

悪性脳腫瘍の高周波温熱療法に関する実験的研究

新潟大学脳研究所脳神経外科学教室（指導：田中隆一教授）

金 山 忠 弘

〔原稿受付：昭和57年5月31日〕

Experimental study on the local hyperthermia therapy of malignant brain tumor using radiofrequency

TADAHIRO KANAYAMA

Department of Neurosurgery, Brain Research Institute, Niigata University
(Director: Prof. Dr. RYUICHI TANAKA)

Summary

Local hyperthermia therapy by radiofrequency waves (R.F.) was evaluated in experimental brain tumors of rat and monkey which were induced by Rous sarcoma virus. Hyperthermia was produced by crystal-controlled R.F. of 13.56 MHz which were delivered by contact electrodes to the tumors.

In the treatment of rat subcutaneously-transplanted gliomas, the tumor temperature was constantly higher by 2 to 5°C than that in the adjacent normal tissues during R.F. heating.

The minimal critical temperature of the tumor to bring on anti-tumor effects was 43°C in heating for 60 minutes. The longer or repeated heating could enhance the anti-tumor effects. Combination therapy by R.F. hyperthermia and radiation or chemotherapy, ACNU, showed a greater anti-tumor effect than hyperthermia alone.

In the treatment of monkey brain tumors, selective hyperthermia of up to 10°C was obtained between the tumor and normal brain tissues, and brain tumors could be heated to 47–50°C, whereas the temperature of normal brain could be maintained below 40°C with virtually no injury. Large craniectomy had been previously performed bilaterally to avoid the tremendous heating of the skull underlying the electrodes.

After radiofrequency heating under the condition of this selective hyperthermia more than 60 minutes, two monkeys obtained complete and permanent cure of this highly malignant glioma when examined by serial CT scans and autopsy study performed after long-term survival.

Histological examination revealed that the tumor was completely replaced by glio-mesenchymal scar, whereas there was no distinct histological change in the contralateral hemisphere including the cortex just beneath the electrode.

Key words: Brain tumor, Local hyperthermia, Radiofrequency, Selective high temperature heating.

索引語：脳腫瘍，局所的温熱療法，高周波，Selective high temperature heating.

Present address: Department of Neurosurgery, Brain Research Institute, Niigata University, Asahi-machi, Niigata City, 951, Japan.

はじめに

発熱により腫瘍が退縮したという臨床的観察は古くからなされており³⁾, 1891年 Coley による pyrogenic toxin の研究が温熱療法の始まりといわれている³⁷⁾. その後, 様々な加温方法や装置が開発され, 悪性腫瘍及び正常組織に対する温熱の効果が基礎的に検討されてきたが, なお多くの問題が残されており, 広く臨床的に応用されるに至っていない^{6,7,28,29,30,38)}.

悪性腫瘍の加温法としては, 全身加温法と局所加温法とがあるが, 腫瘍を選択的に有効に加温するためには局所加温法がより理想的である. しかしながら, 加温法に限界があるため, 従来局所加温法の適応となるのは体表面あるいは体腔表面の腫瘍に限られており, 深部腫瘍に対しては, 加温限界の抗腫瘍効果があまり期待できない全身加温法による moderate temperature hyperthermia^{41,49)} が試みられるにすぎなかった.

脳腫瘍に対する温熱療法としては, これまで一側内頸動脈灌流加温療法¹⁰⁾・脳腫瘍内限局加温療法^{4,16,35,50)}等が試みられているが, 腫瘍組織全体の効率よい選択的加温が困難なために, 満足な抗腫瘍効果が得られていない.

最近, 腫瘍内の血流量が正常組織に比較して少ないこと^{6,26)}を利用して, 深部到達性の大きい高周波を用いて深部腫瘍を局所的・選択的に加温する試みがなされている^{15,26,29,49)}. 一般に循環血流量の少ない腫瘍は血流による cooling effect が小さく, 局所加温の場合正常組織より加温され易いということが, 腫瘍の選択的加温の根拠となっている. 従ってこの選択的加温は, 本来循環血流量の多い臓器においてより効果的に行うことができると考えられる. 脳は, 循環血流量が非常に多いことにより血液による正常脳組織に対する cooling effect が大きいことが期待され, 悪性脳腫瘍に対する高周波による局所的加温法は効果的な腫瘍の選択的加温をもたらすことが想定される. そこで今回著者は, 高周波発生装置を試作し, ラットおよびサル脳腫瘍モデルを用い高周波伝導加熱の抗腫瘍効果について検討し, 興味ある結果を得たので報告する.

方 法

1. 実験動物および腫瘍

ラットは, 著者らの施設で近交系を維持している Wistar King Aptekman を用い, 週齢は24~32, 体重は140~230 g で, 各群5~6匹, すべて雌を用いた.

腫瘍は Rous sarcoma virus の Schmidt-Ruppin 株で前記ラットに誘発した悪性神経膠腫²⁴⁾を株化したのちクローニングを行ったもの (50~65代) を用いた. 皮下移植は大腿部に, 25ゲージ・マイクロシリンジを用い, 腫瘍細胞を $8 \sim 10 \times 10^5$ 個を含む細胞浮遊液 10 μ l を注入した.

サル脳腫瘍は, 上記ウィルスを産生するヒヨコ肉腫細胞 $3 \sim 4 \times 10^7$ 個をカニクイザル (macaca irus) 10匹 (体重2.4~8.1kg) の脳内に接種して作成した³⁹⁾.

2. 高周波発生装置

周波数は, エネルギーができるだけ深部に到達するように, 医療用に許可されるもっとも低い 13.56 MHz を用い, 発振器は水晶制御で, 波形は連続波とした. 出力は 0~500 Watt まで連続可変でき, スプリアスは -40 db 以下に抑えた. 電力発生部にインピーダンス整合器を付加し, 整合回路は T 型とし, 両電極に流れる電流の平衡を取るためにバランスを接続した.

3. 加温方法と温度測定

1) ラット皮下腫瘍: テフロンで被覆した一対の直径 2 cm の円板電極で皮膚上より皮下腫瘍を挟み, 高周波を印加した. 腫瘍内温度は24ゲージ針のサーミスター (Yellow Springs Instrument Co., Inc., Yellow Springs, Ohio) を腫瘍のほぼ中心に刺入し, 腫瘍近傍の組織の温度は, アルコール温度計を腫瘍から約 5 cm 離れた所より皮下を通して腫瘍近傍でプレート間に入るように設置し測定した.

2) サル脳腫瘍: 直径 3.6 cm の上記電極を腫瘍がその間に挟まれるように両側の頭皮上に対称的に設置し, 高周波を印加した. 腫瘍内温度と正常脳の温度は, CT スキャン後上記 YSI のサーミスターを半定位的に腫瘍のほぼ中心とそれと対称部位の対側正常脳内とに刺入し, 測定した. なお, 脳内接種施行の約1カ月前に両側の頭蓋骨を広範に除去した.

そしていずれの場合も, 数分毎に高周波を切った状態で温度測定を行い, 同時に直腸温も測定した. 電極をテフロンで被覆したのは, コンデンサー電流を得るためである.

4. 放射線照射および抗癌剤投与法

レントゲン照射 (⁶⁰Co) は, Nembutal の腹腔内投与で麻酔後, 腫瘍局所に東芝 RI-120-2 形回転治療装置を用い, 線源-腫瘍間距離 75 cm, 線量率 90レントゲン/分で行った.

ACNU [化学名, 1-(4-amino-2 methyl-5-pyrimidinyl) methyl-3-(2-chloro ethyl)-3-nitrosourea hydro-

chloride] は生理食塩水にて目的とする濃度に希釈した後直ちに腹腔内に投与した。

5. CT スキャン

CT は EMI 1010, slice 幅 5 mm, 320 マトリックスにて行った。Contrast enhancement (C.E.) は 65% meglumine diatrizoate 15~20 ml を点滴静注し、投与終了後にスキャンを行った。

6. 脳波

Nembutal の浅麻酔下に疼痛刺激に反応する位覚醒してきた状態で、両側の前頭・頭頂・後頭部より 13 channel 脳波計 (日本光電株式会社) で記録した。

7. 治療効果の判定法

1) ラット皮下腫瘍：皮下移植後経時的に腫瘍体積を片対数グラフ上にプロットして腫瘍増殖曲線を求めた。なお腫瘍体積は腫瘍を楕円体とみなして $\pi abc/6$ で算出し、abc はノギスで測定した 3 方向の腫瘍径である。治療実験は、皮下移植後腫瘍径が 7~10 mm になった時開始し、それぞれの抗腫瘍効果は、腫瘍増殖曲線上である一定の大きさ (500, 1,000, 10,000 mm³) に増大するまでの日数 (growth time) と平均生存日数とで比較検討した (t 検定)。

治療実験後 6 匹のラットで腫瘍とその周辺の正常組織を、経時的に組織学的に検索した。

2) サル脳腫瘍：脳内接種したサルは毎日経過観察し、食思不振・片麻痺等の臨床症状の発現が認められた時点で CT スキャンを施行し、腫瘍が認められたサ

ルに生検を行い腫瘍を確認した。その後、Nembutal 25 mg/kg を静注し、気管内挿管した後、自発呼吸下で高周波加温を行い、臨床症状・CT スキャン・脳波にて経過観察し組織学的に検索した。

