

MC29 ウイルス誘発腫瘍移植雛における局所温熱療法について

石津彰博・中川万利子*¹・牧内浩幸*²・安田宣紘・清水 孜

(家畜病理学研究室)

平成3年8月10日 受理

Effect of Local Hyperthermia on Chickens Transplanted with MC29-Induced Liver Tumor

Akihiro ISHIZU, Mariko NAKAGAWA*¹, Hiroyuki MAKIUCHI*²,

Nobuhiro YASUDA and Tsutomu SHIMIZU

(Laboratory of Veterinary Pathology)

結 論

鶏急性白血病ウイルスには、avian myeloblastosis virus (AMV), avian erythroblastosis virus (AEV), Mill Hill II virus (MH2), myelocytomatosis virus (MC29) などがある。これらは造血系細胞の異常増殖をもたらすばかりか、造血系以外の臓器においても腫瘍を誘発することが知られている³⁾。なかでも MC29 株は骨髄球腫瘍および骨髄芽球症を誘発する鶏白血病ウイルスで、他のウイルスに比べ広範な腫瘍発生スペクトルを持つ^{1,2,3,20)}。MC29 株は, retroviridae type C oncovirus group に属する腫瘍原性ウイルスで, Rous associated virus 2 (RAV-2) 等をヘルパーウイルスとして、未熟な骨髄球の異常増殖を誘発する。Beard ら²⁾ や Lapis¹⁰⁾ は、MC29 株で誘発された肝原発腫瘍は、可移植性で成長が速く、継代によっても腫瘍の組織学的、細胞学的な特徴があまり変化しないことから、ヒトにみられる腫瘍の病因学的、病理学的実験モデルとして有用であるとしている^{2,10,11)}。松野ら¹³⁻¹⁹⁾ は MC29 ウイルスによって誘発した肝原発腫瘍を初生雛の皮下に移植、継代し、また、in vitro における培養に成功した。さらに、この腫瘍細胞の増殖、エネルギー産生における glutamine の役割について研究した。その結果、glutamine は核酸の塩基合成、

細胞膜合成、ATP 産生に関与し、正常細胞に比して腫瘍細胞では、glutamine 要求性が高いにもかかわらず、それを合成する glutamine synthetase 活性が低く、肝や筋肉で産生された glutamine を利用して増殖するという知見を得た。したがって、glutamine 代謝に関する酵素を特異的に阻害することにより、核酸合成やエネルギー産生が低下し、制癌効果が期待される。

また、松野は in vitro において腫瘍細胞を glutamine 欠損下で高温培養 (44°C) したところ、RNA 合成の著しい低下を認めた。このことから in vivo における glutamine 代謝阻害剤と温熱療法 (hyperthermia) の併用に関する実験が企画された。

温熱療法は、従来の手術による剔出、放射線療法、化学療法に次ぐ癌治療方法の一つで、腫瘍の温度を生理的溫度から数度高め、42~45°C とすることにより治療効果を期待するもので、一般的に放射線療法や化学療法と併用されて効果を上げつつある。

加温療法は、全身加温と局所加温に大別され、加温手段として、温水、赤外線、超音波、マイクロ波、高周波 (RF 波) などが用いられている。臨床的には、数回に分けて一定時間加温処置を行う分割加温方法が一般的である^{6-9,12)}。

前回の実験において、我々は、MC29 株誘発肝原発腫瘍の皮下移植雛を用い、飼育室を 45°C に維持する方法での全身温熱療法や三種類の glutamine 代謝阻害剤投与、並びに両者の併用を試みた。その結果、全身温熱療法もしくは glutamine 阻害剤投与それぞれの単独処置でも移植腫瘍の増殖は抑制されたが、両者の併用により、さらに顕著な抑制あるいは

*¹熊本市新大江 3-19-11

3-19-11 Sin-ooe, Kumamoto 862

*²鹿児島県始良家畜保健衛生所、始良郡加治木町木田 1641-1

Kagoshima Prefectural Livestock Health Center.

