

## マウス移植腫瘍における radiofrequency 波での温熱処理による腫瘍増殖に対する抑制効果

林 正 信・植 田 篤 樹・猪 俣 勝 人・遠 藤 大 二

### Inhibitory Effect of Radiofrequency Thermotherapy on Tumor Growth in Mouse

Masanobu HAYASHI, Atsuki UEDA, Katsuto INOMATA and Daiji ENDOH

(May 2003)

#### 要 約

本実験では、radiofrequency (RF) 波を利用した加温装置を用いて、小動物において適切な範囲を加温できるかどうかについて検討するとともに、マウス移植腫瘍を用いて腫瘍の増殖率と腫瘍移植マウスの生存日数に対する温熱処理効果を検討した。

加温開始後、電極の中心部におけるマウス皮下組織の温度は設定温度である 43°C に数分で上昇した後、安定して 43°C で維持され、加温停止とともに 1 分以内に周囲の組織の温度まで低下した。また、電極外縁から 5 mm 離れた部位では温度の上昇は認められなかった。これらの結果は RF 波の利用によって適切な局所加温を行えることを示した。

マウス線維肉腫由来 QRsp-11 細胞を  $5 \times 10^5$  または  $1 \times 10^6$  個 C57BL/6 マウス皮下に移植後 7 日目に 43°C で 30 分、60 分、90 分間の温熱処理を施した。温熱処理後 8 日目までの腫瘍の増殖は処理しなかった場合と比較して抑制された。30 分ならびに 60 分処理で処理しなかった場合と比較して増殖は有意に抑制されたが、90 分処理では抑制効果は減少して処理しなかった場合と有意差は見られなかった。腫瘍を移植されたマウスの平均生存日数は温熱処理を行った場合と行わなかった場合で有意な差は認められなかった。

#### Abstract

Effects of radiofrequency (RF) thermotherapy on tumor growth in mouse were investigated using heating instrument RF I.V. Temperature in subcutaneous tissues under the center of electric plate applicators went up to 43°C within a few

minutes after RF heating and maintained from 41 to 45°C during heating. The temperature quickly dropped to 25°C within 1 min when RF heating was turned off. The temperature in subcutaneous tissues at 5 mm outside of the electric plate applicators did not rise during RF heating.

When C57BL/6 mice that were subcutaneously implanted QRsp-11 cells, a malignant mouse fibrosarcoma cell clone, were treated with RF heating at 43°C for 30, 60 and 90 min at 7 days post-implantation, the tumor growth in RF-heating mice were more slowly than that in untreated mice. Significant inhibitory effects on tumor growth were observed by heat treatment for 30 and 60 min, but did not for 90 min. No significant differences were observed in the mean survival time between heat-treated and untreated mice.

#### I. 緒 論

腫瘍組織を局所的に 42~43°C で加温することで腫瘍を制御する治療方法が温熱療法で、ハイパーサーミアとも呼ばれている。医学においては臨床で温熱療法単独もしくは放射線治療や化学療法と併用して使用され<sup>(11,12,18,24)</sup>、多くの基礎研究もなされている。温熱療法が腫瘍の治療に使用されている理由は腫瘍細胞は正常組織に比べて一般的に温熱感受性が高いためである<sup>(19)</sup>。腫瘍細胞の温熱感受性が高い理由としては、i) 一般に腫瘍組織は正常組織に比べて pH が低く、低い pH の細胞は温熱感受性が高いこと。ii) 腫瘍組織には低酸素細胞の含まれる割合が正常組織よりも高く、低酸素細胞は高い温熱感受

