BBN 誘発ラット膀胱腫瘍におけるヘマトポルフィリン誘導体の
組織内局在とアルゴン・色素レーザー光照射併用による
光力学的抗腫瘍効果の検討

	三	崎	俊	光
	久	住	治	男
	上	木		修
金沢大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 久住治男教授)	熊	木		修
	越	田		潔
	中	嶋	和	喜
	打	林	忠	雄
福井医科大学第1病理学教室 (主任: 福田 優教授)	三	好	憲	雄

DISTRIBUTION AND PHOTOTOXICITY OF HEMATOPORPHYRIN DERIVATIVE
IN EXPERIMENTALLY INDUCED RAT BLADDER TUMORS

Toshimitsu Misaki, Haruo Hisazumi, Osamu Ueki, Osamu Kumaki,
Kiyoshi Koshida, Kazuyoshi Nakajima, Tadao Uchibayashi
and Norio Miyoshi*

Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, Japan
(Director: Prof. Haruo Hisazumi)

*Department of Pathology, Fukui Medical School, Matsuoka, Japan
(Director: Prof. Masaru Fukuda)

The distribution of hematoporphyrin derivative (HPD) and photodynamic tumor destruction in which HPD is activated by an argon-dye laser light (630 nm) have been investigated in rats bearing N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine (BBN) induced bladder tumors.

HPD fluorescence was microscopically observed in the tumor cells and submucosal layer for a 7-day observation period after HPD I.V. injection. HPD fluorescence in the liver, spleen and kidney showed a tendency to reduce 2 to 4 days after HPD administration. A fluorescence emission spectrum with 2 bands at 627 and 693 nm, compatible to that of HPD, was observed in the tumorous tissue 48 hours after HPD administration. No fluorescence spectrum was obtained in the normal bladder 48 hours after HPD administration. These findings suggested preferential uptake or accumulation of HPD in the tumor tissue.

Laser irradiation 48 hours after HPD injection produced definitive tumor destruction when the light intensities were increased from 100 to 500 mW/cm². No tumoricidal effect was seen in the tumors treated with either HPD or light alone as controls. An additional study of temperature rise during the laser irradiation using a bladder model containing 2 ml saline solution showed no hyperthermia. The tumor destruction was proved to be resulted from photodynamic effects of HPD activated by the laser light without hyperthermia.

要旨: BBN 誘発ラット膀胱腫瘍を用い HPD の局在と HPD とアルゴン・色素レーザー光照射による光力学的抗腫瘍効果を検討した。

1. HPD 5mg/kg 静脈内投与後の HPD 蛍光分布は、蛍光顕微鏡下において腫瘍のみならず肝、脾、腎においても認められた。腫瘍では HPD 投与後 1 週間においても観察可能であったが、肝、脾および腎では 2～4 日目より減少した。腫瘍組織における HPD 蛍光は上皮細胞および粘膜下層に観察され、その蛍光スペクトルは 627nm および 693nm にピークを有する HPD 蛍光に一致した。一方正常部膀胱組織においては HPD の蛍光スペクトルは検出されなかった。

2. HPD 5mg/kg 投与 48 時間後、経膀胱的にアルゴン・色素レーザー光（光強度 100～500mW/cm²）を腫瘍に対し照射した。いずれの光強度においても腫瘍の変性、破壊像が観察されたが、光強度の増加に伴って腫瘍の変性も増大する傾向にあった。レーザー光の温度上昇はハイパーサーミア領域の温度にまでは至らず、この腫瘍変性は励起 HPD の光力学的反応によるものであると考えられた。

緒 言

従来より acridine orange, tetracycline および各種の porphyrin 系物質は腫瘍親和性を有し、一定の波長の光照射により殺細胞効果を示すことから、癌治療への応用が示唆されていた^{1)～3)}。Hematoporphyrin derivative（以下 HPD と略す）は hematoporphyrin hydrochloride を酢酸と硫酸にて処理し作製され⁴⁾、hematoporphyrin, hydroxyethylvinyldeuteroporphyrin, protoporphyrin のほか、数種の porphyrin 系物質を含有している。HPD は腫瘍親和性と、光照射による殺細胞効果に優れており、また光線過敏症以外の副作用も極めて少ないことから、光力学的治療（photodynamic therapy；以下 PDT と略す）における光感受性物質として注目を集めている⁵⁾⁶⁾。一方、光工学、原子分子物性物理学などの関連領域の進歩に伴いレーザー機器の開発が進展し、任意波長の選択および光強度の調節、またクォーツファイバーによる導光が可能となり臨床応用が急速に進んだ。すなわち HPD と有効励起波長を有するレーザー光の照射による PDT が肺、乳房、皮膚、消化器系などの悪性腫瘍の治療に広く応用されつつある⁷⁾⁸⁾。