Kida 1641-1, Kajikicho, Aira 899-52

退縮が認められることを報告した²¹⁾。阻害剤としては、6-diazo-5-oxo-l-norleucine (DON), aminooxyacetate (AOA), および Acivicin[®]を用い、特に DON の有効性を認めた。しかし、45°C の加温飼育は生体に対しかなり苛酷な状況を強いるため、雛の体重増加率の低下などに表れる悪影響が顕著であったので、今回の実験ではマイクロ波 (2450MHz) による局所温熱療法 (local hyperthermia) を採用した。この局所加温療法および glutamine 代謝阻害剤 (DON) 投与、並びに両者の併用により、腫瘍の増殖および宿主に及ぼす影響を検討した。

材料と方法

1. 実験用雛

鹿児島県郡山町組合ヒナセンターおよび加治木町組合ヒナセンターより導入した白色レグホーン種雄初生雛を使用した。

2. 移植腫瘍組織

実験に使用した腫瘍組織は、国立予防衛生研究所麻疹ウイルス部の松野哲也室長より提供された。RAV-2 をヘルパーウイルスとする MC29 株を、RIF-free (resistance-inducing factor free) の白色レグホーン種初生雛に頸静脈内接種して誘発された肝臓原発腫瘍を初生雛背部皮下組織に移植、継代し、凍結保存したものを、前回の実験²¹⁾と同様に、使用直前に解凍し、滅菌 PBS を加え、乳剤として初生雛背部皮下織に 1 羽当たり約 0.1ml 接種した。

3. 局所加温装置

加温装置はミナト医科学社製のマイクロ波治療器 (マイクロタイザー MT-30) で、周波数 2450MHz、出力 0~30W 連続可変のマイクロ波照射装置に径 1cm の円板状小型アンテナを装着して用いた。

4. 局所加温の方法

加温処置を行う雛は腫瘍部分の羽毛を刈り取っておき、アンテナを腫瘍局所に密着させ、必要時間加温し、中断時間はアンテナを局所から離れた。加温時間は、予備実験の結果から、出力 15W で、初期加温 30 秒、以後 20 秒の中断と 10 秒の再加温を繰り返す、計 3 分間とした。

5. 局所体温の測定

上記の 3 分間加温における局所温度の測定を、アンリツ計器株式会社製積分温度計 (アンリテルム HL600T 型) を用いて行った。高さが 5~10mm の腫瘍を持つ 5 羽の雛の測定部位 (移植腫瘍の表面皮膚直下、深さ 5mm または 10mm) を、21 gauge 注

射針で穿孔し、針を抜いて、その形跡に沿って温度計のセンサー針を測定面の中央部へ挿入した。加温開始前および加温開始後 10 秒おきに局所温度を測定し、3 分間の加温終了後も 20 秒おきに 5 分まで測定、記録を続けた。

6. 薬品

6-diazo-5-oxo-l-norleucine (DON) [SIGMA Chem. Co.]

未同定の Streptomyces から分離された抗生物質の一種で⁴⁾、glutamine analogue であり、glutamine 代謝関連酵素の阻害剤として作用する。今回の実験には、5 mM PBS 溶液をミリポアフィルターで濾過滅菌して使用した。

7. 体重および腫瘍の測定

腫瘍移植後、毎日一回体重を測定した。また、処置開始数日前から毎日一回ノギスを用いて腫瘍の縦径・横径・高さを測定し、それらの積を腫瘍の体積指標 (mm^3) とした。処置可能な体積指標に達した雛から順次各群に分け、各処置を開始するとともに、処置開始当日の体重および体積指標を 1 とした比率を算出し、それぞれ体重増加率および腫瘍増殖率とした。

8. 病理学的検索

実験群および対照群の雛は最終処置後の 1~2 日以内に体重測定後、心臓採血殺し、剖検した。移植腫瘍および各臓器の一部は 10% neutral buffered formalin で固定し、パラフィン包埋後、薄切切片を作製し、hematoxylin eosin 染色後、光学顕微鏡で観察し、必要に応じて Masson's trichrome, 過ヨウ素酸シッフ (PAS) 染色などの特殊染色も行った。

9. 実験の手順

局所加温と DON の併用実験を行った。

第 23 継代腫瘍を移植した 25 羽の雛を、腫瘍移植後 6~9 日目に、群による有意差がないように配慮しながら 4 群に分け、腫瘍体積指標が 500~600 mm^3 に達したのから順次処置を開始した。16 羽よりなる非担癌対照群は実験群から隔離して飼育した。

非担癌対照群 (Control)	16 羽
担癌対照群 (Tumor Control)	7 羽
DON 群 (Tumor+DON)	6 羽
加温群 (Tumor+HypT)	6 羽
DON+加温群 (Tumor+DON+HypT)	6 羽

