mm
有効長	1000mm
照明用光ファイバ	20本

表1：実験用微細内視鏡仕様

試作微細内視鏡の挿入部は昨年度と同様に画像伝達用光ファイバ束の片側に照明用光ファイバ束を配置し、その外周を合成樹脂からなるチューブを被覆して内視鏡挿入部を形成した。なお、挿入部外径は0.5mm以下が目標であったが、外皮チューブ被覆時に照明用光ファイバの配置が安定しなかったこともあり、実測で0.12mm程度大きくなってしまった。

試作微細内視鏡の全体構造としては、昨年度

と同様に接眼部近傍に分岐部を設けて画像伝達用光ファイバー束と照明用光ファイバー束を分岐させて、画像伝達用光ファイバー束は内視鏡接眼部に、照明用光ファイバー束は光源差込部に固定するようにした。

また、内視鏡の挿入先端部には、図6に示すように、外径0.8mm、長さ5mmの純鉄からなる被誘導体を固定し、その内部には対物レンズを設けた。

今回視野角を広げるために、前述のようにセルフオクレンズからなる対物レンズの前面に試作凹レンズを取り付けると共に、照明用光ファイバー束の先端も磁性体内に配置して、光源装置からの照明光が内視鏡先端から照射できるようにした。

次に、前記実験用試作微細内視鏡を使用して机上実験並びにブタを用いた動物実験を行った。

はじめに、ブタの尿管に細径カテーテルを挿入して、その中に、試作した実験用微細内視鏡(図5に示す)を挿入しカテーテルの先端から内視鏡先端をわずかに突出した状態で尿管壁を内視鏡モニターで観察しながら、細径カテーテルと共に腎盂内に挿入させた。

内視鏡画像は、内視鏡ビデオカメラ PVK-1070Z を用いて液晶モニターにより観察し、また、照明はキセノン光源を用いて行った。

実際の内視鏡画像を図7示す。



図7：内視鏡画像(腎盂内)

照明可能な光ファイバーの本数は昨年度の

半分以下になり、光量的にかなり減少したが、昨年度の試作機では、明確にならなかった臓器内面の色の区別がわかるようになった。

また、広視野角にしたことで、尿道の壁面も観察し易くなった。

一方、先端に凹レンズを設けたことで、凹面の付着物が拭き取れなくなるなど、次第に観察画像が見づらくなってしまった。

次に、超伝導コイルを用いた改良型試作磁気誘導装置(榊玉川製作所様製)を用いて、ブタの体外で内視鏡先端部に設けた磁性体を磁気的に牽引させる実験を行った。

その結果、照明用光ファイバーを内蔵した試作微細内視鏡の先端部近傍を保持した状態で、先端部が容易に湾曲することが確認できた。

一方、ブタの腎盂内では、X線透視画像を見る限り、先端部の誘導は明確には観察できなかった。また、内視鏡画像でも、ブタの呼吸に合わせた画像の動きは見られたが、磁力による誘導までは確認できなかった。

また、実験後、純鉄の被誘導体に錆が付着していることも確認された。

さらに、細胞サンプルを用いて、微細内視鏡による画像の確認実験を行った。

観察に使用した主なサンプルは以下の通り

- ・ 脳腫瘍細胞：青色染色、無色
- ・ 膀胱癌細胞：青色染色、無色
- ・ それぞれを立体的、シート状に培養したものの

まず、机上実験として微細内視鏡に前述の内視鏡ビデオカメラを取り付けて、微細内視鏡の先端を直接細胞サンプルに近づけながらモニター上で観察した。

その結果、脳腫瘍細胞で青色に染色したサンプルで顕著に、粒状に細胞が存在している状態が観察できた。

次に、GFPによりそれぞれの細胞の発光状態を確認した。

これには、浜松ホトニクス社のご協力により、昨年度の実験で使用した同社の高感度CCDカメラに液晶カラーファイターを接続して、カラー画像が取り込めるようにした。

実際の接続状態を図8に示す。



図8：高感度CCDカメラ接続状態

実験では、初めに通常のキセノン光源近傍にフィルターを挿入して、青色の励起光を照射するようにしておき、微細内視鏡の光源差込部を前記光源装置に接続して、微細内視鏡の先端から励起光を細胞に照射するようにしたが、蛍光画像は確認できなかった。

次に、別の専用励起光源装置により、細胞に直接励起光を照射しながら微細内視鏡により観察した結果、脳腫瘍細胞で、緑色に発光している画像が確認できた。

実際の内視鏡画像を図9に示す。

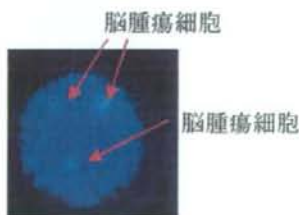


図9：高感度カメラによる内視鏡画像

最後に、ブタの腎盂内に脳腫瘍細胞を立体培養した病変を埋め込んで、外部光源により励起

光を照射しながら内視鏡画像をモニター上で観察した。

その結果、血液の付着等により、机上のような画像は観察できなかった。

D. 考察

多成分ガラスを用いて、昨年度より画像伝達用光ファイバー束のファイバーの本数を3倍程度にしたことで実際にブタの尿管の内壁や腎盂内の色の変化がより明確に観察できるようになっており、さらに凹レンズを取り付けて視野角を広くしたことにより、昨年度よりも広い範囲を観察することが可能になったことなどから、昨年度より観察性能は向上していると考えられる。

一方、これに伴ってファイバー折れが多くなってしまったことや、今回セルフロックレンズとの貼り合せを考慮して、凹レンズの凹面側を外側にしたことから、凹面への付着物が容易に拭き取れず、次第に観察画像が見づらくなってしまったことは今後の重要な検討課題と思われる。

次に内視鏡先端に設けた被誘導体として今回、磁性ステンレスの代わりに純鉄を使用し、昨年度よりも長さを1mm長くしたことで、ブタの体外において、照明用光ファイバーを内蔵した状態でも内視鏡先端を容易に湾曲させることが可能であったことから、材料変更や体積増加の効果は出ていると考えられる。

一方、腎盂内では昨年度と同様にX線透視下で先端部が牽引される状態が観察できなかったことは、腎盂内では、壁面に当たってしまうと動きが抑えられることも考えられるため、例えば、もう一つの腎盂を使って、事前検討を行った方がよかったかもしれない。

さらに、先端の被誘導体をより牽引し易くするには、外径の制約上、長さをさらに長くする必要はあるが、先端の硬性部も長くなるため、

ネオジウム磁石といった材料の検討も必要になると思われる。

この場合、今回使用した純鉄に実験後錆が発生しており、磁石を使用する場合でも生体適合性を考慮した表面のコーティングの検討が必要になると考えられる。

さらに、今回高感度CCDカメラを用い、しかも液晶カラーフィルターを接続してカラー画像を観察することが可能になったことで、脳腫瘍細胞がGFPにより緑色に発光していることが微細内視鏡を介して観察できたことは、微細内視鏡を用いた観察・診断の一つの可能性を示唆していると思われる。