性を有すること。iii) 温熱処理効果は処理時における温度上昇の速度が速いほど効果が大きいとされており、正常組織では加温時に血流が増加し、それが組織温度の上昇を妨げるのに対し、腫瘍組織では加温されても血流はほとんど増加しないか、逆に低下し、血流による冷却効果が起こらないため組織の温度が容易に上昇することなどが示されている。また、全身の体温が42～43℃に上昇すると脳や肝臓などの組織に障害を生じる恐れがあるが、局所的な加温であればそのような障害は起こらないと考えられ、温熱療法で使用される温度範囲では正常組織にほとんど副作用は見られていない。さらに、温熱療法は放射線治療と組み合わせて使用されているが、この理由としては、温熱処理と放射線の作用に相乗効果が認められること<sup>(8,15)</sup>や放射線に対して抵抗性を示す低酸素細胞や細胞周期がS期の細胞が温熱処理に対しては感受性が高いため両者を併用することで相補的な腫瘍致死効果が期待できること<sup>(2,7,14,20,28)</sup>などがある。このように腫瘍の温熱療法は医学ではかなり広範に使用されているが、局所的には熱さや痛みを伴う場合があり、また、1回あたりの加温時間が長いなどの問題点も指摘されている。

温熱療法で用いられている加温方法にはいくつかの方法があるが、現在、電子レンジなどに使用されているマイクロ波やRadiofrequency波(RF波)を利用する方法が一般的に使用されている。RF波の加温原理は、組織をはさんだ両電極に通電されるRF波によって、組織の双極子およびイオンが1秒間に約800万回の急速な回転、移動動作を起こし、局所に摩擦熱を発生させるというものである。

本研究では、また獣医学分野ではあまり適用されていない腫瘍の温熱療法の基礎的検討を行うことを目的として、マウス移植腫瘍を使用してRF加温時における組織の加温状況や温熱処理による腫瘍増殖の抑制効果について検討を行った。

## II. 材料と方法

### 1. マウス

本実験で用いた腫瘍細胞と同じ主要組織適合性抗原を有するC57BL/6マウスを三共ラボ(株)から購入し、放射線獣医学教室動物飼育フードを用いて、25℃で12時間の明暗サイクル条件下で飼育した。餌(マウス・ラット用MFフード、日本農産工業(株)および飲水は自由摂取させた。本実験は酪農学園大学獣医学部実験動物委員会承認された動物実験計画書に基づいて実施された。

### 2. 腫瘍細胞と培養

本実験では北海道大学腫瘍制御研究所・岡田太博士より分与して頂いたQRsp-11細胞を使用した。QRsp-11細胞はC57BL/6マウスをメチルコランレン処理後、誘発された線維肉腫の培養クローンから確立された可移植性の悪性化癌細胞である<sup>(10,21)</sup>。

細胞は、10%牛胎児血清を含むEagleの最小必須培地で単層培養した。培養は、炭酸ガス培養器(5%CO<sub>2</sub>)中、37℃で行った。

### 3. 腫瘍細胞の移植と腫瘍の増殖率の測定

QRsp-11細胞を $5 \times 10^6$ もしくは $1 \times 10^7$ 個/mlとなるように滅菌生理食塩水で希釈して細胞懸濁液を調製した。この細胞懸濁液0.1mlを剃毛、消毒し、ペントバルビタール(ネプタール、大日本製薬(株))で麻酔したC57BL/6マウスの背側皮下に接種した。腫瘍細胞を移植したマウスの腫瘍部位の短径と長径をノギスで測定し、腫瘍の体積は次の近似式<sup>(23)</sup>を用いて算出した。

$$V = (W^2 \times L) / 2 \quad (V: \text{体積} \quad W: \text{短径} \quad L: \text{長径})$$

移植7日目の腫瘍体積を1として移植7日目以降の腫瘍体積の相対値をその後の日数に対して対数でプロットし、腫瘍増殖曲線を作成した。

### 4. 温熱処理

マウスの温熱処理はRF加温装置(山本ビニター社製サーモトロンRF I.V, 平成12年度私立学校施設整備費補助金で購入)を使用した。マウス局所における加温状況を測定するためにペントバルビタールで麻酔したC57BL/6マウスの背側皮下に加温用電極板の中心部と電極板の外縁から5mm離れた部位にそれぞれ温度測定用センサーを挿入した。両部位の温度を加温開始から1分毎に50分間、加温停止から10分間測定した。