結 果

1. 腫瘍の選択的加温

1) ラット皮下腫瘍：腫瘍内・隣接した正常組織および直腸温の典型的な温度-時間図を Fig. 1 に示した。腫瘍内温度は高周波印加により上昇しはじめ、その上昇率は出力 (Watt) に比例した。腫瘍内温度が 40~45°C 位の時、腫瘍近傍の皮下に設置されたアルコール温度計は常に 2~5°C 低い値を示した。高周波印加時、直腸温は徐々に下降傾向が認められた。

2) サル脳腫瘍：脳内接種後脳腫瘍形成を認めたのは 10 匹中 6 匹で、そのうち 4 匹に計 6 回高周波加温を施行した。出力 (Watt) の上昇と共に脳の温度は上昇し、5 回 (3 匹) の加温で健側の正常脳にくらべて腫瘍内の温度が最高 10°C も高くなることを確認できた (Fig. 8)。残り 1 匹は腫瘍内の温度を測定することができなかった。正常脳の温度を指標にして高周波加温を行った。脳の温度上昇に伴って直腸温も徐々に上昇したが、正常脳の温度より上昇することはなかった。

脳腫瘍形成を認めた 6 匹のうち 2 匹は臨床経過の進展が早かったため高周波加温を施行することができず

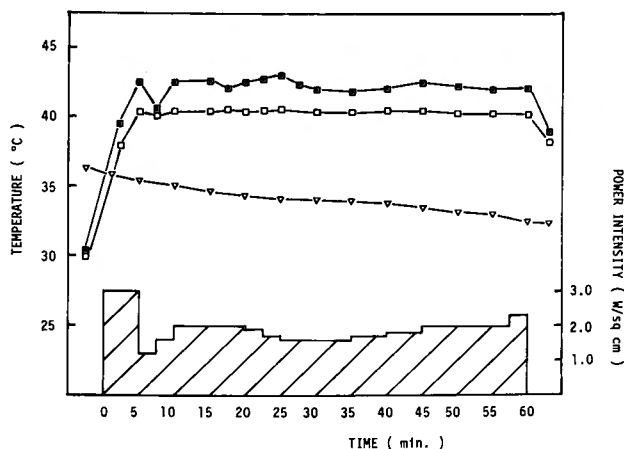


Fig. 1. Temperature profile during radiofrequency heating.
 ■: temperature in the subcutaneously transplanted tumor;
 □: temperature in the subcutaneous tissue;
 ▽: rectal temperature;
 hatched area, incident power level.

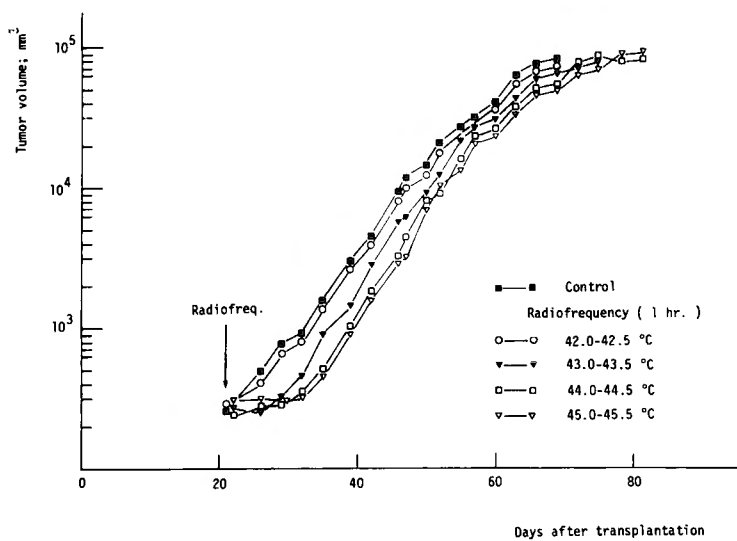


Fig. 2. Growth curve of the subcutaneous tumor following radiofrequency hyperthermia at 42-45°C for 1 hour.

それぞれ初発症状発現後10および11日目に腫瘍死した。

2. 抗腫瘍効果

1) ラット皮下腫瘍：

i) 高周波加温単独群の効果 (Table 1: Experiment No. 1~4)

a) 42.0~42.5°C, 43.0~43.5°C, 44.0~44.5°C, 45.0~45.5°C (以下それぞれ 42°C 群, 44°C 群, 45°C 群と表現する)-1 時間(1 hr.)加温の効果 (Fig. 2, Table 1: Experiment No. 1, 2)

42°C-1 hr. 群では、高周波加温後 1 週間位増殖曲線が横ばいになる例が認められ、growth time では10,000 mm³ のみに対照群に比し有意の差 (P<0.05) で増殖抑制が認められたが、対照群とほぼ同様のカーブで腫瘍増殖を続け腫瘍死した。

43°C, 44°C, 45°C-1 hr. 群では、高周波印加後約10 日間位増殖曲線の横ばいが認められ、腫瘍内温度が高くなるにつれて growth time (500, 1,000, 10,000 mm³) および生存日数の延長が有意の差 (p<0.05 or 0.01)

Table 1. Effect of radiofrequency hyperthermia on the growth of subcutaneously transplanted tumors and survival of the animals.

Experiment No.	Radiofrequency heating			Growth time (Days) ^{a)}			MST (Days) ^{b)}
	Temperature in tumor	(No. of rats)	Duration	500 mm³	1,000 mm³	10,000 mm³	
1.	Control	(6)	1 hr.	31.2±1.1	34.8±1.3	50.7±1.7	67.3±5.2
	42.0-42.5°C	(6)		31.8±1.1	35.5±1.0	53.0±1.3*	62.5±4.7
2.	Control	(5)	1 hr.	25.6±1.0	33.0±1.4	45.6±2.4	68.4±3.8
	43.0-43.5°C	(5)		32.2±2.0**	36.2±1.7*	51.0±1.7**	73.4±1.4*
	44.0-44.5°C	(5)		35.0±1.4**	38.4±1.9**	52.0±1.4**	79.2±2.9**
	45.0-45.5°C	(5)		36.0±1.4**	40.0±2.8**	52.2±0.8**	80.2±5.0**
3.	Control	(6)	3 hrs.	25.0±0.8	28.8±0.7	43.5±1.3	71.2±8.1
	42.0-42.5°C	(6)		32.5±1.0**	38.8±2.1**	58.8±5.2**	85.8±2.0**
4.	Control	(6)	1 hr. × 4	28.2±0.7	32.5±0.8	48.8±2.0	72.2±5.0
	Repeated 42.0-42.5°C	(6)		32.2±0.7**	41.7±2.5**	61.3±4.2**	86.7±9.2*

a) Mean±SD. b) MST: mean survival time. c) Significant difference from control. (*: P<0.05; **: P<0.01)

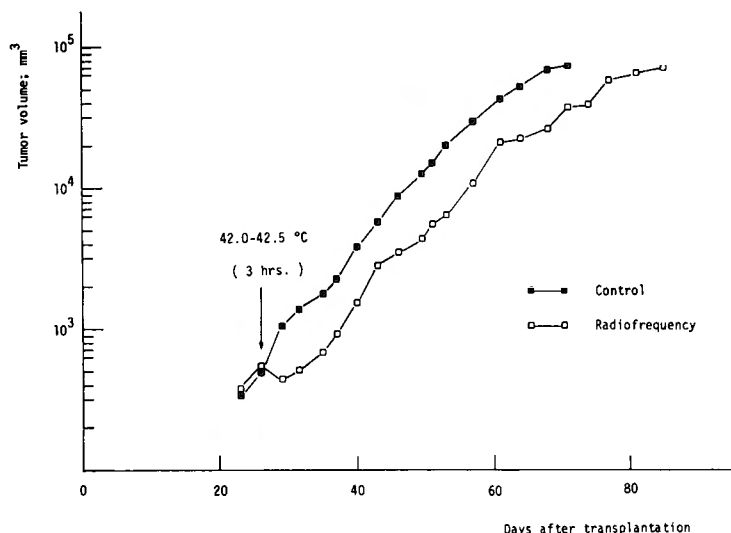


Fig. 3. Growth curve of the subcutaneous tumor following radiofrequency hyperthermia at 42°C for 3 hours.

