九州歯会誌 60 (1) : 1 ~ 8, 2006.

癌の光化学治療

井 口 次 夫

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科顎口腔機能再建学分野

平成 17 年 12 月 26 日受付

平成 18 年 1 月 25 日受理

Photodynamic Therapy for Cancer

Tsugio Inokuchi

Oral and Maxillofacial Surgical Reconstruction and Functional Restoration

Graduate School of Biomedical Sciences

Nagasaki University, Nagasaki, Japan

E-mail: inokuchi@net.nagasaki-u.ac.jp

Photodynamic therapy (PDT) is a treatment for both neoplastic and nonneoplastic diseases utilizing photochemical reactions induced by a photosensitizer, light and oxygen in the target tissue. PDT consists of administration of a photosensitizer that selectively accumulates in the target tissue and laser irradiation at a specific wavelength to produce photochemical reactions. This photoactivation produces singlet oxygen and other reactive oxygen species that cause oxidative damage to cellular components, triggering either cellular repair and recovery or cell death by apoptosis and/or necrosis.

The mechanisms of PDT tumor eradication include the direct damage by phototoxic action, collapse of the tumor vasculature, and induced inflammatory cell infiltration and tumor immunity. Our experimental approach to enhance PDT effects revealed the following results: (1) fractionated laser irradiation improves PDT efficacy due to reoxygenation in the target tissue (2) combined administration of PDT and cisplatin enhances both antitumor effect and apoptotic cell death (3) hyperthermic PDT enhances antitumor effect (4) PDT combined with a biological response modifier, OK-432 improves PDT efficacy.

Our clinical trial for oral cancer treatment is described. PDT is a minimally invasive modality and, unlike ionizing radiation, can be applied repeatedly at the same site.

Key words: Photodynamic Therapy/PDT/Photochemical reaction/Reactive oxygen species/
Cancer therapy

抄 録

光化学治療 (Photodynamic Therapy, PDT) は標的組織 (腫瘍あるいは非腫瘍病変) において光感受性物質、光および酸素の3要素によって惹起される光化学反応の細胞障害作用を利用する治療法である。癌のPDTではまず、腫瘍親和性のある光感受性物質を投与した後、標的腫瘍をレーザーで光照射する。標的腫瘍組織では光感受性物質が励起されて光化学反応が起こり活性酸素が発生する。この活性酸素の強力な酸化作用が細胞を障害することになる。活性酸素の酸化作用に対して細胞は修復反応により抵抗するが、障害作用が勝る細胞ではネクロシスあるいはアポトーシスによる細胞死が誘導される。PDTによる急速なアポトーシス誘導は抗腫瘍効果の要因と考えられる。癌組織破壊は活性酸素による癌細胞の障害と血管障害による他、炎症性細胞浸潤と誘導される腫瘍免疫反応による。長期間の腫瘍制御を得る上で腫瘍免疫の成立は重要である。PDTの抗腫瘍効果を増強する手段について実験的に検討した我々の結果は以下のとおりである。(1) 分割光照射PDTでは標的組織の再酸素化により有効な抗腫瘍効果が得られる。(2) PDTと抗癌剤シスプラチンの併用ではアポトーシス誘導が増加され抗腫瘍効果が相乗的に増強される。(3) ハイパーサーミア効果の併用はPDT作用を増強する。(4) PDTと免疫賦活剤OK-432の併用が有効である。

レーザー光の組織内深達性は浅いため、PDTは表在性病変に効果があり、深い病変では有効性が低い。本邦では光感受性物質ポルフィマーナトリウム (商品名、フォトフリン) を使用するPDTが食道癌、肺癌、子宮頸癌のいずれも初期病変、および子宮頸部異形成を適応症として認可されている。我々は口腔粘膜扁平上皮癌の初期病変を対象にフォトフリン・PDTの臨床試験を開始した。PDTは他の非観血的方法と比しても毒性と侵襲の少ない治療法である。今後、PDTの研究は種々の疾患の治療や診断への応用を目的として展開できる新しい分野といえる。