$5 \times 10^5$ および $1 \times 10^6$ 個のQRsp-11細胞をC57BL/6マウスの背側皮下に接種した後、7日目にRF加温装置を用いて43℃で30～90分処理した。対照は腫瘍を移植し、加温処理を行わなかったものとした。温熱処理をする際の腫瘍の径が10～20mmであったので、上下共30mmの電極板を使用した。

## III. 成 績

### 1. マウスにおける加温状況

上下の電極板の大きさの組み合わせを変えてRF波による加温を行い、皮下に挿入した温度センサーによって皮下組織の温度変化について測定した。い

ずれの電極板の組み合わせでも電極の中心部では加温開始後 1～2 分で設定された温度である 43℃ に到達した(図 1)。加温している間の電極中心部の温度変化の範囲は± 2℃ 程度であった。また、加温を停止すると、局所温度は 1 分以内に周辺組織の温度まで低下した。電極外縁から 5 mm 離れた部位では温度の上昇は認められなかった。

## 2. 移植腫瘍の増殖特性

QRsp-11 細胞を C57BL/6 マウスの背側皮下に  $5 \times 10^5$  個または  $1 \times 10^6$  個移植した。移植後 7 日目までは腫瘍組織の大きさが小さく、短径と長径の正確な測定が難しかったので、移植後 7 日目の腫瘍の大きさを基準とした。 $5 \times 10^5$  個の細胞を移植した場合の典型的な増殖曲線を図 2 に示した。この場合には移植後 7 日目の大きさの約 100 倍になるまで腫瘍の大きさは指数関数的に増加し、その後、増加速度は減少した。倍加時間は 2～4 日とマウスによって差が見られた。また、移植後の生存期間も 25～35 日と 10 日程度の差が見られた。実験は 1 群当たり 3～4 匹のマウスに  $5 \times 10^5$  個または  $1 \times 10^6$  個の細胞を移植し、それぞれの移植細胞数で 2 回繰り返した。 $5 \times 10^5$  個の細胞を移植した場合と  $1 \times 10^6$  個の細胞を移植した場合で腫瘍組織の増殖曲線に顕著な差は認められなかった(結果は図示せず)。以下の成績は  $5 \times 10^5$  個の細胞を移植した結果を示した。

## 3. 移植腫瘍の増殖に対する温熱処理効果

QRsp-11 細胞を C57BL/6 マウスの背側皮下に  $5 \times 10^5$  個移植し、移植後 7 日目に RF 加温装置で 43℃ で 30 分、60 分、90 分間それぞれ 1 回の温熱処理を実施した。図 3 に示したように、処理後 8 日目までの腫瘍の増殖は加温処理しなかった場合と比較して抑制された。30 分ならびに 60 分処理で処理しなかった場合と比較して増殖は有意に抑制されたが、90 分処理では抑制効果は減少して処理しなかった場合と有意差は見られなかった。

## 4. 腫瘍移植マウスにおける生存日数に対する温熱処理効果

上記 3. に記載した条件で温熱処理を施した腫瘍移植マウスの平均の生存日数を図 4 に示した。平均生存日数は移植後、温熱処理を施さなかったマウスで  $29.8 \pm 8.8$  日、温熱処理時間が 30 分、60 分、90 分のマウスでそれぞれ  $35.1 \pm 9.1$  日、 $29.3 \pm 7.6$  日、 $34.8 \pm 10.2$  日であった。30 分と 90 分処理で温熱処理を行わなかったマウスに比べて 5 日ほど長い平均生存日数を示したが、有意差ではなかった。

