

表 題 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid) と周術期の血行動態に関する研究

論文の区分 論文博士

著 者 名 白鳥 徹

所 属 伊那中央病院

2022年 7月 25日申請の学位論文

紹介教員 地域医療学系
専攻麻酔・救急・集中治療医学麻酔科学 専攻科
職名・氏名 教授 竹内 護

目次

はじめに	3
研究Ⅰ	6
研究Ⅱ	13
考察と結語	19
謝辞	25
表と図	26
参考文献	39

はじめに

5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid: 5-ALA) は光力学的診断支援手術で利用されている [1]。5-ALA はヘム蛋白の天然の前駆体である。吸収後、5-ALA はヘム代謝経路で protoporphyrin IX (PPIX) に代謝され、選択的に腫瘍細胞内で PPIX 濃度が高まる。約 400 nm 波長の青色光により PPIX は赤色に発色し、腫瘍細胞の検出に威力を発揮する。経口 5-ALA の臨床応用は、まず神経膠腫の手術に適応され、引き続き経尿道的膀胱腫瘍切除術

(transurethral resection of bladder tumor : TURBT) に応用された。5-ALA の副作用として、肝逸脱酵素の上昇、嘔吐などの消化器症状、低血圧 (5-ALA 誘発性低血圧) があげられる [2-4]。しかし、5-ALA 誘発性低血圧に関しては、経口 5-ALA の臨床への導入の際にはあまり注目されていなかった [2, 3]。ところが、5-ALA 誘発性低血圧に関する研究が泌尿器科領域で多く発表されるようになってきた。低血圧の正確な頻度は不明であるが、観察された副作用の 60% を占める主要な合併症であるというシステマティックレビューもある [5]。

臨床において重度の 5-ALA 誘発性低血圧症例に遭遇する場合がある。申請者は、60 歳代と 70 歳代の 2 人の患者において、重度の低血圧症例を経験した [6]。これらの症例は高血圧以外のリスクファクターに乏しく、栄養状態の良い、いわゆる元気な患者であった。良好な全身状態と重度低血圧との関連性が不明であった。本研究に先立ち 5-ALA の血行動態に影響を与える要因検索が広く行われてきたが、先行研究において指摘された 5-ALA 誘発性低血圧の関

連因子は、高年齢[7]、心血管疾患[8,9]、高血圧[6,10]、降圧剤[6,9,11,12]、全身麻酔[11,13]、そして腎機能障害[7]であった。これらの要因は5-ALA誘発性低血圧に相乗的に影響を与える可能性があるものの、5-ALA誘発性低血圧のメカニズムを十分に説明できる因子とは考えにくかった。

5-ALA誘発性低血圧は早くから泌尿器科領域で指摘されていたが[8]、脳神経外科手術領域では重度低血圧に関する報告はなく、臨床使用上の実感を踏まえても周術期低血圧の併発は限定的であるように思えた。一方で、5-ALAの重度低血圧に関する報告はTURBTを受けた患者（泌尿器科患者）に多かった[6,10,12]。5-ALAの影響は脳神経外科手術を受けた患者（脳神経外科患者）と泌尿器科患者の間で異なる可能性があったが、そもそも、5-ALAが血行動態にどのような影響を及ぼしているのかよく調査されていなかった。

5-ALAはPPIXを経て、最終的にミトコンドリアのフェロケラターゼ（鉄付加酵素）によって鉄が導入されヘムになる。それゆえ、大量の5-ALAはヘム代謝を活性化する可能性がある。ヘム代謝と血行動態の密接した関連性は、動物を用いた基礎研究で明らかにされている[14-17]。したがって、ヘム代謝の活性化がヒトにおける血圧変動にも影響を与える可能性がある。しかし、ヘムの産生にはそれに見合った鉄が必要である。5-ALA誘発性低血圧は時として重症化する。その症例報告[6,10,12]を解析すると、重度の5-ALA誘発性低血圧の患者には貧血がなく術前の栄養状態は良好であったと推測できる。良好な栄養状態にある非貧血の患者は豊富な体内鉄を持っている可能性が高い。体内の鉄の多くは赤血球内のヘモグロビン鉄である。しかし、赤血球関連

指標に基づいて 5-ALA によって誘発される血行動態を分析した研究もなかった。

本研究は、臨床で経験した症例を踏まえ[6]、5-ALA 誘発性低血圧の要因解析を目論むものである[18, 19]。今までの報告をまとめると、脳神経外科の症例を対照とし、泌尿器科の症例を詳細に分析することで、5-ALA 誘発性低血圧の要因を見つけることができるのではないかと考えた。本研究の仮説としては、「脳神経外科患者に比べて泌尿器科患者において 5-ALA による血行動態が観察されやすく、5-ALA 誘発性血行動態は 5-ALA 代謝と関連する」、とした。まず、5-ALA によって誘発される血行動態への調査として、5-ALA 誘発性低血圧の全体像を把握しながら、5-ALA の血行動態に与える影響が脳神経外科患者と泌尿器科患者で異なるのかどうかを見極めることとした（研究Ⅰ：脳神経外科手術と泌尿器科手術における 5-ALA 誘発性血行動態変動に関する調査[18]）。その上で、泌尿器科患者における 5-ALA 誘発性低血圧の要因検索を目的として、5-ALA によって誘発された周術期血圧変化とヘマトクリット値との関連性を分析した（研究Ⅱ：泌尿器科患者における 5-ALA 誘発性血圧変動とヘマトクリットの関連性に関する調査[19]）。

研究 I : 脳神経外科手術と泌尿器科手術における 5-ALA 誘発性血行動態変動に関する調査[18]

【研究対象と方法】

研究倫理

この単一施設の後方観察研究は伊那中央病院の倫理委員会によって承認され（承認番号：2019年8月26日19-6）、オプトアウト手続きを経て実施した。

対象患者

脳神経外科手術においては、2014年1月から2021年3月の期間に神経膠腫が疑われて腫瘍摘出術が実施された全患者を解析対象とした。泌尿器科手術においては、2018年8月から2020年12月の期間におけるTURBTが実施された患者を抽出し、適格性を審査して解析対象とした。除外基準として、TURBTと同時に大手術を実施した症例、術中に逆行性腎盂造影を実施した症例、TURBT持続時間が100分以上の症例、術後出血による再手術症例、術前輸血を必要とした症例、100日以上前に術前検査をした症例、及び、手術日の朝のバイタルサイン記録が欠損した症例を除外した。

周術期管理

脳神経外科手術における光力学的診断支援手術の適応はデバイス可用

性にに基づき決定した。泌尿器科手術においては、光力学的診断支援手術の適応は筋層非浸潤性膀胱癌の患者に対してデバイス可用性に基づき決定された。光力学的診断支援手術が予定された患者は、入室3時間前に5-ALA 20 mg/kgを内服した。脳神経外科手術の全身麻酔は静脈麻酔薬を用いて実施した。泌尿器科手術における麻酔法は、禁忌がなく患者が全身麻酔を希望しない限り、脊髄くも膜下麻酔で実施した。

脳神経外科手術においては、麻酔開始までは非観血的に、麻酔導入後は観血的動脈圧測定とした。TURBTにおいては非観血的動脈圧測定とした。手術中においては、収縮期血圧 (systolic blood pressure : SBP) の値が80 mmHgを維持できるように血管作動薬を使用した。ほとんどの全身麻酔患者においてレニン-アンジオテンシン系阻害剤の内服を制限した。患者は麻酔前投薬なしで手術室へ入室した。術後管理病棟は、脳神経外科患者は集中治療室、泌尿器科患者は一般病棟であった。