キーワード: 光化学治療/PDT/光化学反応/活性酸素/癌治療

はじめに

光化学治療 (光線力学治療, Photodynamic Therapy, PDT) は投与した光感受性物質が集積する標的病変 (腫瘍または非腫瘍病変) に光照射することで光化学反応を惹起させ、その際、生成される活性酸素の酸化作用により病変の細胞を選択的に死滅させる治療法である^{1,2)}。

今日のPDTの基礎となったのは腫瘍親和性の光感受性物質として開発されたヘマトポルフィリン誘導体 (hematoporphyrin derivative) のPDTへの応用である^{1,3)}。

現在、本法の適応症と光感受性物質については、その認可が国によって異なるが、癌では食道癌、肺癌、子宮頸癌、皮膚癌などで光感受性物質、ポルフィマーナトリウム (porfimer sodium, 商品名フォトフリン) を使用して施行されている。非腫瘍病変としては加齢黄斑変性症 (光感受性物質は verteporfin)、紫外線角化症 (光感受性物質は 5-aminolevulinic) が対象となっている。また、冠動脈疾患 (動脈硬化)、感染症、自己免疫疾患、白血病、移植拒絶反応などへの応用も研究されている²⁻⁵⁾。口腔領域では、歯周症などを対象とする抗菌処置としてのPDTの研究もある^{6,7)}。

PDTは侵襲性の少ない治療法でありその発展が期待されている。

ここでは、PDTの癌治療について我々の研究を含めて概説する。

PDTの原理

まず、標的とする病変に親和性のある光感受性物質を全身または局所投与する。次いで、光感受性物質が標的組織内に集積し健常組織内では低い濃度分布となる頃 (全身投与の場合)、標的患部を光照射する。光照射により光感受性物質は励起されて光化学反応が起こり活性酸素 (主に一重項酸素、その他フリーラジカル) が発生する。この活性酸素の強力な酸化作用により標的細胞と血管が障害され、標的組織は崩壊する (図1)。

(1) 光感受性物質と光照射:

光感受性物質はそれぞれ特有の吸収波長を有しており、その吸収波長に一致する波長の光を照射することで光化学反応を効率良く惹起させる。この光照射のタイミングは使用する光感受性物質の体内動態によって異なる。照射には出力と組織内深達性に優れるレーザー光が使用される。また、照射光はヘモグロビンなどの内因性色素に吸収されるため、波長の長いもの程、組織内への深達性が良いことから、長い吸収波長の新しい光感受性

図1 光化学反応の細胞障害作用。

物質が開発中である⁴⁾。一方、表在性の皮膚病変（乾癬、角化病変）では、より短い波長の 400 nm が使われる。

我が国で現在、癌を対象として唯一承認、市販されている光感受性物質ポルフィマーナトリウム（商品名、フォトフリン）の場合では通常、静脈内注射 48～72 時間後に波長 630 nm のレーザー照射（エキシマレーザー励起色素レーザーを使用）を行う。

この 630 nm の光の組織内深達は 5～10 mm であるため、一般には表在性ないし初期病変が対象となり、進行性病変には有効性は低い⁸⁾。

(2) 光感受性物質の腫瘍集積性：

光感受性物質の腫瘍集積性（親和性）の理由としては、不明な点が多いが、腫瘍組織の特徴によることが上げられる。即ち、腫瘍の低 pH や低密度脂質蛋白受容容の増加、マクロファージの浸潤は光感受性物質の細胞内取り込みを増加させると考えられる。また、腫瘍間質における異常な構造、漏出性血管構造、リンパ性吸収機構の破綻、豊富なコラーゲンと脂質は光感受性物質の集積を容易にする¹⁾。

(3) 光化学反応：

光化学反応は光感受性物質、光、および酸素の 3 要素によって惹起される。光照射により標的組織内の光感受性物質は光を吸収して基底状態から励起状態となる。次いで、励起された光感受性物質は基底状態へ戻るが、その際に放出されるエネルギーによって組織内の酸素から細胞障害性の活性酸素（主に一重項酸素の他、フリーラジカル）が生成される。これら活性酸素の強力な酸化作用に対して細胞は修復反応（熱ショック蛋白の産生など）により抵抗するが、障害作用が勝る細胞では細胞死が誘導される^{1,9)}。