一方、試作微細内視鏡の照明用光ファイバーでは、光量が足りなかったため、現状では微細内視鏡単独では観察できないことから、照明用光ファイバーを増やした専用の微細内視鏡の検討も必要になると思われる。

E. 結論

微細内視鏡の観察光学系の向上として、多成分ガラスからなる画像伝達用光ファイバー束のファイバー本数を、挿入部外径を昨年度程度に維持しながら、昨年度の3倍程度にし、さらに、先端部に凹レンズを組み込むことで、視野角を90°程度まで広げることができた。

また、ブタを用いた動物実験によって、実際に尿管や腎盂の内壁面の色の变化など、より観察し易くなったことが確認できた。

一方、画像伝達用光ファイバーの素線径を昨年度より細径化したことにより作製時にファイバー折れが発生し易くなったことや凹レンズの付着物が拭き取れなくなって観察しづらくなるなどの不具合点も発生したため、今後この対策を中心に検討を進めていく。

次に、内視鏡先端部に純鉄製の被誘導体を用い、体積として昨年度の1.25倍にすることで、照明用光ファイバーを内蔵した微細内視鏡

の先端部を容易に湾曲させることが可能であることを確認した。

一方、純鉄に錆が付着しており、使用材料によっては今後表面のコーティングの検討も必要である。

また、前記微細内視鏡と液晶カラーフィルターを接続した高感度CCDを用いて、脳腫瘍細胞のGFPによる蛍光画像をモニター上で観察することが可能であった。

ただ、励起光は外部光源を直接照射することによるため、今後、微細内視鏡単独で観察可能なように、照明光量を増加させるための検討が必要である。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

なし

以上

厚生労働省科学研究費補助金 医療機器開発推進研究事業（ナノメディシン研究）
分担研究報告書

超早期がんの低侵襲で効果的、正確で安全な診断・治療用微細内視鏡機器装置及び
その医療技術の開発に関する研究

分担研究者 玉川 克紀 株式会社玉川製作所代表取締役

研究要旨

体内に挿入された微細内視鏡を、X線透視装置による透視下で牽引、誘導が可能な超電導磁気誘導装置の開発を行った。今年度開発の超電導電磁石は、ボアに鉄心を入れた構造にヨークを追加し閉磁路構造として、鉄心のみに比して高磁力化と漏洩磁界の低減を図った。さらに、X線透視装置の撮像部側に漏洩磁界打消しのコイルを複数配置しそれぞれ独立して制御することにより、透視画像の安定化を図った。この装置を用いて動物実験が実施され、性能、効果について検証した。

A. 研究目的

超早期がんの診断、治療を目的として開発されている微細内視鏡を、体外から磁気により牽引、誘導する超電導磁気誘導装置は、医療装置として想定しうる外寸や重量を前提に、極めて小さな磁性体に対しその効果を発揮させる必要がある。一方で、昨年度の実験によりX線透視装置に対する許容される漏れ磁界が最大で地磁気の5倍程度であることが判明した。よって誘導装置としては、磁界発生部では高磁界を発生させつつ、近接するX線透視装置への漏洩磁界は極力低減する構造が必須である。昨年度は超電導電磁石のボアに鉄心を入れて鉄心に磁束を集中させることにより、被誘導物近辺での牽引力の増大と漏洩磁界の低減を図り、磁気シールドの構築とあわせて一定の成果を得た。今年度は、これらの効果をさらに高めるための構造を有する誘導装置の開発を研究目的とした。

B. 研究方法

超電導電磁石の、高磁力化と漏洩磁界の低減の両立を図る構造として、鉄心に加え、ヨーク（継鉄）を有する構造を開発、試作する。ヨークを鉄心に接合することにより、磁束が鉄心及びヨークに集中し、高磁力化と漏洩磁界の低減が期待できる。また、漏洩磁界対策としての磁気シールドについて、擬似的にブラウン管モニタをX線透視装置の撮像部の位置に設置して、影響及び対策の効果を確認する。そして試作した装置を用いて動物実験を行い、性能について検証する。

（倫理面への配慮）

動物実験を実施するに当たっては、動物愛護の観点から使用数は最小にとどめるなど配慮をする。

C. 研究結果

超電導電磁石のヨークは、ボアに設置された鉄心の、被誘導物と反対側の磁極面に接合された背面ヨークと、背面ヨークから被誘導物に対向する磁極面に向かって延長

するように接合された上側ヨーク及び下側ヨークの3ピース構造とした(図1参照)。



図1 ヨーク構造

この構造で問題となったのは、真空断熱容器内に配置されている超電導コイルが発生する磁界に対し、磁性材であるヨークが非対称に配置されることとなるため、偏った強大な吸引力に対抗しうるコイルの強固な支持機構が必要となる一方で、超電導状態の維持のため外部からの熱の侵入は極力抑えなければならないことであった。この強度と熱の問題について最適化を図り、新規設計の超電導コイルとともに超電導電磁石の試作を行った。この超電導電磁石の中心軸上の発生磁界について、昨年度試作の電磁石と比較して図2に示す。

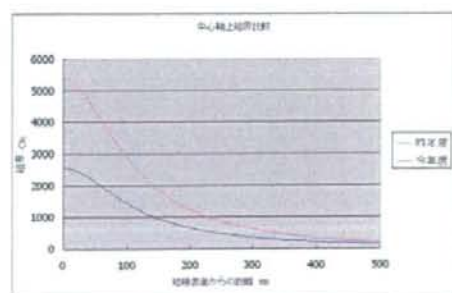


図2 発生磁界の比較

発生磁界については、磁極表面で昨年度

に比して2倍超となり、磁気勾配も増大していることから、微細内視鏡に対する誘導の効果は相対的に上昇したと思われる。

次に、漏洩磁界対策としての磁気シールドについて、擬似的にブラウン管モニタを用いて磁界の影響(図3)とシールド、キャンセルコイルの効果について実験した。

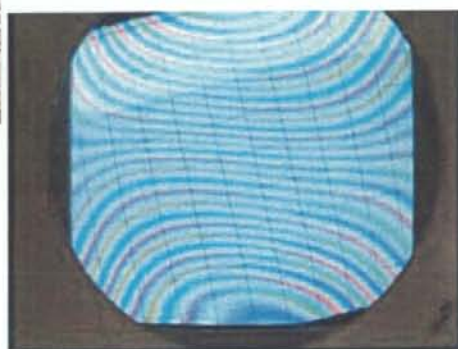


図3 ブラウン管の磁界による影響

この実験の結果から磁気シールドは、鉄板で構成されるシールドを基本として、透視装置の撮像部には2段にしたキャンセルコイルを設置し、それぞれに励磁電源を接続して独立して打ち消しを行えるようにした。また、X線発生部にも保護を目的にキャンセルコイルを設置し、漏洩磁界の変化に合わせてリアルタイムで打ち消しを行うこととした。