泌尿器科領域においては Kelly ら⁹⁾が胸腺摘除マウスにおけるヒト膀胱癌移植腫瘍を用いて、移植腫瘍への HPD の蓄積性と白色光照射による腫瘍組織の破壊を報告した。また臨床的にも膀胱腫瘍症例に対し、HPD 投与下に 200W 水銀ランプによる光照射を行ない、PDT が膀胱腫瘍に対して有効な治療法となり得る可能性を初めて示した¹⁰⁾。Jocham ら¹¹⁾も HPD とアルゴン・色素レーザーを用いて家兎膀胱頂部移植 Brown-Pearce-carcinoma に対する PDT を行ない、その臨床応用の可能性を強く示した。その後も膀胱腫瘍に対する PDT の臨床応用に関する報告が散見され¹²⁾¹³⁾、われわれも HPD とアルゴン・色素レーザーによる PDT を行なった。すなわち有茎性腫瘍に対してレー

ザー光をクォーツファイバーにより誘導し、内視鏡的に照射を行なう focal PDT を行ない、その適応は径 2 cm 以下の腫瘍で、照射光エネルギーは 100J/cm²以上が必要であると報告した¹⁴⁾¹⁵⁾。一方モーター駆動光散乱装置の開発を行ない、carcinoma in situ や dysplasia を伴う膀胱腫瘍症例に対して膀胱腔内全照射法（whole bladder wall total PDT）による治療を試みている¹⁶⁾。膀胱腫瘍の多中心性発生、表在性腫瘍が約 50% を占めることから膀胱腫瘍に対する PDT が注目されているが、HPD 組織内局在と PDT 効果に関する基礎的検討はいまだ不十分である。

今回われわれは N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine（以下 BBN と略す）誘発ラット膀胱腫瘍を用い、HPD の組織内局在および HPD とアルゴン・色素レーザー光照射による光力学的効果につき検討を行なったので報告する。

実験方法

1) BBN 実験膀胱腫瘍

生後 5 週齢の雄性 Wistar 系ラットに 0.005% Tween 80 溶液（和光純薬、大阪）にて 0.05% BBN（岩井化学薬品、東京）を作製し、自由飲水下に 8 週間投与し、投与開始 20～30 週経過後に誘発された膀胱腫瘍を実験に用いた。このラットに HPD（Photofrin I, Oncology Research & Development, Inc., New York, USA）5mg/kg を尾静脈より投与し、以下の実験を行った。

2) HPD の組織内局在

HPD 静注後 3, 24, 48, 72, 96 および 168 時間後に各群 3 匹のラットを屠殺し、肝、脾、腎、膀胱および前立腺を摘出し、遮光下に 10μm の凍結切片を作製し、UV 励起下に Leitz MPV-2 type microfluorometer にて組織内の HPD 局在につき蛍光観察を行った。また膀胱についてはその組織切片を固体試料ホルダー（日立 650-0161）に入れ、分光蛍光光度計（日立 MPF-4 型）

により最大励起波長における蛍光スペクトルを測定した。また一部の凍結切片は HE 染色により組織学的検討を行った。

3) アルゴン・色素レーザー光の温度上昇効果

アルゴンレーザー (Model 171-07; Spectra Physics, Inc., Calif., USA) およびローダミン B 色素を用いた色素レーザー (Model 375-03; Spectra Physics, Inc.) から構成されるアルゴン・色素レーザー (波長630nm) 装置より400 μ m のクオーツファイバーを用いレーザー光を誘導した。20℃の生理食塩水2ml を満たしたディスポーザブル注射シリンジの注射針口側より温度測定用プローベを、他方よりクオーツファイバーを挿入し、お互いの先端が1cm の距離になるように固定し、レーザー光強度100, 200, 300, 400および500mW/cm², 10分間照射時の温度変化をサーモメーター (Model D317, 宝工業, 東京) にて記録した。