## IV. 考 察

腫瘍細胞は一般に正常組織細胞と比較して温熱処理に対して感受性が高いと考えられており、42～43℃ で 30～60 分間腫瘍局所を加温する温熱療

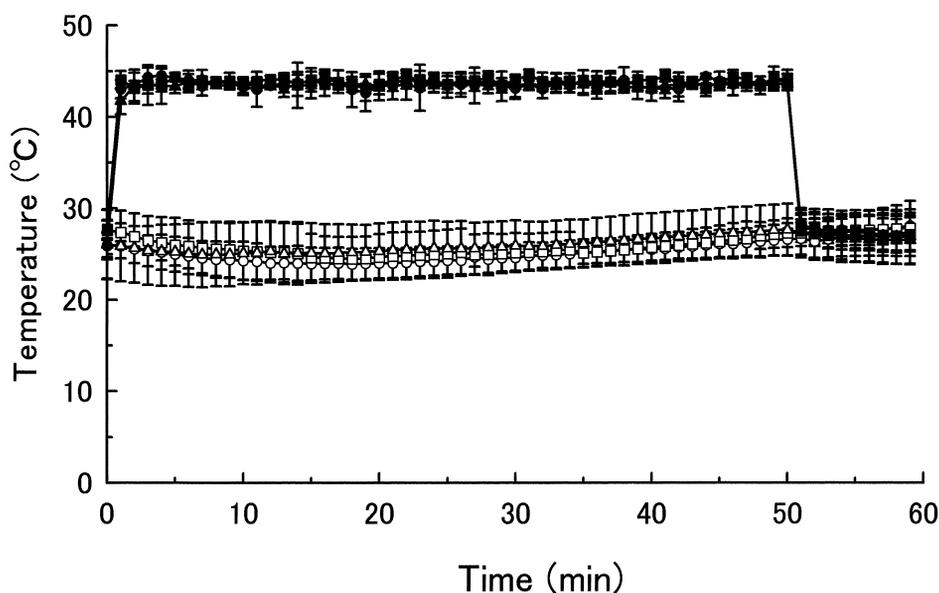


Fig. 1. Temperature changes in subcutaneous tissues during RF heating. Temperature in subcutaneous tissues of mice at the center (●, ■, ▲) and 5 mm outside (○, □, △) of the electric plate applicators was monitored. Sizes of upper and bottom plate applicators were 30 mm and 20 mm (○, ●), 20 mm and 30 mm (□, ■), and 30 mm and 30 mm (△, ▲). Points represent the average of three separate experiments. Error bars represent the standard deviation of the mean values.

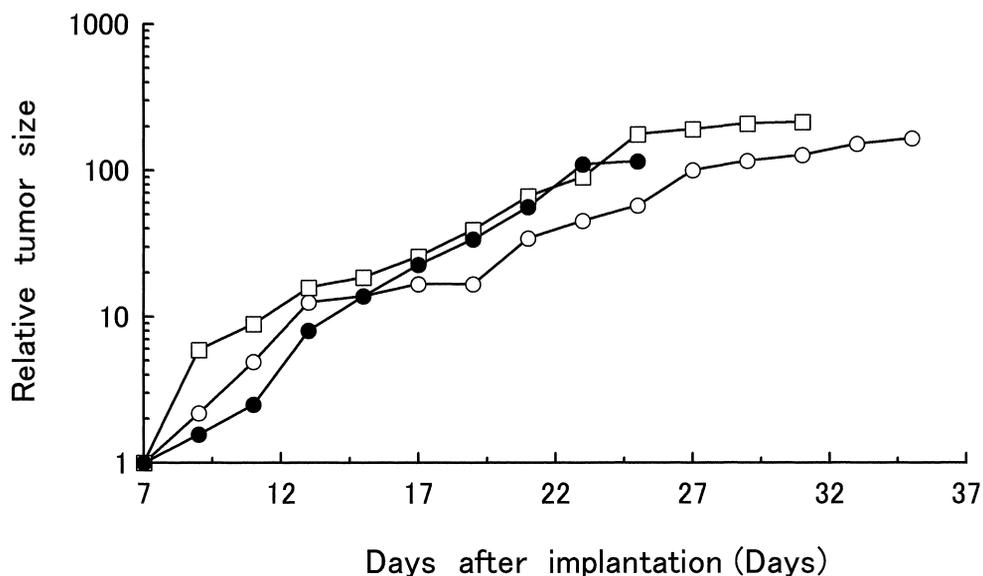


Fig. 2. Tumor growth curves in mouse. Tumor sizes were measured in the separate three mice (○, ●, □) that were implanted  $5 \times 10^5$  QRsp-11 cells. Relative tumor size was normalized in such a way that volume of tumor tissue at 7 days post-implantation was 1.0. Mice died at the endpoint of each growth curve.

