

特集 埼玉医大で行われている先端医療

5-アミノレブリン酸を用いた光力学的診断： 泌尿器科腫瘍への臨床的取り組み

小山 政史

(国際医療センター 泌尿器腫瘍科)

はじめに

光力学的診断 (Photodynamic Diagnosis: PDD) および光力学的治療 (Photodynamic Therapy: PDT) の研究は以前より行われてきたが、近年さまざまな癌腫に対する臨床応用への試みが盛んに行われるようになってきた¹⁾。PDTの起源に関しては1900年にHermann von Tappeiner教授 (Pharmacological Institute of the Ludwig-Maximilians University, ミュンヘン) を師事していた医学生Oscar Raabが、ゾウリムシに対する染料 (アクリジン) の殺傷効果に光が関与していることを発見したことに始まる²⁾。Tappeiner教授はこの効果を後に“Photodynamic action (Photodynamische Wirkung)” と称したことから、Photodynamicという語句が使われるようになった。

PDDが泌尿器科領域で最初に行われたのは膀胱癌である。膀胱は経尿道的操作により容易にアクセスが可能であり、かつ遮光された管腔臓器という解剖学的特徴から泌尿器科癌の中で最も積極的にPDD, PDTが試みられてきた。テトラサイクリンと紫外線光によるPDDが1957年、Rallら³⁾により報告された後、1964年Whitmoreら⁴⁾が膀胱癌患者21例に対してテトラサイクリンを経口投与させて紫外線光によるPDDを行ったのが泌尿器科領域におけるPDDの始まりとされている¹⁾。

光感受性物質の世代変遷

さまざまな光感受性物質が知られているが、腫瘍細胞への集積性が期待できる主な化合物はポルフィリン誘導体である。ポルフィリン類は19世紀半ばには同定されていたが、医学分野で利用されるようになったのは20世紀に入ってからのことである。1924年にはポルフィリンと腫瘍との親和性が⁵⁾、1950年代にはポルフィリン化合物の蛍光発色の特性を利用したPDD⁶⁾が各々報告されている。1960年にはLipsonらにより腫瘍親和性の高いヘマトポルフィリン誘導体が開発された⁷⁾。

第1世代光感受性物質 (図1) として知られるヘマト

ポルフィリン系混合物であるフォトフリンは405 nm付近の青色光で励起すると630 nm付近の赤色発光を呈する。1978年に最初のフォトフリンを用いた悪性腫瘍に対するPDTが報告された⁸⁾。我が国では1994年に厚生省 (現厚生労働省) の認可を受け1996年からは早期肺癌・食道癌・胃癌・子宮癌などが保険適応になっている。泌尿器科領域では前立腺癌⁹⁾や膀胱癌¹⁰⁾などの報告がみられる。しかしながら体内からのフォトフリンの排出が遅く、皮膚における光障害が遷延してしまうため、治療後数週間以上にわたって遮光を余儀なくされてしまう欠点がある。Hisazumiら¹¹⁾は膀胱癌に対するフォトフリンPDTを精力的に行ってきたが膀胱刺激症状、萎縮膀胱などの有害事象もあり、普及には至らなかった¹⁾。

第2世代光感受性物質 (図1) としてはポルフィリン系誘導体であるレザフィリン¹²⁾、ATX-S10(Na)¹³⁾などが知られている。第2世代は第1世代と比べて吸収帯波長が長波長側 (650-670 nm付近) に存在し、励起効率、正常組織からの排泄効率も高くなっている。そのため生体由来の組織への影響が少なくなり、光感受性物質の有害事象である光線過敏症の問題をやや軽減することができる。レザフィリンに関しては早期肺癌に対して国内臨床Ⅱ相試験が施行され、奏功率は94.3%でCR率は84.6%と報告されている¹²⁾。第2世代は第1世代に比べ光感受性物質として改善はしているものの、治療後の遮光は依然として数週間が必要であり、第1世代、第2世代とも化学合成された非天然物であることを考慮すると安全かつ快適な使用状況にあるとはいえない¹⁾。

第3世代であるポルフィリン前駆物質の5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid: ALA) (図1) は生体内に存在する物質である。ALA自体に蛍光発色能はなく、ALA代謝産物であるプロトポルフィリンIX (PPIX) が蛍光発色能をもちPDD, PDTに活かされる。ALAは24時間以内に代謝され腎排泄されるので第1, 2世代で問題となっていた光線過敏症はほとんど呈することがなく、従って治療後の遮光の必要性がないとされている¹⁾。また天然物質であるため毒性が低く、