4) HPD 投与とレーザー光照射による抗腫瘍効果

HPD 投与48時間後に pentobarbital 腹腔内投与麻酔下に下腹部正中切開により膀胱を露出させ、膀胱頂部より27G 翼付針を穿刺し、貯留尿を吸引した後、生理食塩水2ml を腔内に注入し膀胱を充満させた。生理食塩水注入により膀胱外から腫瘍透過が可能となるため、その対側壁よりファイバーを直接膀胱に穿刺し、ファイバー先端と腫瘍との距離を1cm, 腫瘍表面に対し直角に照射できる位置に固定した。また光強度は100, 200, 300, 400および500mW/cm²とし照射時間は10分間とした。照射48時間後膀胱を摘出し、HE 染色により組織学的に抗腫瘍効果を検討した。

成 績

1) HPD の組織内局在

ラット組織内の HPD 蛍光を蛍光顕微鏡下に観察したところ、膀胱においては HPD 投与後24時間までは腫瘍上皮層のみならず粘膜下層、筋層内の血管や漿膜においても赤色蛍光が観察されたが、48時間以降においては腫瘍部の粘膜、粘膜下層に集中する HPD の蛍光が観察され、168時間後においても持続した。一方腎、脾、肝においても蛍光が持続して観察されたが、腫瘍組織に比較し、48~96時間頃より減弱する傾向が認められた。また前立腺、睪丸の示す蛍光は微弱で24~48時間後より観察不能となった。対照の HPD 非投与ラットにおいては、腎、脾、肝に自然発光蛍光あるいはヘモグロビンによると考えられる軽度の蛍光が観察されたが、膀胱腫瘍、前立腺、睪丸においては観察されなかった (表 1)。HPD 投与48時間後の膀胱凍結切

表 1 ラット臓器内 HPD 蛍光分布

時間	膀胱腫瘍	肝	脾	腎	前立腺	睪丸
3	+	+	+	+	+	+
24	+	+	+	+	+	+
48	+	+	+	+	-	-
72	+	+	+	+	-	-
96	+	+	+	+	-	-
168	+	+	+	+	-	-
対照 HPD(-)	-	+	+	+	-	-

※ 蛍光明瞭, +軽度, -蛍光なし

図 1 HPD 5mg/kg 投与48時間後の膀胱腫瘍組織内 HPD 蛍光スペクトル

片における蛍光スペクトルでは腫瘍組織において627および693nm にピークを有する HPD に特徴的な 2 峰性の蛍光スペクトルが得られた (図 1)。同時に測定を行なった非腫瘍部膀胱組織においては HPD の蛍光スペクトルは検出されなかった。

2) アルゴン・色素レーザー光照射における温度上昇効果

20℃の生理食塩水中での温度上昇は図 2 に見られるごとく、いずれの光強度においても認められたが、ほぼ 7 分間で平衡状態に達し、以後10分までの上昇は極めて緩徐であった。各光強度における最大温度上昇幅は100mW/cm²で3.1℃, 200mW/cm²で4.1℃, 300mW/cm²で5.7℃, 400mW/cm²で6.9℃および500mW/cm²で9.1℃であった。光強度の増加に伴って温度上昇も増加したが、いずれも30℃を越えるものではなく、水中における照射では温熱作用による抗腫瘍効果は無視できるものと考えられた。

3) HPD とアルゴン・色素レーザー光照射による PDT 効果

照射されたいずれの光強度においても腫瘍細胞の変性、破壊像が認められたが、効果が腫瘍全体に及んでいるものは、いずれも直径1~3mm 前後の小腫瘍に限

られた(図3)。3mm以上の大きさの腫瘍では効果は部分的で、多くは腫瘍表面より楔状に変性像が認められ、周囲の腫瘍組織および間質内には高度の出血、充血、血栓などが観察された(図4)。組織標本上腫瘍変性の深度を目盛り付き接眼レンズで計測し、1mm未滿のものをⅠ度、2mm未滿をⅡ度、3mm未滿をⅢ度、3mm以上をⅣ度として100mW/cm²照射で4匹、200mW/cm²照射5匹、300mW/cm²照射5匹、400mW/cm²照射5匹、500mW/cm²照射4匹のラット膀胱腫瘍において検討した。腫瘍径1~3mmの小腫瘍は100mW/cm²照射で2腫瘍、200mW/cm²照射で1腫瘍、300mW/cm²照射で2腫瘍、400mW/cm²照射で4腫

