



Title	実験腫瘍(In vivo)に対する血管作働性物質 (Hydralazine)併用による温熱増感効果の検討
Author(s)	大嶋, 太一; 赤木, 清; 長谷川, 武夫 他
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1992, 52(11), p. 1582- 1588
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17127
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

実験腫瘍 (In vivo) に対する血管作働性物質 (Hydralazine)

併用による温熱増感効果の検討

関西医科大学放射線科学教室

大嶋 太一 赤木 清 長谷川武夫 田中 敬正

(平成3年10月11日受付)

(平成4年3月6日最終原稿受付)

Hydralazine-Induced Enhancement of Hyperthermia Treatment In Vivo

Taichi Oshima, Kiyoshi Akagi, Takeo Hasegawa and Yoshimasa Tanaka

Department of Radiology, Kansai Medical University

Research Code No. : 407.3

Key Words : Hydralazine, Hyperthermia, Experimental tumor

Hydralazine (Hyd) is a vaso-active drug that significantly affects the nature of blood flow in tumors. As a result, Hyd reduces blood flow and oxygen tension in tumors, causing an increase in the toxic effect of hyperthermia treatment. We investigated enhancement of the anti-tumor effect of hyperthermia by Hyd on SCC-VII tumors in C3H mice. Hyd was administered by intraperitoneal injection, and tumors were heated by water bath. We measured the tumor temperature in animals receiving Hyd by thermocouple. We found no significant change in tumor temperature with Hyd treatment. The effect of Hyd (2.5 mg/kg, 5.0 mg/kg, 7.5 mg/kg) on tumors was evaluated in terms of a growth delay value at which tumor volume reached four-fold. The growth delay values obtained were 6.25 ± 0.82 , 7.14 ± 0.90 , 8.50 ± 0.98 , 9.72 ± 0.92 , and 9.84 ± 1.3 days for: hyperthermia alone, Hyd of 1.0 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5.0 mg/kg, respectively. This effect was independent of the time course of administration of Hyd. These results indicate that Hyd can increase the therapeutic efficacy of hyperthermia treatment. Changes in the microenvironment, such as low pH and tumor hypoxia, induced by arterial embolization may have increased the sensitivity of tumors to heat.

緒言

温熱療法は新しい癌治療法として確立されてきた¹⁾²⁾。温熱療法では、正常部の温度上昇は少なく、腫瘍部局所のみが43℃以上になることが重要である³⁾。実際の温熱療法において腫瘍局所の温度制御は血流による熱拡散のため、腫瘍組織を目的温度に加温することが困難なことが多い。しかし、腫瘍部のみを選択的に加温できればより高い治療効果が期待できる。この腫瘍部の選択的加温は、物理的方法として、電極の刺入、鉄磁性体の組織

内封入等が報告されているが、未だ十分な成果を上げるに至っていない^{4)~6)}。

今回、温熱療法時に血管作働性物質であるHydralazine (以下 Hyd.) を併用し、血流を修飾することで腫瘍部の選択的加温の方法を試みた。本剤は正常部血管を拡張させるので血流は血管の拡張した正常部に流入する。従って、相対的に正常組織の血流は増加し、腫瘍部の血流は低下する (Stealing effect)⁷⁾。温熱時に Hyd. を併用することでこの Stealing effect により腫瘍部の熱拡散

能は低下し、選択的な温度上昇が期待できる。我々は実験腫瘍を用いて Hyd. の温熱併用時の抗腫瘍効果の増強について投与量、投与時期、増強効果の程度について検討した。同時に行った腫瘍部及び周囲正常組織の温度測定より Hyd. の温熱療法増感効果の機序について若干の考察を加えて報告する。