で認められた。例えば、45°C 群では対照群と比べ growth time (500 mm³) で10.4日、生存日数で11.8日の延長を認めた。

局所の皮膚反応としては、皮下腫瘍直上の皮膚に高周波印加後2～3日して痂皮形成・壊死等が認められたが、大部分のものは約3週間で治癒した。

b) 42°C-3 hrs. 加温の効果 (Fig. 3, Table 1: Experiment No. 3)

次に、時間の要因を検討するため、1時間加温で殆ど抗腫瘍効果の認められなかった 42°C で3時間連続加温を行った。高周波印加後1週間位増殖曲線の下降が認められ、有意の差 ($p < 0.01$) で growth time (500, 1,000, 10,000 mm³) および生存日数に延長が認められた。

局所の皮膚反応は42°C-1hr. 群の時よりやや強い傾向が認められたが、3週間後には潰瘍を形成した2匹

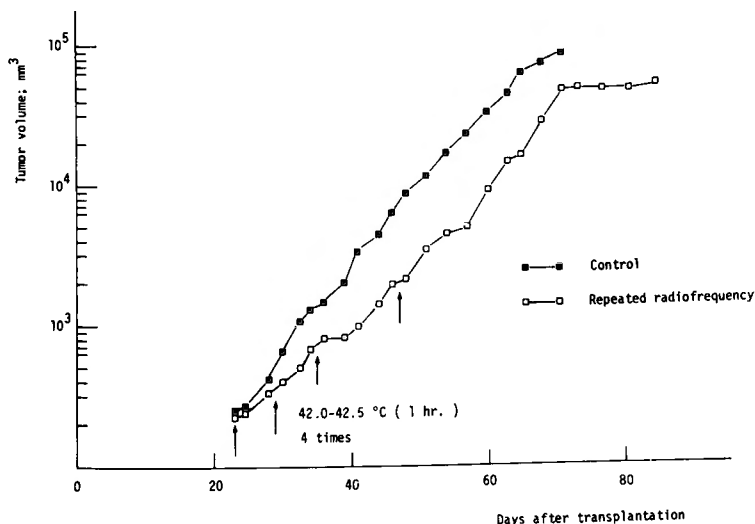


Fig. 4. Growth curve of the subcutaneous tumor following repeated radiofrequency hyperthermia of 42°C-1 hour.

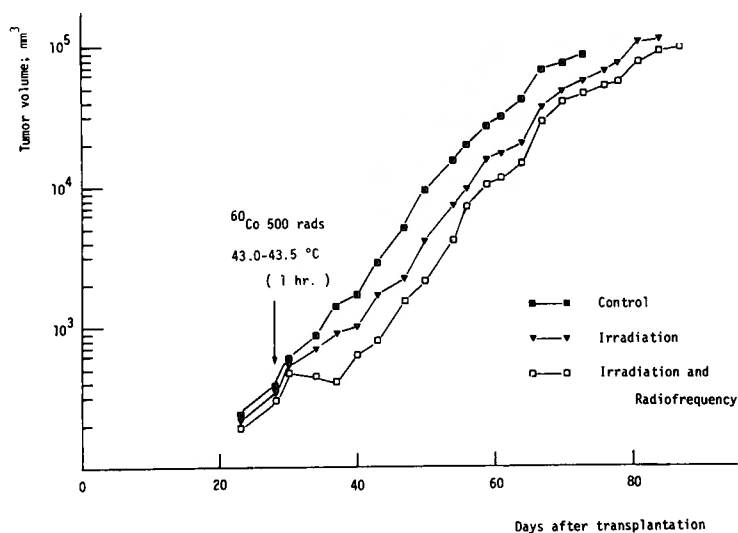


Fig. 5. Growth curve of the subcutaneous tumor following combination therapy of ⁶⁰Co irradiation and radiofrequency hyperthermia.

を除いて治療した。

c) 反復加温の効果 (Fig. 4, Table 1: Experiment No. 4)

反復加温の効果をみるために、移植後23, 29, 35, 47日目にそれぞれ 42°C-1 hr. で加温した。増殖曲線は、高周波加温毎に少しずつ横ばいとなり、有意の差 ($p < 0.01$ or 0.05) で growth time (500, 1,000, 10,000 mm³) および生存日数の延長が認められた。

局所の皮膚反応は、痂皮形成が認められる例もあったが、比較的軽度であった。

なお、高周波加温単独群では、体重減少は特に認められなかった。

ii) 放射線照射との併用効果 (Fig. 5, Table 2)

放射線 500rads を照射後ひき続いて高周波で 43°C-1 hr. 加温した。放射線照射単独群では、対照群に対

して growth time で 10,000 mm³ でのみ有意の差 ($p < 0.05$) で延長し、生存日数も有意の差 ($P < 0.01$) で延長を認めた。しかし高周波加温を併用することにより抗腫瘍効果は更に強く認められ、増殖曲線は治療後1週間位下降し、併用群は対照群に比して有意の差 ($p < 0.05$ or 0.01) で growth time (500, 1,000, 10,000 mm³) は延長し、生存日数も73.2日に対して86.6日と延長した。また放射線照射単独群に対しても有意の差 ($p < 0.05$; 0.01) で growth time (500, 1,000 mm³) の延長が認められた。

局所の皮膚反応は、高周波加温単独群と同程度に認められ、放射線併用による反応の差は特に認められなかった。体重減少は治療後1週間位軽度認められる例があった。

iii) ACNU との併用効果 (Fig. 6, Table 3)

Table 2. Effect of combination therapy of ⁶⁰Co irradiation and radiofrequency hyperthermia.

Experiment No.	Irradiation (⁶⁰ Co)	(No. of rats)	Radiofrequency heating		Growth time (Days) ^{a)}			MST (Days) ^{b)}
			Temperature ^{c)} in tumor	Duration	500 mm ³	1,000 mm ³	10,000 mm ³	
5.	Control	(5)			29.8 ± 0.7	35.0 ± 0.6	51.4 ± 1.0	73.2 ± 3.1
	500 rads	(5)			30.2 ± 0.8	37.8 ± 4.1	55.6 ± 2.3*	81.8 ± 4.7**
	500 rads	(5)	43.0-43.5 °C	1 hr.	38.2 ± 0.8***	43.4 ± 1.7**	59.6 ± 4.7*	86.6 ± 4.1**

a), b), c): see legends for Table 1.

d) Significant difference from group treated with irradiation only. (*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$)

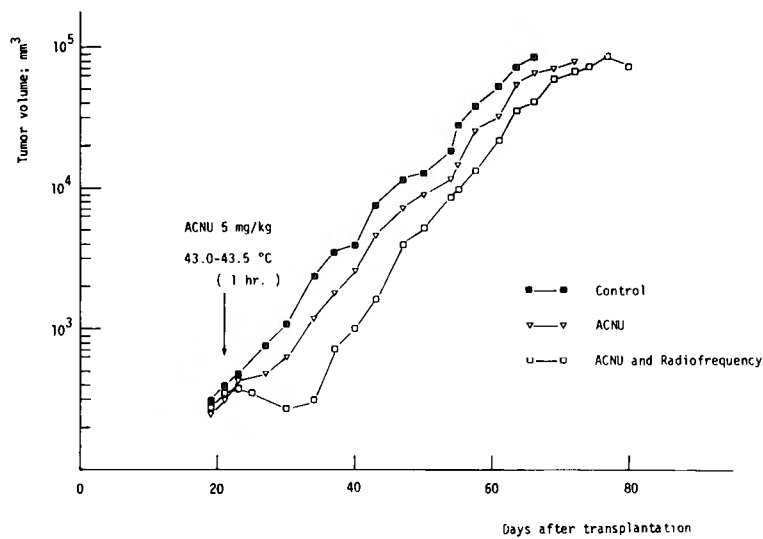


Fig. 6. Growth curve of the subcutaneous tumor following combination therapy of ACNU and radiofrequency hyperthermia.

Table 3. Effect of combination therapy of ACNU and radiofrequency hyperthermia.

Experiment No.	ACNU	(No. of rats)	Radiofrequency heating		Growth time (Days) ^{a)}			MST (Days) ^{b)}
			Temperature in tumor	Duration	500 mm³	1,000 mm³	10,000 mm³	
6.	Control	(5)			22.8 ± 0.8	29.6 ± 1.0	45.6 ± 1.9	65.6 ± 3.7
	5 mg/kg	(5)			28.6 ± 1.7**c)	33.2 ± 1.2**	52.2 ± 2.6**	71.8 ± 2.4
	5 mg/kg	(5)	43.0-43.5 °C	1 hr.	36.0 ± 1.1**††e)	39.8 ± 0.8**	55.0 ± 1.4**	79.6 ± 2.9**

a), b), c): see legends for Table 1.
e) Significant difference from group treated with 5 mg/kg of ACNU. (†: P<0.05; **: P<0.01)

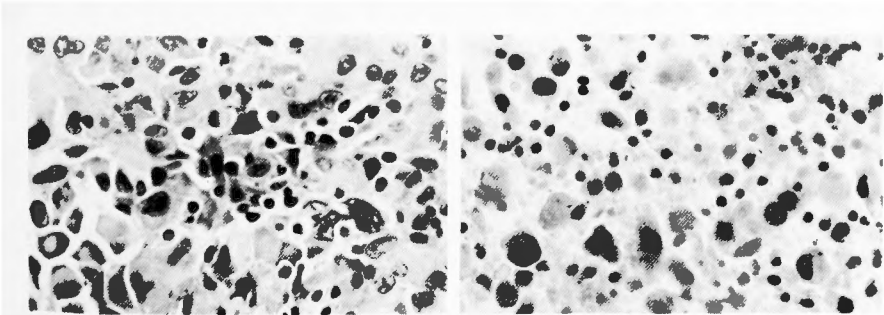


Fig. 7. left: A photomicrograph of histology of an untreated tumor. The tumor is composed predominantly of large bipolar elongated cells and round cells with large clear nuclei. Frequent mitoses are present. (Hematoxylin and eosin, ×400.)
right: A tumor treated with radiofrequency hyperthermia, one day after 43°C-1 hour heating. A coagulation necrosis and a marked infiltration of macrophages are recognized in the center of the tumor. (Hematoxylin and eosin, ×400.)