図2 光化学治療による腫瘍破壊のメカニズム。

PDT による抗腫瘍効果

PDT による腫瘍組織の崩壊は (1) 直接的な殺細胞作用、(2) 腫瘍血管障害、さらに (3) 炎症性細胞浸潤と腫瘍免疫反応、によって起きる^{1,4)} (図2)。

PDT の直接的殺細胞作用

光化学反応の直接的作用により細胞はネクロシスあるいはアポトーシス（又は両方）を来して死滅する^{1,9)}。この死滅様式は細胞の種類、光感受性物質の種類と細胞内分布、PDT の強さ（照射光の強さと光感受性物質の投与量）の相違によっても異なる。臨床的にはネクロシスとアポトーシスの混合したものと考えられている。

しかし、この作用機序だけで常に腫瘍の完全な根絶が得られるとは限らない。その理由として、細胞の PDT 感受性の相違の他、光感受性物質の組織内分布は均一ではなく、また、血管からの距離が離れている腫瘍ほど光感受性物質の集積は少ないので光化学反応の効果に差を生じること。さらに、光化学反応時の酸素消費により標的組織内は低酸素状態となり、活性酸素の産生が減少し PDT の殺細胞作用は低下することが考えられる^{1,9)}。

図3、4 にマウス NR-S1 扁平上皮癌を用いた我々の実験結果を示す。

PDT 24 時間後、腫瘍壊死は最大となった。また、残存腫瘍の増殖活性は PDT 後 24 時間まで低下するが、その後は上昇した¹⁰⁾。

この細胞動態は PDT 効果を細胞核の形態変化に基づいて観察した結果でも、裏付けられた¹¹⁾。

以上の実験結果は PDT の反復、即ち、2 回目あるいはそれ以降の光照射の必要性を示している。

PDT による組織内酸素の消耗対策としては、(1) 低出

図3 PDTの抗腫瘍効果（マウス NR-S1 扁平上皮癌）.

A. 無処置腫瘍

B. PDT24時間後. 腫瘍壊死は腫瘍の表層から底部に及んでいるが辺縁部に腫瘍生存がみられる.

C. 腫瘍壊死部の炎症性細胞浸潤.

D. 腫瘍部のアポトーシス所見（TUNEL 染色）

光感受性物質: Hematoporphyrin (Hp) oligomers

図4 PDT後の残存腫瘍細胞のPCNA 標識率.
(免疫組織化学染色)

光感受性物質: Hp oligomers

力光の照射による酸素消費の抑制, および (2) 光の分割照射による組織の再酸素化が有効である^{10, 12)}.

我々は低出力のレーザー光を1時間の休止時間をもって2回分割照射するPDTが抗腫瘍効果を増加させる結果を得た. このレジメの狙いは光照射の休止時間内に標的腫瘍組織の再酸素化が起こり光照射による活性酸素の産生が回復し, 一方, 低出力の光照射のため微小血管系が温存され組織への酸素供給が維持されることにある¹³⁾.

PDTによる腫瘍細胞のアポトーシス

PDTにより急速なアポトーシス誘導が起きる. これはPDT作用が細胞周期やp53などの遺伝子の状態に関わりなく発現されるためであり, この事がPDTによる抗腫瘍効果の要因と考えられる¹⁴⁾.

PDT作用によるアポトーシスは, 主に (1) ミトコンドリアの障害, または (2) 細胞膜の障害により誘導され

るアポトーシスシグナルの伝達によって発現する。更に、その他のシグナル伝達経路もアポトーシス発現に関与する^{9,15)}。

(1) のシグナル伝達経路はミトコンドリアを標的とする光感受性物質（フォトフリンが該当する）を使用する PDT の場合であり、障害されたミトコンドリアから cytochrome c が細胞質へ放出されることで caspase の活性化が誘発されてアポトーシスが起きると考えられている¹⁵⁾。