臨床データ

調査項目として、患者背景 (年齢・性別・body mass index)、既往症及び併存疾患 (高血圧・糖尿病・高脂血症・心大血管疾患・脳血管疾患)、脳腫瘍の性状 (再発性・病理診断・容積・Karnofsky Performance Scale)、膀胱腫瘍性状 (再発性・病理診断)、血液生化学関連データ (採血日時・TP・Alb・AST・ALT・WBC・RBC・Hb・Ht・Plt・推算糸球体濾過量)、および周術期関連データ (麻酔方法・手術時間・補液量・昇圧剤・出血量・術後人工呼吸管理) を

抽出した。

解析対象の患者を 5-ALA で前処置された患者 (5-ALA 群) と前処理されていない患者 (対照群) に分類し、血圧値及び心拍数を医療記録から収集する時間帯 (time zone : T) を設定した (図 1)。5-ALA による前処置は入室 3 時間前であったため、対照群では入室 3 時間前を仮想プラセボ内服時間として 5-ALA 群と同様に時間帯を設定した。

手術当日の早朝を T_{BL} と定義した。患者が手術室に入る前の時間帯を T_2 (5-ALA または仮想プラセボによる前処理の約 2-2.5 時間後) とし、手術室入室後の麻酔導入前は T_3 (前処理後約 3 時間) と定義した。麻酔導入後に 2 つの時間帯 (T_4 と T_6) を設定した。脳神経外科手術では、脳神経外科手術開始から前処置後約 5 時間までの時間帯を T_4 、前処置後約 5-7 時間の時間帯を T_6 とした。泌尿器科患者では、TURBT を前処理の約 4 時間後に実施したため、術中は T_4 と定義し、患者が病棟に戻ってから前処理後約 7 時間までの時間帯を T_6 とした。また前処理後約 8-10 時間の時間帯を T_9 と定義した。それぞれの時間帯における SBP の最小値を抽出した (SBP_{BL} 、 SBP_2 、 SBP_3 、 SBP_4 、 SBP_6 、および SBP_9)。最小 SBP に合わせて、拡張期血圧 (diastolic blood pressure : DBP, DBP_{BL} 、 DBP_2 、 DBP_3 、 DBP_4 、 DBP_6 、及び DBP_9) と心拍数 (heart rate : HR, HR_{BL} 、 HR_2 、 HR_3 、 HR_4 、 HR_6 、及び HR_9) を記録した。 T_{BL} における SBP、DBP、HR をそれぞれ SBP_{BL} 、 DBP_{BL} 、及び HR_{BL} と表記し、ベースライン値 (base line : BL) とした。

5-ALA によって誘発された血行動態変動を頻度の観点からも把握するために、管理病棟における術前術後の血行動態変動の累積発生率を調べてみるこ

とにした。SBP においては、 SBP_{BL} と比し 20% の低下とし、また、HR は HR_{BL} と比し 20% の増加として記録した。

評価項目

主解析は、手術当日の 5-ALA 群と対照群の血行動態変動（SBP、DBP、及び HR の時系列変動）の比較とした。副解析としてそれぞれの群における血行動態の群内変動、群間変動、及び血行動態変動の累積発生率の比較とした。

統計

全ての統計解析において有意水準は 0.05 とし、フリー統計ソフト EZR (version 1.52) を使用した [20]。後方研究であり、データには欠損値が存在するため、統計解析は観測された全てのデータを用いて解析する方法 (Available case analysis) とした。

記述統計量は中央値 [四分位範囲] 及び割合でまとめた。連続変数の場合、Mann-Whitney U test を使用して 2 群間の差を比較した。2 群間の比率は Fisher' s exact test によって検定した。

脳神経外科手術と泌尿器科手術における 5-ALA 誘発性血行動態変動に関する調査 [18] の主解析においては、線形混合モデル (Linear mixed model) を用いて各群間の血行動態変動を解析した。そしてそれらの重みに傾向スコアの逆数を用いる IPTW (Inverse probability of treatment weighting) 法で調整した。IPTW 法の変数は、年齢、性別、BMI (body mass index)、高血圧、高脂

血症、糖尿病、心大血管疾患の既往症、脳血管疾患の既往症、及び推算糸球体濾過量とした。全身麻酔は 5-ALA 誘発性低血圧と関連している可能性がある [11, 13]。従って、麻酔方法を泌尿器科患者における解析での IPTW 法の補正のための変数として追加した。副解析において、群内変動は Friedman test with Wilcoxon signed rank test で解析し Bonferroni 法で補正した。群間変動は Mann-Whitney U test を用いた。累積発生率は Kaplan-Meier curve を用いて評価し、Log-rank test で解析した。

【結果】

患者背景 (脳神経外科患者)

脳神経外科手術を実施した 33 症例の臨床データを調査した。5-ALA 群に 17 症例、対照群に 16 症例が分類された。表 1 は 5-ALA 群と対照群の背景を示している。T_{BL} での SBP、DBP、及び HR の値の差は両群間で有意ではなかった。5-ALA 群では手術時間が有意に長い傾向があり、出血量が有意に多い傾向にあった。

患者背景 (泌尿器科患者)

泌尿器科手術を実施した 143 症例の患者の臨床データを調査した。そのうち 20 症例の患者を除外した。この 20 症例の内訳は、大手術を同時に施行した 5 症例、TURBT 実施時間が 100 分以上の 4 症例、術後出血による再手術の 3 症例、術前輸血を必要とした 4 症例、術前検査から TURBT まで 100 日以上経過し

た 2 症例、逆行性腎盂造影を受けた 1 症例、そして手術当日のバイタルサインを紛失した 1 症例であった。最終的に、5-ALA 群に 26 症例、対照群に 97 症例が分類された。

表 2 は 5-ALA 群と対照群の背景を示している。T_{BL} での SBP、DBP、及び HR の値の差は両群間で有意ではなかった。術前検査において、5-ALA 群でより多い赤血球数、高いヘモグロビン値、および高いヘマトクリット値が確認された。周術期データにおいて、5-ALA 群の患者は全身麻酔の割合が高かった。また、長い手術時間、より多い補液量、及びエフェドリンの使用頻度が高かった。

脳神経外科手術における周術期血行動態

脳神経外科患者（図 2a、b、c）では、5-ALA 前処置の有無と血行動態の交互作用は、SBP ($p = 0.104$)、DBP ($p = 0.339$)、及び HR ($p = 0.907$) において有意ではなかった。5-ALA 群と対照群の間の群間変動も有意ではなかった。また、血圧低下の累積発生率や脈拍増加の累積発生率の Kaplan-Meier curve からも有意な違いは明らかでなかった（図 3a、b）。

泌尿器科手術における周術期血行動態

泌尿器科患者（図 2d、e、f）においては血行動態変動に有意な変化が観察された。5-ALA 前処置の有無と血行動態の交互作用は、SBP ($p = 0.011$)、DBP ($p = 0.004$) で有意であった。5-ALA 群と対照群の間の血圧の群間変動も入室前から観察され、5-ALA 群における低血圧は 5-ALA 投与約 9 時間後におい

でも観察された。HR ($p = 0.085$) において交互作用は有意ではなかったが、入室前と術後において 5-ALA 群で有意に高い HR が観察された。また、血圧低下の累積発生率や脈拍増加の累積発生率の Kaplan-Meier curve からも有意な変化が確認できた (図 3c、d)。

研究Ⅱ：泌尿器科患者における 5-ALA 誘発性血圧変動とヘマトクリットの関連性に関する調査) [19]

【研究対象と方法】

研究倫理

この単一施設の後方観察研究は伊那中央病院の倫理委員会によって承認され（承認番号：2019年8月26日 19-6）、オプトアウト手続きを経て実施した。

泌尿器科患者

2018年8月から2020年12月の期間における TURBT が実施された泌尿器科患者を抽出した。適格性を保持するために除外基準を設定した。TURBT と同時に大手術を実施した症例、術中に逆行性腎盂造影を実施した症例、TURBT 持続時間が 100 分以上の症例、術後出血による再手術症例、術前輸血を必要とした症例、100 日以上前に術前検査をした症例、及び、手術日の朝のバイタルサイン記録が欠損した症例を除外した。