実験材料および方法

1. 実験動物及び腫瘍

実験腫瘍は、C3H/He マウス (雄4~6週令) に移植可能な2種類の FM3A および SCC-VII を用いた。FM3A 腫瘍は乳癌由来のもので腹水継代で維持している。SCC-VII 腫瘍は扁平上皮癌由来のもので皮下移植で継代されている。FM3A 腫瘍細胞は腹水として採取し、0.17M Tris(hydroxymethyl)aminomethane, 0.16M NH₄Cl 溶液にて血球成分を除去後、0.5%リン酸緩衝液(以下 PBS 液)にて数回洗浄し、細胞濃度を1~2×10⁶個/0.05ml に PBS 液にて調整した。SCC-VII 腫瘍は腫瘍塊を継代動物より切除し、PBS 液内で細切して単細胞化する。この腫瘍細胞濃度を5~8×10⁶個/0.05ml に調整し、それをマウス右大腿部皮下に0.05ml 注入移植した。実験には腫瘍直径が7~9mm(腫瘍の移植後約7~10日後)に成長した腫瘍を用いた。

2. 薬剤

使用した血管作働性薬剤は SIGMA 社製の Hydralazine hydrochloride (C₈H₈N₄・HCl, 分子量196.64) を半井化学(株)より購入した。この Hyd. をマウス1匹あたり1.0mg/kg, 2.5mg/kg, 5.0mg/kg, 7.5mg/kg, 10.0mg/kg になるように0.3ccの生理食塩水にて各々の実験直前に溶解し腹腔内に注入した。

3. 加温方法

加温方法はアクリル製恒温水槽(自家作製)を用いてマウス6匹を同時に加温した。温熱処理は43℃および43.5℃で10~30分間行った。加温はマウスをアクリル製(自家作製)の固定具に固定し、無麻酔下で行った。固定は右大腿部の血流を阻害しないために足部末梢部と腹部をテープで緩やかに固定した。温度測定は熱電対(Bailey 社製)を

用いて腫瘍部及び腫瘍近傍の正常組織の2箇所計測した。

4. 腫瘍成長曲線

腫瘍の直径が8~9mmに達したときに温熱処理を行った。マウスは1群6~12匹を用いた。処理後週3回腫瘍の長径 a, 短径 b をノギスを用いて測定して、腫瘍容積 ($a \cdot b^2 \pi / 6$) を求めて腫瘍成長曲線を得た。この曲線より腫瘍容積が処理時より4倍になった日数を求め、非処理群との比により Enhancement Ratio (E.R.) を算出した。Hyd. の温熱増感効果も腫瘍成長曲線を用いて、それぞれの容積が4倍になるのに要した日数により以下の4つの項目について検討した。

① 投与量の検討: 加温温度43℃で処理時間20分と温熱量一定にし、Hyd. 投与量

(1.0mg/kg, 2.5mg/kg, 5.0mg/kg, 7.5mg/kg) を変えて増感効果を検討した。

② 投与時期の検討: Hyd. の血流改変作用が最大となる温熱処理20分前投与と温熱処理直後の Hyd. 投与の効果を検討した。

③ 温熱処理時間の検討: Hyd. 投与量(5.0mg/kg) を一定にし、43℃の温熱処理時間を10分, 20分, 30分と温熱量を変化させた時の Hyd. の増感効果について検討した。

④ 他腫瘍系での検討: 他の実験腫瘍系 (FM3A) で同様の検討を行った。

結果

Fig. 1 は43.5℃による温熱処理時の腫瘍部及び腫瘍周囲の正常筋組織と Hyd. 10.0mg/kg 投与下温熱処理の腫瘍部での経時的温度変化である。Hyd. 投与群の腫瘍部は急速に設定温度まで上昇したが、正常筋組織では Hyd. を投与することで有意な差は認めなかった。加温10~15分後には生理食塩水投与の正常筋組織(control 群)と腫瘍部とも設定温度へ上昇した。30分後の平衡状態での腫瘍局所温度は、Hyd. 投与群では生理食塩水投与下腫瘍群に比べて0.2℃の温度上昇を認め、また、立ち上がりにも有意な差を認めた。Fig. 2 は SCC-VII 腫瘍における、①対照群(生理食塩水腹腔内注入のみ)、②加温単独群(生理食塩水腹腔内注入後43℃20分間加温)、③ Hyd. 5.0mg/kg 併用