夕方 16 時の体重および腫瘍測定を処置開始点として、20 時に DON (5 mM PBS 溶液) を 0.1ml/day

胸筋に注射して翌朝9時に加温を行った。各処置は7日間連続、合計7回行った。

10. 局所加温による組織の経時変化

局所温熱療法における加温後の腫瘍組織の変化を観察するため、第25継代目の移植腫瘍の体積指数が450~3000mm³に達した時点で加温を行い、加温後0分・30分・60分・180分・300分および無処置対照の各群2~3羽ずつについて各時間ごとに採材を行った。さらに、加温後1日・3日・5日・7日後に各2~3羽ずつ採材を行い、非加温群と比較した。

結 果

1. 腫瘍増殖率および体重

実験開始時の腫瘍体積指標は各群によって有意差のない状態で開始した。

Fig. 1に示したように各処置群の腫瘍増殖率は、担癌無処置群に対して処置開始後1~2日目に有意に低下を示した (Table 1)。処置開始7日後における腫瘍増殖率の平均値と標準偏差は、担癌対照群14.3±1.81, DON 群6.93±0.95, 加温 群3.24±2.23, DON+加温群0.61±0.57であり、顕著な抑制効果が認められた。DON 群よりも加温群の方が腫

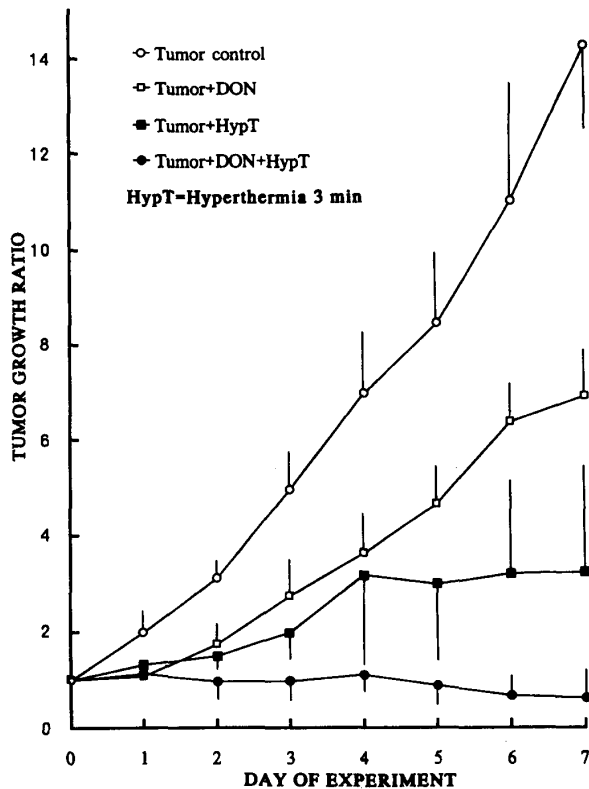


Fig. 1. Effect of local hyperthermia and/or DON chemotherapy on growth of MC 29-induced tumor transplanted in chickens.

瘍増殖が抑制されているが、標準偏差が大きく、個体によるばらつきが著しい。しかしながら、DON と加温の併用により、増殖抑制が顕著に現われ、ばらつきも少なく、Table 2に示すように、6羽中4羽の腫瘍は実験開始時の腫瘍体積指標の120%以下となり、退縮傾向が明らかであった。

雛の体重増加率は Fig. 2 に示した。担癌対照群では移植腫瘍が著しく増大した実験後半期に急激な低下を示した。これに対して、加温群は非担癌対照群よりは低い担癌対照群よりも高い体重増加率を示した。DON 群および DON+加温群はさらに体重増加率の顕著な低下を見せたが、両者の間に有意差は無かった。

2. 加温による局所温度変化

Table 1. Statistical evaluation of body weight gain and tumor growth among groups

		BODY WEIGHT			
		Tumor Control	Tumor+ HyperT	Tumor+ DON	Tumor+DON+ HypeT
TUMOR GROWTH	Control		2ndD* ¹	2ndD* ¹	2ndD* ¹
		4thD* ²	5thD* ²	3rdD* ²	3rdD* ²
	Tumor Control		4thD* ¹	1stD* ¹	
			6thD* ²	3rdD* ²	1stD* ²
	Tumor+ HyperT	1stD* ¹		2ndD* ¹	
		2ndD* ²		3rdD* ²	2ndD* ²
	Tumor+ DON	1stD* ²	NS		NS
	Tumor+ DON+ HyperT	1stD* ¹	6thD* ¹	2ndD* ¹	
	2ndD* ²		3rdD* ²		

HyperT=Local hyperthermia of 3 min schedule
D=day of experiment
*¹p=0.05, *²p=0.01, NS indicates of no significance.