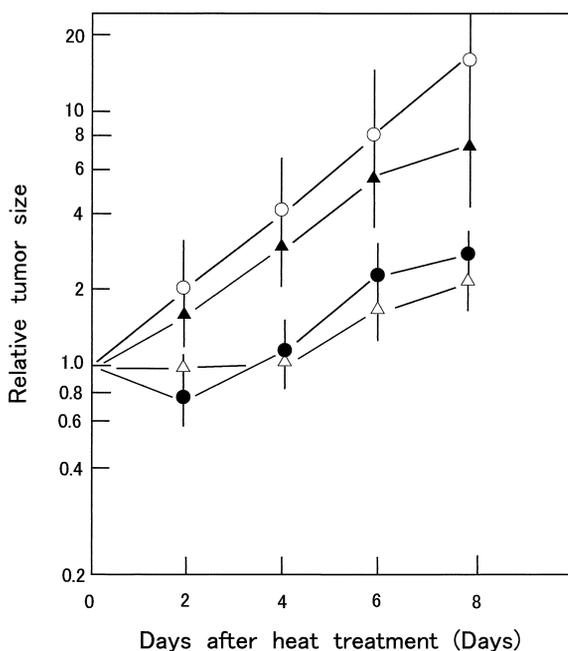


Fig. 3. Effects of heat treatment on tumor growth in mice implanted QRsp-11 cells. Tumor sizes in mice that were implanted  $5 \times 10^5$  QRsp-11 cells were measured at each day post-heat treatment. Heat treatment was carried out at  $43^\circ\text{C}$  for 0(○), 30(●), 60(△) and 90(▲) min at 7 days post-implantation. Relative tumor size was normalized in such a way that volume of tumor tissue at 7 days post-implantation was 1.0. Error bars represent the standard deviation of the mean values ( $n=3-4$ ).

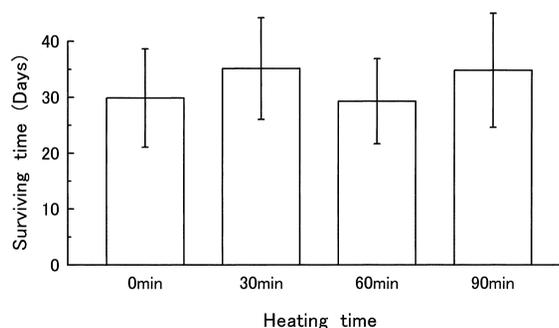


Fig. 4. Effects of heat treatment on survival time of mice implanted QRsp-11 cells. The mice that were implanted  $5 \times 10^5$  QRsp-11 cells were heated at  $43^\circ\text{C}$  for 0-90 min at 7 days post-implantation. Error bars represent the standard deviation of the mean values ( $n=3-4$ ).

法がヒト癌治療ではすでに広範に実施されている。また、温熱療法は放射線や化学療法剤と併用することで、より大きな治療効果が得られる場合も示されており<sup>(4,5,13,22,27)</sup>、獣医学分野においても有効な腫瘍治療法であると考えられる。しかしながら、腫瘍細胞の温熱感受性は細胞によって異なり、また、*in vitro*では効果が得られた場合でも *in vivo*での適用では効果が認められない例も示されており、実際の臨床応用の前に適切な加温条件の設定や種々の腫瘍における温熱感受性などの基礎的検討が必要であると考えられる。

本研究では加温が局所的であり、処理温度まで到達する時間が短い RF 波での加温装置を使用した。実験小動物を用いた RF 波での温熱処理効果についてあまり多くの報告はなされていないが、Dickson ら<sup>(1)</sup>はウサギにおいて RF 波での温熱処理が抗腫瘍効果を示すことを報告している。また Marmor らのグループ<sup>(16,17)</sup>は EMT-6 carcinoma や KHJJ mammary sarcoma を移植したマウスに対する RF 波を用いた温熱処理によって抗腫瘍効果や抗癌剤との併用による抗腫瘍効果の増強が起こることを報告している。星名<sup>(9)</sup>はハムスターの移植性頬粘膜癌を RF 波で 1 回あるいは反復して温熱処理することによって、腫瘍増大の抑制効果が認められ、反復処理では転移の抑制効果が認められることを報告している。また、降矢<sup>(3)</sup>は固形型吉田肉腫移植ラットにおいて、RF 加温は強い抗腫瘍効果が認められることを報告している。