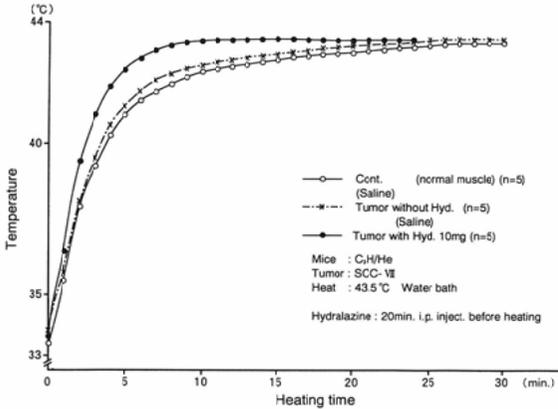


Fig. 1 Temperature change in tumor and muscle during and after local heating of tumors at 43.5°C. Mice were injected saline (×) and hydralazine (●) 20min. before heating. Controls (○) were given saline i.p..

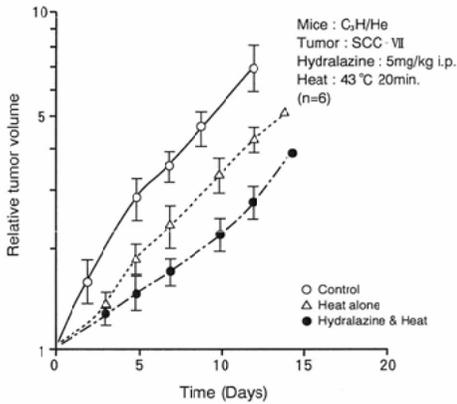


Fig. 2 The tumor volume increase in SCC-VII tumor after heat and Hyd. treatments: untreated (○), treated with hyperthermia alone (43°C, 20 min.) (Δ), combined with Hyd. (5mg/kg, i.p.) (●).

加温群 (43°C 20分間加温) での腫瘍成長曲線を示す。加温単独群を1とした場合のE.R.は1.27となり、Hyd.と温熱併用群で腫瘍成長の遅延がみられ、著明な温熱増感効果が得られた。Fig. 3は加温時間を一定 (43°C, 20分間加温) にして Hyd.の投与量 (1.0mg/kg, 2.5mg/kg, 5.0mg/kg, 7.5mg/kg) を変化させたときの腫瘍成長日数を示す。非処置群では4.90±0.30日であった。加温単独群

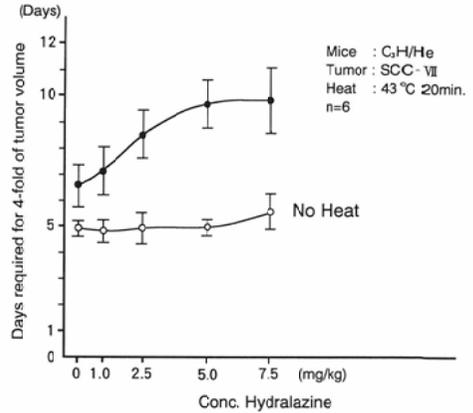


Fig. 3 The effects of Hyd. concentration on the tumor growth with or without hyperthermia. Mice were given (i.p.) different doses of Hyd. 20 min. before local heating (43°C 20min.) of tumors. The days to reach four times of tumor volume was plotted vs. Hyd. concentrations: (○) Hyd. controls, (●) Hyd. +heat. Hyd. causes significant delay (4.82 ± 1.0 days, Hyd., 5mg/kg, i.p.) in tumor growth when combined with heat.