Table 2. Tumor response to hyperthermia and/or chemotherapy for 7days*

Tumor Response	Tumor Control	Tumor DON	Local Hyperthermia	DON+Local Hyperthermia
Progress	7	5	6	2
No Change #				1
Partial 50-80%				
Partial <50%		1		3
Complete				
Total	7	6	6	6

* When the grafted tumors reached 500-600mm³ of tumor parameter, they were treated with DON and/or local hyperthermia for 7 days.

indicates that it remained at 80-120% of the starting parameter.

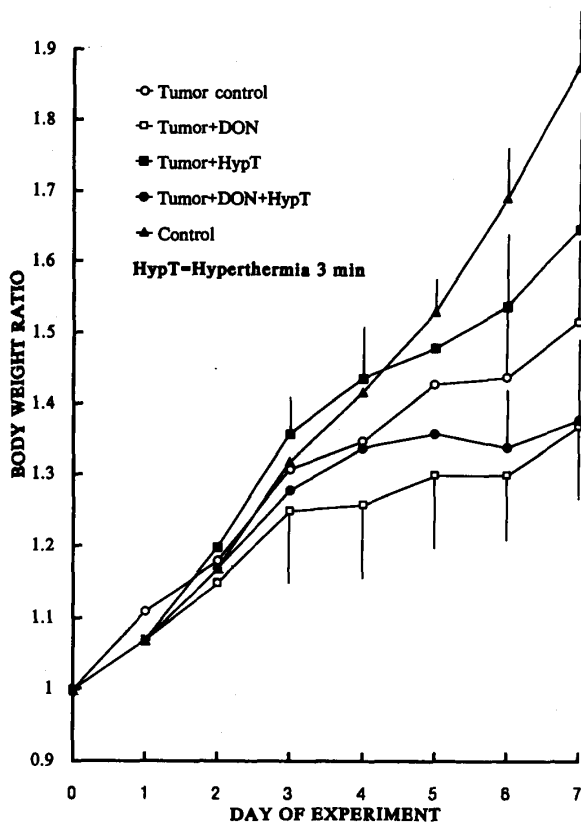


Fig. 2. Effect of local hyperthermia and/or DON chemotherapy on body weight of chickens grafted with MC 29-induced tumor.

この実験で採用した3分間の局所加温法について、腫瘍の局所温度変化を測定した。(Fig. 3)。高さが10mmの腫瘍では、その皮下直下ならびに底部(皮下10mm)に、高さが5~7mmの腫瘍では皮下5mmの位置にセンサーを挿入し、加温を行った。

皮下直下では初期加温により最高50°C近くまで達し、平均45~47°Cに経過した。皮下5mmでは加温継続時間中は、43~45°Cを保っていた。しかし皮下10mmになると初期加温によってもとの体温から1°C程上昇するだけで、その後の再加温に対する反応は鈍く、ほとんど上下しなかった。

3. 剖検所見

腫瘍は移植部の皮下織で増殖しており、周囲組織との限界は明瞭であった。一部の個体では周囲の筋肉組織への浸潤を認めた。非加温の各群の腫瘍塊は黄白色、やや柔軟だが充実感があり、表面に点状出血の散在がしばしば見られた。大型の腫瘍では、断面中心部が壊死・軟化していた。加温群では一般に腫瘍塊自体が小さく、アンテナの接した部分の皮膚は痂皮が形成され肥厚していた。比較的大きな腫瘍では表面の痂皮の下に灰黄色の硬いチーズ様壊死部

を形成し、独特の臭気を放っていた。退縮したものでは痂皮下に軟弱な透明膠様物が見られた。腫瘍以外の顕著な変化としては、胸腺、ファブリキウス囊の萎縮、肝臓の腫大が見られた。

4. 病理組織学的所見

(1) 非加温群

非加温の各群の腫瘍では、腫瘍細胞がシート状あるいは索状に配列して増殖し、少量の結合織の介在によって小葉構造を呈していた。腫瘍細胞は、円形~卵円形で、好酸性の細胞質と大型卵円形の核を有し、核内に通常1個の明瞭な核仁を持ち、クロマチンは周辺散在性であった。有糸分裂像は、腫瘍の中心部よりも辺縁付近によく見られた。好酸性で無構造な染色性を示す単細胞壊死や細胞崩壊産物の集まりが認められた。大きな腫瘍の中心部が壊死している例も多かった。また、リンパ様細胞の浸潤や集簇は主に腫瘍組織周囲に散見された。