図2 アルゴン・色素レーザーの温度上昇効果

図3 PDTによる組織学的変化(HE染色・×10)
小腫瘍においては腫瘍の完全な変性、脱落が認められる(HPD 5mg/kg, 光強度200mW/cm², 10分間照射)

図4 PDTによる組織学的変化(HE染色・×10)
3mm以上の腫瘍ではPDTの効果は部分的であり、腫瘍表面より楔状に変性像が認められ、周囲の腫瘍組織および間質内には高度の出血、血管内充血が認められる。(HPD 5mg/kg, 光強度500mW/cm², 10分間照射)

表2 PDT 抗腫瘍効果

	ラット数	抗腫瘍効果	
		腫瘍全体	腫瘍一部(腫瘍内深達度)
レーザー光単独照射 (100~500mW/cm ²)	3	—	—
HPD 単独投与	3	—	—
HPD+レーザー光照射			
100mW/cm ²	4	2	2 (Ⅰ, Ⅰ)
200mW/cm ²	5	1	4 (Ⅰ, Ⅰ, Ⅱ, Ⅱ)
300mW/cm ²	5	2	3 (Ⅱ, Ⅱ, Ⅲ)
400mW/cm ²	5	4	1 (Ⅳ)
500mW/cm ²	4	2	2 (Ⅲ, Ⅳ)

腫瘍内深達度Ⅰ : <1mm, Ⅱ : <2mm, Ⅲ : <3mm, Ⅳ : >3mm,

瘍, 500mW/cm²照射で2腫瘍であり, いずれの光強度においても腫瘍全体に及ぶ腫瘍の破壊が認められ, 腫瘍変性の深度を評価することは困難であった。残りはPDT効果の部分的であった径3mm以上の腫瘍であり, その深度は100mW/cm²照射で2腫瘍がI度, 200mW/cm²では4腫瘍中I度が2腫瘍, II度が2腫瘍, 300mW/cm²では3腫瘍中II度が2腫瘍, III度が1腫瘍, 400mW/cm²ではIV度が1腫瘍で, 500mW/cm²においてはIII度とIV度がおおの1腫瘍であり, 光強度に比例して光力学的効果も増大する傾向にあった。対照としたレーザー光単独照射, HPD単独投与各3匹のラット膀胱腫瘍においては組織学的変化は認められなかった(表2)。

考 察

癌治療におけるPDTの最大の利点は用いる光感受性物質の腫瘍組織への高い親和性に基づく, 光照射による腫瘍の選択的な光力学的破壊の発現にあるとされている。Lipsonら⁴⁾により報告されたHPDにはPDTにおける光感受性物質としての良好な腫瘍親和性と光力学的抗腫瘍効果が報告され, これらについて多くの基礎的研究および臨床的検討がなされている。HPDの局在に関して培養細胞を用いたin vitroの実験では悪性細胞におけるHPDの高い蓄積¹⁷⁾と細胞膜¹⁸⁾, ミトコンドリア¹⁹⁾²⁰⁾および核膜²⁰⁾等への取込みが報告されている。Bernsらの報告¹⁹⁾ではラット腎上皮, マウス胎児線維芽細胞, ラット心筋細胞由来の非悪性培養細胞においてもHPDの取込みが認められているが, これら正常細胞においては細胞内貯留時間が短く, HPD濃度は短時間に減少するものと解釈されている。一方, 実験腫瘍を用いたin vivoの検討においてはHPDの蓄積が腫瘍にのみ特異的に求めることのできないことを示す結果が得られている。Gomerら²¹⁾は^[14C]HPDと^[3H]HPDを用いたマウス移植腫瘍の実験から肝, 腎, 脾には腫瘍組織を上回る^[14C]および^[3H]HPDの蓄積が認められたと報告している。今回の検討においても肝, 腎, 脾に明らかなHPD蛍光が観察された。以上の結果よりHPDは必ずしも特異的腫瘍親和性を有する物質ではなく, 今後副作用の一つである皮膚光過敏症等の問題も含めHPDのpharmacokineticsの検討が必要と考えられた。しかしながら腫瘍組織においては血管透過性の亢進, リンパのうっ滞等の理由から, 正常組織に比較して高濃度のHPDの蓄積が認められるとの報告が多く²²⁾²³⁾, PDTの局所療法としての有用性が述べられる根拠となっている。今回の分光学