(2) のシグナル伝達経路は細胞膜を標的とする光感受性物質を使用する場合で、デスリセプターを介してアポトーシスが起これると考えられる。この経路は細胞膜受容体の TNF ファミリーの内、特に Fas 受容体が主役となると考えられる¹⁶⁾。我々はフォトフリン・PDT の *in vivo* 実験で Fas/Fas ligand 系によるアポトーシス発現を示唆した¹⁷⁾。

図5はリンパ腫細胞（LY 細胞）に対する PDT とシスプラチン（CDDP）の殺細胞効果とアポトーシス発現を示す¹⁸⁾。

PDT とシスプラチンの併用により殺細胞効果とアポトーシスは相乗的に増加する結果が得られた。更に、この併用では、アポトーシスシグナル伝達系で重要な caspase-3 の増加が示され、これにより相乗的なアポトーシス発現がもたらされと思われる。

in vivo の実験でも同様の結果を得ている。この結果から、PDT とシスプラチンの併用によりそれぞれの量

を減らし副作用を少なくすることが可能と考えられる。

PDT 抵抗性

光化学反応の酸化作用は、光感受性物質の違いにより種々のストレス蛋白（熱ショック蛋白, HSP）を誘導するが、この蛋白はアポトーシスの阻止因子として働く¹⁹⁾。

我々は HSP70 がフォトフリン・PDT のアポトーシス誘導を阻止する結果を得た²⁰⁾。

PDT の血管障害

光化学作用により標的組織では微小血管の収縮や内皮細胞の障害を来し、次いで血栓形成が起きる。そのため組織は低酸素あるいは無酸素症に陥って二次的に障害される^{21,22)}。（図3-D）

腫瘍血管は腫瘍への栄養供給路であり、その形成と維持は腫瘍あるいは宿主細胞が産生する成長因子によっている。PDT 後、血管成長因子である血管内皮成長因子（VEGF）と cyclooxygenase（COX-2）の発現が上昇する現象も見られる^{23,24)}。これらの血管成長因子は PDT により腫瘍血管が障害されて組織は低酸素状態となるために誘導されと考えられることから、抗 VEGF、あるいは、抗 COX-1 の併用による PDT 効果の増強が試みられている^{23,24)}。

図6に PDT 後の腫瘍内 VEGF 発現の推移を調べた我々の結果を示す²⁵⁾。

PDT により標的のマウス腫瘍組織では腫瘍細胞に

図5 PDT とシスプラチン（CDDP）の併用効果。

A. 殺細胞効果（Trypan Blue 染色法）

B. アポトーシス発現（Hoechst 染色法）

光感受性物質: Photofrin

図6 PDT後の腫瘍内 VEGF 標識率.
(免疫組織化学染色)
光感受性物質: Hp oligomers

VEGF 発現が見られ、その発現率は増加したが、24 時間後には PDT 前のレベルへ戻った。また、24 時間後、腫瘍内の血管内皮細胞の PCNA 発現率は対照より低値を示し、48 時間後に対照と同値となった。

この結果より、PDT による血管障害は 24 時間後に最大となった後回復し、組織は再酸素化されることが示唆された。このことから、2 回目の光照射は 24 時間後に行うことを提言したい。

PDT による炎症性細胞浸潤と腫瘍免疫反応

PDT 処置後、数分の内に、その局所には好中球を主体とする炎症性細胞浸潤が発現する²⁶⁻²⁸⁾ (図 3-C)。

この炎症反応は PDT 作用により障害された細胞から放出される種々のメディエーター (血管作用物質、補体成分と凝固因子、蛋白質分解酵素、ペルオキシダーゼ、ラジカル、白血球遊走因子、サイトカイン、成長因子、その他) によって起こる現象で、これら浸潤細胞は癌細胞を障害する²⁶⁻²⁹⁾。続いてリンパ球、単球、マクロファージ、肥満細胞などが浸潤してくる。PDT により死滅した多くの癌細胞はマクロファージや抗原提示細胞に貪食され、Tリンパ球による癌抗原の認識を経て (Tリンパ球が癌抗原に感作され) 腫瘍免疫が成立に至ると考えられる (腫瘍感作免疫反応)²⁸⁾。感作されたリンパ球の作用は単に PDT を行った局所に止まらず、進展あるいは転移した病巣にも及ぶことになる。さらに、感作リンパ球はメモリー細胞として作用し、引き続き、遠隔の脾臓やリンパ節から感作リンパ球が供給され免疫は長く持続する^{28, 29)}。