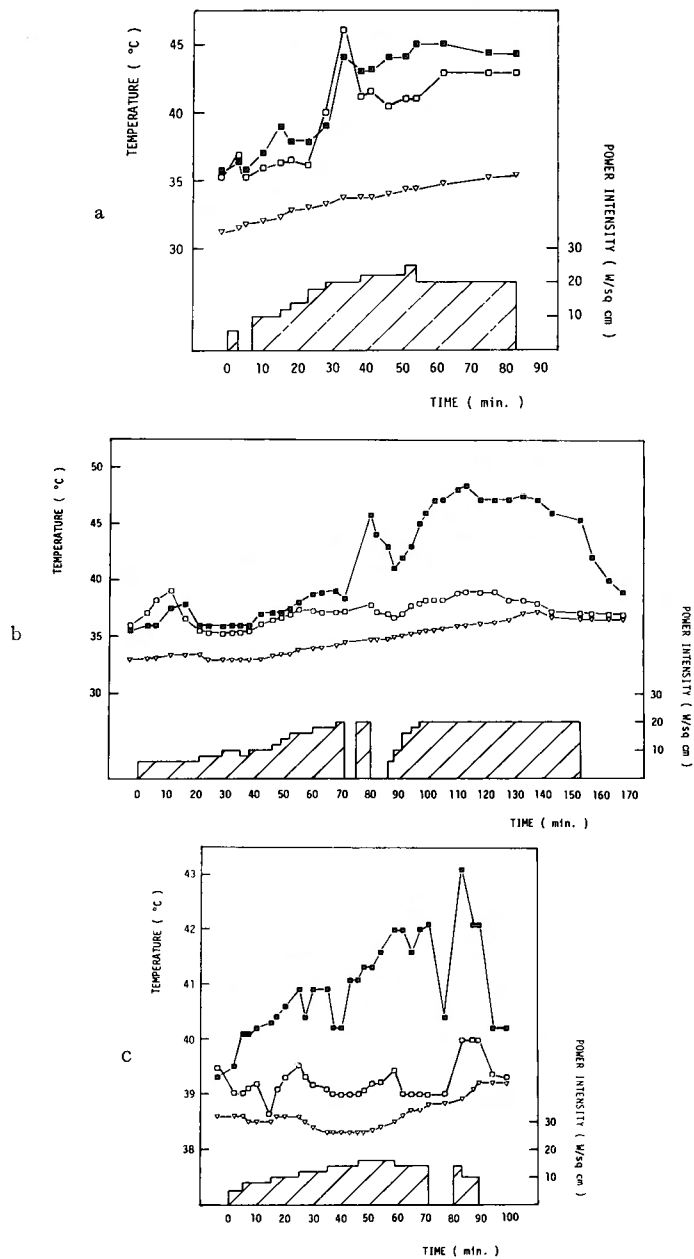


Fig. 8. Temperature profiles in the 1st (a), 2nd (b) and 3rd (c) radiofrequency heating of Monkey (No. 1) brain tumor.
■: temperature in the brain tumor;
□: temperature in the contralateral cerebral hemisphere;
▽: rectal temperature;
hatched area, incident power level.

ACNU 5 mg/kg を腹腔内投与し、ひき続き高周波で 43°C-1 hr. 加温した。ACNU 単独群では、対照群に対して有意の差 ($p<0.01$) で growth time (500, 1,000, 10,000 mm³) の延長が認められたが、生存日

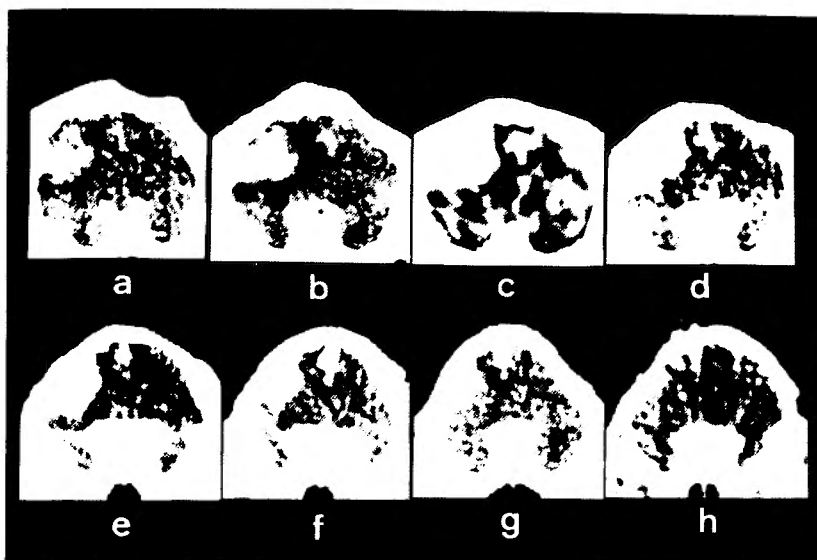


Fig. 9. Follow-up CT with contrast enhancement of the brain of Monkey No. 1. a: before R.F. heating (15th day after intracerebral inoculation of chicken sarcoma cells producing SR-RSV.); b: 2nd day after 1st R.F. heating; c: 6th day after 1st R.F. heating; d: 11th day after 2nd R.F. heating; e: 31st day after 2nd R.F. heating; f: 22nd day after 3rd R.F. heating; g: 29th day after 3rd R.F. heating; h: 74th day after 3rd R.F. heating (111th day after 1st R.F. heating.). A huge tumor in the right hemisphere completely disappeared after the treatment.

数に差はなかった。併用群では著明な抗腫瘍効果が認められ、治療後2週間くらい増殖曲線は下降し、対照群に対して有意の差 ($p < 0.01$) で growth time (500,

1,000, 10,000mm³) は延長し、生存日数も65.6日に対し79.6日と延長した。また ACNU 単独群に対しても有意の差 ($p < 0.01$ or 0.05) で growth time (500,



Fig. 10. A photomicrograph of coronal brain section in Monkey No. 1 shows a degenerated lesion in the right frontal lobe (the arrow) and no abnormal finding is seen in the contralateral cerebral hemisphere. (Kluver-Barrera stain)

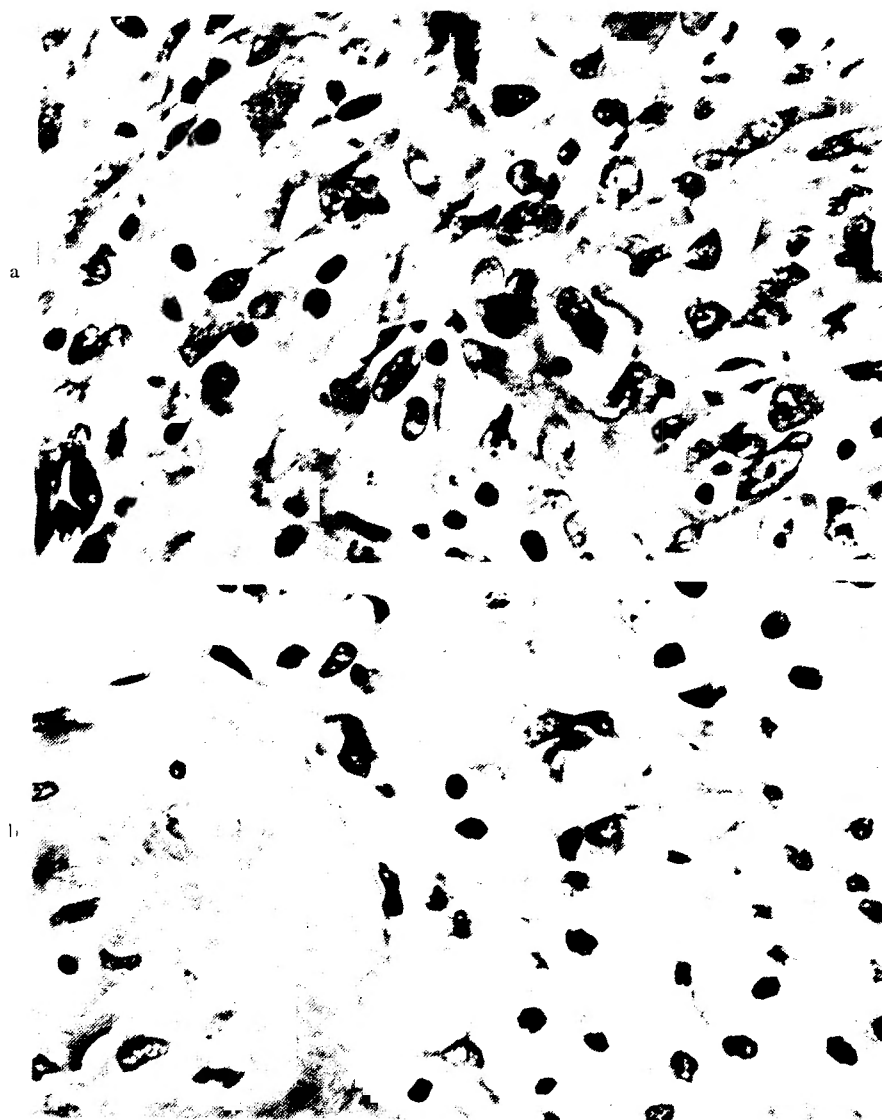


Fig. 11. Histology of the brain tumor in the Monkey No. 1.