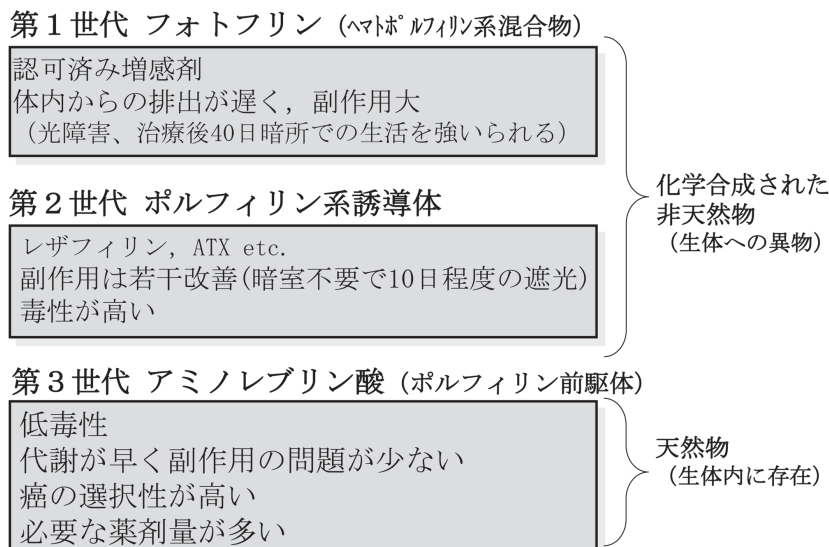


図1. 光感受性物質の世代間比較.

経口投与が可能であるという利点がある. 1990年にKennedyらが皮膚癌に対してALA局所投与を行い, ALA代謝産物で蛍光能を有するPPIXが腫瘍特異的に蓄積され, 励起光により腫瘍が障害されることを報告した¹⁴⁾. 泌尿器科領域におけるALA臨床応用は1992年にKriegmairらが膀胱内注入による報告を行ったのが最初とされている¹⁵⁾. ALA経口投与による最初のPDTは1993年にBownらが口腔癌に対して行い, 腫瘍壊死をきたしたことを報告している¹⁶⁾. 尚, ALAは1999年12月に日光角化症のPDTとして米国食品医薬品局(FDA)で認可を受けている.

ALAの生体内における合成代謝経路(図2 a)

ALAはもともと生体内に含まれるアミノ酸の一種であり, ヘム, ビタミンB12, クロロフィルなどのポルフィリン類の原料となる物質である. ワイン, 日本酒, 酢といった発酵食品や加工飲料, 生食品にも含まれている. 生体内ではミトコンドリアにおいてグリシンとスクシニル-CoAの縮合を触媒するALA合成酵素によってALAが生成される. ALAは細胞質でさまざまな代謝経路を経た後, ミトコンドリア内でPPIXとなる. その後, 2価鉄イオンがフェロキターゼの働きによってPPIXとキレートを形成しヘムとなる¹⁷⁾. フェロキターゼの発現は細胞質内の鉄の量によって調節されており, 生理的にはヘムの存在がネガティブフィードバックを惹起してヘムの合成を阻害する¹⁸⁾.

外因性ALA投与による腫瘍特異的PPIX蓄積(図2 b)

外因性にALAが投与されると能動輸送により細胞内へ取り込まれるが, ALA輸送担体は細胞の種類によ

り異なることが報告されている^{19, 20, 21)}. 外因性ALAも内因性ALAと同様にヘム合成系に入り, ポルフィリン合成が行われるとされている. PPIXは正常組織に比べ腫瘍組織に高濃度に集積する. 腫瘍特異的にPPIXが取り込まれるメカニズムは未だ全解明には至っていない. これまでの諸説としては, ポルホビリノーゲン脱アミノ酵素活性の亢進, フェロキターゼの活性低下などが挙げられている²²⁾. またポルフィリン化合物はリポ蛋白(特にLDL蛋白)との親和性が高いため, LDLレセプター活性が上昇している腫瘍内への取り込みが容易となる環境も関与している可能性がある^{23, 24, 25)}. 癌細胞ではミトコンドリアにおける酸化的リン酸化によるエネルギー産生が低下し, 細胞質における嫌気性解糖が顕著に増加している(ワールブルグ効果)ことから²⁶⁾, ミトコンドリアの好気呼吸が弱いため, ミトコンドリア内のNADH生産が低下するとされる. それゆえミトコンドリア内においては3価鉄から2価鉄への還元が弱くヘム合成が不十分となるため, 癌細胞におけるPPIX集積が選択的に増加するのではないかと考えられている(私信, SBI Pharma).