このような PDT により誘導される腫瘍特異免疫作用は、その初期効果は無いが長期間の腫瘍制御を得るため

に重要である。また、PDT に当初抵抗した癌細胞への二次的殺細胞効果も考えられる。この事は PDT のワクチン処置への応用の可能性を示している^{30, 31)}。

この様に、PDT 局所に浸潤してくる炎症性細胞は PDT の抗腫瘍効果に大きな役割を果たす。

我々は OK-432 の腫瘍内局所投与と PDT の併用による抗腫瘍効果の増強を認めた。これは OK-432 を投与することで PDT 単独の場合より、更に多くの好中球、マクロファージなどが腫瘍内へ誘導されて免疫活性化が起きるためと考えられる³²⁾。

PDT との併用療法

PDT と他療法との併用により抗腫瘍効果の増強を期待できる。

PDT では組織内酸素が消費されて低酸素状態となるが、低酸素状態の癌細胞は熱感受性が強いのでハイパーサーミアとの併用は有効と考える³³⁾。

我々は PDT とハイパーサーミアの併用による抗腫瘍効果の増強を認めた³⁴⁾。さらに、PDT、ハイパーサーミア及び OK-432 の 3 者併用について検討した。OK-432 腫瘍内局所投与後の PDT とハイパーサーミアの併用で高い抗腫瘍効果が示された。この理由としては、PDT によるマクロファージの殺細胞活性の増加に加え、OK-432 局所投与により誘導されたマクロファージの TNF 活性がハイパーサーミアにより更に増強されて抗腫瘍効果の上昇をもたらすと考えられる³⁵⁾。

PDT の副作用

正常細胞は腫瘍細胞に比し活性酸素に対する抵抗性は強い。しかしながら、フォトリニを含めヘマトポルフィリン誘導体の体内分布では、正常組織と腫瘍との間の濃度差が大きくないので、光 (太陽、照明光など) を浴びると光化学反応により皮膚障害 (紅斑、浮腫、発疹など) が生じる。このため、光感受性物質の投与後、患者は低照明光下の病室で過ごす (約一月間) ことになる。

以上の他に発熱、呼吸不全、便秘などがあるが、ほとんどの場合、症状は軽度である。このような光過敏症は長く (2 ヶ月、また、それ以上) 持続する場合があるが、多くは特別な治療は不必要である⁹⁾。

PDT の臨床導入

PDT の適応症の認可は国により異なっている^{1, 2)}。

日本では現在、フォトリニとエキシマ・ダイ・レーザーによる PDT が厚生労働省認可を受けており、肺癌、

図7 硬口蓋扁平上皮癌に対するフォトリニ・PDT.

A. PDT 施行前. B. PDT1 ヶ月後. 病変の消失を認める.

食道癌, 子宮頸癌のいずれも初期病変, 及び子宮頸部異形成が対象となる(光線力学的療法「フォトリニ」添付能書).

我々は口腔癌に対するフォトリニ・PDT (エキシマ・ダイ・レーザーを使用する) の臨床治験を本学倫理委員会より承認され, 2004 年より口腔粘膜初期癌の PDT を開始した.

PDT を行った口蓋部扁平上皮癌の 1 例を示す (図 7).

おわりに

癌の PDT は化学療法や放射線療法などと比して侵襲性の少ない治療法である. 光化学反応では熱発生が無く, PDT は同じ部位に対し, 繰り返し施行することが可能である. しかしながら, 光感受性物質の腫瘍親和性や皮膚過敏症の問題, レーザー装置, 深部腫瘍に対する効果など, 解決すべき課題は多い. また, PDT 作用に対する細胞反応についての解明を更に進め, より安全, 効果的な PDT の確立とその治療領域の拡大が望まれる.

謝 辞

これまで, 長年にわたり PDT の研究に携わった当教室の人達に感謝いたします.