本研究では可移植性マウス線維肉腫由来悪性化癌細胞 QRsp-11 細胞を用いた移植腫瘍において RF 加温装置を用いて加温状況の測定や腫瘍組織の増殖率、腫瘍移植マウスの生存日数に対する温熱処理効果の検討を行った。

本研究の結果から皮下組織の温度は加温開始後、数分以内に設定温度である 43℃ に到達し、加温中は安定に設定温度で維持されていることが示された (図 1)。温熱処理の効果は一般に温度上昇の速度が速いほど効果が大きいとされており、この点では使用した装置はほぼ理想的な加温速度を示すと考えられた。また、電極の外縁部から 5 mm 離れた部位の皮下組織においてはほとんど温度の上昇が認められず、加温が局所的であることが示された。加温終了後は数分以内に局所の温度は低下した。この急速な温度の低下は血流による温度の拡散が起こるとともに冷却用ボラスが皮膚に接して存在しているため、その冷却効果も影響していると考えられた。したがって、体深部において RF 波による局所的な加温が得られるかなどについては今後さらに検討する必要があると考えられた。43℃ で 90 分の温熱処理をした直後に電極の中心部ならびに電極から離れた部位から皮膚を採取し組織学的な検討を行ったが、温熱処理した部位に組織学的な変化は認められず (結果は図示せず)、今回使用した温熱処理条件では処理直後には組織障害は引き起こされていないことが示された。細胞を 42~45℃ の温度で処理することによる熱ストレスによって細胞死が引き起こされることが示されている<sup>(6,25)</sup>。この細胞死は主としてアポトーシスが誘発されることに起因すると考えられて

いる<sup>(6,25,26)</sup>。アポトーシスの誘発には処理条件や細胞の種類によって数時間から数日を要する場合も報告されている<sup>(29)</sup> ことから、正常組織に障害が生じていないかについては長期に渡っての組織学的検討が必要かもしれない。

QRsp-11 細胞をマウス皮下に移植後 7 日目に腫瘍部分を 43℃ で温熱処理した場合、処理後 8 日目までの腫瘍の増殖率は処理しなかった場合と比較して減少し、温熱処理によって腫瘍細胞の増殖が抑制されることが示された (図 3)。また、腫瘍増殖率の減少の程度は 30 分と 60 分処理で同程度であったが、90 分処理では抑制効果は減弱し、処理しなかった場合と有意差は認められなかった。坂上ら<sup>(23)</sup>は 42~45℃ での温熱処理で、温度が高いほど腫瘍増殖はより強く抑制される傾向を示すことを報告している。今回得られた結果では加温速度や温度が一定の場合、30~60 分の温熱処理で十分な抑制効果が得られ、それ以上の長時間の温熱処理で効果がむしろ減少することを示した。長時間の温熱処理で腫瘍の増殖抑制効果が減弱した理由は不明であるが、腫瘍組織と腫瘍周囲組織との間の相互作用などが腫瘍の増殖率に影響を与えると考えられていることから、腫瘍周囲組織に長時間の温熱処理によって何らかの影響を生じた結果かもしれない。この点からも腫瘍周囲組織において長時間加温した際の長期に渡っての組織学的、生化学的検討が必要かもしれない。