周術期管理

光学的診断支援手術の適応は筋層非浸潤性膀胱癌の患者に対してデバイス可用性に基づき決定された。光学的診断支援手術を受ける患者は入室 3 時間前に 5-ALA 20 mg/kg を内服した。麻酔は、禁忌がなく患者が全身麻酔を

希望しない限り、脊髄くも膜下麻酔で実施した。

血圧は非観血的動脈圧測定とした。手術中においては、SBP の値が 80 mmHg を維持できるように血管作動薬を使用した。ほとんどの全身麻酔患者においてレニン-アンジオテンシン系阻害剤の内服を制限した。患者は麻酔前投薬なしで手術室へ入室した。

臨床データ

調査項目として、患者背景（年齢・性別・body mass index）、既往症及び併存疾患（高血圧・糖尿病・高脂血症・心大血管疾患・脳血管疾患）、膀胱腫瘍性状（再発性・病理診断）、血液生化学関連データ（採血日時・TP・Alb・AST・ALT・WBC・RBC・Hb・Ht・Plt・推算糸球体濾過量）、および周術期関連データ（麻酔方法・手術時間・補液量・昇圧剤）を抽出した。

抽出された患者を 5-ALA で前処置された患者（5-ALA 群）と前処理されていない患者（対照群）に分類し、血圧値を医療記録から収集する時間帯（time zone: T）を設定した（図 1）。5-ALA による前処置は入室 3 時間前であったため、対照群では入室 3 時間前を仮想プラセボ内服時間として 5-ALA 群と同様に時間帯を設定した。

手術当日の早朝を T_{BL} と定義した。患者が手術室に入る前の時間帯を T_2 （5-ALA または仮想プラセボによる前処理の約 2-2.5 時間後）とし、手術室入室後の麻酔導入前は T_3 （前処理後約 3 時間）と定義した。TURBT は前処理の約 4 時間後に実施したため、術中は T_4 と定義した。術後においては、患者が病棟に

戻ってから前処理後約7時間までの時間帯を T_6 、前処理後約8-10時間の時間帯を T_9 と定義した。翌朝は T_{24} と定義した。それぞれの時間帯における SBP の最小値を抽出した (SBP_{BL} 、 SBP_2 、 SBP_3 、 SBP_4 、 SBP_6 、 SBP_9 、および SBP_{24})。 BP_{BL} はベースライン値とした。

評価項目

血圧変動には個体差がある。それぞれの時間帯の SBP 値を、 SBP_{BL} に基づく変化率として評価した。赤血球の術前検査には、ヘマトクリット、ヘモグロビン、および赤血球数があり、一般的に相互に高い相関関係がある。血行動態の研究では、しばしばヘマトクリット値が利用される[21]。したがって、SBP 変化率とヘマトクリット値の相関関係を評価した。主解析は SBP 変化率における 5-ALA とヘマトクリット値の交互作用とした。副解析として、それぞれの群における SBP 変化率とヘマトクリット値の相関関係 (SBP-ヘマトクリット相関) を各時間帯で分析した。

統計

全ての統計解析において有意水準は 0.05 とし、フリー統計ソフト EZR (version 1.52) を使用して実施した[20]。後方研究であり、データには欠損値が存在するため、統計解析は観測された全てのデータを用いて Available case analysis とした。

記述統計量は中央値 [四分位範囲] 及び割合でまとめた。連続変数の

場合、Mann-Whitney U test を使用して 2 群間の差を比較した。2 群間の比率は Fisher' s exact test によって検定した。

主解析においては、SBP-ヘマトクリット相関と 5-ALA に関する交互作用の影響を、線形回帰モデル (Linear regression model) を使用して評価し、IPTW 法で調整した。IPTW 法は、年齢、性別、BMI、高血圧、高脂血症、糖尿病、推算糸球体濾過量、心血管疾患および脳血管疾患の病歴の項目に基づいた。先行研究で報告されているが、全身麻酔は 5-ALA 誘発性低血圧と関連している可能性がある [11, 13]。したがって、麻酔方法を T₄ での IPTW 法の変数として追加した。副解析では、各群の SBP-ヘマトクリット相関を、Spearman' s rank correlation coefficient を使用して評価した。

【結果】

患者背景

TURBT を実施した 143 症例の患者の臨床データを調査した。そのうち 20 症例の患者を除外した。この 20 症例の内訳は、大手術を同時に施行した 5 症例、TURBT 実施時間が 100 分以上の 4 症例、術後出血による再手術の 3 症例、術前輸血を必要とした 4 症例、術前検査から TURBT まで 100 日以上経過した 2 症例、逆行性腎盂造影を受けた 1 症例、そして手術当日のバイタルサインを紛失した 1 症例であった。最終的に、5-ALA 群に 26 症例、対照群に 97 症例が分類された。

表 2 は 5-ALA 群と対照群の背景を示している。T_{BL} での SBP、DBP 及び HR

の値の差は両群間で有意ではなかった。術前検査において、5-ALA 群でより多い赤血球数、高いヘモグロビン値、および高いヘマトクリット値が確認された。周術期データにおいて、5-ALA 群の患者は全身麻酔の割合が高かった。また、長い手術時間、より多い補液量、及びエフェドリンの使用頻度が高かった。

SBP-ヘマトクリット相関と 5-ALA の交互作用（主解析）

SBP-ヘマトクリット相関と 5-ALA の交互作用は、 T_2 ($p = 0.048$ [未調整 $p = 0.116$] ; 5-ALA 群、 $n = 25$; 対照群、 $n = 96$)、 T_3 ($p < 0.001$ [未調整 $p < 0.001$] ; 5-ALA 群、 $n = 25$; 対照群、 $n = 97$)、 T_4 ($p = 0.014$ [未調整 $p = 0.011$] ; 5-ALA 群、 $n=25$; 対照群、 $n = 97$)、 T_9 ($p = 0.001$ [未調整 $p = 0.004$] ; 5-ALA 群、 $n = 24$; 対照群、 $n = 84$)、および T_{24} ($p = 0.002$ [未調整 $p = 0.023$] ; 5-ALA 群、 $n = 26$; 対照群、 $n = 94$)、においてそれぞれ有意であった。 T_6 で交互作用は有意ではなかった ($p = 0.081$ [未調整 $p = 0.173$] ; 5-ALA 群、 $n = 26$; 対照群、 $n = 97$)。

それぞれの群における SBP-ヘマトクリット相関（副解析）

図 4 に 5-ALA 群と対照群の SBP-ヘマトクリット相関を示す。5-ALA 群の SBP-ヘマトクリット相関には負の関連性が認められた。その相関関係は、 T_2 ($n = 25$ 、Spearman's rank correlation coefficient [rS] = -0.449 、 $p = 0.024$)、 T_3 ($n = 25$ 、 $rS = -0.584$ 、 $p = 0.002$)、 T_4 ($n = 25$ 、 $rS = -0.401$ 、 $p = 0.047$)、 T_6 ($n = 26$ 、 $rS = -0.427$ 、 $p = 0.030$)、 T_9 ($n = 24$ 、 $rS = -0.658$ 、 $p < 0.001$)、

および T_{24} ($n = 26$, $rS = -0.547$, $p = 0.004$) において有意であった。一方、対照群の SBP-ヘマトクリット相関は、どの時間帯でも有意ではなかった (T_2 : $n = 96$, $rS = -0.121$, $p = 0.239$; T_3 : $n = 97$, $rS = 0.020$, $p = 0.846$; T_4 : $n = 97$, $rS = 0.016$, $p = 0.880$; T_6 : $n = 97$, $rS = -0.051$, $p = 0.618$; T_9 : $n = 84$, $rS = -0.053$, $p = 0.631$; T_{24} : $n = 94$, $rS = -0.101$, $p = 0.333$)。