泌尿器科癌へのALA併用光力学的診断(ALA-PDD)

1) 腎癌

In vivoの実験としては1999年にヌードマウスの皮下および腎被膜下にヒト腎癌細胞株を移植した担癌マウスモデルを作製し, ALAを静脈内投与ないし経口投与したところ, 腫瘍特異的にPPIXが集積したことが確認された²⁷⁾. 続いてヒトに対して4 cm以下の腎癌症例に術前20 mg/kgのALAを経口投与し, 腎部分切除術を行い摘出した検体にPDDを行ったところ,

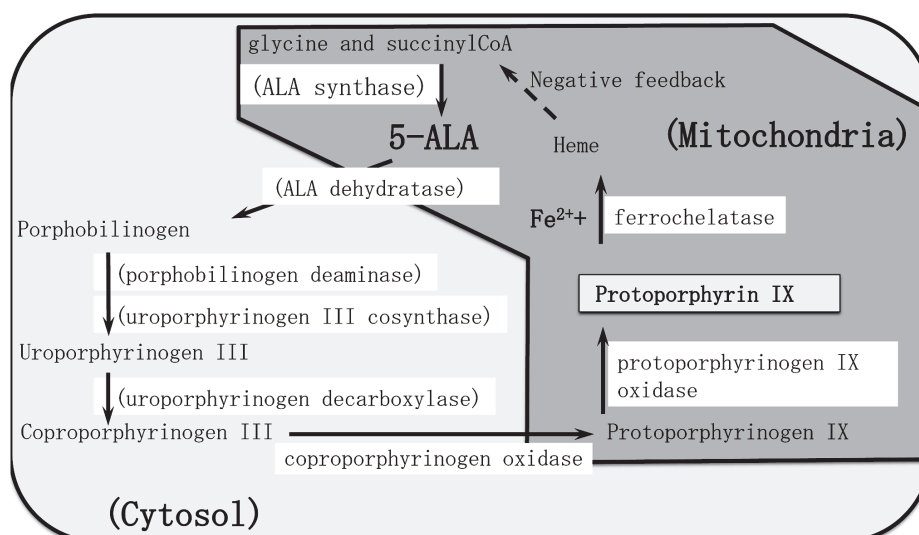
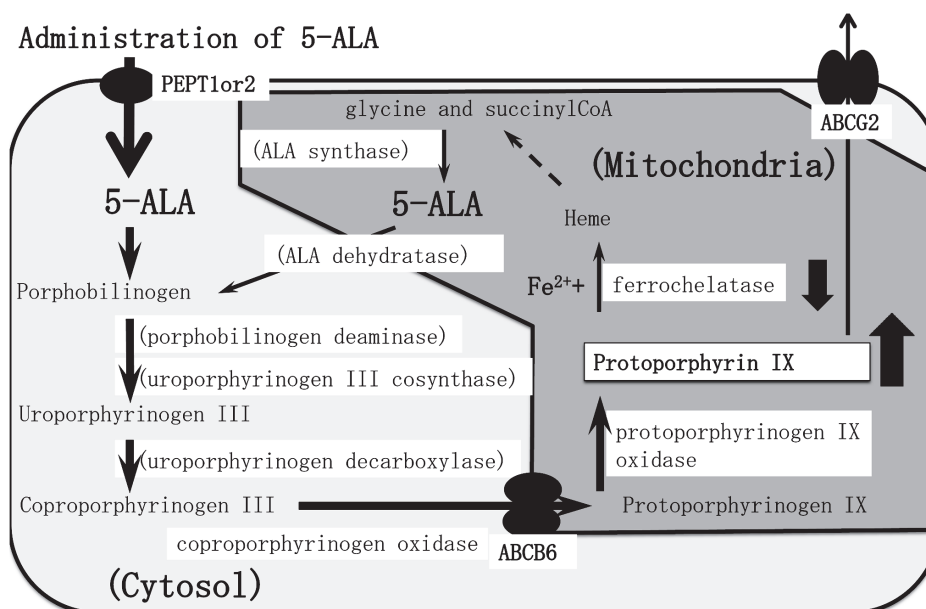


図 2a. ALAの合成代謝経路.