- a) A photomicrograph of the biopsied specimen of the untreated tumor. The brain tumor is composed predominantly of large bipolar elongated cells and round cells with large clear nuclei. (Hematoxylin and eosin, $\times 400$)
- b) The tumor treated with radiofrequency hyperthermia was completely replaced by a gliosis-mesenchymal scar. (Hematoxylin and eosin, $\times 400$)

1,000 mm³)は延長し,生存日数も71.8日に対して79.6日と延長して認められた。

局所の皮膚反応は,併用群で43°C-1 hr.の高周波加温単独群よりやや強い傾向が認められたが,3~4週後には治癒した。体重減少はACNU単独および併用群において軽度減少が認められたが,両者の間に特

に差は認められなかった。

iv) 組織学的検索

42°C-1 hr.では腫瘍に散在性の壊死巣を認めたが,その程度は対照群にみられるのと同様であった。周辺の皮膚および筋組織には特に異常は認められなかった。

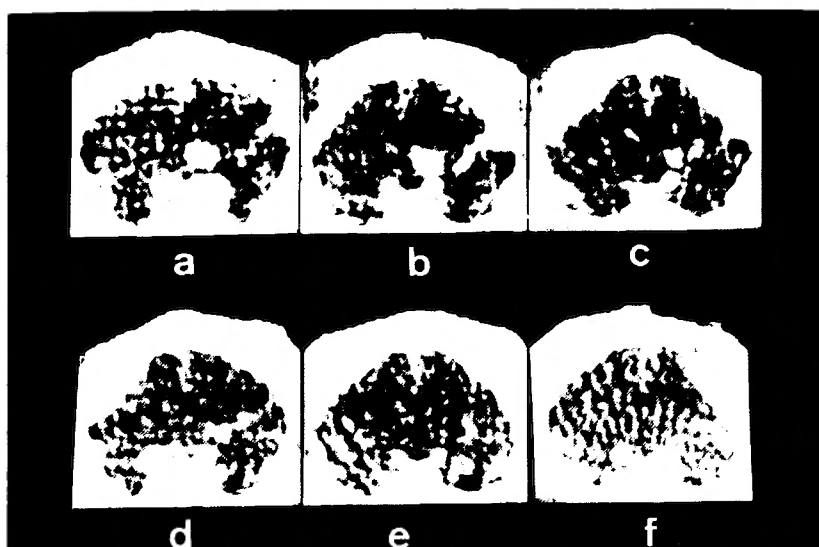


Fig. 12. Follow-up CT with contrast enhancement of the brain of Monkey No. 2.
 a: before R.F. heating (23rd day after intracerebral inoculation of chicken sarcoma cells producing SR-RSV.); b: immediately after R.F. heating; c: 8th day after R.F. heating; d: 12th day after R.F. heating; e: 33rd day after R.F. heating; f: 332nd day after R.F. heating.
 A tumor in the left basal ganglia completely disappeared after a single treatment by R.F. heating.

43°C-1 hr. では治療後24時間後に、腫瘍内に著明なマクロファージの浸潤を伴った中心壊死(凝固壊死)と腫瘍内血管のうっ血が認められた(Fig. 7). 腫瘍周辺の皮膚および筋組織に軽い浮腫を認めたが、明らかな壊死巣はなかった。

2) サル脳腫瘍:

高周波印加後呼吸は一般に温度の上昇につれて浅くゆっくりとなってくるが、腫瘍が視床下部〜基底核に存在し、正常脳の温度が41°Cまで上昇した Monkey No. 2 で thermal panting^{19,27)} が認められた。加温中 Monkey No. 1 を除いた3匹に呼吸停止が認められ、マンニトールの点滴静注と人工呼吸により2匹は自発呼吸が回復したが、Monkey No. 3 はその状態で死亡した。恐らく頭蓋内圧亢進が強かったところへ高周波加温を行い、更に頭蓋内圧亢進をきたしたため呼吸停止をきたしたと思われる。

高周波加温単独で2匹に臨床的かつ組織学的に完全治癒が得られたが、以下症例ごとに加温後の経過を述べる。

Monkey No. 1: 脳内接種後10日目頃より左片麻痺が出現し、15日目のCTにてC.E. lesion が右前頭葉に認められ生検にて腫瘍を確認した(Fig. 11, a). 翌日

第1回目の高周波加温(Fig. 8, a: 加温条件; 腫瘍内温度: 40~42°C, 70分, 正常側脳温度: 40°C 以下)を施行したが、CT上腫瘍は増大したため、第1回目の高周波加温後6日目に第2回目の高周波加温(Fig. 8, b: 加温条件; 腫瘍内温度: 40~48°C, 80分, 正常側脳温度: 39°C 以下)を施行した。その後腫瘍は、CT上やや縮小傾向を示し、臨床症状もおちついてきたが、再び臨床的に悪化し、CT上再増殖が疑われたので第2回目の高周波加温後31日目に第3回目の高周波加温(Fig. 8, c: 加温条件; 腫瘍内温度: 40~45°C, 55分, 正常側脳温度: 43°C 以下)を施行した。腫瘍は徐々に縮小し、これと平行して左片麻痺等の臨床症状および脳波の著明な改善が認められ、第3回目の高周波加温後74日目のCTで腫瘍はほぼ認められなくなった(Fig. 9)。この時点で剖検して組織学的検索を行った。

肉眼的には、腫瘍の存在した右中前頭回部に萎縮した凝固壊死巣が認められ、これと近接した大脳白質に局限した脱髄所見が認められた。右前頭部に軽い萎縮が認められたが、左大脳半球には特に異常所見は認められない(Fig. 10)。組織学的には、腫瘍は完全に gliomesenchymal scar におきかわっており、明らかな腫瘍細胞の残存は認められなかった(Fig. 11, b)。腫瘍

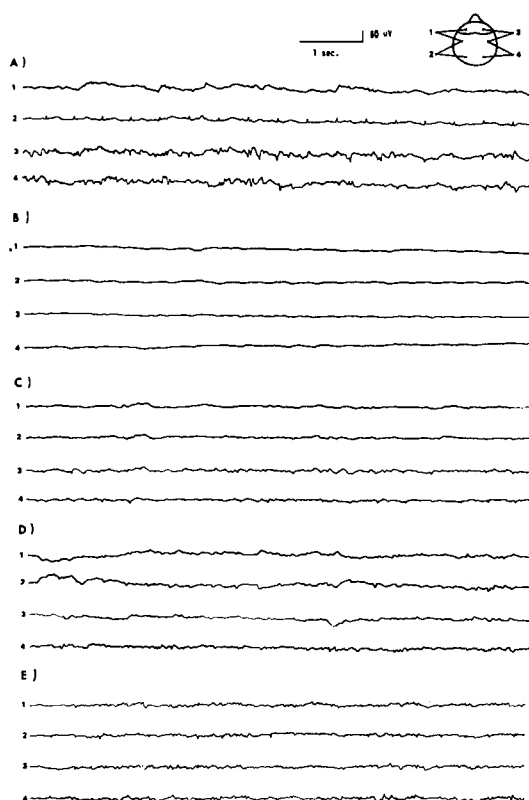


Fig. 13. Follow up EEG of Monkey No. 2. Records 1 and 2 shows EEG from the tumor side, and records 3 and 4, from the contralateral hemisphere. A) before treatment, the brain tumor shows a low voltage activity; B) immediately after R.F. heating, the both sides show almost flat EEG; C) 2nd hour after R.F. heating, the right side is recovering from flat activity; D) 12th day after R.F. heating, the tumor side (left side) is also recovering; E) 332nd day after R.F. heating, the both sides show 13-14 cps activity and no more distinct laterality.