考察

本研究の主な知見は、第一に、5-ALA で前処置された泌尿器科患者は、前処置を受けていない患者よりも周術期血圧が有意に低かったが、脳神経外科患者においては5-ALA の血行動態に与える影響は明瞭ではなかったことがあげられる (図 2、3)。第二に、血行動態変動が良く観察できた泌尿器科患者においては、5-ALA により引き起こされた SBP 変化率とヘマトクリット値が統計学的に有意な負の相関関係にあり、それが、術前、術中、および術後に観察されたことである (図 4)。

脳神経外科手術と泌尿器科手術における 5-ALA 誘発性血行動態変動に関する調査において、5-ALA による血圧低下は泌尿器科患者において有意に観察出来て、脳神経外科患者においては不明瞭であった[18]。血行動態の評価方法や脳神経外科患者の限定的な症例数が低い統計検出力に結びついた可能性があるものの、図 2 及び 3 では 5-ALA 群の低血圧傾向すら確認できなかった。また、脳神経外科手術領域から重度の 5-ALA 誘発性低血圧の症例報告がなく、また、臨床実地の観点からも管理困難な低血圧症例を経験することもなかった。はっきりした原因は不明であるが、腫瘍の大きさなど、脳神経外科患者と泌尿器科患者の患者背景に起因する違いが影響していると考えられる[18]。また、神経膠腫の性状によっては腫瘍細胞内でのポルフィリン代謝に関与する酵素の発現に差があり、5-ALA による蛍光性の差異が指摘されている[1]。組織学的な腫瘍による酵素発現と 5-ALA 誘発性低血圧にどのような関連性があるのかは現

段階では明らかではない。分類やグレードが多様な脳腫瘍と比較的対象が明らかな膀胱腫瘍では 5-ALA の影響は異なるのかもしれない。5-ALA の血行動態を解析するうえでは、泌尿器科患者と脳神経外科患者は分けて検討した方が良さそうであった。

5-ALA 誘発性血行動態が良く観察できた泌尿器科患者に着目すると、5-ALA で引き起こされた血圧低下率とヘマトクリット値との相関関係は、より高いヘマトクリット値がより大きな負の SBP 変化と関連していることを示していると考えられる。ヘマトクリット値とヘモグロビン値の間には共線性がある。5-ALA によって誘発された SBP の変化は、ヘマトクリット値だけでなくヘモグロビン値とも負の相関があった（補足資料）。赤血球内のヘム鉄はヘモグロビンが壊れるまで外れない[22]。また、5-ALA によって誘発されるヘム代謝とヘモグロビンの関係を示す基礎研究報告はない。5-ALA はヘム代謝を活性化する可能性があるが、5-ALA により誘発されたヘムは赤血球内のヘム鉄と直接関係を持っている可能性は低い。一方で、血中のほとんどのポルフィリンは赤血球に存在する[23-25]。したがって、血流中のポルフィリン濃度は赤血球の総体積に比例すると考えられる。それ故、ヘモグロビン値でなくヘマトクリット値に基づいて 5-ALA 誘発血行動態を評価する方が良いと考える。赤血球の 120 日の代謝サイクルを考慮すると[26]、ヘマトクリット値が高い患者はリサイクルされる赤血球の量が多い可能性が高く、その結果、遊離する鉄が多くなると考えられる。リサイクル鉄はトランスフェリンに結合して血中を循環し、鉄プールを構成する。トランスフェリン結合鉄は 1 日あたり 10~20 回入れ替わり、そ

の血中濃度は1時間ごとおよび1日ごとに変化することが知られている[27]。体内の鉄プールを通過する鉄の量は1日あたり20~24 mgである[26]。5-ALAはPPIXに代謝され、引き続きフェロケラターゼにより鉄が導入され、ヘム生成が行われる。8つの5-ALA分子は代謝のために1つの鉄分子を必要とする。5-ALAは30%が未変化で尿中に排泄されるが[28]、5-ALA代謝で必要となる鉄は成人(50 kg)で約29 mgと見積もられ、鉄プールを通過する鉄の量に近似する。ヘマトクリット値が高い患者は5-ALA代謝に導入され得るリサイクル鉄が豊富と考えられ、ヘム生成量が多いと推測される。ヘム代謝の活性化は、ラットにおいて血行動態変動をもたらす[15]。ヘム代謝の活性化はヒトの血行動態にも影響を与える可能性があると考えられる。基礎研究において、5-ALA投与後の血管内皮細胞内における一酸化窒素(nitric oxide: NO)の増加が確認されている[29]。NOは、血管内皮細胞において一酸化窒素合成酵素(nitric oxide synthase: NOS)で産生されるが、NOSはヘムの存在下で機能性の二量体を形成する[30]。5-ALAで誘引されたヘムが活性型NOSを誘導し、血管内皮におけるNOの増加と血管弛緩に関与している可能性がある。本研究は、血清鉄値、PPIX値、およびヘム濃度を直接測定していないが、今回得られた知見は、鉄代謝に基づく5-ALAによって誘発されたヘム産生と血行動態との間接的関連性を示唆していると考えられる。そこで症例報告に立ち戻ってみると、重度の5-ALA誘発性低血圧の患者には貧血がなかった[6, 10, 12]。本研究の解析結果は多血傾向の患者が5-ALAに感受性が高い可能性を示している。高いヘマトクリット値は5-ALA誘発性低血圧の要因の一つとして推察される。

5-ALA は翌日まで SBP 変化に影響を及ぼしている可能性があった。5-ALA 内服翌日の血圧値に有意な差は検出されなかったが、負の SBP-ヘマトクリット相関は有意であることが観察された。5-ALA 血中濃度は経口投与の 2 時間後にピークに達した後、代謝が進行しポルフィリンが急増する[28]。一般的に、赤血球中のポルフィリン（赤血球ポルフィリン）レベルは血漿中のポルフィリン（血漿ポルフィリン）レベルよりも高い[23-25]。先行研究において、5-ALA 投与後の赤血球ポルフィリン濃度は血漿ポルフィリン濃度と比較して有意に増加し、投与翌日まで持続することが分かっている[23]。本研究の患者群においても、ヘマトクリット値が高い血液では、血流中のポルフィリンが 5-ALA 投与翌日まで、より高いレベルを維持していた可能性がある。5-ALA 誘発性低血圧に関する報告では、翌日までカテコールアミンを必要とする長期の重度の低血圧を呈した患者が特記されている[6, 10, 12]。これらの臨床経験は 5-ALA が血行動態に投与翌日まで影響を与える可能性があることを示している。5-ALA 投与 24 時間後の血漿中 PPIX 濃度は低い[28, 31]、赤血球ポルフィリン濃度は、5-ALA 投与前と比較して高い[23]。先行研究の結果を踏まえると、本調査結果は、赤血球が 5-ALA 誘導ポルフィリンを保持し、血行動態に 24 時間にわたり影響を与えている可能性を示すと考えられる。ヘム産生のポルフィリンドナーとしての赤血球の役割を解析するためにも、5-ALA に誘導されたポルフィリン生合成とヘム代謝の活性化に基づいた詳細な血行動態調査が必要と思われる。