これら試作した超電導電磁石及び磁気シールドと、昨年度同様動物実験施設に分割して搬入、搬出が可能なユニット構造の支持走行機構を組み合わせた一体型超電導磁気誘導装置によって、2009年1月にブタを用いた動物実験が実施された。

まず最初に、自由空間での微細内視鏡の屈曲の状況を確認し、同時に撮像部の2段の漏洩磁界打消しのキャンセルコイルの効果についてX線透視装置の透視画像を確認

した。自由空間では微細内視鏡が十分に屈曲することが確認され、また、透視画像についても、像が拡大され視野が狭くなる状態とはなったものの、超電導電磁石に最大電流を通电した状態でも像を視認することができた。(図4、5参照)

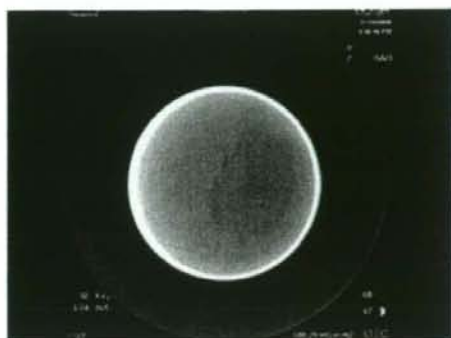


図4 キャンセルコイル未使用



図5 キャンセルコイルで最適にした状態

次に、腎盂内に挿入された微細内視鏡の屈曲が試みられ、超電導電磁石への通电によって、微細内視鏡の先端が反発の力によって、磁極と反対側へ屈曲するのを確認することができた。通电前の透視画像(図6)と40A通电時の透視画像(図7)を比較して示す。

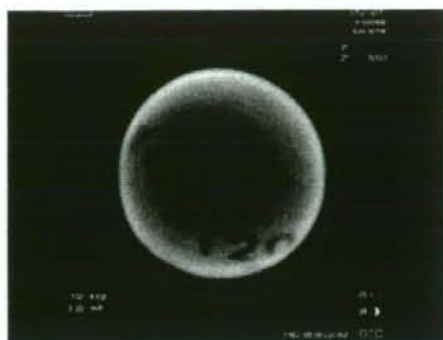


図6 通电前



図7 40A通电

またこのとき、通电により微細内視鏡がシースから引き出され突出量が増加し、微細内視鏡に牽引力が働いたことが伺われた。

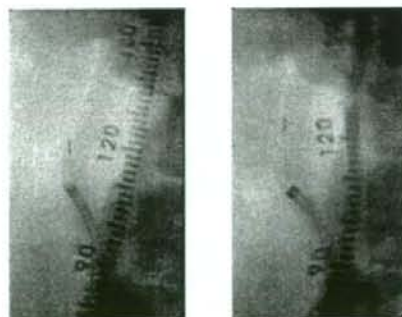


図8 突出量の変化

最後に、腎盂上の体外に固定された微細内視鏡の屈曲実験が行われ、体外において

は吸引力により磁極方向へ屈曲することが確認できた。

D. 考察

今年度の超電導電磁石は、ヨーク構造の機械的強度の問題と熱的な問題の解決により、高磁力化を図ることができた。

腎盂内での屈曲実験において磁極と反対側の方向に屈曲したのは、微細内視鏡先端の磁性体の形状から、電磁石への通電と同時に両端に極が発生し、その磁性体の先端の初期の向きが磁極と反対側を向いている場合、先端が磁極と同極となって磁極と反発し、反対側に屈曲したものと考えられる(図9)。一方、体外の屈曲実験で、先端の初期の向きが磁極の方向を向いている場合は磁極側へ屈曲することを確認しており、この場合は、磁性体の先端が磁極と異極となり吸引されて屈曲したものと考えられる。(図10)。

以上より、X線透視装置で先端の向きを確認して磁極を適正に配置することで、反発力若しくは吸引力によって意図する方向に屈曲、誘導が可能であると考えられる。

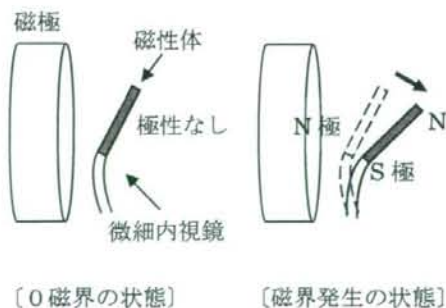


図9 磁性体先端初期位置が磁極と反対側を向いている場合

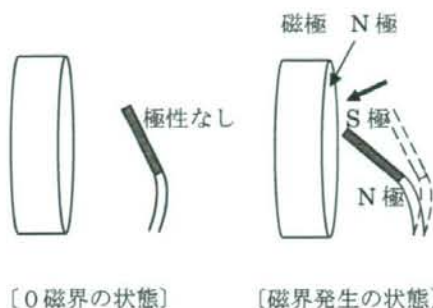


図10 磁性体先端初期位置が磁極のほうを向いている場合

X線透視に対する磁気シールドの効果は、超電導電磁石に最大電流を通電しても透視画像により微細内視鏡を確認することができたことから、ヨーク構造による漏洩磁界低減の効果とあわせて昨年度よりも前進したと考えられる。画像の中心が拡大され視野が狭くなる問題と、2段のキャンセルコイルをそれぞれ手動で制御するため、電磁石への通電途中で適正な画像を維持するのが難しかった問題を解決するのが今後の課題と思われる。

E. 結論

今年度開発、試作された超電導磁気誘導装置は、微細内視鏡の牽引、誘導のための基本的性能が向上した。今後は生体での誘導を安定して行える装置の開発を行う。

F. 研究発表

1. 論文発表
該当なし。
2. 学会発表
該当なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
井上啓史 執印太郎	光力学的診断を併用した経尿道膀胱腫瘍切除術	Japanese Journal of Endourology and ESWL	21(3)	323-331	2008

井上啓史 執印太郎

光学的診断を併用した経尿道的膀胱腫瘍切除術

要旨 光感受性物質である5-アミノレブリン酸 (ALA) の膀胱内注入による光学的診断 (PDD) は、表在性癌、特に上皮内癌など高異型度の平坦病変の早期検出を向上させ、さらにPDD補助による経尿道的膀胱腫瘍切除術 (TUR-Bt) は、従来のTUR-Btと比較して、腫瘍残存、膀胱内再発を抑制することが示されている。このPDDは欧州では医療承認され、推奨されているが、本邦では医師主導の臨床研究として試行している。また疑陽性率の高さや Photobleaching 現象など診断精度に関わる解決すべき課題も残されている。今後この再発や進行に対するPDDおよびPDD補助下TUR-Btの真の効果を前向き無作為化試験により検討すべきである。本稿では表在性癌に対するALAを用いたPDD補助下TUR-Btの現状を概説する。