脚注) PEPT:peptide transporter

ABCB6:ATP-binding cassette, sub-family B, member 6

ABCG2:ATP-binding cassette, sub-family G, member 2

図 2b. 癌細胞におけるALA外生投与時のALA代謝経路.

腎癌に一致して蛍光発色を認めsurgical margin (SM)の同定に寄与したと報告された²⁷⁾. 近年, 低侵襲手術の普及に伴い, 腎癌も4 cm以下の症例においては腎部分切除が通常行われるようになってきた. 2009年にHodaら²⁸⁾によりALA-PDD併用による腹腔鏡下腎部分切除術の報告がされた. 術前に1.5 gのALAを経口投与し, 検体摘出後, 腎および腫瘍のSMをPDDにより確認している. 68例の腎癌患者のうち, 58例(95.1%)においてPDDによる蛍光発色が確認された. 腎癌に

対するPDDの感度は95%, 特異度は94%と良好な成績を得た. さらに68例の腎癌患者のうち2例において腎側および腫瘍側SMがともにPDD下蛍光発色したため追加切除を行ったところ追加切除検体において癌の存在が確認された. 以上より, 手術の低侵襲化が進むなかでSMの確認は重要性を増し, いかに簡便かつreal timeにSM同定ができるかが要求される. Hodaらの報告²⁸⁾のように腹腔鏡下手術であれば開放手術時の術野環境と比べて腹腔内操作であるがゆえに容易

に周囲を遮光することができる環境であり、従って青色光照射による赤色蛍光発色の同定精度も上がる。今後、腎部分切除時のリアルタイムな断端陽性率の検出にALA-PDDが大いに貢献するものと期待している。

2) 前立腺癌

2006年 Sultanらはヒト前立腺癌に対してALAが選択的に取り込まれることを報告した²⁹⁾。18例の限局性前立腺癌患者に術前ALA20 mg/kgを経口投与し、前立腺全摘術を行い摘出した前立腺に対して青色光照射を行ったところ、すべての前立腺癌において蛍光発色を認めた。前立腺癌に対するALA-PDD応用の可能性は術中のSMの同定にあると思われる。前立腺癌検診の普及とともに早期癌患者が増加し、それゆえ根治的治療を要する症例は今後も増加してゆくことが予想される。根治的治療の代表として前立腺全摘術があげられるが、術後のPSA再燃予後因子のひとつにSMがある³⁰⁾。現在、術中real timeにSM陽性の有無を診断する方法はない。ALA-PDDを併用することで術中にSMを確認しながら手術をすることが可能になるとすれば術後PSA再燃のリスクを改善できるものと期待できる。Zaakら³¹⁾は限局性前立腺癌患者に術前20 mg/kgのALAを経口投与させ、恥骨後式前立腺全摘術を行った。術中、術野内に直接青色光照射を行い、前立腺摘出後のSMおよび摘出した前立腺被膜にPDDを行った。ALA-PDDを行った10例のうち8例は組織学的に癌が前立腺内に限局しており、PDDにおいても前立腺被膜およびSMは蛍光発色することはなかった。組織学的にSM陽性が確認された2例に関しては、1例は前立腺被膜のみに蛍光発色を呈したが、もう1例は前立腺被膜およびSMともに蛍光発色しなかった。Zaakらの報告では開放創に対する青色光照射であるため、たとえ周囲を暗くしたとしても遮光に限界があり、術中出血も蛍光発色を同定する上で不利となる。いずれにせよSM陽性は2例しかおらず、ALA-PDDによるSM同定の有用性をこの報告だけで論じることはいえない。2009年にドイツにおいて多施設共同による限局性前立腺癌患者手術時のALA-PDD併用下におけるSM陽性検出に関する臨床II相試験の報告がされた³²⁾。24例に後腹膜腔鏡下前立腺全摘術(LAP)が施行され、15例には従来の恥骨後式前立腺全摘術(open)が行われた。術前に20 mg/kg(上限1.5 g/人)のALAが経口投与され、前立腺被膜ならびにSMの術中精査が行われた。SMで蛍光発色した部位は生検を行った。全39症例中28例が蛍光発色しなかったが病理組織学的にSM陰性であったのは22例であり6例が偽陰性であった。また蛍光発色した11例のうち9例が病理組織学的にSM陽性であり2例が偽陽性であった。尚、偽陰性はopenに多く、偽陽性はLAPに多い傾向にあった。PDDの精度として感度、特異