温熱処理によって腫瘍細胞の増殖率が抑制されるにもかかわらず、腫瘍を移植したマウスの平均生存日数には温熱処理の影響は認められなかった (図 4)。坂上ら<sup>(23)</sup>もラット移植腫瘍における温熱処理によって延命効果が得られなかったことを報告している。彼らの報告では腫瘍を移植されたラットでは全身のリンパ節に転移が示されており、これが死の原因であると考えられている。温熱療法は処理部位のみにおける局所療法であり、他の組織に転移が起こっている場合には効果が期待できない。本実験においても肺への転移が起こっていることが観察された (結果図示せず)。他の組織における転移の有無について検討を行わなかったが、死の原因は皮下における腫瘍の増殖ではなく、転移した癌のために起こったことが考えられ、このことが平均生存日数には温熱処理の効果が認められなかった原因かもしれない。温熱療法は加温局所のみで効果が得られると予想されることから、肺などへの転移腫瘍を抑制するための全身的な化学療法剤との併用効果についても今後検討することが必要と考えられた。さらに、種々の腫瘍について増殖抑制効果および延命効果を

得るための最適条件の検討が必要と考えられた。

## VI. 謝 辞

貴重な細胞を分与して下さった北海道大学癌制御研究所・岡田太博士ならびに組織像の解析にご協力頂いた北海道大学大学院獣医学研究科・昆泰寛教授に感謝致します。

## VII. 文 献

- Dickson, J. A., Shah, S. A., Waggott, D. and Whalley, W. B. 1977. Tumor eradication in the rabbit by radiofrequency heating. *Cancer Res.* 37: 2162-2169.
- 江見泰徳. 1991. 低酸素細胞をターゲットとした温熱, 制癌剤併用療法に関する基礎的検討. 日本癌治療学会誌 26: 1453-1454.
- 降矢太郎. 1991. 実験動物腫瘍に対する温熱・化学療法効果とその病理組織学的研究 移植固形型吉田肉腫に対する Mitomycin C と加温の効果. 兵庫医科大学医学会雑誌 16: 117-128.
- 原田聡. 1992. マウス移植腫瘍に対する温熱化学療法の実験的研究. 岩手医学雑誌 44: 369-380.
- Hao, H. S., 中村博彦, 高倉公朋. 1992. 悪性神経膠細胞の LAK 細胞に対する感受性に及ぼす化学療法剤, 放射線および温熱療法の影響. *Biotherapy* 6: 727-730.
- Harmon, B.V., Corder, A. M., Collins, R. J., Gobe, G. C., Allen, J., Allan, D. J. and Kerr, J. F. 1990. Cell death induced in a murine mastocytoma by 42-47°C heating in vitro: evidence that the form of death changes from apoptosis to necrosis above a critical heat load. *Int. J. Radiat. Biol.* 58: 845-858.
- 畑下昌範, 加納永一, 林幸子, 松本英樹, 大坪俊雄, 金朝暉, 伊藤春海. 2000. ハイドロキシウレアによる細胞周期同調および各細胞周期位相における温熱感受性に及ぼすがん制御遺伝子 p53 の影響. 日本ハイパーサーミア学会誌 16: 107-115.
- 平岡真寛, 西村恭昌, 増永慎一郎. 1993. 温熱併用放射線治療の現況. 癌と化学療法 20: 591-596.
- 星名秀行. 1991. ハムスター頬粘膜癌に対する RF ハイパーサーミアの抗腫瘍効果に関する研究. 日本口腔外科学会雑誌 37: 1950-1960.
- Ishikawa, M., Okada, F., Hamada, J., Hosokawa, M. and Kobayashi, H. 1987. Changes in the tumorigenic and metastatic properties of tumor cells treated with quercetin or 5-azacytidine. *Int. J. Cancer* 39: 338-342.
- 寛正兄, 松井謙吾. 1994. ハイパーサーミアの実際 膀胱癌に対する放射線温熱化学療法の治療効果 膀胱癌の治療をめざして. 医学のあゆみ 168: 106-109.
- 神澤輝実, Tu, Y., 江川直人, 石渡淳一, 唐沢克之, 佐々木常雄, 鶴田耕二, 岡本篤武, 高橋俊雄. 2000. 進行胆嚢癌に対する温熱・化学・放射線の三者併用療法. 胆道 14: 354-360.
- Kinuya, S., Yokoyama, K., Konishi, S., Hiramatsu, T., Watanabe, N., Shuke, N., Aburano, T., Takayama, T., Michigishi, T. and Tonami, N. 2000. 移植モデルにおける全身化学療法および局所温熱療法を併用した放射線免疫療法の増強効果. *Jap. J. Cancer Res.* 91: 573-578.
- 小林国力, 藤本茂, 高橋誠. 1992. 腹膜播種性胃癌症例に対する温熱増感剤併用温熱療法の基礎と臨床. 癌と化学療法 19: 1651-1654.
- 河野一郎, 長谷川俊水, 関場香. 1989. ハイパーサーミアの臨床とその展望 大きい放射線治療・化学療法との併用効果. 新医療 16: 90-93.
- Marmor, J. B. 1979. Interactions of hyperthermia and chemotherapy in animals. *Cancer Res.* 39: 2269-2276.
- Marmor, J. B., Hahn, N. and Hahn, G. M. 1977. Tumor cure and cell survival after localized radiofrequency heating. *Cancer Res.* 37: 879-883.
- 増永慎一郎, 平岡真寛, 芥田敬三. 1990. 悪性腫瘍に対する局所温熱療法と化学療法の併用に關する臨床的検討. 日本癌治療学会誌 25: 6-12.
- 水野左敏. 1986. 温熱療法 その基礎と臨床 温熱による癌治療の生物学的基礎. 癌と化学療法 13: 1336-1342.
- 中山雅夫. 1990. C3H/HeN マウス NF 肉腫における薬剤 (RP-170, Cepharanthin) の温熱療法および温熱放射線療法に対する効果について. 京都府立医科大学雑誌 99: 267-279.
- Okada, F., Hosokawa, M., Hasegawa, J., Ishikawa, M., Chiba, I., Nakamura, Y. and Kobayashi, H. 1990. Regression mechanism of mouse fibrosarcoma cells after in vitro