本研究は後方研究である。十分な統計調整を実施したとしても完全なバイアスの除去には及ばず、また周術期のデータであるため、手術や麻酔の影響を完全には取り除けなかった。研究結果の解釈には制限があり、方法論に3つの瑕疵がある。まず、光力学的診断支援手術の適応症を決定するときのグループピングに関する選択バイアスの可能性である。第二に、SBP-ヘマトクリット相関の評価は、臨床実地データの利用のため、available case analysisに基づいていた。第三に、この研究の術前血液検査は手術前1か月以内のものであり、手術直前の近似値であったことがあげられる。また、研究Ⅱは周術期の5-ALA誘発性の負のSBP-ヘマトクリット相関に焦点を当てたが、5-ALA誘発性の血行動態変動がヘマトクリット値の直接的な影響に依存するのか、あるいは、ヘマトクリット値に影響を与える患者背景の二次的影響によるのかは明確にできていないと思われる。動物を用いた基礎研究の結果は、ポルフィリン-ヘム代謝と血行動態の密接な関係[15]や、血管弛緩との関連性[16, 17]を示している。5-ALAの薬物動態に関する基礎研究は限定的であり、5-ALAによって誘発される血行動態の変化はその代謝経路に基づいて精査する必要があると思われる。

結語

本研究は、5-ALA誘発性血行動態が脳神経外科患者と泌尿器科患者で異なる可能性を指摘し、5-ALAによって誘発された周術期のSBP低下とヘマトク

リット値との関連性を明らかにした。5-ALA は手術翌日においても SBP に影響を与える可能性があった。本研究結果は 5-ALA によって誘導されるヘム産生と血行動態との関係に関する間接的な証拠と考えられる。5-ALA から誘導されたヘムが血圧に影響を及ぼした可能性を考慮すると、5-ALA は新しい未解明の降圧作用を持っているように思われる。

謝辞

本研究の遂行および論文作成にあたり、多大なる御指導、御支援、御協力を賜りました自治医科大学医学部医学研究科地域医療学系・救急・集中治療医学麻醉科学教授の竹内護先生、同准教授の佐藤正章先生、同准教授の堀田訓久先生に深謝致します。また、本研究を含め、多大な支援をしていただいた Clinical Research Support Team Jichi (CRST) に深謝いたします。

利益相反

特記事項無し。

表 1

脳神経外科手術における 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid : 5-ALA) による前処置患者群 (5-ALA-pretreated) と対照群 (Non-pretreated) の患者背景 (文献[18]から改変)

	5-ALA-pretreated	Non-pretreated	p 値
症例数	17	16	
年齢 (歳)	64 [47-72]	71 [44-76]	0.871
性別			0.303
女性	11 (64.7%)	7 (43.8%)	
男性	6 (35.3%)	9 (56.2%)	
BMI (kg/m ²)	22.4 [20.6-24.6]	22.2 [20.5-24.1]	0.652
高血圧	5 (29.4%)	3 (18.8%)	0.688
糖尿病	0 (0.0%)	1 (6.2%)	0.485
高脂血症	3 (17.6%)	3 (18.8%)	1.000
心血管疾患	0 (0.0%)	1 (6.2%)	0.485
脳血管疾患	0 (0.0%)	0 (0.0%)	1.000
SBP (mmHg) - T _{BL}	110 [100-121]	115 [102-125]	0.801
DBP (mmHg) - T _{BL}	66 [59-89]	69 [59-72]	0.505
HR (bpm) - T _{BL}	73 [62-76]	67 [56-74]	0.482
脳腫瘍			
再発	7 (41.2%)	3 (18.8%)	0.259

病理			1.000
Gliomas	15 (88.2%)	14 (87.5%)	
Lymphoma	0 (0.0%)	1 (6.2%)	
Metastatic tumor	2 (11.8%)	1 (6.2%)	
MRI volume (cm ³)	37.6 [34.5-81.1]	24.5 [15.1-54.2]	0.292
Karnofsky Performance Scale	60 [50-60]	60 [50-80]	0.607
血液生化学検査			
TP (g/dL)	6.7 [6.4-7.0]	6.8 [6.7-7.2]	0.481
Alb (g/dL)	3.8 [3.5-4.2]	4.3 [3.9-4.5]	0.063
AST (IU/L)	16 [14-18]	23 [19-27]	0.008
ALT (IU/L)	15 [12-20]	18 [12-23]	0.329
Hb (g/dL)	12.6 [11.3-14.1]	13.7 [12.7-15.1]	0.528
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	84 [75-95]	75 [67-86]	0.194
手術			
手術時間 (分)	211 [161-228]	144 [126-151]	<0.001
補液量 (ml)	1600 [1250-2000]	1500 [1025-1850]	0.358
昇圧剤	16 (94.1%)	14 (87.5%)	0.601
出血 (g)	130 [50-350]	45 [20-127]	0.024
術後管理			
人工呼吸	15 (88.2%)	9 (56.2%)	0.057

ドパミン	2 (11.8%)	1 (6.2%)	1.000
------	-----------	----------	-------

統計量の要約は中央値 [四分位範囲] 及び実数 (比率) にて記述した。

術後人工呼吸は、前処置 9 時間後の時点における症例数。

5-ALA : 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid)

5-ALA-pretreated : 5-ALA 前処置群

Non-pretreated : 対照群

SBP : 収縮期血圧

DBP : 拡張期血圧

HR : 心拍数

T_{BL} : 手術当日早朝の時間帯

表 2

泌尿器科手術における 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid : 5-ALA) による前処置患者群 (5-ALA-pretreated) と対照群 (Non-pretreated) の患者背景 (文献 [19] から改変)

	5-ALA-pretreated	Non-pretreated	p 値
症例数	26	97	
年齢 (歳)	73 [63-77]	75 [64-79]	0.271
性別			0.591
女性	4 (15.4%)	21 (21.6%)	
男性	22 (84.6%)	76 (78.4%)	
BMI (kg/m ²)	23.0 [20.8-24.3]	23.1 [20.7-25.1]	0.921
高血圧	13 (50.0%)	51 (52.6%)	0.829
糖尿病	9 (34.6%)	18 (18.6%)	0.108
高脂血症	6 (23.1%)	26 (26.8%)	0.805
心血管疾患	6 (23.1%)	10 (10.3%)	0.104
脳血管疾患	1 (3.8%)	6 (6.2%)	1.000
SBP (mmHg) - T _{BL}	119 [113-137]	121 [110-136]	0.771
DBP (mmHg) - T _{BL}	71 [65-82]	75 [66-83]	0.450
HR (bpm) - T _{BL}	65 [58-74]	65 [58-74]	0.771
膀胱腫瘍			
再発	13 (50.0%)	42 (43.3%)	0.658

病理			0.419
T _a	11 (42.3%)	37 (38.1%)	
T ₁	7 (26.9%)	33 (34.0%)	
T ₂	0 (0.0%)	6 (6.2%)	
CIS	5 (19.2%)	8 (8.2%)	
Others	3 (11.5%)	13 (13.4%)	
血液生化学検査			
Preoperative days	24 [18-27]	24 [15-31]	0.513
White cell ($\times 10^3/\mu l$)	5.77 [4.90-6.61]	5.71 [4.87-6.92]	0.747
Red cell ($\times 10^6/\mu l$)	4.61 [4.41-5.00]	4.45 [4.11-4.71]	0.015
Hb (g/dL)	14.4 [13.9-15.2]	13.8 [12.9-14.8]	0.010
Hematocrit (%)	43.7 [41.7-45.6]	42.0 [39.8-44.6]	0.049
MCV (fL)	94.6 [90.5-97.2]	95.7 [92.6-99.1]	0.096
MCH (pg)	31.6 [30.4-32.4]	31.6 [30.5-32.7]	0.689
MCHC (%)	33.6 [32.8-34.1]	32.8 [32.3-33.5]	0.003
Platelet ($\times 10^3/\mu l$)	237 [207-256]	223 [188-270]	0.412
TP (g/dL)	6.8 [6.7-7.2]	7.0 [6.7-7.3]	0.190
Alb (g/dL)	4.2 [3.9-4.2]	4.1 [3.9-4.3]	0.827
AST (IU/L)	22 [19-27]	24 [21-29]	0.105
ALT (IU/L)	21 [14-28]	18 [14-25]	0.840

eGFR (ml/min/1.73 m ²)	67 [58-69]	65 [55-75]	0.899
手術			
麻酔			0.011
腰椎麻酔	19 (73.1%)	90 (92.8%)	
全身麻酔	7 (26.9%)	7 (7.2%)	
手術時間 (分)	38 [26-55]	24 [16-31]	<0.001
補液量 (ml)	500 [350-700]	300 [200-400]	<0.001
エフェドリン	14 (53.8%)	3 (3.1%)	<0.001