引用文献

- 1) Dougherty, T. J., Gomer, C. J., Henderson, B. W., Jori, G., Kessel, D., Korblik, M., Moan, J. and Peng, Q.: Photodynamic therapy. *J. Natl. Cancer Inst.* 90: 889-905, 1998.
- 2) Dougherty, T. J.: An update on photodynamic therapy applications. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 20: 3-7, 2002.
- 3) Ackroyd, R., Kelty, C., Brown, N. and Reed, M.: The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.* 74: 656-669, 2001.
- 4) Dolmans, D. E. J. G. J., Fukumura, D. and Jain, R. K.: Photodynamic therapy for cancer. *Nature Reviews* 3: 380-387, 2003.
- 5) Hamblin, M. R., Hasan, T.: Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious diseases? *Photochem. Photobiol. Sci.* 3: 436-450, 2004.
- 6) Soukos, N. S., Mulholland, S. E., Socransk, S. S. and Doukas, A. G.: Photodestruction of human dental plaque bacteria: enhancement of the photodynamic effect by photochemical waves in an oral biofilm model. *Laser Sur. Med.* 33: 161-168, 2003.
- 7) Chan, Y. and Lai, C. H.: Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathogenic germs in photodynamic therapy. *Laser Med. Sci.* 81: 51-55, 2003.
- 8) Biel, M. A.: Photodynamic therapy in head and neck cancer. *Current Oncology Reports* 4: 87-96, 2002.
- 9) Moore, J. V., West, C. M. and Whitehurst, C.: The biology of photodynamic therapy. *Phys. Med. Biol.* 42: 913-935, 1997.
- 10) Uehara, M. and Inokuchi, T.: Cell kinetics of mouse tumour subjected to photodynamic therapy: evaluation by proliferating cell nuclear antigen immunohistochemistry. *Oral Oncology* 35: 93-97, 1999.
- 11) Uehara, M., Sekine, J., Wang, Z. and Inokuchi, T.: Morphometric analysis of mouse tumor nuclei subjected to photodynamic therapy. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 63: 244-246, 2005.
- 12) Dolmans, D. E., J. G. J., Kadambi, A., Hill, J. S., Flores, K. R., Gerber, J. N., Walker, J. P., Rinkes, I. H. M. B., Jain, R. K. and Fukumura, D.: Targeting tu-