- exposure to quercetin: diminution of tumorigenicity with a corresponding decrease in the production of prostaglandin E2. *Cancer Immunol. Immunother.* 31: 358-364.
22. Othman, T., 後藤信治, 李丁範, 松本孝朗, 田井村明博, 金田英子, 大渡伸, 小坂光男. 2000. 増殖抑制剤とハイパーサーミア併用の FM3A 細胞に対する増殖抑制効果 ドキソルビシン, ベラバミル, パクリタキセル, ケルセチンの比較検討. 日本ハイパーサーミア学会誌 16: 37-47.
  23. 坂上隆, 松本正行, 高田富美雄, 降矢太郎, 澤田幸男, 潮見満雄, 細見基信, 大野忠嗣, 里見匡迪, 下山孝, 小林健彦, 佐々木常雄, 松田忠義. 1990. RF 加温・温熱化学療法に関する実験的研究(第1報)ラット RF 加温装置とそれを用いた腫瘍増殖抑制効果について. 日本ハイパーサーミア誌 6: 473-490.
  24. 田畑裕. 1993. 転移性骨腫瘍に対する疼痛緩和率と予後 放射線照射と温熱化学療法併用治療による検討. 聖マリアンナ医科大学雑誌 21: 1006-1020.
  25. Takano, Y. S., Harmon, B. V. and Kerr, J. F. R. 1991. Apoptosis induced by mild hyperthermia in human and murine tumor cell lines: a study using electron microscopy and DNA gel electrophoresis. *J. Pathol.* 163: 326-336
  26. 玉木哲郎, 浅川勇雄, 吉村均, 堀川典子, 打田日出夫, 大西武雄, 大石元. 2001. 変異型 p53 遺伝子導入ヒト頭頸部癌移植系における温熱感受性とアポトーシス誘導. 日本医学放射線学会雑誌 61: 199.
  27. 辻秀記. 2002. 悪性線維性組織球腫に対する放射線, 温熱, 化学療法の適応に関する実験的研究. 名古屋市立大学医学会雑誌 53: 77-85.
  28. 山田信一. 1994. マウス白血病由来の放射線感受性細胞の温熱と放射線の併用効果の検討. 広島大学歯学雑誌 26: 44-60.
  29. Yamada, T. and Ohyama, H. 1988. Radiation-induced interphase death of rat thymocytes is internally programmed (apoptosis). *Int. J. Radiat. Biol.* 53: 65-75.