的検討からも腫瘍組織においては, 正常膀胱粘膜に比較し, HPD蛍光の高い蓄積性が確認され, 腫瘍選択性の高い治療法となる可能性を示唆する所見と考えられた。

実験的膀胱腫瘍におけるHPD取込みについての報告はKellyら⁹⁾の免疫抑制ヒト膀胱癌移植マウス, Jo-chamら¹¹⁾の家兎におけるBrown-Pearce-carcinoma移植膀胱腫瘍を用いた実験があり, さらに臨床的にはKellyら¹⁰⁾, Bensonら²⁴⁾, 久住ら¹⁴⁾の報告がみられる。いずれの報告においても腫瘍組織におけるHPD蛍光の有意の増加が述べられている。しかしながら腫瘍内に局在するHPDは単に腫瘍細胞内に止まらず, 間質組織, 腫瘍被膜, 血管, 網内系細胞等にも広く分布するとの報告が見られ⁹⁾²²⁾, 今回のBBNラット膀胱組織においても腫瘍細胞のみならず, 粘膜下層にまで広く分布するHPDの蛍光が観察された。

前述したごとくこれまで報告された実験的膀胱腫瘍におけるPDTの成績と同様, BBN誘発ラット膀胱腫瘍においても明らかなPDTの抗腫瘍効果が認められた。その光力学的効果は光強度および光エネルギー量の増加に伴って増大するものと解釈されており, 今回の検討でも光強度の増加に伴う腫瘍組織変性の範囲拡大が観察された。しかしながら現在のところレーザー光の光強度, エネルギー量, HPD投与量, HPD投与から光照射までの時間等についてはなお明確な結論が得られていない。臓器によりHPD取込み率やレーザー光透過度に差異が認められることから, 臓器により腫瘍のPDT効果に違いが生ずることが予想され, それぞれに最も適した治療条件の確立が望まれるところである。

腫瘍組織におけるPDT効果のメカニズムとして腫瘍細胞に対する直接的効果のほかに, 腫瘍血管系のPDT反応による血流障害²⁵⁾²⁶⁾の可能性が述べられている。Selmanら²⁵⁾はラット移植腫瘍におけるPDT後の血流測定を行ない, HPD投与と光照射を行ったラットにのみ明らかな腫瘍血流量の低下が認められたと報告している。またHendersonら²⁶⁾も移植腫瘍に対するPDT後に腫瘍を切除し, 細胞培養にてコロニー形成率を検討したところ, PDT直後に切除して得られた腫瘍細胞ではPDTの影響はほとんど観察されなかったが, PDT後腫瘍切除を1~24時間延長した場合, 著明なコロニー形成率の低下が認められ, 腫瘍の無酸素状態後のコロニー形成率と極めて類似していると述べ, PDTによる腫瘍破壊のメカニズムに血流障害

の関与を報告している。われわれも今回の検討やこれまで行ってきた臨床的検討より腫瘍血管の変化が腫瘍破壊の重要な要素であるとの考えに至っている。今回腫瘍血管や間質の少ない3mm以下の乳頭状小腫瘍においてはPDT後腫瘍細胞の変性が主となり、出血性変化は軽微であったが、3mm以上の腫瘍においては腫瘍血管の分布も豊富で、光力学的反応の及んだ腫瘍内の間質には広範な出血、浮腫、血栓等の血管障害に基づくと考えられる変化が観察された。同様の所見は臨床的にもPDT後の腫瘍において認められており、またPDT施行後数日間認められる尿中への凝血やフィブリンの中にしばしば空胞変性像を有する腫瘍細胞塊の混入が認められ、これはPDTによる血管障害、腫瘍細胞の剝離、脱落によるものと推定された。以上の点よりわれわれは今後腫瘍血管、特に血管内皮細胞に対する光力学的効果および血流に対する影響につき検討を行なう予定である。一方、近年PDTにおける温熱効果の関与に関する報告が散見されつつある²⁷⁾²⁸⁾。将来PDTと温熱治療との併用療法が癌治療に新しい分野を開くものと思われるが、PDTの基礎的検討が十分に解明されていない現状においてはこの二点を分離して検討することが重要であると考えられる。今回の検討ではレーザー光照射時に膀胱内への生理食塩水注入を行なっているため、今回使用した100~500mW/cm²の光強度では腫瘍組織に対する温熱効果は無視し得るもので、観察されたラット膀胱腫瘍の変化はHPDの光力学的反応の結果と考えられた。