度はLAPで75%, 88%, openで38%, 100%であったが、両術式のPDD精度を比較するためには更なる追加検討が必要である。しかしながら、ALA-PDDが術中real time SM診断の有用なオプションに将来なり得る可能性が示唆された。

3) 膀胱癌

表在性膀胱癌は全膀胱癌の75-85%を占める³³⁾。初期治療として主に経尿道的膀胱腫瘍切除術(TUR-BT)が行われるが、膀胱癌の再発率はTa, T1症例で1年以内の再発率が15%, 61%, 5年以内の再発率が31%, 78%と非常に高率であることが知られている³⁴⁾。再発をきたす要因として膀胱癌の多中心性発生形式や経尿道的に切除した腫瘍細胞が完全に膀胱内から排除されず再び膀胱粘膜に播種着床してしまうことなどがあげられるが、手術時に通常の白色光では視認することが困難な癌、特に上皮内癌(CIS)や平坦な癌を見落とししてしまうことも再発に関与する大きな原因である³⁴⁾。また表在性膀胱癌T1症例の初回TUR-BT後1年以内に病期が進行するリスクが17%あるともいわれており³⁵⁾、いかに手術時に見逃してしまいがちな病変を検出するかが重要なポイントとなる。

ALA-PDDによる膀胱癌検出率に関してはJochamのreview³⁶⁾によると感度は87-97%, 特異度は35-66.6%であり、白色光下の検出率(感度: 67.5-84%, 特異度: 66.4-78%)と比べて感度は勝るものの特異度は白色光には及ばない。しかしながら、現在膀胱癌治療に求められているものは如何に正常組織を正常と判断するかではなく、“如何に膀胱癌を見逃すことなく視認して確実に切除することができるか”である。通常のTUR-BTでは初回切除後8-42日目に2nd TUR-BTを行ったところ腫瘍の残存を43-76%認めたとの報告があり³⁷⁻³⁹⁾、ALA-PDDによる正確な腫瘍検出率の向上に期待がもたれている所以である。

ALA-PDDによる腫瘍検出率の臨床試験が膀胱癌875症例に対して行われた⁴⁰⁾。まず通常の白色光源下にて病変部位を確認し、続いて青色光に変えた後に新たに蛍光発色により視認し得た病変部位を追加確認して膀胱粘膜生検を行った。尚、コントロールとして蛍光発色していない部位の生検も行っている。報告によると癌と診断された総生検数のうち23.7%が白色光では視認できず青色光にて検出し得たものであった。またCISと診断された検体のうち43.4%が通常の白色光では視認できず青色光により検出されている。以上、表在性膀胱癌、特にCISのような平坦病変の検出率がALA-PDDにより向上している。European Association of UrologyガイドラインでもCISが疑われる場合にはPDD下にての生検が推奨されている(推奨度C)³³⁾。さらに最近になりALA-PDD併用TUR-BTと通常のTUR-BTによる再発率に関する長期成績が報告

された。TUR-BT後1年、5年の再発率は通常TUR-BTでは61%、75%であったのに対しALA-PDD併用TUR-BTでは43%、59%であり、ALA-PDDにおいて有意に再発率の改善がみられた⁴¹⁾。また8年にも及ぶALA-PDDの前向き無作為化臨床試験では、まず初回TUR-BT後6週目に施行した2ndTUR-BT時の再発率は通常TUR-BTが25.2%であったのに対し、ALA-PDD併用TUR-BTでは4.5%と有意な差を認め、TUR-BT後8年非再発率に関しては通常TUR-BTが45%であったのに対し、ALA-PDD併用TUR-BTでは71%と非再発率に有意な差が示された⁴²⁾。