では 6.52 ± 0.82 日であるが、温熱と Hyd. 併用群 (1.0mg/kg, 2.5mg/kg, 5.0mg/kg, 7.5mg/kg) ではそれぞれ 7.14 ± 0.90 日, 8.50 ± 0.98 日, 9.72 ± 0.92 日, 9.84 ± 1.30 日であった。無処置対照群と比べて最大の遅延日数を得たのは 7.5mg/kg 投与時で約 4 日の成長日数の増加 (遅延日数) を認め、加温単独群との比較では約 3.3 日の成長遅延を示した。Hyd.の投与量の 1.0mg/kg から 5.0mg/kg までは投与量の増加にしたがって成長遅延日数の比例的に増加を認めるが、5.0mg/kg 以上では比例的な成長遅延は認めなかった。また、Hyd.単独では明らかな制癌効果は認められなかった。Fig. 4に Hyd.の投与量を 5.0mg/kg と一定にし温熱量 (加温時間) を変化させたときの加温単独群と併用群との成長日数を示す。温熱量 (加温時間) の増加 (10分, 20分, 30分) に従って、加温単独群では 5.50 ± 0.70 日, 6.52 ± 0.80 日, 8.85 ± 1.20 日と増加した。Hyd.併用群ではそれぞれ 8.31 ± 0.70 日, 9.72 ± 0.92 日, 10.54 ± 1.30 日と増加を示した。43°C 20分の加温に対しては Hyd.の併用で成長遅延日数は加温単独群と比較すると約 3.2 日

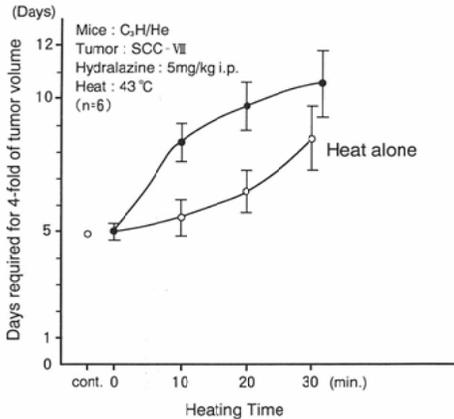


Fig. 4 The effect of Hyd. (5mg/kg, i.p.), 20min. before hyperthermia against varying doses of heat (heating time) on growth of SCC-VII tumor. Hyd. produces an additional 1.7~3.2 day's delay in tumor growth.

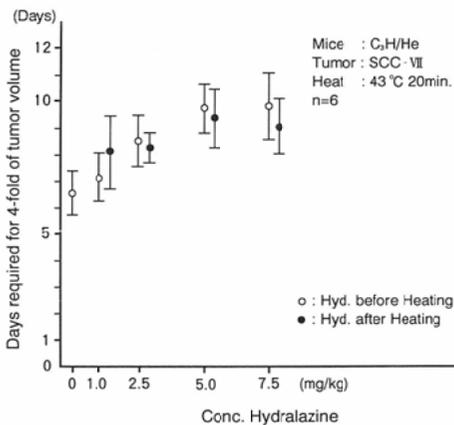


Fig. 5 The effect on tumor growth vs. Hyd. concentrations before (○) and after (●) heating.

と増加を示し最大の増感効果を得た。この温熱増感効果を43℃の一定の加温条件のもとで同一効果(成長遅延日数)を起こすのに必要な温熱処理(時間)が Hyd. 併用により増感される割合を Thermal Dose Modifying Factor (T.D.M.F.) と定義し、求めると温熱単独に比べて、43℃温熱処理時間に対する T.D.M.F. は2.6であった。Fig. 5 に Hyd. の投与時期の違いによる成長日数を示す。加温条件を一定(43℃, 20分間加温)にして Hyd. (1.0mg/kg, 2.5mg/kg, 5.0mg/kg, 7.5mg/kg)

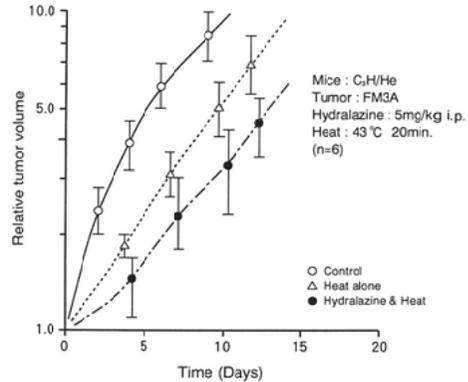


Fig. 6 The effect of hyperthermia and the combination with Hyd. (5mg/kg, 20min. before heat) on the growth of FM3A tumor.