統計量の要約は中央値 [四分位範囲] 及び実数 (比率) にて記述した。

5-ALA : 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid)

5-ALA-pretreated : 5-ALA 前処置群

Non-pretreated : 対照群

SBP : 収縮期血圧

DBP : 拡張期血圧

HR : 心拍数

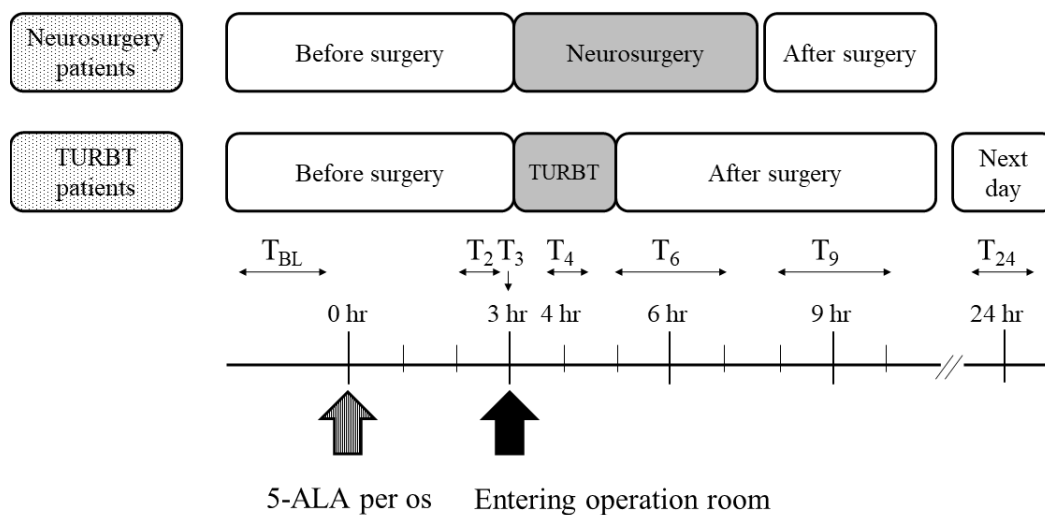
T_{BL} : 手術当日早朝の時間帯

CIS : 上皮内癌

Preoperative days : 術前検査から手術までの日数

図 1

臨床経過とバイタルサイン(文献[19]から改変)



それぞれの時間帯における収縮期血圧の最小値を記録し、同時に拡張期血圧の値と心拍数を記録した。

TURBT：泌尿器科手術

T_{BL} ：手術日早朝（基準値）

T_2 ：前処置から約 2-2.5 時間後

T_3 ：前処置から約 3 時間後

T_4 ：前処置から約 4 時間後

T_6 ：前処置から約 5-7 時間後

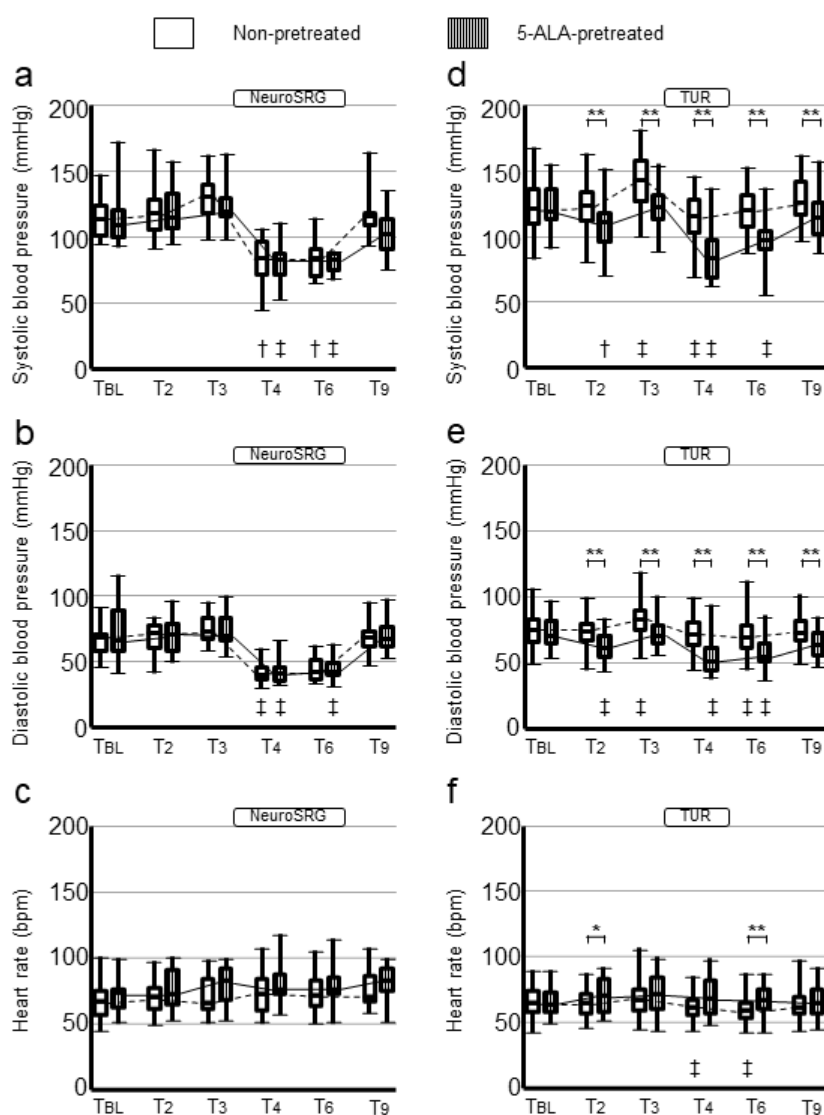
T_9 ：前処置から約 8-10 時間後

T_{24} ：翌朝

5-ALA：5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid)

図 2

5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid: 5-ALA) 前処置群 (5-ALA-pretreated) と対照群 (Non-pretreated) の時系列バイタルサイン: 脳神経外科患者群 (a, b, c) と泌尿器科患者群 (d, e, f) における 5-ALA 前処置が収縮期血圧 (a, d)、拡張期血圧 (b, e)、心拍数 (c, f) に与える影響 (文献 [18] から改変)



それぞれの時間帯における最低収縮期血圧と同時刻の拡張期血圧及び心拍数を時系列に記録した。対照群は、5-ALA 前処置群と同等な時間帯設定をしてデー

夕抽出した。統計量の要約は中央値 [四分位範囲] にて表示した。

5-ALA : 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid)

5-ALA-pretreated : 5-ALA 前処置群

Non-pretreated : 対照群

NeuroSRG : 脳神経外科手術

TUR : 泌尿器科手術

T_{BL} : 手術日早朝 (基準値)