ALA-PDDにより表在性膀胱癌、特にCISなどの平坦病変を中心に、術中に視認しにくい病変をreal timeに同定することが容易となり、多くの臨床報告がそれを裏付けている。しかしながら、ALA-PDD時に青色光の接線方向照射に応じて主に膀胱頸部や三角部周辺が蛍光発色してしまう問題や癌以外にも炎症部位が蛍光発色してしまうなどの偽陽性に対する課題が残っている。さらにもう一つの課題として、青色光照射によりPPIXが励起され赤色発光するわけだが、照射後すみやかに蛍光強度が減衰してゆき赤色発光が退色してしまうPhotobleaching現象がある。そのため可及的迅速に対応しなければ蛍光励起された部位が分からなくなってしまいうという難点がある。

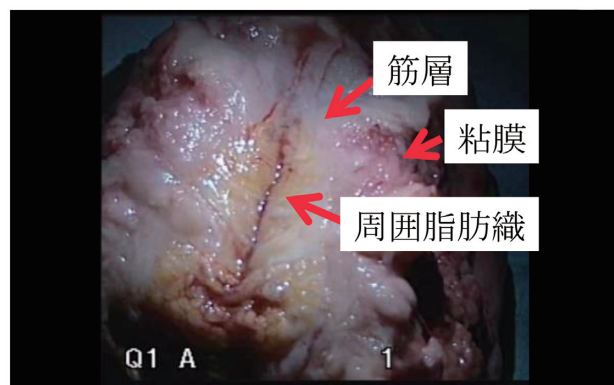
ALA経口投与による浸潤性膀胱癌の検討はまだ積極的には行われていない。当院において浸潤性膀胱癌患者に術前1gのALAを経口投与し、膀胱全摘術にて摘出された膀胱にALA-PDDを施行した。ALA膀胱内注入では腫瘍の膀胱粘膜面側に蛍光発色を認めるにとどまるが、ALA経口投与では腫瘍深部の筋層内浸潤の部位にまで蛍光発色が認められた(図3)。ALA投与経路が経口となることで、筋層深部にまで浸潤している腫瘍の同定が可能となることが確認された。

ALA経口投与による有害事象

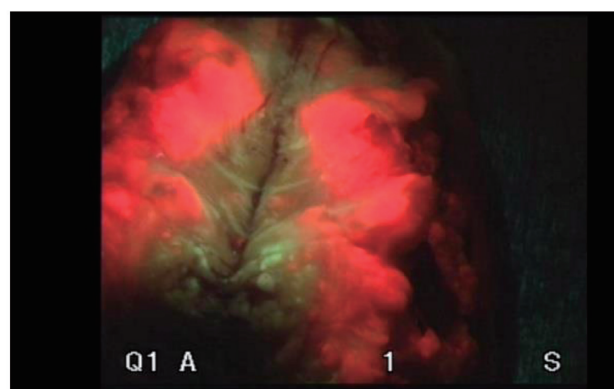
30-60 mg/kgのALA全身投与による有害事象として約20%に嘔気、嘔吐などがあり、ALA投与後約2-3時間で生じたとの報告がある。また軽度肝機能障害を呈することもあるがALAが直接原因となっているかは示されていない。治療後の遮光をすすめている報告もあるが、これまでの概ねの報告では光線過敏症を呈することなく治療後の遮光も必要ないとされている^{43, 44)}。また20 mg/kgのALA全身投与ではほとんど有害事象は報告されていない^{27, 29, 31, 32)}。尚、ポルフィリン症などポルフィリン代謝障害には禁忌である。

まとめ

ALAは天然に存在する物質であり、国内外の多科にわたる数多くの臨床試験により安全に経口投与できるものと考えている。国内におけるALAを用いた



(a)



(b)

図3. 膀胱摘出標本剖面。(a) 通常光：剖面中心部には膀胱筋層、周囲脂肪組織が確認できる。(b) 青色光：膀胱癌が青色光照射により赤色発光する。膀胱癌が筋層から周囲脂肪組織へと浸潤していることが蛍光発色により確認できる。

PDDの臨床研究は主に脳神経外科を中心に皮膚科、口腔外科、消化器科、甲状腺外科、婦人科など多科にわたって行われているが、泌尿器科領域においても膀胱癌を中心とした泌尿器科癌に対するPDD、PDTの試みが進行中である⁴⁵⁾。