を温熱前20分と温熱直後の投与で比較したものである。温熱前20分投与では7.14±0.90日, 8.50±0.98日, 9.72±0.92日, 9.84±1.30日であるが、温熱直後の投与ではそれぞれ8.07±1.44日, 8.25±0.57日, 9.34±1.20日, 9.04±1.05日となり有意な差は認められなかった。Fig. 6 に他の腫瘍系(FM3A 腫瘍)における腫瘍成長曲線を示す。SCC-VII 腫瘍同様に成長の遅延を認め(E.R. 1.31), Hyd. による温熱療法増感効果を認めた。

考 察

腫瘍血管の特異性を利用した癌治療法が開発され、臨床応用されてその効果が報告されている⁸⁾⁹⁾。Norepinephrine, Angiotensin-II などの昇圧剤は制癌剤との併用により腫瘍局所への制癌剤の到達性を改善することで、5-Hydroxytryptamine (5-HT), Hydralazine, Calcium entry blocking agents, Prostaglandine などの血管拡張性薬剤は局所の血流を変化させ、制癌剤の腫瘍局所での接触時間を延長すること等で悪性腫瘍の抗腫瘍効果の検討が行なわれている^{10)~12)}。これらの血管作動性薬剤と melphlan などの化学療法剤、放射線治療、温熱療法等との併用で抗腫瘍効果の増大が、実験腫瘍や人腫瘍においても報告されている^{7)10)~14)}。しかし、これらの薬剤を放射線治療や化学療法剤と併用すると腫瘍部の酸素分圧を低下させ放射線抵抗性になったり、制癌剤の腫瘍局所の到達性を減少させるので有効でないとの報告もあ

る⁷⁾.

今回、我々が用いた Hyd. は pyridazine 環を有する phthalazine 誘導体で血管拡張作用を有する降圧剤の一つであり古くから臨床で使用されている¹⁵⁾. その正確な薬理作用は、未だ充分な解明がなされていないが、末梢血管の平滑筋細胞の酵素系に作用し、動脈拡張作用が主体と言われる¹⁶⁾. このため平滑筋をもつ正常血管は拡張し、これに対し平滑筋をもたない腫瘍新生血管は変化せず血流は拡張した正常血管に流入し、正常組織部の血流量は増加する. この Stealing effect により腫瘍部の血流量が選択的に低下する⁷⁾¹⁷⁾. また、この腫瘍部の血流量の低下は Hyd. の降圧作用により腫瘍部の血管内圧が低下し血管を囲む腫瘍間質組織圧以下となり、腫瘍新生血管の虚脱が起こり血流が途絶するためとも言われている¹⁸⁾.

この Hyd. による正常組織血管の血流の増大と腫瘍血流の低下による熱拡散能の差異が加温効果の直接作用による抗腫瘍効果であると考えられる. しかし、今回の温度測定で示したように Hyd. は腫瘍局所温度の上昇速度に関係し設定加温温度には著明な差は認めなかった. Hyd. のこの Stealing effect による 0.2℃ の腫瘍局所温度の上昇のみで、43℃ での温熱増感率 (T.D.M.F.) が 2.6 と高い増強効果が得られるとは考えにくい. Hyd. 単独では直接の抗腫瘍効果がないので他の要因を考える必要がある.

1つは Hyd. の Stealing effect や、降圧作用による腫瘍新生血管の虚脱による腫瘍血流の減少が、腫瘍部の酸素分圧や局所 pH の低下などを引き起こす¹⁹⁾²⁰⁾. 以前より低酸素細胞は好酸素細胞に比べて、熱感受性であることは In vitro, In vivo でも報告されている^{21)~24)}.

また、低 pH 環境下でも、低酸素細胞と同様に熱感受性であることは既に報告されている^{25)~27)}. この加温時の短期間に起こる腫瘍部の組織環境の変化が Hyd. の温熱効果をより増強する機序だと考えられる.