Transurethral resection of bladder tumor (TUR-Bt) guided by photodynamic diagnosis (PDD)

Abstract Photodynamic diagnosis (PDD) with intravesical application of 5-aminolevulinic acid (ALA) as a photosensitizing agent has been proved to enhance the early detection of non-muscle invasive bladder cancer, particularly of high-grade flat lesions such as carcinoma in situ. Furthermore, it has been shown that transurethral resection of bladder tumor (TUR-Bt)

under PDD guidance reduced the risk of residual tumor and subsequent intravesical recurrence compared to conventional TUR-Bt. It is officially approved and recommended as a diagnostic procedure in Europe, whereas in Japan, it was administered on a clinical trial basis under doctor's initiative. There are many problems concerning accuracy of diagnosis that remains to be solved such as false-positive findings and photobleaching phenomenon. The actual impact of PDD and TUR-Bt under PDD guidance on recurrence and progression must be investigated in prospective randomized trials. This article describes recent facts of TUR-Bt under PDD guidance using ALA for non-muscle invasive bladder cancer.

Key words: 光学的診断, 経尿道的膀胱腫瘍切除術, 膀胱癌, 5-アミノレブリン酸

背景

膀胱癌において診断時約70%¹⁾を占める表在性癌は、経尿道的膀胱腫瘍切除術 (transurethral resection of bladder tumor (TUR-Bt)) が治療の第一選択とされ、膀胱温存が可能ならばかりでなく、生命予後も極めて良好である。しかし、TUR-Bt術後の膀胱内再発は低異型度のTa症例で50-70%、高異型度のT1症例では80%以上で、浸潤性癌への進展も各々5%、50%と高率である²⁻⁴⁾。TUR-Bt術後の膀胱内再発には、腫瘍残存、多中心性発生、膀胱腔内播種がその要因とされ、さらに微小病変や平坦病変などの手術時

井上啓史・執印太郎：高知大学医学部泌尿器科学教室
〒783-8505 高知県南国市岡豊町小蓮
TEL 088-880-2402, FAX 088-880-2404
E-mail: keiji@kochi-u.ac.jp
Keiji Inoue・Taro Shuin: Department of Urology, Kochi Medical School

に内視鏡的に視認したい病変の残存が術直後の再発に大きく関与することが知られている。つまり、表在性膀胱癌の診断および治療成績の向上には、これらの内視鏡的確認が困難な病変の同定が大きな鍵になる。そこで近年、長い年月を経て発展した光学的技術を用いた診断・治療がその新しい戦略として注目されている。本稿では表在性膀胱癌に対するPDDおよびその現状を概説する。

歴史

20世紀初めより、蛍光物質を用いた悪性腫瘍の診断や治療は試行されていた。現在の光学的診断 (photodynamic diagnosis (PDD)) や治療 (photodynamic therapy (PDT)) の原型は、1924年ポルフィリンの腫瘍親和性の発見⁵⁾、1960年ヘマトポルフィリン誘導体hematoporphyrin derivative (HpD, Photofrin I) の開発から始まり⁶⁾、1978年励起光源としてのレーザーの利用によって飛躍的に進歩した⁷⁾。

泌尿器科領域では、1964年Whitmore WF Jrら⁸⁾ がTetracyclineとUV lightを用いて初めて膀胱癌に対してPDDを行ったことに始まる。その後、Kelly JFら⁹⁾ が膀胱癌に対してヘマトポルフィリン誘導体hematoporphyrin derivative (HpD, Photofrin I)¹⁰⁾ と水銀アーク灯を用いてPDTを行った。

日本では、1983年Hisazumi Hら¹¹⁾ の表在性膀胱癌9症例(46腫瘍)に対するPDTの報告が最初であり、その後も精力的に治療が試行されたが、ヘマトポルフィリン化合物の全身投与による光線過敏症を主とする光毒性反応などの副作用とレーザー膀胱全面照射による萎縮膀胱の発想などから臨床応用には至らなかった。

しかし近年、5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid (ALA))¹²⁾ をはじめとする副作用発現が少ない光感受性物質の研究・開発、さらにLudwig Maximilian大学でBandpass filter system (375-440nm) を備えた白色キセノン光源装置が開発され、同じ光学視管を通じて通常の白色光と赤色蛍光を励起する青色光を瞬時に切り替え、観察が可能となった¹³⁾。この光感受性物質およびPDDシステムの改良・開発を契機としてPDDが再び注目されている。

材料 (光感受性物質・PDDシステム) および方法 (Fig. 1)

ALAは、1987年にMalikら¹⁴⁾ によって悪性腫瘍に対するPDDやPDTにおける光感受性物質として報告された。元来ALAは、生体内ではミトコンドリア内でスクシニールCoAとグリシンからALA合成酵素により合成される天然アミノ酸、内因性ポルフィリン物質であり、クロロフィルやヘモグロビンの共通前駆体である。その後ALA 脱水素酵素により、porphobilinogen (PBG) が作成され、脱アミノ酵素によりuroporphobilinogen IIIが、さらに脱炭酸酵素によってCoproporphyrinogen IIIが生合成される。その後ミトコンドリア内で酸化酵素によってProtoporphyrinogen IXが、さらにProtoporphyrin IX (PpIX) が生合成される。PpIXはphotoactiveであり、青色光 (375~445nm) で励起され赤色蛍光 (590~700nm) を発光する^{15, 16)}。その後、PpIXはferrochelataseの触媒としての働きで細胞内鉄が挿入され、ヘム、ビリルビンへと代謝される。外生投与された場合も、細胞質内に速やかに取り込まれた後、内因性の5-ALAと同様にいくつかの前駆体を経て、ミトコンドリア内でProtoporphyrin IX (PpIX) に生合成されるが、正常細胞では、これら過程においてフィードバック機構が働き、PpIX生合成は律速段階である。しかし、腫瘍細胞ではPBG脱アミノ酵素の活性亢進やferrochelataseの活性低下などの酵素の活性異常、また腫瘍細胞内鉄濃度の低下などによってPpIX生合成や蓄積が進むとされている^{16, 17)}。したがってALAによるPpIX蛍光は特異的に腫瘍にて発光し^{18, 19)}、特に尿路上皮では17:1と腫瘍選択性が高い^{18, 20, 21)}。現在我々は、光感受性物質としてMedac GmbH (Wedal, Germany) が製造するLyophilized 5-aminolevulinic acid hydrochloride[®]を臨床研究用薬剤として使用している。