文 献

- 1) 小山政史, 朝倉博孝, 上野宗久. 5-アミノレブリン酸を用いた光線力学的診断・治療. 臨床泌尿器科 2010;64(13):967-77.
- 2) Raab O. Über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien. Z Biol 1900;39:524-6.
- 3) Rall DP, Loo TL, Lane M, et al. Appearance and persistence of fluorescent material in tumor tissue after tetracycline administration. J Nat Cancer Inst 1957;19:79-85.
- 4) Whitmore WF Jr, Bush IM, Esquivel E. Tetracycline ultraviolet fluorescence in bladder carcinoma.

- Cancer 1964;17:1528-32.
- 5) Policard A. Etude sur les aspects offerts par des tumeurs expérimentales examinées à la lumière de Wood. C R Soc Biol 1924;91:1423-28.
 - 6) Rassmussen-Taxdal DS, Ward GE, Figge FH. Fluorescence of human lymphatic and cancer tissues following high doses of intravenous hematoporphyrin. Cancer 1955;8:78-81.
 - 7) Lipson RL, Baldes EJ. The photodynamic properties of a particular haematoporphyrin derivative. Arch Dermatol 1960;82:508-16.
 - 8) Dougherty TJ, Kaufman JE, Goldfarb A, et al. Photoradiation therapy for the treatment of malignant tumors. Cancer Res 1978;38:2628-35.
 - 9) Windahl T, Andersson SO, Lofgren L. Photodynamic therapy of localised prostatic cancer. Lancet 1990;336(8723):1139.
 - 10) Uchibayashi T, Koshida K, Kunimi K, et al. Whole bladder wall photodynamic therapy for refractory carcinoma in situ of the bladder. Br J Cancer 1995;71:625-8.
 - 11) Hisazumi H, Misaki T, Miyoshi N. Photoradiation therapy of bladder tumors. J Urol 1983;130:685-7.
 - 12) Kato H, Furukawa K, Sato M, et al. Phase II clinical study of photodynamic therapy using mono-L-aspartyl chlorin e6 and diode laser for early superficial squamous cell carcinoma of the lung. Lung Cancer 2003;42:103-11.
 - 13) Yokota N, Yamamoto S, Terakawa S, et al. Selective accumulation and strong photodynamic effects of a new photosensitizer, ATX-S10. Na (II), in experimental malignant glioma. Int J Oncol 2005;27:1207-13.
 - 14) Kennedy JC, Pottier RH, Pross DC. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience. J Photochem Photobiol B 1990;6:143-8.
 - 15) Kriegmair M, Baumgartner R. Hofstetter AG: Intravesikale Instillation von Delta-Aminolävulinsäure (ALA)-eine neue Methode zur photodynamischen Diagnostik und Therapie. Laser Med 1992;8:83.
 - 16) Grant WE, Hopper C, MacRobert AJ, et al. Photodynamic therapy of oral cancer: photosensitisation with systemic aminolaevulinic acid. Lancet 1993;147-8.
 - 17) Peng Q, Warloe T, Berg K, et al. 5-Aminolevulinic acid-based photodynamic therapy: Clinical research and future challenges. Cancer 1997;15:2282-308.
 - 18) Taketani S, Adachi Y, Nakahashi Y. Regulation of the expression of human ferrochelatase by intracellular iron levels. Eur J Biochem 2000;267:4685-92.
 - 19) Doring F, Walter J, Will J, et al. Delta-aminolevulinic acid transport by intestinal and renal peptide transporters and its physiological and clinical implications. J Clin Invest 1998;101:2761-7.
 - 20) Xiang J, Hu Y, Smith DE, et al. PEPT2-mediated transport of 5-aminolevulinic acid and carnosine in astrocytes. Brain Res 2006;1122:18-23.
 - 21) Rud E, Gederaas O, et al. 5-aminolevulinic acid, but not 5-aminolevulinic acid esters, is transported into adenocarcinoma cells by system BETA transporters. Photochem Photobiol 2000;71(5):640-7.
 - 22) Schoenfeld N, Epstein O, Lahav M, et al. The heme biosynthetic pathway in lymphocytes of patients with malignant lymphoproliferative disorders. Cancer Lett 1988;43:43-8.
 - 23) Krieg RC, Fickweiler S, Wolfbeis OS, et al. Cell-type specific protoporphyrin IX metabolism in human bladder cancer in vitro. Photochem Photobiol 2000;72:226-33.
 - 24) 大崎能伸, 澁川紀代子. [気管支鏡的画像診断の最前線] Photodynamic Diagnosisの診断への応用. 気管支学 2006;28:482-6.
 - 25) Henderson BW, Bellnier DA. Tissue localization of photosensitizers and the mechanism of photodynamic tissue destruction. Ciba Found Symp 1989;146:112-25.
 - 26) Vander Heiden MG, Cantley LC, Thompson CB. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. Science 2009;22:1029-33.
 - 27) Popken G, Wetterauer U, Schultze-Seemann W. Kidney preserving tumor resection in renal cell carcinoma with photodynamic detection by 5-aminolaevulinic acid: Preclinical and preliminary clinical results. BJU Int 1999;83:578-82.
 - 28) Hoda MR, Popken G. Surgical outcomes of fluorescence-guided laparoscopic partial nephrectomy using 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX. J Surg Res 2009;154:220-5.
 - 29) Sultan SM, El-Doray AA, Hofstetter A, et al. Photodynamic selectivity of 5-aminolevulinic acid to prostate cancer cells. J Egypt Natl Canc Inst 2006;18:382-6.
 - 30) Kupelian P, Katcher J, Levin H, et al. External beam radiotherapy versus radical prostatectomy for clinical stage T1-2 prostate cancer: therapeutic implications of stratification by pretreatment PSA levels and biopsy Gleason scores. Cancer J Sci Am