側の大脳半球には腫瘍に近接した大脳白質内に限局した高度の gliosis が認められたが、対側の大脳半球には gliosis や変性所見は認められなかった。

Monkey No. 2: 脳内接種後23日目に食思不振、右片麻痺が出現し、CTにて左視床下部～基底核にC.E.を示す腫瘍が認められた。高周波加温は、サーミスターを腫瘍内にうまく入れることができなかったため、正常脳の温度を指標とすることとし、対側大脳半球白質を40～41°Cで、60分間加温した。加温直後のCTでは perifocal edema の著しい増加が認められた。その後腫瘍はCT上徐々に縮小傾向を示し、高周波加温後33日目にはほとんど消失した (Fig. 12)。これと平行して右片麻痺も徐々に改善し加温後3週頃には完全に消失した。

脳内接種後23日目の高周波加温前の脳波は明らかな左右差が認められ、右半球では11 cpsの基礎波に徐波の混入が認められたが、左半球では平坦化し基礎波の出現が抑制されて認められた。高周波加温直後の脳波は左右とも平坦化して認められたが、2時間後には再び右半球で11 cps 基礎波と徐波の混入が認められるようになった。高周波加温後12日目の脳波では左半球でも11 cpsの基礎波に徐波が混在して認められるようになり、332日目には左右共に13～14 cpsの基礎波が laterality なく認められるようになった (Fig. 13)。

約11ヵ月間の経過観察を行い、臨床およびCT上 (Fig. 12) 再発がみられなかったため、剖検して組織学的検索を行った。

剖検脳の肉眼的検索では、髄鞘染色標本を含めては

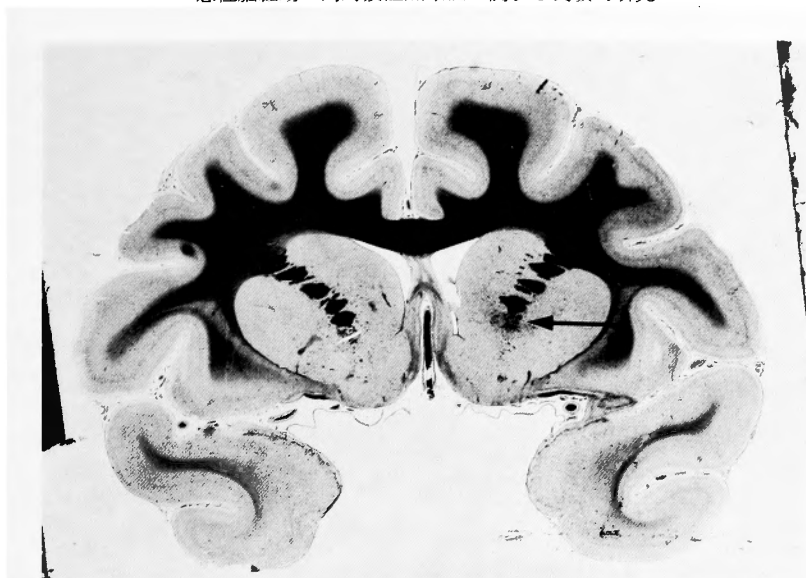


Fig. 14. A photomicrograph of coronal brain section in Monkey No. 2 shows no abnormal finding except a spot-like scar in the left basal ganglia (the arrow). (kluever-Barrera stain)

っきりした異常所見は認められなかった (Fig. 14). 組織学的には、腫瘍の存在した左基底核部に直径 1 mm の glio-mesenchymal scar が認められたが、腫瘍細胞は全く認められなかった (Fig. 15). そして上記 scar 周辺部に限局した軽い gliosis が認められた以外、他の正常脳組織には変性や gliosis 等の異常所見は認められなかった。

高周波加温直後に死亡した Monkey No. 3 (加温条件：腫瘍内温度：40～49°C, 50分, 正常側脳温度：39°C 以下, 出力：25 W/sq cm 以下) は剖検時腫瘍側大脳半球が voluminous となっており、著明な対側への shift をともなっていた。組織学的には、腫瘍細胞はまだ viable cells として認められ、変性壊死像は認められなかったが、腫瘍内の毛細血管は拡張うっ血しており、血管周囲への granulocytes と red cells の漏出が認められた。そして腫瘍側大脳半球で腫瘍部を中心にした広範な脳浮腫の所見が認められたが、他の正常脳組織には特に変性壊死像等の異常所見は認められなかった。

高周波加温後 3 日目に死亡した Monkey No. 4 (加温条件：腫瘍内温度：45～46°C, 60分, 正常側脳温度：39°C 以下, 出力：19 W/sq cm 以下) の剖検所見は、肉眼的には Monkey No. 3 と同様腫瘍側大脳半球の著しい腫脹を認めた。組織学的には、腫瘍は広範な変性壊死におちいっており、viable cells は辺縁部に一部

認められた。腫瘍内の毛細血管は拡張・うっ血し、腫瘍組織内への granulocytes の浸潤が認められたが、macrophages は未だ認められなかった。そして腫瘍側大脳半球で腫瘍部を中心にした広範な脳浮腫の所見が認められたが、他の正常脳組織には特に変性壊死像等の異常所見は認められなかった。

考 案

温熱療法の効果を検討する場合、重要なことは、適確に腫瘍を加温することと腫瘍内および隣接した正常組織の温度分布を正確に知ることと思われる^{6,28)}。今回用いた伝導針による温度測定の場合、高周波電流による伝導針自体の加熱と伝導針に誘導された電流が tele-thermometer にひろわれるため、実際の組織内温度よりも高値を示す。そこで測定の際生じる誤差を検討するため、高周波を切った後に温度測定を行った。われわれは、現在テフロンで被覆した thermocouples を用いることにより高周波印加中での連続温度測定を可能にしているが⁴³⁾、針温度計による脳の温度測定の際多数の針温度計を用いると、それによる組織破壊や出血の危険性が増すため、厳密な温度分布を測定するためには、将来無侵襲な三次元的温度測定法の開発が望まれる。

今回試作した高周波発生装置によって生体は効率よく加熱されたが、13.56 MHz という波長の性質上、生

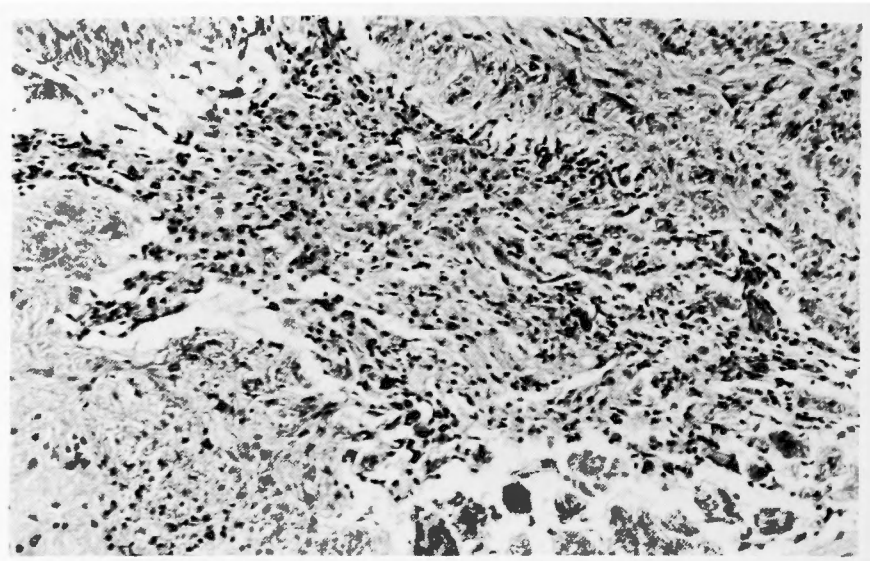


Fig. 15. Histology of the brain tumor in Monkey No. 2.
The tumor treated with radiofrequency hyperthermia is completely replaced by a glioma-mesenchymal scar. (Hematoxylin and eosin, $\times 100$)

体深部にまで効率よく高周波を印加するためには電極を生体に密着する必要があるが、サル脳腫瘍の場合腫瘍内温度を高めるために高出力を要したため、電極自体の発熱による皮膚組織の損傷が認められた。われわれは、現在電極を蒸留水で灌流する冷却装置を付加することによって、電極自体の発熱による皮膚損傷の問題は解決している。

サルでまもなく両側の頭蓋骨を除去したのは、高周波による頭蓋骨の選択的加温を予防し、脳内の熱分布をより均等にしようと試みたためである。

血液循環量の差を利用した高周波による腫瘍の局所的・選択的加温を考える場合、血液循環量の多い臓器ほど有利と思われる⁴⁹⁾。本実験でも、ラット皮下腫瘍では $2\sim 5^{\circ}\text{C}$ の温度差しか得られなかったが、サル脳腫瘍ではサル3匹で計5回に對側正常脳温に対して最高 10°C の腫瘍の選択的加温を得ることができた。

サル脳腫瘍で腫瘍の選択的加温が容易に得られたことは、逆に正常側脳に対して腫瘍の血流量が低下しているということを示していると考えられる。われわれがラット脳腫瘍を用いて予備実験を行った ^{14}C -Antipyrine オートラジオグラフィによれば、腫瘍部は周辺正常脳の白質部よりも循環血流量が低下していることを示したが、人脳腫瘍に対して高周波伝導加熱を応用し、腫瘍の選択的加温を試みようとする時、人脳腫瘍の血流量に関する検討が重要になる。貫井らは⁴⁰⁾、