PDTの臨床応用はようやく開始された段階で、今後表在性膀胱腫瘍に対する治療法としての地位を確立するためにはさらに多くの基礎的検討が必要である。今回BBN誘発ラット膀胱腫瘍に対してPDTの抗腫瘍効果が明らかに示され、今後PDT効果の解明、新しい光感受性物質の光力学的反応の評価など、有用な実験モデルになることが予想された。

結 語

BBN誘発ラット膀胱腫瘍を用いHPDの局在とHPDとアルゴン・色素レーザー光照射による抗腫瘍効果を検討した。

1) ラット組織内のHPD蛍光は、腫瘍組織においては特に上皮細胞および腫瘍間質を中心としてHPD投与後1週間においても認められたが、肝、脾、腎では投与後2~4日目頃から減少を示し、前立腺と睪丸では2日目ではほとんど消失した。HPD投与48時間後の腫瘍組織の蛍光スペクトル分析では627nmおよび693

nmにピークを有するHPD蛍光スペクトルが得られたが、正常膀胱組織においてはHPDの蛍光スペクトルは検出されなかった。

2) HPD 5mg/kg投与ラットにおいて光強度100~500mW/cm²の膀胱腔内レーザー光照射においてはいずれの条件でも腫瘍の変性、破壊像が認められ、3mm未満の小腫瘍では腫瘍全体におよび、3mm以上の腫瘍においては光強度に比例して増大する傾向が認められた。レーザー光照射による温度上昇効果の検討から温熱作用の影響は否定され、またHPD非投与ラットのレーザー光照射においては腫瘍、膀胱壁ともに変化は認められなかったことから、これらの腫瘍変性はHPDの光力学的反応によるものであると考えられた。

本研究は文部省科学研究費一般研究(A)第60440075および厚生省がん助成金59-3によった。

References

- 1) Tomson, S., Emmett, E.A. and Fox, S.H.: Photodestruction of mouse epithelial tumors after oral acridine orange and argon laser. *Cancer Res.*, **34**, 3124-3127, 1974.
- 2) Vassar, P.S., Saunders, A.M. and Culling, C.F. A.: Tetracycline fluorescence in malignant tumors and benign ulcers. *Arch. Path.*, **69**, 613-616, 1960.
- 3) Auler, H. and Banzer, G.: Untersuchungen über die Rolle der Porphyrine bei geschwulstkranken Menschen und Tieren. *Ztschr. f. Krebsforsch.*, **53**, 65-68, 1942.
- 4) Lipson, R.L., Baldes, E.J. and Olsen, A.M.: The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection. *J. Nat. Cancer Inst.*, **26**, 1-11, 1961.
- 5) Berenbaum, M.C., Bonnett, R. and Scourides, P. A.: In vivo biological activity of the components of haematoporphyrin derivative. *Br. J. Cancer*, **45**, 571-581, 1982.
- 6) Weishaupt, K.R., Gomer, C.J. and Dougherty, T. J.: Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photo-inactivation of a murine tumor. *Cancer Res.*, **36**, 2326-2329, 1976.
- 7) Dougherty, T.J., Kaufman, J.E., Goldfarb, A., Weishaupt, K.R., Boyle, D. and Mittleman, A.: Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. *Cancer Res.*, **38**, 2628-2635, 1978.
- 8) Hayata, Y., Kato, K., Konaka, C., Ono, J. and Takizawa, N.: Hematoporphyrin derivative