T₂ : 前処置から約 2-2.5 時間後

T₃ : 前処置から約 3 時間後

T₄ : 前処置から約 4 時間後

T₆ : 前処置から約 5-7 時間後

T₉ : 前処置から約 8-10 時間後

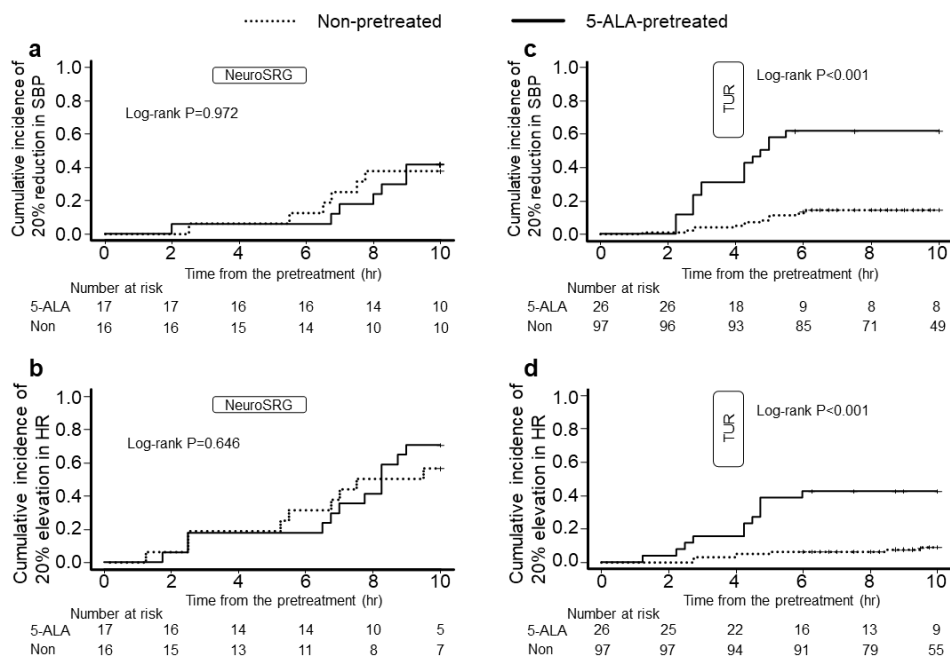
T₂₄ : 翌朝

早朝からの有意な群内変動は ‡ (P<0.01)、† (P<0.05) にて表記。

有意な群間変動は** (P<0.01)、* (P<0.05) にて表記。

図 3

脳神経外科患者群 (a、b) と泌尿器科患者群 (c、d) における 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid : 5-ALA) 前処置による収縮期血圧 (a、c) 低下及び心拍数増加 (b、d) した累積症例数 (文献[18]から改変)



管理病棟における、基準値から 20%の収縮期血圧の低下した累積症例数 (a、c) と、20%の心拍数増加 (b、d) した累積症例数の Kaplan-Meier curve を示す。

5-ALA : 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid)

5-ALA-pretreated (5-ALA) : 5-ALA 前処置群

Non-pretreated (Non) : 対照群

NeuroSRG : 脳神経外科手術

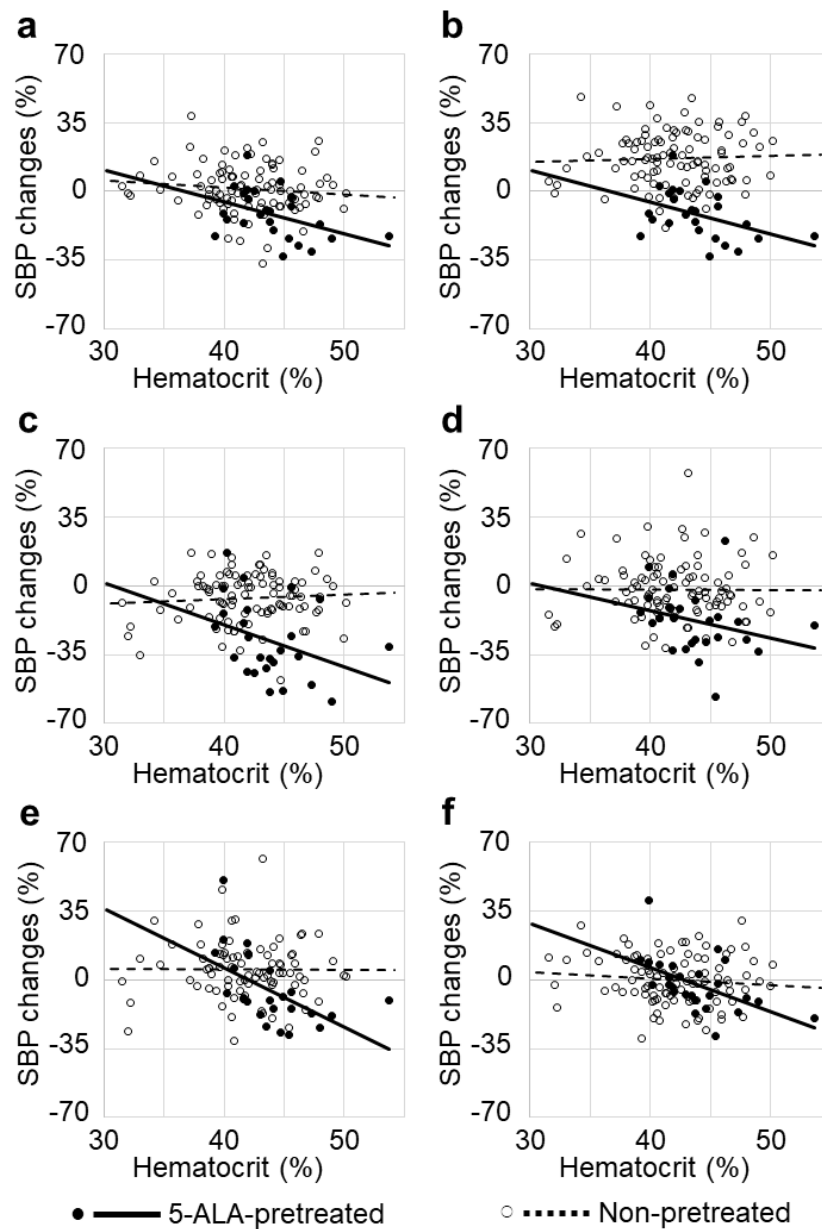
TUR : 泌尿器科手術

SBP : 収縮期血圧

HR : 心拍数

図 4

泌尿器科患者における 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid: 5-ALA) 投与後の収縮期血圧の変化とヘマトクリットの関連性(文献[19]から引用)



実線 (回帰直線) 及び黒点は 5-ALA 前処置患者群 (5-ALA-pretreated)、破線

(回帰直線) 及び白点は対照群 (Non-pretreated) を示している。

- a : 入室前 (術前 ; 前処置から約 2-2.5 時間後)
- b : 入室後麻酔前 (術前 ; 前処置から約 3 時間後)
- c : 手術中 (術中 ; 前処置から約 4 時間後)
- d : 手術後 (術後早期 ; 前処置から約 5-7 時間後)
- e : 手術後 (術後後期 ; 前処置から約 8-10 時間後)
- f : 翌朝

5-ALA : 5-アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid)

5-ALA-pretreated : 5-ALA 前処置群

Non-pretreated : 対照群

SBP changes : 収縮血圧の基準値からの変動

補足資料(文献[19]から引用)

		Spearman R	P-values
Red cell count	T ₂	-0.35	0.087
	T ₃	-0.462	0.020
	T ₄	-0.351	0.086
	T ₆	-0.423	0.031
	T ₉	-0.576	0.003
	T ₂₄	-0.352	0.078
Hb	T ₂	-0.416	0.039
	T ₃	-0.461	0.020
	T ₄	-0.277	0.180
	T ₆	-0.296	0.142
	T ₉	-0.639	<0.001
	T ₂₄	-0.575	0.002
Ht	T ₂	-0.449	0.024
	T ₃	-0.584	0.002
	T ₄	-0.401	0.047
	T ₆	-0.427	0.030
	T ₉	-0.658	<0.001
	T ₂₄	-0.547	0.004