^{68}Ga -EDTA dynamic study による検討で、神経膠腫部の循環血流量の低下を認めているが、 ^{133}Xe -clearance 法による従来の報告では、腫瘍部は逆に高値を示すといわれており、更に新しい方法で厳密な脳循環動態の検討が必要と思われる。また、加温時の温度変化に伴って正常組織と腫瘍の血流量は変化する^{11,12,20,48)}といわれており、担脳腫瘍状態での温度変化による正常脳と脳腫瘍の血流量の変化に関する検討も将来必要と思われる。

腫瘍細胞は正常細胞より温熱に対する感受性が高く^{7,14,21,41)}、また、その温熱感受性は実験腫瘍でも人癌由来細胞でも若干異なることが知られている^{7,29,41,47)}。In vivo における悪性神経膠腫の抗腫瘍効果を認める温度条件を検討することは、臨床的に温熱療法を考える時参考になると思われる。ラット皮下腫瘍において加温時間が1時間の場合、 43°C 以上に有意の差で抗腫瘍効果が認められたことによりその臨界温度は 43°C と思われ、サル脳腫瘍においても、腫瘍内の温度が 43°C に達しなかった Monkey No. 1 の第1回目の加温後、抗腫瘍効果が認められなかったこともこのことを支持していると思われた。しかし、 42°C でも3時間連続加温することにより有意の差で抗腫瘍効果が認められたことは、加温時間が温度と共に重要な因子になると思われた。Marmor²⁹⁾らは、13.56MHzの高周波加熱にて BALB/c mice の EMT-6 sarcoma の皮内

移植では、 44°C -5 min. で50%の治癒が認められたと述べているが、本研究で用いた Rous sarcoma virus 誘発腫瘍の完全治癒を得るためには、ラット皮下腫瘍では 50°C -1 hr. 以上を要し、周辺正常組織の損傷も強く認められた。

温熱療法の有利な点の一つとして反復加温できることが考えられており^{3,47)}、ラット皮下腫瘍において 42°C -1 hr., 4回の反復加温にて抗腫瘍効果の増大が認められ、またサル脳腫瘍においても Monkey No. 1 で抗腫瘍効果の増大が認められた。しかし、亜致死的に加熱された細胞は次の加熱に対して抵抗性を示す thermally induced thermal tolerance の問題が報告されており⁴⁷⁾、更に加熱の interval 等に関して検討が必要と思われる。

温熱による腫瘍細胞の選択的傷害の mechanism について Overgaard⁴¹⁾ らは、 $41\sim 43^{\circ}\text{C}$ では RNA 合成・タンパク合成阻害の結果 DNA 合成阻害がおり、 43°C 以上では腫瘍細胞は呼吸が抑制され嫌気性解糖が進んで乳酸が蓄積し、その結果 PH が低下してライゾーム活性が高まり腫瘍細胞は破壊され、前者は可逆的だが、後者は不可逆の効果で腫瘍細胞により選択的に認められ、in vivo における殺細胞効果にとって重要であると推論している。

温熱の抗腫瘍効果に関して immediate cell killing の他に delayed cell killing の効果が報告されており^{20,29)}。後者に対しては腫瘍血管の選択的破壊^{20,29)}や免疫反応^{29,36,45)}等による可能性が考えられている。

サル脳腫瘍で正常脳組織に損傷を与えることなく高周波加温単独で marginal zone を含めて著明な抗腫瘍効果が得られた最も大きな要因は、腫瘍の selective high temperature heating⁴⁹⁾ が容易に得られたためであると推測される。しかしラット皮下腫瘍でこの実験的脳腫瘍の完全治癒を得るためには 50°C -1 hr. 以上の条件が必要だったことを考慮すると、脳でさらに有利な条件が働いた可能性があると考えられる。脳は $41\sim 42^{\circ}\text{C}$ を境に脳血流量の低下・脳血管抵抗の増加・脳酸素消費量の低下等生理および代謝に変化をきたし、“hypoxic state” になるといわれており^{9,13,33,42)}、先に述べた Overgaard らの immediate cell killing の mechanism を考慮した場合、この脳機能の変化がサル脳腫瘍における抗腫瘍効果の増強に関与した可能性が考えられ、さらに検討を要すると思われた。

温熱療法は、放射線と併用することにより、より大きな抗腫瘍効果が得られるといわれている^{1,22,25,46)}。

本実験でも 43°C -1 hr. と 500 rads との併用で抗腫瘍効果の増大を認めたが、有効な相乗効果の得られる温度条件と放射線量との相関²⁵⁾ および併用時期^{25,46)} 等に関して更に検討を要すると思われる。

更に、温熱療法と抗癌剤との併用により synergism が認められるといわれているが^{17,23,34)}、抗癌剤および腫瘍の種類によってその併用効果は異っており、各抗癌剤で至適温度に差が認められる^{2,17,31)}。逆に、温熱療法を併用しても殺細胞効果の増強が認められない heat induced drug tolerance を示す薬剤がある¹⁸⁾。ACNU と温熱療法の併用効果に関して述べた報告はまだ認められないが、本実験で行った ACNU 5 mg/kg と 43°C -1 hr. との併用で著明な抗腫瘍効果が認められたことは、その有用性が充分期待されると思われる。

温熱療法は、intracranial mass lesion が存在しているときには、頭蓋内圧亢進を増強させる危険性があることが示唆されている^{8,32,44)}。本実験でも Monkey No. 1 を除いた 3 匹に高周波加温中呼吸停止が認められたが、外減圧部が非常に tense となりマンニトールの点滴静注にて 2 匹に自発呼吸の回復が認められたことにより、すでに存在した頭蓋内圧亢進状態が更に進行したためと思われた。高周波加温中に死亡した Monkey No. 3 および 4 の剖検所見より、加温された腫瘍部での脳浮腫の増強と Blood volume の増加がその原因と思われた。また Monkey No. 1 のように腫瘍が大きな割に 3 回の高周波加温中呼吸停止の認められなかった例もあり、更に検討が必要と思われた。

最後に、本実験で正常脳の温度が 41°C 以下に保たれていたと思われる Monkey No. 2 において高周波加温後脳波が flat を示し、2 時間後に回復してきたのは³³⁾、高出力の高周波による温熱以外の中枢神経系への一過性の影響も考えられるが、今後更に正常脳に及ぼす影響に関して検討を要すると思われた。

以上述べた様に多くの問題を残しているが、この実験的脳腫瘍をもつサルは、通常発症後約 2 週間以内に死亡し、放射線や種々の抗癌剤に対して抵抗性を示すきわめて悪性の脳腫瘍であることを考慮すると、高周波加温単独で正常脳組織に損傷を与えることなく完治しえた事実は注目すべきことと思われる。今後一つ一つ問題を解決してゆくことにより、将来、悪性脳腫瘍に対する有力な治療法の一つとなり得ると思われる。

結 語

高周波発生装置を試作し、その局所温熱療法の実験脳腫瘍に対する効果を、ラット皮下移植モデルとサル脳腫瘍モデルを用いて検討し、次の結論を得た。

1. 今回試作した高周波発生装置は、効率よく生体を加温した。
2. 高周波加温単独治療では、加温時間が1時間の時、その抗腫瘍効果を認める臨界温度は 43°C と思われ、温度が高くなるにつれて抗腫瘍効果は増大した。
3. 42°C でも加温時間を3時間に延長することによって抗腫瘍効果は増大し、温度と共に加温時間が重要な要因であると思われた。
4. 42°C -1 hr.; 4回の反復加温によっても抗腫瘍効果は加算的に増大した。
5. 43°C -1 hr. と ^{60}Co 500 rads または ACNU 5mg/kg との併用は、それぞれ単独の治療よりもより大きい抗腫瘍効果を認めた。
6. サル脳腫瘍モデルにおいて、高周波伝導加熱により正常側脳に対して最高約 10°C の腫瘍の選択的加温が可能であった。
7. 高周波加温単独で、正常脳組織に損傷を与えることなく実験的サル脳腫瘍を完治せしめることが可能であった。

稿を終るにあたり、終始御指導、御校閲を賜った恩師、新潟大学脳研究所脳神経外科学教室田中隆一教授、植木幸明名誉教授に深甚なる感謝の意を表します。また絶えず御教示、御指導を戴きました新潟大学工学部情報工学科斎藤義明教授並びに新潟大学脳研究所脳神経外科学教室鈴木康夫博士、関口賢太郎学兄、武田憲夫博士に心から謝意を表します。

なお、動物飼育では中央動物室景山辰丙氏、実験準備では脳神経外科関川和代氏、CT スキャンでは脳神経外科柴木充朗氏、写真撮影では上杉 清氏等スタッフ一同に御協力いただいたことを感謝いたします。