以上のような所見は担癌対照群の他、DONを投与した群でも基本的に変わりなく、腫瘍の大きさにのみ依存し、大きいものほど腫瘍組織が発達し、広範な壊死部・単細胞壊死像・リンパ様細胞の浸潤がより顕著にみられた。また、DON投与群では、リンパ球の浸潤は軽度であった。

(2) 加温群

(a) 加温直後~5時間後

加温直後から充血が顕著になり皮下織に出血や顆粒球の著しい浸潤を認める個体もあった。水腫の著しい例が多かったが、数例においてはほとんど認めなかった。痂皮は、加温3時間後頃から認められるようになり、一部の個体では痂皮の下に著しい顆粒球の浸潤を観察した。腫瘍細胞は加温直後から染色性の低下や細胞質の空胞化などの変化を認めた。

(b) 加温1・3・5・7日目

加温1日目からアンテナに接した部位の皮膚および直下の腫瘍組織が変性壊死し、滲出物や痂皮からなる層が表面を覆う。加温回数が多いほど肥厚の程度が強くなる傾向が見られ、痂皮の肥厚しているものには細菌塊の付着も観察された。痂皮の下には、リンパ球や顆粒球の浸潤や水腫が認められた(Fig. 4)。加温5日目頃から腫瘍表層にロート状の細胞崩壊や腫瘍細胞の疎開が見られ、腫瘍細胞は核濃縮や壊死を呈し、有糸分裂像が消失していた。辺縁部の生残細胞には、有糸分裂像の減少が観察された(Fig. 5)。