実際の検査方法としては、まずALAを8.4%重炭酸ナトリウムsodium hydrogen carbonate (NaHCO₃) 50mlで溶解し、pH 7.8~8.0に調節後、膀胱内投与を行う。投与2~3時間後にALA溶液を排出した後、PDDシステムを用いて青色光によって励起した赤色蛍光を内視鏡的に観察する。現在我々はPDDシステムとしてKarl Storz Endoscopy Japan株式会社製の専用ビデオカメラシステム (Endovision TELECAM SL/IPM-PPD System)、光源

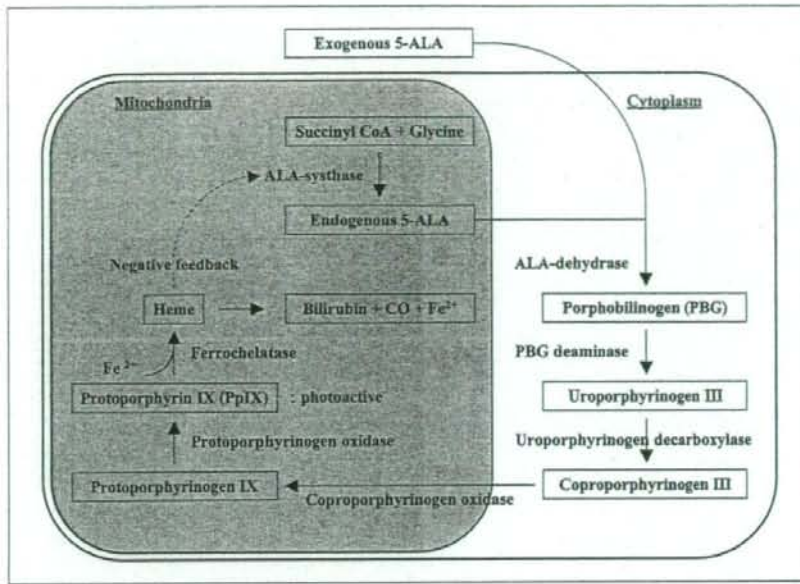


Fig. 1 5-ALA-PpIX合成・代謝過程

5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid (ALA)) は、細胞質内でいくつかの前駆体を経て、ミトコンドリア内でphotoactiveなプロトポルフィリンIX Protoporphyrin IX (PpIX) に生合成され、その後ヘム、ビリルビンに代謝される。

Table 1 Clinical studies of PDD versus WLE : sensitivity and specificity

Author / year of publication (# References)	No. Pts (samples)	Sensitivity (%)		Specificity (%)	
		PDD	WLE	PDD	WLE
Kriegmair M, et al. 1994 (15)	68 (299)	100.0	-	68.5	-
Kriegmair M, et al. 1996 (22)	104 (433)	96.9	72.7	66.6	68.5
Koenig F, et al. 1999 (23)	55 (130)	87.0	84.0	59.0	-
Riedl CR, et al. 1999 (24)	52 (123)	94.6	76.0	43.0	-
Filbeck T, et al. 1999 (25)	120 (347)	96.0	67.5	35.0	66.4
Filbeck T, et al. 1999 (26)	50 (130)*1	77.8	-	33.0	-
Zaak D, et al. 2001 (27)	605 (2475)	93.4	-	65.3	-
Zaak D, et al. 2002 (28)	713 (3834)	97.0	-	65.0	-
Landry JL, et al. 2003 (29)	50 (50)**2	89.5	-	87.1	-
Grimbergen MC, et al. 2003 (30)	160 (917)*1	97.0	69.0	49.0	78.0
Hungerhuber E, et al. 2007 (31)	875 (4630)	92.0	76.3	41.4	-
Inoue K, et al. 2007 (unpublished)	86 (639)	92.9	79.0	61.7	83.6

*1: post TUR, *2: flat lesion

(D-Light AF System) および光学視管 (PDD telescope 30°) を使用している。この光源は通常の白色光 (white light (WL)) モードおよび蛍光を励起する青色光 (blue light (BL)) モードが即時に選択、切換え可能である。これによって両モードでの同一病巣の観察が容易となり、本診断装置の特徴といえる。しかし上記薬剤および光学視管は、本邦では薬事未承認である。

診断精度

泌尿器科領域でのALAを用いたPDDの臨床試験としては、1994年Kriegmair Mら¹⁵⁾の膀胱癌68症例における報告が最初であり、その診断精度は感度100.0%、特異度68.5%であった。さらに彼らは、膀胱癌104症例において、従来の白色光源での診断との比較検討を行い、特異度には有意差を認めなかったが、感度はPDD96.9%、白色光源下診断

Table 2 Clinical studies of PDD : detection rate only due to the positive PDD

Author / year of publication (# References)	No. Pts (samples)	Detection rate only due to the positive PDD (%)		
		All lesions	CIS	Dysplasia
Kriegmair M. et al. 1999 (32)	208 (328)	25.0	-	-
Zaak D. et al. 2001 (27)	605 (2475)	34.2	56.8	38.5
Zaak D. et al. 2002 (28)	713 (3834)	42.1	52.8	30.3
Filbeck T. et al. 2002 (33)	177 (636)	14.9	57.0	44.0
Hungerhuber E. et al. 2007 (31)	875 (4630)	38.3	43.4	30.7
Inoue K. et al. 2007 (unpublished)	86 (639)	28.4	28.8	27.9

72.7%とPDDが有意に高く、診断率を20%向上したと報告した²¹⁾。その後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た²²⁻³¹⁾。Hungerhuber Eら³¹⁾による膀胱癌875症例という最多症例におけるPDD診断精度の報告を含め、これまでの報告¹⁵⁻²²⁾でPDDは感度94.6% (77.8~100%)、特異度59.0% (33.0~87.1%)で、白色光源下診断の感度76.0% (67.5~84.0%)には勝るものの、特異度68.5% (66.4~78.0%)にはやや劣るという結果が示されている (Table 1)。さらにPDDでのみ検出しえた病変は中央値34.2% (14.9~42.1%)で、上皮内癌 (carcinoma in situ (CIS)) の43.4~57.0%や異形成の30.3~44.0%は、従来の白色光源では確認しえない病変であったと報告されており^{27, 31-33)}、PDDは非隆起病変の診断に有用であるといえる (Table 2)。

本邦での泌尿器科領域における現行のPDD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最初であり³⁴⁾、その後症例追加にて、膀胱癌38例³⁵⁾、さらに最新の結果では、膀胱癌86例 (639検体) において、蛍光モードは感度92.9%、特異度61.7%、白色モードは感度79.0%、特異度83.6%で、ROC 曲線・曲線下面積 (AUC) で評価した診断能力も、蛍光モードが有意に検査としての能力が高いという結果であった ($p=0.041$)。臨床診断に苦慮する非隆起病変、非乳頭状病変、再発病変などにおいても同様であり、診断精度、診断能力ともにPDDは従来の白色光よりも良好な診断成績であった。また、PDDで検出しえたCISの28.8%および異形成の27.9%は、従来の白色光源では確認しえない病変であると、これまでの報告と同等の良好な成績を示している。