- mor vasculature and cancer cells in orthotopic breast tumor by fractionated photosensitizer dosing photodynamic therapy. *Cancer Res.* 62: 4289-4294, 2002.
- 13) Pe, M. B., Ikeda, H. and Inokuchi, T.: Tumour destruction and proliferation kinetics following periodic, low power light, haematoporphyrin oligomers mediated photodynamic therapy in the mouse tongue. *Oral Oncol. Eur. J. Cancer* 30B: 174-178, 1994.
 - 14) Luo, Y., Chang, C. K. and Kessel, D.: Rapid initiation of apoptosis by photodynamic therapy. *Photochem. Photobiol.* 63: 528-534, 1996.
 - 15) Almeida, R. D., Manadas, B. J., Carvalho, A. P. and Duarte, C. B.: Intracellular signaling mechanisms in photodynamic therapy. *Biochem. Biophys. Acta.* 1704: 59-86, 2004.
 - 16) Ali, S., M., Chee, S. K., Yuen, G., Y. and Olivo, M.: Photodynamic therapy induced Fas-mediated apoptosis in human carcinoma cells. *Int. J. Molecular Med.* 9: 257-270, 2002.
 - 17) Yokota, T., Ikeda, H., Inokuchi, T., Sano, K. and Koji, T.: Enhanced cell death in NR-S1 tumor by photodynamic therapy: possible involvement of Fas and Fas ligand system. *Lasers Surg. Med.* 26: 449-460, 2000.
 - 18) Nonaka, M., Ikeda, H. and Inokuchi, T.: Effect of combined photodynamic and chemotherapeutic treatment on lymphoma cells *in vitro*. *Cancer Letters* 184: 171-178, 2002.
 - 19) Gomer, C. J., Ryter, S. W., Ferrario, A., Rucker, N., Wong, S. and Fisher, A. M.: Photodynamic therapy-mediated oxidative stress can induce expression of heat shock proteins. *Cancer Res.* 56: 2355-2360, 1996.
 - 20) Nonaka, M., Ikeda, H. and Inokuchi, T.: Inhibitory effect of heat shock protein 70 on apoptosis induced by photodynamic therapy *in vitro*. *Photochem. Photobiol.* 79: 84-98, 2004.
 - 21) Karammer, B.: Vascular effects of photodynamic therapy. *Anticancer Research* 21: 4271-4278, 2001.
 - 22) Pe, M. B., Sano, K., and Inokuchi, T.: Effects of photodynamic therapy in the normal mouse tongue. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 51: 1129-1134, 1993.
 - 23) Ferrario, A., von Tiehl, K. F., Rucker, N., Schwarz, M. A., Gill, P. S. and Gomer, C. J.: Antiangiogenic treatment enhances photodynamic therapy responsiveness in a mouse mammary carcinoma. *Cancer Res.* 60: 4066-4069, 2000.
 - 24) Ferrario, A., von Tiehl, K. F., Wong, S., Luna, M. and Gomer, C. J.: Cyclooxygenase-2 inhibitor treatment enhances photodynamic therapy-mediated tumor response. *Cancer Res.* 62: 3956-3961, 2002.
 - 25) Uehara, M., Inokuchi, T., Sano, K. and Wang, Z.: Expression of vascular endothelial growth factor in mouse tumours subjected to photodynamic therapy. *Euro. J. Cancer* 37: 2111-2115, 2001.
 - 26) de Vree, W. J., Essers, M. C., de Bruijn, H. S., Star, W. M., Koster, J. F. and Sluiter, W.: Evidence for an important role of neutrophils in the efficacy of photodynamic therapy *in vivo*. *Cancer Res.* 56: 2908-2911, 1996.
 - 27) de Vree, W. J., Essers, M. C., Koster, J. F. and Sluiter, W.: Role of interleukin 1 and granulocyte colony-stimulating factor in photofrin-based photodynamic therapy of rat rhabdomyosarcoma tumors. *Cancer Res.* 57: 2555-2558, 1997.
 - 28) Korbely, M.: Induction of tumor immunity by photodynamic therapy. *J. Clin. Laser Med. Surg.* 14: 329-334, 1996.
 - 29) Gollnick, S. O., Lui, X., Owczarzak, B., Musser, D. A. and Henderson, B. W.: Altered expression of interleukin 6 and interleukin 10 as a result of photodynamic therapy *in vivo*. *Cancer Res.* 57: 3904-3909, 1997.
 - 30) Gollnick, S. O., Vaughan, L. and Henderson, B. W.: Generation of effective antitumor vaccines using photodynamic therapy. *Cancer Res.* 62: 1604-1608, 2002.
 - 31) Korbely, M. and Sun, J.: Cancer treatment by photodynamic therapy combined with adoptive immunotherapy using genetically altered natural killer cell line. *Int. J. Cancer* 93: 269-274, 2001.
 - 32) Uehara, M., Sano, K., Wang, Z., Sekine, J., Ikeda, H. and Inokuchi, T.: Enhancement of the photodynamic antitumor effect by streptococcal preparation OK-432 in the mouse carcinoma. *Cancer Immunother.* 49: 401-409, 2000.
 - 33) Glassberg, E., Lewandowski, L., Halcin, C., Lask, G. and Uitto, J.: Hyperthermia potentiates the effects of aluminum phthalocyanine tetrasulfonate-mediated photodynamic toxicity in human malignant and normal cell lines. *Laser Surg. Med.* 11: 432-439, 1991.
 - 34) Uehara, M., Inokuchi, T. and Sano, K.: Experimental study of combined hyperthermic and photodynamic therapy on carcinoma in the mouse. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 54: 729-736, 1996.
 - 35) Uehara, M. and Inokuchi, T.: Hyperthermic photodynamic therapy combined with topical administration of OK-432 in the mouse carcinoma. *Oral Oncology* 39: 184-189, 2003.