DONと加温を併用し退縮を示した3例の腫瘍塊

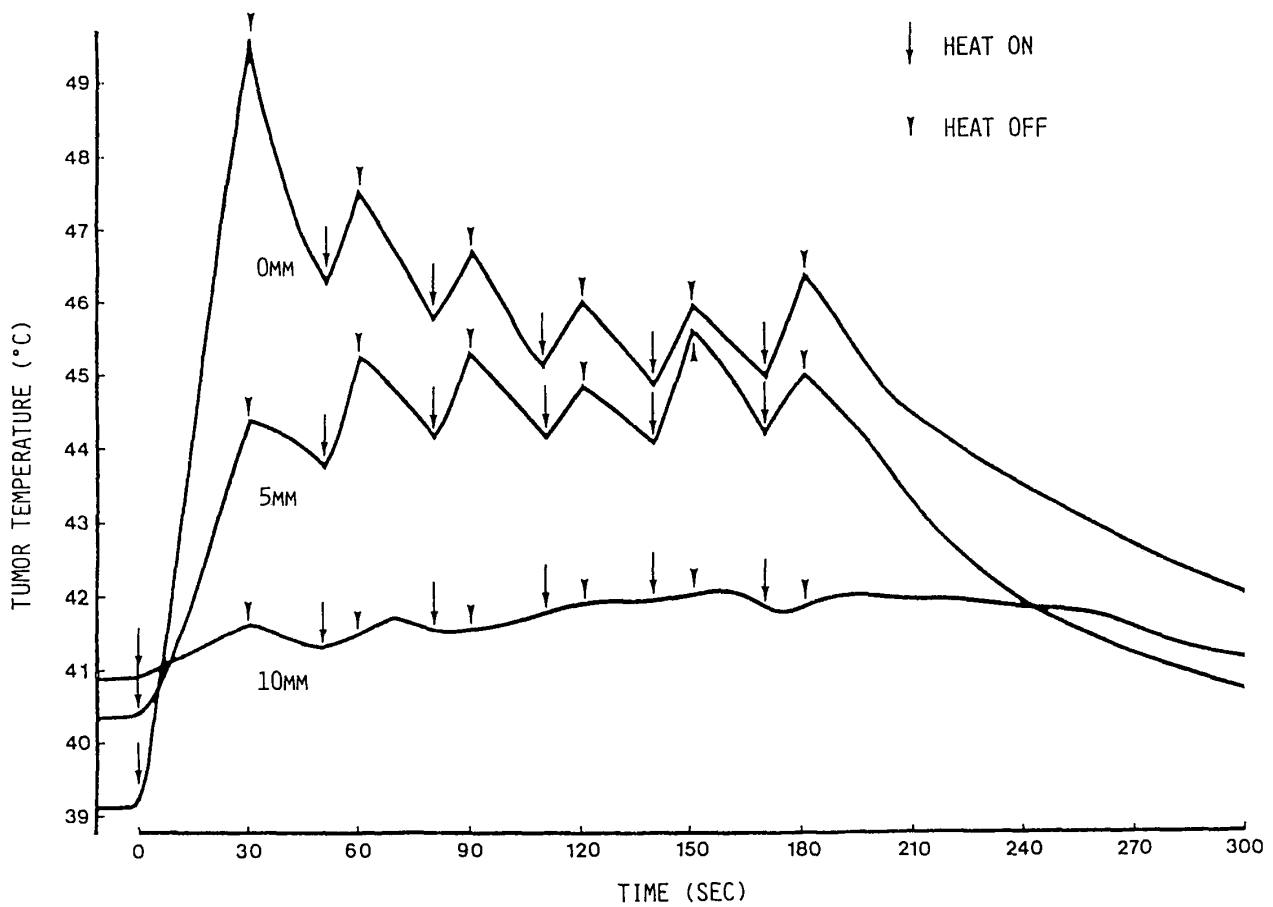


Fig. 3. Changes in tumor temperature during local hyperthermia at different depths from heating surface.



Fig. 4. Microscopic photograph of MC29-induced transplanted tumor of a chicken which received local hyperthermia. On the 1st day of experiment, the skin and the tumor cells on which the antenna had been applied were degenerated or necrosed (top to the left).

H-E stain, $\times 40$



Fig. 5. On the 5th day of experiment. Note the thick scab at the surface of the skin. Necroses of the tumor cells were obvious.

H-E stain, $\times 40$

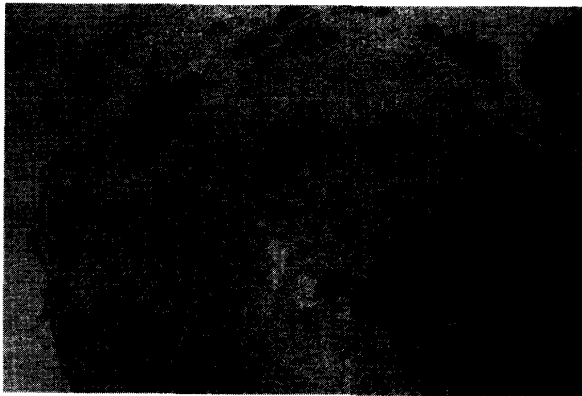


Fig. 6. Regressed tumor of a chicken which received local hyperthermia and chemotherapy with DON. Note fibrosis surrounded with lymphoid cell foci. H-E stain, $\times 40$

では間質結合織が顕著に増生し、僅かに残存する腫瘍細胞を取り囲んでいる像が見られ、リンパ様細胞の島状の集簇や肉芽組織の新生などを認めた。(Fig. 6). しかし、温熱の及ばない深部の腫瘍細胞には分裂増殖像も観察された。

考 察

鶏急性白血病ウイルス MC29 誘発肝原発腫瘍を初生雛の背部皮下織に移植し、体積指標 $500\sim 600\text{ mm}^3$ に増殖した腫瘍に対して、マイクロ波(2450MHz)による局所温熱療法を試みた結果、処置開始7日後における腫瘍増殖率は処置開始日を1として担癌対照群が14.3であるのに対して3.24と抑制が認められた。さらに、glutamine代謝阻害剤DONによる化学療法を試みたところ、DON単独投与は6.93、さらに局所温熱療法とDON投与を併用した場合は0.61、と顕著な腫瘍増殖抑制効果が認められ、化学療法との併用による相乗効果が示唆された。これらの結果は、我々が先に行った飼育室を 45°C に維持する全身温熱療法の制癌効果²¹⁾にほぼ匹敵する。全身加温の場合、腫瘍増殖率を抑制するとともに増体重の低下、造血能低下、リンパ系臓器の萎縮など生体に悪影響を与えていたが、局所加温では全身に及ぼす影響は少なく、腫瘍抑制効果が上がるにつれて、体重増加率は担癌無処置群よりも高くなり、非担癌対照群に近づいた。これらのことから、この3分間局所加温方式による温熱療法は単独でも十分に有効だが特にDONと併用した場合に極めて効果的であると思われた。