- 1997;3:78-87.
- 31) Zaak D, Sroka R, Khoder W, et al. Photodynamic diagnosis of prostate cancer using 5-aminolevulinic acid—first clinical experiences. *Urology* 2008;72:345-8.
- 32) Adam C, Salomon G, Walther S, et al. Photodynamic diagnosis using 5-aminolevulinic acid for the detection of positive surgical margins during radical prostatectomy in patients with carcinoma of the prostate: a multicentre, prospective, phase 2 trial of a diagnostic procedure. *Eur Urol* 2009;55:1281-8.
- 33) Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 2008;54:303-14.
- 34) Brausi M, Collette L, Kurth K, et al. EORTC Genito-Urinary Tract Cancer Collaborative Group. Variability in the recurrence rate at first follow-up cystoscopy after TUR in stage Ta T1 transitional cell carcinoma of the bladder: a combined analysis of seven EORTC studies. *Eur Urol* 2002;41:523-31.
- 35) Sylvester RJ, van der Meijden AP, Oosterlinck W, et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol* 2008;49:466-75.
- 36) Jocham D, Stepp H and Waidelich R. Photodynamic diagnosis in urology: state-of-the-art. *Eur Urol* 2008;53:1138-48.
- 37) Klan R, Loy V and Huland H. Residual tumor discovered in routine second transurethral resection in patients with stage T1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 1991;146:316-8.
- 38) Schwaibold HE, Sivalingam S, May F, et al. Hartung R: The value of a second transurethral resection for T1 bladder cancer. *BJU Int* 2006;97:1199-201.
- 39) Brauers A, Buettner R, and Jakse G. Second resection and prognosis of primary high risk superficial bladder cancer: is cystectomy often too early? *J Urol* 2004;165:808-10.
- 40) Hungerhuber E, Stepp H, Kriegmair M, et al. Seven years' experience with 5-aminolevulinic acid in detection of transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 2007;69:260-4.
- 41) Daniltchenko DI, Riedl CR, Sachs MD, et al. 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* 2005;174:2129-33.
- 42) Denzinger S, Burger M, Walter B, et al. 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* 2007;69:675-9.
- 43) Webber J, Kessel D and Fromm D. Side effects and photosensitization of human tissues after aminolevulinic acid. *J Surg Res* 1997;68:31-7.
- 44) Kaneko S. A current overview: Photodynamic diagnosis and photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid in neurosurgery. *JJSLSM* 2008;29:135-46.
- 45) Inoue K, Karashima T, Kamada M, et al. Regulation of 5-Aminolevulinic acid-mediated protoporphyrin IX accumulation in human urothelial carcinomas. *Pathobiology* 2009;76:303-14.