本論文の要旨の一部は、第19回日本癌治療学会総会；第40回日本脳神経外科学総会；第4回ハイパサーミア研究会と日米脳腫瘍治療カンファレンスにて報告した。

文 献

- 1) Brady I.W: Combined treatment technique in head and neck cancer. Radiation therapy, chemotherapy and hyperthermia. *Laryngoscope* **88**: 68-74, 1978.
- 2) Braun J, Hahn G.M: Enhanced cell killing by bleomycin and 43° hyperthermia and the inhibition of recovery from potentially lethal damage. *Cancer Res* **35**: 2921-2927, 1975.
- 3) Brett DE, Schloerb PR: Intermittent hyperthermia on Walker 256 carcinoma. *Arch Surg* **85**: 1004-1007, 1962.
- 4) Burton, CV, Mozley J.M, et al: Induction thermocoagulation of the brain: A new neurosurgical tool. *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering* **13**: 114-120, 1966.
- 5) Busch W: Ueber den Einfluss, welchen heftigere Erysepeln zuweilen auf organisierte Neubildungen ausueben. *Vehr Naturhist Verein Preussischen Rheinlande Westphalus* **23**: 28-30, 1866.
- 6) Caldwell WL: Clinical instrumentation requirement with a review of the perth hyperthermia experience. *Cancer Res* **39**: 2332-2335, 1979.
- 7) Cavaliere R, Ciocatto EC, et al: Selective heat sensitivity of cancer cells. Biochemical and clinical studies. *Cancer* **20**: 1351-1381, 1967.
- 8) Clasen RA, Pandolfi S, et al: Experimental study of relation of fever to cerebral edema. *J Neurosurg* **41**: 576-581, 1974.
- 9) Cullen SC, Weir EF, et al: The rationale of oxgen therapy during fever therapy. *Anesthesiology The Journal of The American Society of Anesthetists, INC* **3**: 123-130, 1942.
- 10) Cummins B, McIntosh I: Experiences with cerebral hemisphere hyperthermia in the treatment of malignant gliomas. *Br J Radiol* **49**(588): 1059-1060, 1976.
- 11) Eddy HA: Alterations in tumor microvasculature during hyperthermia. *Radiology* **137**: 515-521, 1980.
- 12) Emami B, Nussbaum GH, et al: Physiological effects of hyperthermia: Response of capillary blood flow and structure to local tumor heating. *Radiology* **137**: 805-809, 1980.
- 13) Frankel HM, Cain SM: Arterial and cerebral venous blood substrates concentrations during hyperthermia. *Am J Physiol* **210**: 1265-1268, 1966.
- 14) Giovannella BC, Morgan AC, et al: Selective lethal effect of supranormal temperatures on mous sarcoma cells. *Cancer Res* **33**: 2568-2578, 1973.
- 15) Giovannella BC, Stehlin JS, et al: Hyperthermic treatment of human tumors heterotransplanted in nude mice. *Cancer Res* **39**: 2236-2241, 1979.
- 16) Gleason CA, Wise BL, et al: Stereotactic localization (With computerized tomographic scanning), biopsy, and radiofrequency treatment of deep brain lesions. *Neurosurg* **2**: 217-222, 1978.
- 17) Hahn G.M, Braun J, et al: Thermochemotherapy: Synergism between hyperthermia ($42-43^{\circ}$) and adriamycin (or bleomycin) in Mammalian cell inactivation. *Proc Natl Acad Sci USA* **72**: 937-940, 1975.
- 18) Hahn GM: Potential for therapy of drugs and

- hyperthermia. *Cancer Res* **39**: 2264-2268, 1979.
- 19) Hockman CH: Temperature regulation: Central nervous system mechanisms. In Symposium on Malignant Hyperthermia, edited by Gordon RA, Britt B, et al, Springfield, Thomas CC Publisher 1973, pp 98-116.
- 20) Kang MS, Song CN, et al: Role of vascular function in response of tumors in vivo to hyperthermia. *Cancer Res* **40**: 1130-1135, 1980.
- 21) Kase K, Hahn GM: Differential heat response of normal and transformed human cells in tissue culture. *Nature* **255**: 228-230, 1975.
- 22) Kim JH, Hahn FW, et al: Local tumor hyperthermia in combination with radiation therapy. *Cancer* **40**: 161-169, 1977.
- 23) Kowal CD, Bertino JR: Possible benefits of hyperthermia to chemotherapy. *Cancer Res* **39**: 2285-2289, 1979.
- 24) Kumanishi T: Brain tumors induced with Rous sarcoma virus, Schmidt-Ruppin strain. 1. Induction of brain tumors in adult mice with Rous chicken sarcoma cells. *Jpn J Exp Med* **37**: 461-474, 1967.
- 25) Leith JT, Miller RC, et al: Hyperthermic potentiation: Biological aspects and applications to radiation therapy. *Cancer* **39**: 766-779, 1977.
- 26) LeVein HH, Wapnick S, et al: Tumor eradication by radiofrequency therapy: Response in 21 patients. *J Am Med Assoc* **235**: 2198-2200, 1976.
- 27) Lim PK, Grodus FA: Control of thermal panting. *Am J Physiol* **180**: 445-449, 1955.
- 28) Luk KH, Philips TL: Thermal dosimetry and clinical requirements. *Cancer Res* **39**: 2300-2303, 1979.
- 29) Marmor JB, Hahn N, et al: Tumor cure and cell survival after localized radiofrequency heating. *Cancer Res* **37**: 879-883, 1977.
- 30) Marmor JB, Pounds D, et al: Treatment of superficial human neoplasia by local hyperthermia induced by ultrasound. *Cancer* **43**: 188-197, 1979.
- 31) Marmor JB: Interactions of hyperthermia and chemotherapy in animals. *Cancer Res* **39**: 2269-2276, 1979.
- 32) Martucci AA, Hadden SB, et al: Further studies with transcranial diathermy. *Arch phys ther X ray & Rad* **18**: 426-430, 1937.
- 33) Meyer JS, Handa J: Cerebral blood flow and metabolism during experimental hyperthermia (fever). *Minnesota Medicine* **50**: 37-44, 1967.
- 34) Meyn RE, Corry PM, et al: Thermal enhancement of DNA damage in Mammalian cells treated with cis-diammine dichloroplatinum (II). *Cancer Res* **40**: 1136-1139, 1980.
- 35) Moidel RA, Wolfson SK, et al: Materials for selective tissue heating in a radiofrequency electromagnetic field for the combined chemothermal treatment of brain tumors. *J Biomed Mater Res* **10**: 327-334, 1976.
- 36) Mondovi B, Santoro AS, et al: Increased immunogenicity of Ehrlich ascites cells after heat treatment. *Cancer* **30**: 885-888, 1972.
- 37) Natus HC, Fowler GA, et al: A review of the influence of bacterial infection and of bacterial products (Coley's toxin) on malignant tumor in man. *Acta Med Scand* **276** (Suppl.) Stockholms, 1953.
- 38) Nelson AJM, Holt JAG, et al: The problem of clinical hyperthermia. *Aust Radiol* **21**: 21-30, 1977.
- 39) Nishida K: Rous sarcoma virus, Schmidt-Ruppin 株による実験的サル脳腫瘍. *神経研究の進歩* **20**: 332-343, 1976.
- 40) 貫井英明, 山本八十一, 他: Positron Emission Tomography: 特に脳腫瘍症例における ^{68}Ga -EDTA Positron Emission Tomography を中心として. *Neurol Med Chir* **19**: 941-954, 1979.
- 41) Overgaard J: Effect of hyperthermia on malignant cells in vivo. A review and a hypothesis. *Cancer* **39**: 2637-2646, 1977.
- 42) Raisis JE, Kindt GW, et al: The effect of temperature on cerebrovascular resistance and cerebral metabolism in the primate. In *Blood Flow and Metabolism in the Brain* edited by Harper AM, Jennett WB, et al, New York, Churchill Livingstone 1975, pp 11-36-11-37.
- 43) 齊藤義明, 木竜 徹, 他: Radiofrequencyを用いた生体加温装置の改良. 第4回ハイパーサーミア研究会, 1981.
- 44) Saleman M, Samaras GM, et al: Whole body hyperthermia: Potential hazards in its application to glioblastoma. In *Multidisciplinary Aspects of Brain Tumor Therapy* edited by Paoletti P, Walker MD, et al, Amsterdam, Elsevier, North-Holland Biomedical Press 1979, pp 351-356.
- 45) Schechter M, Stowe SM, et al: Effects of hyperthermia on primary and metastatic tumor growth and host immune response in rats. *Cancer Res* **38**: 498-502, 1978.
- 46) Selawry OS, Carlson JC, et al: Tumor response to ionizing rays at elevated temperatures. A review and discussion. *Am J Roentgenol* **80**: 833-839, 1958.
- 47) Selawry OS, Goldstein MN, et al: Hyperthermia in tissue-cultured cells of malignant origin. *Cancer Res* **17**: 785-781, 1957.
- 48) Song CW, Hang KS, et al: The effect of hyperthermia on vascular function, P.H. and cell

- survival. *Radiology* **137**: 795-803, 1980.
- 49) Storm FK, Harrison WH, et al: Normal tissue and solid tumor effects of hyperthermia in animal models and clinical trials. *Cancer Res* **39**: 2245-2251, 1979.
- 50) Sutton CH: Comparison of methods for producing hyperthermia in malignant brain tumor. In *The Third International Symposium: Cancer Therapy by Hyperthermia* edited by Dethlefsen LA, Colorado, 1980, p 137.
- 51) 田中隆一, 金 忠弘, 他: 高周波ハイパーミアによる脳腫瘍の治療. 第4回ハイパーミア研究会, 1981.