局所加温処置による腫瘍組織の変化は、まず加温

を行った直後に充血が認められた。これは熱をうけた腫瘍における生体反応であると思われ、ほとんど全例に見られた。また、加温直後から腫瘍細胞の変性は見られたが、明確な壊死は認められなかった。加温後1日目頃から次第に腫瘍細胞における有糸分裂像の消失や壊死などを認めるようになった。また、腫瘍細胞の変性・壊死が進むにつれて、結合織の増生が明らかになっていった。これは、腫瘍細胞が変性・壊死した後、肉芽組織が発達して結合織が増生するものと考えられる。

今回の局所温熱療法の加温操作、時間、回数などの条件は、予備実験で経験的に得たもので、ヒトや実験動物では一定の加温は30~60分間、数週間間隔で行うことに比較すると継続時間も間隔も極めて短い。しかし、予備実験の結果、5分、8分は難に余分なストレスを与えるだけで、3分加温をしのぐ程の効果がなかった。MC29誘発可移植性腫瘍の増殖が著しく早いことを考慮すると、ヒトの自然発生腫瘍や実験動物の腫瘍より短時間の処置でも高い感受性を示したと考えられる。

要 約

1. MC29ウイルスによって誘発された可移植性肝原発腫瘍で、特異的なglutamine利用によってその腫瘍細胞が増殖する特性が明らかになったものを、初生雛の皮下に移植して7~8日後に大豆大に達したものに対して、マイクロ波を使用した局所温熱療法および6-diazo-5-oxo-1-norleucine (DON)によるを7日間行った。

2. 処置開始7日後における腫瘍増殖率は、担癌対照群が 14.3 ± 1.81 であったのに対して、加温群は 3.24 ± 2.25 、DON群は 6.93 ± 0.95 に抑制された。さらに、加温・DON併用群では 0.61 ± 0.57 と著明な抑制が見られた。

3. 体重増加率は、担癌対照群では4日後に急激な低下が見られたが、局所加温群では無処置対照群に近い比較的高い増加率を示した。DON群では増体重の抑制が顕著であった。

4. この移植腫瘍系を用いて我々が先に行った全身温熱療法と比較して、マイクロ波による局所温熱療法はより制癌効果が大きく、宿主への影響は少ないことが明らかになった。