もう1つは Hyd. の作用発現時間は臨床使用では経口投与で 20~45分、筋肉内投与で 5~10分、静脈内投与では 2~3分である. 作用持続時間は

経口および筋肉内投与で 7.5時間、静脈内投与では 3~4時間と報告されている^{28)~30)}. Horsman らはマウスで放射性同位元素 (塩化ルビジウム, 86 Rbcl) を用いた血流測定では Hyd. (5mg/kg) の静脈内投与では 8時間後においても投与前の値には回復しないと報告している³¹⁾. Emami らによる 43℃ 40分間の温熱による腫瘍血管障害は 72時間持続し、Rappaport らによると mammary adenocarcinoma 13726A を用いた温熱の実験では腫瘍組織の血管障害は 43.5℃ の加温で 16時間後にも血管容積の減少がみられたという報告がある³²⁾³³⁾. つまり、Hyd. は温熱療法の血管障害の回復を阻害することで、または、Hyd. による血流低下は、温熱による血管障害をより増強することで、長期間の血流障害を起こす. このため Hyd. と温熱併用はいわゆる塞栓術に類似した抗腫瘍効果の増強が大きいと考えられる. これは我々の実験でも Hyd. の投与時期の検討では温熱処理前後に有意な差が無いことから Hyd. は温熱後の腫瘍組織環境の変化への影響が大きいと思われる.

低栄養、低酸素化、低 pH などの Hyd. の組織環境に対する影響に関する報告は多数みられる^{34)~36)}. さらに Horsman らによる C3H/Tif mammary carcinoma を用いた実験において Hyd. 併用による抗腫瘍効果は 1℃ の温度上昇分と同等であるが実際の温度測定では 0.2℃ 上昇したにすぎず温度上昇による効果よりも腫瘍環境の変化による影響が大きい可能性があると報告している³¹⁾. 我々の実験でも Fig. 1 から得られる Hyd. による温度上昇分は 43.5℃ 30分の加温では、43℃ の加温時間で評価すると約 2分程度の増加分にすぎず Fig. 4 から得られた Hyd. による高い温熱の増感率 (T.D.M.F.) の原因とは考えにくい. また Horsman らも恒温水槽による加温では Hyd. による Stealing effect による選択的な腫瘍部加温は得られなかったと報告している³¹⁾. これは我々の結果と一致している. この原因は恒温水槽の比熱、熱伝導が大きいので、腫瘍部周辺の正常組織も同時に加温されるためと考えられる.

Voorhees らは犬の canine transmissible venereal tumor での 13.56MHz RF 波を用いた Hyd.

併用の局所加温20分での温度変化を報告している³⁷⁾。Hyd. 0.5mg/kgの静脈投与の作用では腫瘍内部温度は48℃に上昇し周囲正常筋組織では38.5℃しか上昇せず腫瘍組織の選択的な温度上昇を得たと報告している³⁷⁾。実際の臨床での温熱療法においてはRF加温が行われるのでHyd.併用により、選択的加温が可能であり直接的、温度上昇に伴う増感効果も期待できる。また、Fig. 5で示したように温熱量の少ないほど高い増感効果が認められることより臨床使用においても有用であると考えられた。しかし、Hyd.の血流改変作用は腫瘍周囲の正常組織の血管反応に依存している。このため腫瘍周囲の正常組織で血管拡張が起これなければこのStealing effectもみられず腫瘍組織の選択的な血流低下も起これない。Linらは腫瘍周囲の正常組織の血管反応を十分考慮するならHyd.は温熱療法の有用な補助的な薬剤として利用できると報告している³⁹⁾。

Chaplinらは実験腫瘍Lewis lung tumorにおいて低酸素細胞増感剤(RSU-1069)とHyd.併用において成長遅延日数で約2倍の増感効果を報告している⁴⁰⁾⁴¹⁾。また、StratfordらはKHT tumorでの制癌剤(melphlan)との併用では約3.0の増感比を得たと報告している¹⁹⁾。これらは、Hyd.による腫瘍部の血流低下に伴う薬剤の腫瘍内での滞留の増加や低酸素細胞の増加を利用していると考えられる。また、Hyd.は古くから用いられている降圧剤で安全性も確立された薬剤であり、直ちに、臨床使用が可能である¹⁵⁾³⁸⁾。