- and laser photoradiation in the treatment of lung cancer. *Chest.*, 81, 269—277, 1982.
- 9) Kelly, J.F., Snell, M.E. and Berenbaum, M.C.: Photodynamic destruction of human bladder carcinoma. *Br. J. Cancer*, 31, 237—244, 1975.
 - 10) Kelly, J.F. and Snell, M.E.: Hematoporphyrin derivative: A possible aid in the diagnosis and therapy of carcinoma of the bladder. *J. Urol.*, 115, 150—151, 1976.
 - 11) Jocham, D., Staehler, G., Chaussy, Ch., Hammer, C. and Löhns, U.: Laserbehandlung von Blasentumoren nach Photosensibilisierung mit Hematoporphyrin-Derivat. *Urologe. A*, 20, 340—343, 1981.
 - 12) Tsuchiya, A., Obara, N., Miwa, M., Ohi, T., Kato, H. and Hayata, Y.: Hematoporphyrin derivative and laser photoradiation in the diagnosis and treatment of bladder cancer. *J. Urol.*, 130, 79—82, 1983.
 - 13) Benson, R.C. Jr., Kinsey, J.H., Cortese, D.A., Farrow, G.M. and Utz, D.C.: Treatment of transitional cell carcinoma of the bladder with hematoporphyrin derivative phototherapy. *J. Urol.*, 130, 1090—1095, 1983.
 - 14) Hisazumi, H., Misaki, T. and Miyoshi, N.: Photoradiation therapy of bladder tumors. *J. Urol.*, 130, 685—687, 1983.
 - 15) Misaki, T., Hisazumi, H. and Miyoshi, N.: Porphyrin localization and treatment of tumors, Doiron, D.R. and Gomer, C.J. p. 785—794, Alan R. Liss, Inc., New York, 1984.
 - 16) Hisazumi, H., Miyoshi, N., Naito, K. and Misaki, T.: Whole bladder wall photoradiation therapy for carcinoma in situ of the bladder: A preliminary report. *J. Urol.*, 131, 884—887, 1984.
 - 17) Mossman, B.T., Gray, M.J., Silberman, F.L. and Lipson, R.L.: Identification of neoplastic versus normal cells in human cervical cell culture. *Obstet. Gynecol.*, 43, 635—639, 1974.
 - 18) Kessel, D.: Transport and binding of hematoporphyrin derivative and related porphyrins by murine leukemia L1210 cells. *Cancer Res.*, 41, 1318—1323, 1981.
 - 19) Berns, M.W., Dahlman, A., Johnson, F.M., Burns, R., Sperling, D., Guiltinan, M., Siemens, A., Walter, R., Wright, W., Hammer-Wilson, M. and Wile, A.: In vitro cellular effects of hematoporphyrin derivative. *Cancer Res.*, 42, 2325—2329, 1982.
 - 20) Hisazumi, H., Miyoshi, N., Ueki, O., Nishino, A. and Nakajima, K.: Cellular uptake of hematoporphyrin derivative in KK-47 bladder cancer cells. *Urol. Res.*, 12, 143—146, 1984.
 - 21) Gomer, C.J. and Dougherty, T.J.: Determination of [^3H] and [^{14}H] hematoporphyrin derivative distribution in malignant and normal tissue. *Cancer Res.*, 39, 146—151, 1979.
 - 22) Bugelski, P.J., Porter, C.W. and Dougherty, T. J.: Autoradiographic distribution of hematoporphyrin derivative in normal and tumor tissue of the mouse. *Cancer Res.*, 41, 4606—4612, 1981.
 - 23) Gomer, C.J., Rucker, N., Mark, C., Benedict, W. F. and Murphree, A.L.: Tissue distribution of ^3H -hematoporphyrin derivative in athymic "nude" mice heterotransplanted with human retinoblastoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 22, 118—120, 1982.
 - 24) Benson, R.C. Jr., Farrow, G.M., Kinsey, J.H., Cortese, D.A., Zincke, H. and Utz, D.C.: Detection and localization of in situ carcinoma of the bladder with hematoporphyrin derivative. *Mayo Clin. Proc.*, 57, 548—555, 1982.
 - 25) Selman, S.H., Milligan, A.J., Kreimer-Birnbaum, M., Keck, R.W., Goldblatt, P.J. and Britton, S.L.: Hematoporphyrin derivative photochemotherapy of experimental bladder tumors. *J. Urol.*, 133, 330—333, 1985.
 - 26) Henderson, B.W., Waldow, S.M., Mang, T.S., Potter, W.R., Malone, P.B. and Dougherty, T. J.: Tumor destruction and kinetics of tumor cell death in two experimental mouse tumors following photodynamic therapy. *Cancer Res.*, 45, 572—576, 1985.
 - 27) Svaasand, L.O., Doiron, D.R., and Dougherty, T. J.: Temperature rise during photoradiation therapy of malignant tumors. *Med. Phys.*, 10, 10—17, 1983.
 - 28) Kinsey, J.H., Cortese, D.A. and Neel, H.B.: Thermal considerations in murine tumor killing using hematoporphyrin derivative phototherapy. *Cancer Res.*, 43, 1562—1567, 1983.

(1986年8月5日受付, 特別掲載)