組織学的には、3分間加温の直後には表皮直下の腫瘍細胞にわずかだが明らかな退行性変化が認められた。1日後には、腫瘍の底部や辺縁部を除いて、

大部分の腫瘍細胞は壊死していた。腫瘍が退縮するとともにリンパ様細胞の集簇に囲まれた線維化が見られた。

文 献

- 1) Beard, D., Chabot, J. F., Langlois, A. J., Hillman, E. A. and Beard, J. W.: Singularity of oncogenic activity of strain MC29 avian leukosis viruses. *Arch. Geschwulstforsch.*, **35**, 315-325 (1970)
- 2) Beard, J. W., Hillman, E. A., Beard, D., Lapis, K. and Heine, U.: Neoplastic response of the avian liver to host infection with strain MC29 leukosis virus. *Cancer Res.*, **35**, 1603-1627 (1960)
- 3) Beard, J. W., Langlois, A. J. and Beard, D.: Etiological strain specificities of the avian tumor viruses. Unifying concepts of leukemia. *Bibl. haemat.*, **39**, 31-44 (1973)
- 4) Devall, L. R.: New agent summaries. 6-diazo-5-oxo-1-norleucine. *Cancer Chemother. Rep.*, **7**, 86-98 (1960)
- 5) Gillette, E. L.: Hyperthermia effects in animals with spontaneous tumors. *Natl. Cancer Inst. Monogr.*, **61**, 361-364 (1982)
- 6) Hugander, A., Hafstom, L., Jonssen, P., Bolmsjo, M., Persson, B. R. R. and Stenram, U.: Local hyperthermia in treatment of experimental liver tumor. *Cancer*, **53**, 1686-1691 (1984)
- 7) Janiak, M. and Szmigielski, S.: Alteration of the immune reactions by whole-body and local microwave hyperthermia in normal and tumor-bearing animals. Review of own 1976-1980 experiments. *Br. J. Cancer*, **45**, 122-126 (1982)
- 8) 小池寿男: ハイパーサーミアの基礎と問題点. 北獣会誌, **30**, 220-223 (1986)
- 9) 小坂光男: 温熱の生理学的効果・最新医学, **40**, 2500-2504 (1985)
- 10) Lapis, K.: Histology and ultrastructural aspects of virus-induced primary liver cancer and transplantable hepatomas of viral origin in chickens. *J. Toxicol. environ. Health.*, **5**, 469-501 (1979)
- 11) Lapis, K., Beard, D., and Beard, J. W.: Transplantation of hepatomas induced in the avian liver by MC29 leukosis virus. *Cancer Res.*, **35**, 132-138 (1975)
- 12) 馬嶋秀行, 坂本澄彦, 岡田重文: 動物実験療法における温熱療法研究. 最新医学, **40**, 2490-2499 (1985)
- 13) 松野哲也: 腫瘍細胞におけるグルタミン代謝. *Oncologia*, **18**, 117-123 (1986a)
- 14) Matsuno, T., Ido, E., Hayami, M. and Shimizu, T.: Quantitative analysis by radioimmunoassay of alpha-fetoprotein in the sera of chickens bearing chemical or virus-induced liver tumors. *IRCS Medical Science*, **10**, 309-310 (1982)
- 15) Matsuno, T. and Satoh, T.: A sensitive assay for chicken glutamyltransferase. *Int. J. Biochem.*, **17**, 1369-1371 (1985)
- 16) Matsuno, T. and Satoh, T.: Glutamine metabolism in the avian host bearing transplantable hepatoma growth induced by MC-29 virus. *Int. J. Biochem.*, **18**, 187-189 (1986 b)
- 17) Matsuno, T., Satoh, T., Shirasawa, N. and Yamasaki, M.: Glutamine synthetase of chick embryo neural retina. Purification, physical and biochemical properties. *Sci. Pap. Coll. Gen. Educ.*, Univ. Tokyo, **43**, 35-41 (1984)
- 18) Matsuno, T., Satoh, T. and Suzuki, H.: Prominent glutamine oxidation activity in mitochondria of avian transplantable hepatoma induced by MC29 virus. *J. Cell. Physiol.*, **128**, 397-401 (1986c)
- 19) Matsuno, T., Satoh, T. and Suzuki, H.: The pathway of glutamate oxidation in isolated mitochondria from the hepatoma growth induced by MC-29 virus. *Comp. Biochem. Physiol.*, **85**, 393-396 (1986 d)
- 20) Mladenov, Z., Heine, U., Beard, D. and Beard, J. W.: Strain MC29 avian leukosis virus. Myelocytoma, endothelioma, and renal growth. Pathomorphological and ultrastructural aspect. *J. Nat. Cancer Inst.*, **38**, 251-283 (1967)
- 21) 清水 孜, 石津彰博, 安田宣紘, 河野猪三郎, 松野哲也: MC29ウイルス誘発腫瘍移植雛における温熱療法・化学療法を試み. 鹿大農学術報告, **38**, 103-117 (1988)

Summary

1. A transplantable liver tumor induced by MC29 virus, whose specific utilization of glutamine in growth of the tumor had been well demonstrated, was implanted into the subcutis of the day-old chickens, and after 7-8 days when the tumor reached a soybean size, the local hyperthermia with microwave and/or chemotherapy with 6-diazo-5-oxo-1-norleucine (DON) were given for 7 days successively. A heating schedule of 3 min/day was devised and adopted.

2. On the 7th day of the experiment, the tumor growth ratio expressed by mean \pm standard deviation was 14.3 ± 1.81 in the tumor control group; 6.93 ± 0.95 in DON group; 3.24 ± 2.25 in the local hyperthermia group; and 0.61 ± 0.57 in DON + hyperthermia group, respectively.

3. The body weight gain ratio in the local hyperthermia group was evidently higher than that in the tumor control group. The body weight gain was suppressed most remarkably by DON.

4. In the present transplantable tumor system, local hyperthermia was more effective in tumor suppression, and less hazardous to the host than our former whole body hyperthermia.

5. In the histopathological study of the present local hyperthermia, slight but obvious degenerative changes were shown by the tumor cells beneath the surface skin after the first 3 min of heating schedule.

After one day necroses became obvious in almost all the tumor cells, with the exception of those located at the bottom or at the lower periphery of the tumor mass. When the tumor regressed, resorption and fibrosis became evident, being surrounded with lymphoid cell foci.