我々の実験において扁平上皮癌由来のSCC-VIIだけでなく腺癌由来のFM3Aに対しても同様にHyd.を併用することにより温熱療法の増感効果を認めた。これらのことよりHyd.の併用発現時間、薬剤の腫瘍到達時間を検討し投与時期を慎重に考慮するならばHyd.と放射線療法、温熱療法、化学療法、低酸素細胞増感剤との併用は種々の組織の悪性腫瘍の有用な治療法の一つとなり得ると考えられた。

なお本研究は平成2、3年度厚生省癌研究助成金(小野山班)の助成を受け、本論文の要旨は第50回、51回日本医学放射線学会総会で発表した。

文 献

- 1) Scott RS, Jonson RJR, Koual HBS, et al: Hyperthermia in combination with radiotherapy: A review of five years experience in the treatment superficial tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 9: 1327—1333, 1983
- 2) Luk KH, Purser PR, Castro JR, et al: Clinical experiences with local microwave hyperthermia. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 7: 615—619, 1981
- 3) Overgaard J: Effect of hyperthermia on malignant cells in vivo. A review and a hypothesis. *Cancer* 39: 2637—2646, 1977
- 4) Taylor LS: Electromagnetic syringe. *IEEE Trans Biomed Eng BME-25*: 303—304, 1978
- 5) Button CV, Walker AE: The rf thermoseed—A thermally self-regulating implant for the production of brain lesion. *IEEE Trans Biomed BME-18*: 104—109, 1971
- 6) Brezovich IA, Young JH: Hyperthermia with implanted electrodes. *Med Phys* 8: 79—84, 1981
- 7) Kruuv JA, Inch WR, McCredie JA: Blood flow and oxygenation of tumors in mice II. Effect of vasodilator drugs. *Cancer* 20: 60—65, 1967
- 8) Maeda H, Takeshita J, Kanamaru R: A lipophilic derivative of neocarzinostatin. A polymer conjugation of antitumor antibiotic protein. *Int'l J Peptide Protein Res* 14: 81—87, 1979
- 9) Iwai K, Maeda H, Konno T: Use of oily contrast medium for selective drug targeting to tumor results in enhanced therapeutic effect and X-ray image. *Cancer Res* 44: 2115—2121, 1984
- 10) Algire GH, Legallais FY: Vascular reactions of normal and malignant tissues in vivo. IV. The effect of peripheral hypotension on transplanted tumors. *J Natl Cancer Inst* 12: 399—421, 1951
- 11) Cater DB, Grigson CMB, Watkinson DA: Changes of oxygen tension in tumors induced by vasoconstrictor and vasodilator drugs. *Acta Radiol* 58: 401—408, 1962
- 12) Jirtle RL; Invited review chemical modification of tumor blood flow. *Int J Hyperthermia* 4: 355—471, 1988
- 13) Maeta M, Karino T, Inoue Y, et al: The effect of angiotensin-II on blood flow in tumours during localized hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 5: 191—197, 1989
- 14) Wood PJ, Hirst DG: Calcium antagonists as radiation modifiers: Site specificity in relation to tumor response. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 16: 1141—1144, 1988