このように、PDDは従来の白色光源下診断と比較して診断精度は高まったが、偽陽性率の高さが課題の1つと言

える。これには接線効果などの光学的原因やALAの取込みや代謝などの生物学的原因などが考えられるが、未だ結論は出ていない。また、Photobleaching現象 (青色励起光の照射に伴う蛍光強度の減衰) も診断を困難にする要因となり、蛍光検査特有の重要な問題である。Stepp Hら³⁶⁾は、腫瘍部で励起された赤色蛍光は励起光照射後約10秒で減衰が始まり、励起光の照射時間に依存して減衰し、70秒以降は励起されない周囲正常部との有意差がなくなったことを示した。このようにPDDはPhotobleaching現象に伴う時間的な制約があり、診断精度の向上のためには計画性を持った手際良い検査の遂行が求められる。(Fig. 2)

PDD補助下TUR-Bt (Table 3)

PDDは単なる診断に留まらず、外科的切除の補助として腫瘍範囲を同定する役割をも担う。従来の白色光源診断下TUR-Bt症例における腫瘍残存率は、術後1~12週目において中央値37% (19.2~53.1%) と高い³⁷⁻⁴¹⁾。これに対して、PDDを用いたTUR-Bt (PDD補助下TUR-Bt) 症例における腫瘍残存率は中央値16% (0~32.7%) と有意に低く、その有用性が示されている³⁷⁻⁴¹⁾。また膀胱内再発に関して、Danilchenko Dら⁴²⁾は、膀胱癌102症例における無再発生存率を報告しており、PDD補助下TUR-Bt 51例では観察期間中央値42ヵ月で41%、白色光源診断下TUR-Bt 51例では観察期間中央値39ヵ月で25%と有意差を認めたとしている ($p=0.02$)。さらにFilbeck Tらのグループ^{43, 44)}は、膀胱癌191症例において術後長期間での膀胱内再発率に関して、PDD補助下TUR-Bt 88例と白色光源診断下TUR-Bt 103例との比較検討を行っている。その結果、TUR-Bt後の無再発生存率は、PDD補助下では89.6% (観察期間中央値20.5ヵ月)、85.0% (43.0ヵ月)、71.0% (86.0ヵ月) で、白色光源診

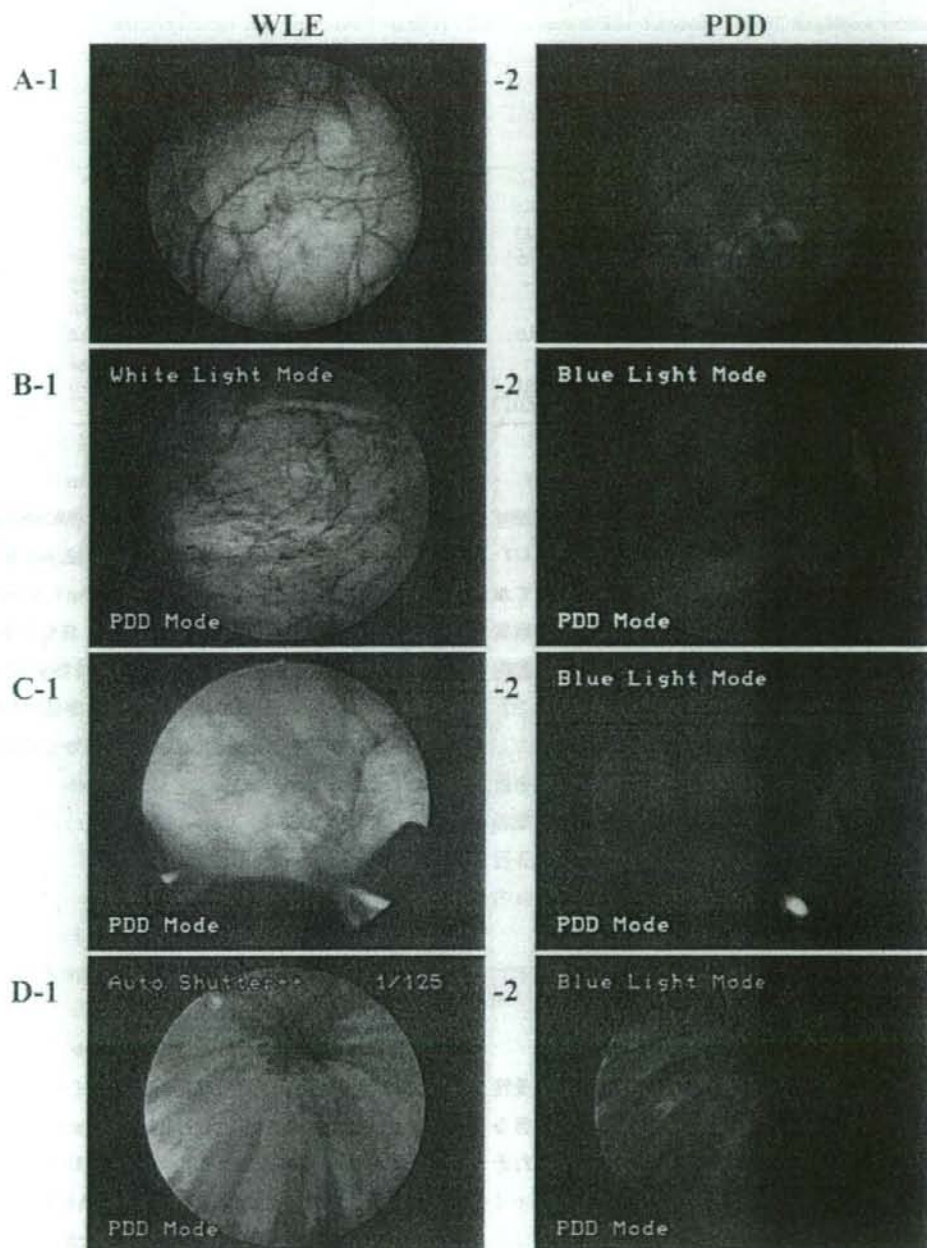


Fig. 2 光力学的診断 (PDD) と白色光源下診断 (WLE) の内視鏡所見の比較

A-1: 従来の白色光源下での観察で、微小な乳頭状腫瘍を認める。

-2: 青色光源下での観察で、赤色蛍光の発光によって同腫瘍が明瞭に確認できる。病理診断結果は尿路上皮癌 (UC, G1) であった。

B-1: 膀胱三角部～後壁の粘膜に明らかな不整は認めない。

-2: 赤色蛍光を発光する平坦領域を認める。病理診断結果は中等度異形成 (moderate dysplasia) であった。

C-1: 大きな乳頭状腫瘍を認める。

-2: 大きな乳頭状腫瘍に連続する平坦領域を認める。病理診断結果は上皮内癌 (carcinoma in situ (CIS)) であった。

D-1: 膀胱頸部の粘膜に明らかな不整は認めない。

-2: 赤色蛍光を発光する平坦領域を認める。病理診断結果は悪性所見なしであった (疑陽性)。

Table 3 Clinical studies of TURBT guided by PDD versus WLE : residual tumor rate and recurrence free survival