参考文献

1. Casas A. Clinical uses of 5-aminolaevulinic acid in photodynamic treatment and photodetection of cancer: A review. *Cancer Lett.* 2020 Oct 10;490:165-73.
2. Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F, Reulen HJ, ALA-Glioma Study Group. Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol.* 2006;7(5):392-401.
3. Inoue K, Anai S, Fujimoto K, Hirao Y, Furuse H, Kai F, Ozono S, Hara T, Matsuyama H, Oyama M, Ueno M, Fukuhara H, Narukawa M, Shuin T. Oral 5-aminolevulinic acid mediated photodynamic diagnosis using fluorescence cystoscopy for non-muscle-invasive bladder cancer: A randomized, double-blind, multicentre phase II/III study. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015 Jun;12(2):193-200.
4. Sato M, Yanagisawa T, Minamino S, Arai T. Hypotension caused by oral administration of 5-aminolevulinic acid persists after surgery in patients undergoing transurethral resection of bladder tumor under spinal anesthesia. *JA Clin Rep.* 2020 Nov 21;6(1):93.
5. Osman E, Alnaib Z, Kumar N. Photodynamic diagnosis in upper urinary tract urothelial carcinoma: A systematic review. *Arab Journal of Urology.* 2017;15(2):100-9.
6. Shiratori T, Hotta K, Satoh M, Kiuchi C, Ogawa N, Kamigaito T. Preanesthetic severe postural hypotension following 5-aminolevulinic acid pretreatment in patients for photodynamic diagnosis-assisted urological surgery. *JA Clin Rep.* 2019;5(1):74.
7. Miyakawa J, Kawai T, Makino K, Akiyama Y, Yamada Y, Nakamura M, Sato Y, Yamada D, Suzuki M, Kume H. Impact of age, body mass index, and renal function for severe hypotension caused by oral 5-aminolevulinic acid administration in patients undergoing transurethral resection of bladder tumor. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021 Jan 8;102179.
8. Waidelich Raphaela, Stepp Herbert, Baumgartner Reinhold, Weninger Ernst, Hofstetter Alfons, Kriegmair Martin. Clinical experience with

- 5-aminolevulinic acid and photodynamic therapy for refractory superficial bladder cancer. *Journal of Urology*. 2001;165(6 Part 1):1904-7.
9. Chung IWH, Eljamel S. Risk factors for developing oral 5-aminolevulinic acid-induced side effects in patients undergoing fluorescence guided resection. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2013;10(4):362-7.
 10. Kida T, Kobashi T, Usuda Y, Kobayashi K, Sumitomo M. Severe and Prolonged Hypotension After Oral 5-Aminolevulinic Acid Administration in a Patient With End-Stage Renal Disease Undergoing Transurethral Resection of a Bladder Tumor: A Case Report. *AA Pract*. 2020;14(1):12-4.
 11. Nohara T, Kato Y, Nakano T, Nakagawa T, Iwamoto H, Yaegashi H, Nakashima K, Iijima M, Kawaguchi S, Shigehara K, Izumi K, Kadono Y, Mizokami A. Intraoperative hypotension caused by oral administration of 5-aminolevulinic acid for photodynamic diagnosis in patients with bladder cancer. *Int J Urol*. 2019;26(11):1064-8.
 12. Yatabe T, Shigematsu-Locatelli M, Fukuhara H, Karashima T, Inoue K, Yokoyama M. 5-Aminolevulinic acid-induced severe hypotension during transurethral resection of a bladder tumor: a case report. *JA Clin Rep*. 2019;5(1):58.
 13. Yatabe T, Karashima T, Kume M, Kawanishi Y, Fukuhara H, Ueba T, Inoue K, Okuhara Y, Yokoyama M. Identification of risk factors for post-induction hypotension in patients receiving 5-aminolevulinic acid: a single-center retrospective study. *JA Clin Rep*. 2020;6(1):35.
 14. Ignarro LJ, Wood KS, Wolin MS. Activation of purified soluble guanylate cyclase by protoporphyrin IX. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982 May;79(9):2870-3.
 15. Johnson RA, Lavesa M, DeSeyn K, Scholer MJ, Nasjletti A. Heme oxygenase substrates acutely lower blood pressure in hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1996 Sep;271(3 Pt 2):H1132-1138.
 16. Mingone CJ, Gupte SA, Chow JL, Ahmad M, Abraham NG, Wolin MS. Protoporphyrin IX generation from delta-aminolevulinic acid elicits pulmonary artery relaxation and soluble guanylate cyclase activation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2006;291(3):L337-344.

17. Mingone CJ, Ahmad M, Gupte SA, Chow JL, Wolin MS. Heme oxygenase-1 induction depletes heme and attenuates pulmonary artery relaxation and guanylate cyclase activation by nitric oxide. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2008;294(3):H1244-1250.
18. Shiratori T, Hotta K, Satoh M, Sato A, Kamigaito T, Kiuchi C, Tanaka R. Differences in 5-aminolevulinic acid-induced hemodynamic changes between patients undergoing neurosurgery and urological surgery. *JMA J*. 2021;4(4):374-86.
19. Shiratori T, Hotta K, Satoh M, Kamigaito T, Goto M. Higher hematocrit level associated with higher 5-aminolevulinic acid-induced perioperative blood pressure change. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022 Mar;38:102821.
20. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software "EZR" for medical statistics. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(3):452-8.
21. Cirillo M, Laurenzi M, Trevisan M, Stamler J. Hematocrit, blood pressure, and hypertension. The Gubbio Population Study. *Hypertension*. 1992 Sep;20(3):319-26.
22. Hahn PF, Bale WF, Ross JF, Hettig RA, Whipple GH. RADIO-IRON IN PLASMA DOES NOT EXCHANGE WITH HEMOGLOBIN IRON IN RED CELLS. *Science*. 1940 Aug 9;92(2380):131-2.
23. Stummer W, Stocker S, Wagner S, Stepp H, Fritsch C, Goetz C, Goetz AE, Kiefmann R, Reulen HJ. Intraoperative detection of malignant gliomas by 5-aminolevulinic acid-induced porphyrin fluorescence. *Neurosurgery*. 1998 Mar;42(3):518-25; discussion 525-526.
24. Fritsch C, Verwohlt B, Bolsen K, Ruzicka T, Goerz G. Influence of topical photodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid on porphyrin metabolism. *Arch Dermatol Res*. 1996 Aug;288(9):517-21.
25. Poh-Fitzpatrick MB, Sosin AE, Bemis J. Porphyrin levels in plasma and erythrocytes of chronic hemodialysis patients. *J Am Acad Dermatol*. 1982 Jul;7(1):100-4.
26. Adamson JW. Iron deficiency and other hypoproliferative anemias. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Larry Jameson J, Loscalzo J, editors. *Harrison's principles of internal*

- medicine. 17th ed. New York: McGraw-Hill Companies; 2008. p. 628-34.
27. Worwood M. The laboratory assessment of iron status--an update. *Clin Chim Acta*. 1997 Mar 18;259(1-2):3-23.
28. 208630Orig1s000ClinPharmR.pdf [Internet]. [cited 2020 Feb 16]. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/208630Orig1s000ClinPharmR.pdf
29. Morisawa S, Jobu K, Ishida T, Kawada K, Fukuda H, Kawanishi Y, Nakayama T, Yamamoto S, Tamura N, Takemura M, Kagimoto N, Ohta T, Masahira N, Fukuhara H, Ogura SI, Ueba T, Inoue K, Miyamura M. Association of 5-aminolevulinic acid with intraoperative hypotension in malignant glioma surgery. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022 Mar;37:102657.
30. Förstermann U, Sessa WC. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J*. 2012 Apr;33(7):829-37, 837a-837d.
31. Rick K, Sroka R, Stepp H, Kriegmair M, Huber RM, Jacob K, Baumgartner R. Pharmacokinetics of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX in skin and blood. *J Photochem Photobiol B*. 1997 Oct;40(3):313-9.