- 15) Stunkard A, Wertheimer L, Redisch W: Studies on hydralazine: Evidence for peripheral site of action. *J Clin Invest* 33: 1047-1053, 1954
- 16) Krishnamurty VSR: Dual influence of hydralazine on constrictor response to noradrenaline in isolated arterial smooth muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 59: 1159-1169, 1981
- 17) Chan RC, Babbs CF, Vetter RJ, et al: Abnormal response of tumor vasculature to vasoactive drugs. *JNCI* 72: 145-150, 1984
- 18) Jain RK: Determinants of tumor blood flow: A review. *Cancer Res* 48: 2641-2658, 1988
- 19) Stratford IJ, Adams GE, Godden J, et al: Potentiation of the anti-tumor effect of melphalan by the vasoactive agent, hydralazine. *Br J Cancer* 58: 122-127, 1988
- 20) Okunieff P, Kallinowski F, Vaupel P, et al: Effects of hydralazine-induced vasodilation on the energy metabolism of murine tumours studies by in vivo ³¹P-nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Natl Cancer Inst* 80: 745-750, 1988
- 21) Song CW: Effect of local hyperthermia on blood flow and microenvironment. A review. *Cancer Res* 44: 4721-4730, 1984
- 22) Bicher HI, Hetzel FW, Sandhu TS, et al: Effects of hyperthermia on normal and tumor microenvironment. *Radiology* 137: 523-530, 1980
- 23) Schulman N, Hall EJ: Hyperthermia: Its effect on proliferative and plateau phase cell cultures. *Radiology* 113: 209-211, 1974
- 24) Bichel P, Overgaard J: Hyperthermic effect on exponential and plateau ascites tumor cells in vitro dependent on environmental pH. *Radiat Res* 70: 449-454, 1977
- 25) Freeman ML, Dewey WC, Hopwood LE: Effect of pH on hyperthermic cell survival: Brief communication. *J Nat Cancer Inst* 58: 1837-1839, 1977
- 26) Overgaard J: Influence of extracellular pH on the viability and morphology of tumor cells exposed to hyperthermia. *J Nat Cancer Inst* 5: 1243-1250, 1976
- 27) Gerweck L, Rottinger E: Enhancement of mammalian cell sensitivity to hyperthermia by pH alternation. *Radiat Res* 97: 508-511, 1976
- 28) Perry HM Jr: *Amer Med* 228: 405, 1954
- 29) Zak SB, Bartlett MF, Wagner WE, et al: Disposition of hydralazine in man and a specific method for its determination in biological fluids. *J Pharm Sci* 63: 225-229, 1974
- 30) Etteldorf JN, Smith JD, Tharp CP, Tuttle AH: Hydralazine in nephritic and normal children with renal hemodynamic studies. *Amer J Dis Child* 89: 451-462, 1955
- 31) Horsman MR, Christensen KL, Overgaard J: Hydralazine-induced enhancement of hyperthermic damage in a C3H mammary carcinoma in vivo. *Int J Hyperthermia* 5: 123-136, 1989
- 32) Emami B, Nussbaum GH, Tenhaken RK, Hughes WL: Physiological effects of hyperthermia: Response of capillary blood flow and structure to local tumor heating. *Radiology* 137: 805-809, 1980
- 33) Rappaport DS, Song CW: Blood flow and intravascular volume of mammary adenocarcinoma 13726A and normal tissues of rat during and following hyperthermia. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 9: 539-547, 1983
- 34) Brown JM, Fielden EM, Fowler JF, et al: Exploitation of bioreductive agents with vasoactive drugs. *Proc Eighth Int Cong Radiation Research* 2: 719-724, 1987
- 35) Trotter MJ, Acker BD, Chaplin DJ: Histological evidence for nonperfused vasculature in a murine tumor following hydralazine administration. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 17: 785-789, 1989
- 36) Tobari C, Van Kersen I, Hahn GM: Modification of pH of normal and malignant mouse tissue by hydralazine and glucose, with and without breathing of 5% CO₂ and 95% air. *Cancer Res* 48: 1543-1547, 1988
- 37) Voorfees WD III, Babbs CF: Hydralazine-enhanced selective heating of transmissible venereal tumor implants in dogs. *Eur Cancer Clin Oncol* 18: 1027-1033, 1982
- 38) Nickerson M, Ruedy J, Godman LS, et al: Antihypertensive agents and the drug therapy of hypertension. In *Pharmacological Basis of Therapeutics*, 5th edition, New York, McGraw-Hill Press, p705-726, 1975
- 39) Lin JC, Song CW: Effects of hydralazine on the blood flow in RIF-1 tumors and normal tissues of mice. *Radiat Res* 124: 171-177, 1990
- 40) Chaplin DJ, Acker B: The effect of hydralazine on the tumor cytotoxicity of the hypoxic cell cytotoxin RSU 1069: Evidence for therapeutic gain. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 13: 579-585, 1987
- 41) Chaplin DJ: Hydralazine-induced tumor hypoxia: A potential target for cancer chemotherapy. *J Nat Cancer Inst* 81: 618-622, 1989