Author / year of publication (# References)	No. Pts	Residual tumor rate (%)		Recurrence free survival (RFS)			
		PDD	WLE	PDD		WLE	
				RFS rate (%)	Median Follow-up (mos)	RFS rate (%)	Median Follow-up (mos)
Filbeck T, et al. 1999 (37)	120	0.0	19.2	-	-	-	-
Riedl CR, et al. 2001 (38)	102	16.0	39.0	-	-	-	-
Kriegmair M, et al. 2002 (39)	101	32.7	53.1	-	-	-	-
Filbeck T, et al. 2002 (40)	191	4.5	25.2	89.6	20.5	65.9	21.2
Filbeck T, et al. 2003 (44)	191	-	-	85.0	43.0	60.7	42.0
Daniltschenko DI, et al. 2005 (43)	102	-	-	41.0	42.0	25.0	39.0
Babjuk M, et al. 2005 (41)	109	8.0	37.0	40.0	22.4	28.0	20.7
Denzinger S, et al. 2007 (45)	191	-	-	71.0	86.0	45.0	83.0
Alken P, et al. 2007 (42)	604	29.0	29.2	82.0	24.0	81.0	24.0
Inoue K, et al. 2007 (unpublished)	43	-	-	80.7	33.4	-	-

断下では65.9% (21.2ヵ月), 60.7% (42.0ヵ月), 45.0% (83.0ヵ月)と有意差を認めている (p=0.0003)^{44,45}。

我々もALAを用いたPDD補助TUR-Btを施行しており、その最新の結果では、表在性癌43症例において、観察期間中央値(範囲) 33.4±2.3 (28.8-38.0)ヵ月での膀胱内再発は6例のみであり、無再発生存率は80.7±7.2%とこれまでの報告と同等の良好な成績を示している。

さらに、Filbeck Tら⁴⁶はCox比例ハザードモデルを用いた解析により、PDD補助TUR-BtはHazard ratio 0.29 (95%CI 0.15~0.56)と、これ自身が独立した予後改善因子であるとも報告しており、PDD補助TUR-Btは膀胱内再発を制御しうる可能性があると考えられる。

副作用

PDDにおいて、ALAにより合成されるPPIXは光感受性物質であり、光線過敏症を主とする光毒性反応や肝障害などの全身性副作用が最も危惧される副作用である。またその合成過程でporphyrinの代謝を介するため、ポルフィリン症患者への投与は禁忌となる。しかしALAの経口による全身投与の場合、投与24時間後には投与したALAは体外に排泄され⁴⁶、皮膚への残存がないため、従来のポルフィリン誘導体とは異なり、暗室への隔離を行わなくても光線過敏症の出現は認めず⁴⁶、軽度の消化器症状および肝障害を一過性に認めるのみとされる⁴⁷。一方、膀胱内投与の場合、血漿PPIXの最高濃度は膀胱内投与後約30分で、経口投与の場合と比較して約100分の1と低値であり、

半減期も約45分と短いことより、薬理学的には光毒性反応は起こりえないとされる^{48,49}。さらに、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Filbeck Tら⁵⁰の検討でも光線過敏症の発症は認めず、発症防御は不必要であると報告されている。実際、前述の多数症例での報告²¹や我々の経験^{34,35}においても、軽度~中等度の膀胱刺激症状を認めるのみで、光線過敏症や肝障害などの重篤な全身性副作用は認めていない。

まとめ

表在性膀胱癌におけるALA膀胱内注入によるPDDおよびPDD補助TUR-Btは、癌再発に悩む患者にとって大きな福音になると考えられる。ヨーロッパでは、これら無作為臨床試験における良好な成績を受けて、PDDが医療承認され、European Association of Urology (EAU)のガイドラインにおいてもlevel of evidence 2aとして推奨されており⁵¹、診断の第一選択になりつつある。しかし、本邦の現状では、光感受性物質であるALAおよび現PDDシステムの蛍光フィルターが装着された光学視管は薬事未承認であり、先進医療に向けた医師主導による臨床研究の域を出ないのが現状である。

今後、この再発や進行に対するPDDおよびPDD補助TUR-Btの真の有効性を前向き無作為化試験によって検討すべきである。

文 献

- 1) Chopin DK, Gattegno B (2002) Superficial bladder tumors. *Eur Urol* 42 : 533-541
- 2) Althausen AF, Prout GR Jr, Daly JJ (1976) Non-invasive papillary carcinoma of the bladder associated with carcinoma in situ. *J Urol* 116 : 575-580
- 3) Lutzeyer W, Rubben H, Dahm H (1982) Prognostic parameters in superficial bladder cancer : an analysis of 315 cases. *J Urol* 127 : 250-252
- 4) Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ, et al. (1983) Superficial bladder cancer : progression and recurrence. *J Urol* 130 : 1083-1086
- 5) Policard A (1924) Etude sur les aspects offerts par des tumeurs experimentales examinees a la lumiere de wood. *Biologie Comptes Rendus* 91 : 1423
- 6) Lipson RL, Baldes EJ (1960) The photodynamic properties of a particular hematoporphyrin derivative. *Arch Dermatol* 82 : 508-516
- 7) Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, et al. (1978) Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res* 38 : 2628-2635
- 8) Whitmore WF Jr, Bush IM, Esquivel E (1964) Tetracycline ultraviolet fluorescence in bladder carcinoma. *Cancer* 17 : 1528-1532
- 9) Kelly JF, Snell ME (1976) Hematoporphyrin derivative : a possible aid in the diagnosis and therapy of carcinoma of the bladder. *J Urol* 115 : 150-151
- 10) Lipson RL, Baldes EJ (1960) The photodynamic properties of a particular hematoporphyrin derivative. *Arch Dermatol* 82 : 508-516
- 11) Hisazumi H, Misaki T, Miyoshi N (1983) Photoradiation therapy of bladder tumors. *J Urol* 130 : 685-687
- 12) Malik Z, Lugaci H (1987) Destruction of erythroleukaemic cells by photoactivation of endogenous porphyrins. *Br J Cancer* 56 : 589-595
- 13) Kriegmair M, Stepp H, Steinbach P, et al. (1995) Fluorescence cystoscopy following intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid : a new procedure with high sensitivity for detection of hardly visible urothelial neoplasias. *Urol Int* 55 : 190-196
- 14) Baumgartner R, Fisslinger H, Jocham D, et al. (1987) A fluorescence imaging device for endoscopic detection of early stage cancer-instrumental and experimental studies. *Photochem Photobiol* 46 : 759-763
- 15) 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
- 16) Collaud S, Juzenuine A, Moan J, et al. (2004) On the selectivity of 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin IX formation. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 4 : 301-316
- 17) Peng Q, Warloe T, Berg K, et al. (1997) 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy. *Cancer* 79 : 2282-2308
- 18) Navone NM, Polo CF, Frisardi AL, et al. (1990) Heme biosynthesis in human breast cancer-mimetic "in vitro" studies and some heme enzymic activity levels. *Int J Biochem* 22 : 1407-1411
- 19) Fukuda H, Paredes S, Batlle AM (1992) Tumour-localizing properties of porphyrins. In vivo studies using free and liposome encapsulated aminolevulinic acid. *Comp. Biochem Physiol B* 102 : 433-436
- 20) 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
- 21) Steinbach P, Kriegmair M, Baumgartner R, et al. (1994) Fluorescence photodetection of neoplastic urothelial lesions following intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid. *Urology* 44 : 836-841
- 22) 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
- 23) Koenig F, McGovern FJ, Larne R, et al. (1999) Diagnosis of bladder carcinoma using protoporphyrin IX

- fluorescence induced by 5-aminolaevulinic acid. *BJU Int* 83 : 129-135
- 24) Riedl CR, Plas E, Pflüger H (1999) Fluorescence detection of bladder tumors with 5-amino-levulinic acid. *J Endourol* 13 : 755-759
 - 25) Filbeck T, Roessler W, Knuechel R, et al. (1999) Clinical results of the transurethral resection and evaluation of superficial bladder carcinomas by means of fluorescence diagnosis after intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid. *J Endourol* 13 : 117-121
 - 26) 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
 - 27) Zaak D, Kriegmair M, Stepp H, et al. (2001) Endoscopic detection of transitional cell carcinoma with 5-aminolevulinic acid : results of 1012 fluorescence endoscopies. *Urology* 57 : 690-694
 - 28) 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
 - 29) Landry JL, Gelet A, Bouvier R, et al. (2003) Detection of bladder dysplasia using 5-aminolaevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. *BJU Int* 91 : 623-626
 - 30) 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
 - 31) Hungerhuber E, Stepp H, Kriegmair M, et al. (2007) Seven years' experience with 5-aminolevulinic acid in detection of transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 69 : 260-264
 - 32) Kriegmair M, Zaak D, Stepp H, et al. (1999) Transurethral resection and surveillance of bladder cancer supported by 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence endoscopy. *Eur Urol* 36 : 386-392
 - 33) Filbeck T, Pichlmeier U, Knuechel R, et al. (2002) Do patients profit from 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence diagnosis in transurethral resection of bladder carcinoma? *Urology* 60 : 1025-1028
 - 34) 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力学的診断. *日本泌尿器科学会雑誌* 97 : 719-729
 - 35) 井上啓史, 濱口卓也, 辛島 尚, 他 (2007) 膀胱癌の光力学的診断. *Japanese Journal of Endourology and ESWL* 20 : 112-120
 - 36) Stepp H, Wagner S, Zaak D, et al. (2004) Photobleaching. In *Fluorescence diagnosis of bladder tumor using 5-aminolevulinic acid - Fundamentals and Results*, 1st ed., Endo-Press TM, Tuttlingen, Germany, pp33
 - 37) Filbeck T, Roessler W, Knuechel R, et al. (1999) Clinical results of the transurethral resection and evaluation of superficial bladder carcinomas by means of fluorescence diagnosis after intravesical instillation of 5-aminolevulinic acid. *J Endourol* 13 : 117-121
 - 38) Riedl CR, Daniltchenko D, Koenig F, et al. (2001) Fluorescence endoscopy with 5-aminolevulinic acid reduces early recurrence rate in superficial bladder cancer. *J Urol* 165 : 1121-1123
 - 39) Kriegmair M, Zaak D, Rothenberger KH, et al. (2002) Transurethral resection for bladder cancer using 5-aminolevulinic acid induced fluorescence endoscopy versus white light endoscopy. *J Urol* 168 : 475-478
 - 40) Filbeck T, Pichlmeier U, Knuechel R, et al. (2002) Clinically relevant improvement of recurrence-free survival with 5-aminolevulinic acid induced fluorescence diagnosis in patients with superficial bladder tumors. *J Urol* 168 : 67-71
 - 41) Babjuk M, Soukup V, Petrik R, et al. (2005) Fluorescence cystoscopy in the diagnostics and treatment of superficial urinary bladder tumors. *Cas Lek*

Cesk 144 : 15-18

- 42) Alken P, Siegsmund M, Gromoll-Bergmann K, et al. (2007) A randomized controlled multicentre trial to compare the effects of transurethral resection of bladder carcinomas under 5-ALA induced fluorescence light to conventional white light. Poster presented at the annual EAU Congress, 21-24, Berlin, Germany.
- 43) Danilchenko D, Riedl CR, Sachs MD, et al. (2005) Long-term benefit of 5-aminolevulinic acid fluorescence assisted transurethral resection of superficial bladder cancer : 5-year results of a prospective randomized study. *J Urol* 174 : 2129-2133
- 44) Filbeck T, Pichlmeier U, Knuechel R, et al. (2003) Reducing the risk of superficial bladder cancer recurrence with 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence diagnosis. Results of a 5-year study. *Urologe A* 42 : 1366-1373
- 45) Denzinger S, Burger M, Walter B, et al. (2007) Clinically relevant reduction in risk of recurrence of superficial bladder cancer using 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence diagnosis : 8-year results of prospective randomized study. *Urology* 69 : 675-679
- 46) Grant WE, Hopper C, MacRobert AJ, et al. (1993) Photodynamic therapy of oral cancer : photosensitization with systemic aminolevulinic acid. *Lancet* 342 : 147-148
- 47) Webber J, Kessel D, Fromm D (1997) Plasma levels of protoporphyrin IX in humans after oral administration of 5-aminolevulinic acid. *J Photochem Photobiol B* 37 : 151-153
- 48) Kennedy JC, Pottier RH (1992) Endogenous protoporphyrin IX, a clinically useful photosensitizer for photodynamic therapy. *J Photochem Photobiol B* 14 : 275-292
- 49) Webber J, Kessel D, Fromm D (1997) Side effects and photosensitization of human tissues after aminolevulinic acid. *J Surg Res* 68 : 31-37
- 50) 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
- 51) 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
- 52) 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
- 53) Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, Kaasinen E, Böhle A, Palou-Redorta J (2008) EAU Guidelines on Non-Muscle-Invasive Urothelial Carcinoma of the Bladder. *Eur Urol* [Epub ahead of print]