

由中藥草中分離能提升輻射治癌效果 之輻射增敏劑

Screening the Chinese Medicine for Radiation Sensitizers in Radiotherapy for Human Cancers

譚世特

國立清華大學輻射生物所

摘要

本計畫全程目的在由中藥草中篩尋有潛力發展為癌細胞輻射增敏(簡稱輻敏)藥劑的天然物成分。篩檢依靠特定生物細胞系統之運用:微生物細胞主要用作初步快速檢測,哺乳類細胞則主要用於評估測試。

在第一年中,我們以奇異球菌 *Deinococcus radiodurans* 為測試細胞對 48 種樣品進行輻敏效應測試。結果顯示,編號 THKM8605 樣品有顯著的細胞輻敏效應(包括加馬射線及紫外光)。這樣的結果令人鼓舞。往後的工作將繼續利用 *D. radiodurans* 菌及其它微生物細胞(如此可涵蓋或反應更多的細胞輻敏機制,有助提高最後成功機率)進行大規模的篩檢。

另外,利用哺乳類正常細胞株及癌病細胞株之輻射敏感度測試結果顯示,有可能可以篩選到只對癌細胞有選擇性敏化作用的輻敏劑。

總結之外,本三年計畫的第一年的工作已有具體的進展。

關鍵辭:中藥,輻射增敏劑,篩檢方法

ABSTRACT

This project was designed to screen Chinese medicine for radiation sensitizers useful in radiotherapy in human cancers. The screening procedures include the use of microbial cells in the preliminary tests and mammalian cells in the evaluation steps.

In the first year of the project, forty-eight samples prepared from natural products were tested and one (THKM8605) was found to sensitize *Deinococcus radiodurans* S101 to UV radiation significantly. Similar sensitization effect was observed when γ -ray was substituted for UV light. This positive result was inspiring. More samples will be tested in the coming year using different *D. radiodurans* strains and other appropriate microbes. Thus, radiosensitizers representing different cellular radiation-sensitivity mechanisms could be found.

In experiments using mammalian cells, a known radiosensitizer, bromodeoxyuridine, was shown to sensitize a cancer cell line but not a normal cell line, suggesting a possibility of isolating radiosensitizers which are cancer-specific.

In all, we have made substantial progress in our first-year work in the 3-year project.

Keywords: Chinese medicine, radiation sensitizers, screening method.

壹、前言

衛生署近年統計資料顯示，罹患惡性腫瘤為國人十大死因之首。內政部最近統計結果也指出，國人因癌症而降低平均壽命有逐年嚴重的現象。鑑於癌症對國人生命的威脅，有必要加強治癌藥的研發。在相關癌症治療藥物開發上，除熟知已用於臨床的 AZT、ddT、及一些 hematopoietic stimulators^{ex}IL-B、CSFs 等，雖不斷有新藥被發展出，但臨床效果皆未達預期理想。另一方面，從天然藥物（中藥材）分離具有抗癌藥理的新成分的嘗試已露曙光。例如，由長春花分離得到的 vinblastine 及 vincristine 皆具抗癌（小兒白血病）療效。

統計資料顯示，國內肺癌死亡人口在過去 40 年中增加約四十倍，分別居男女癌症死因第一、二位。肺癌病患中只有約 15-20% 適合外科手術切除病灶。其餘病人若尚無癌細胞轉移現象，則絕大數有賴放射療法（radiotherapy）。在臨床治療上，肺部腫瘤一般分為小細胞肺纖維瘤（small cell lung carcinoma; SCLC）和非小細胞肺纖維瘤（non-small cell lung carcinoma; NSCLC）兩類。報導[1-3]指出：(1) Stage I & II NSCLC

的 3-年及 5-年存活率分別為 36-56% 及 16-32%；(2) Stage IIIA NSCLC 的 3-年存活率只有約 20%；(3) SCLC 病人情況更不好，病情階段一般分為 limited 期和 extensive 期。SCLC 一般採用放射治療與化學治療之合併療法。然而，即使在 limited 期，SCLC 的二年存活率只有約 28%。如上所述，放射療法在肺癌治療上佔重要位置，但整體看，治療效果仍有待提昇。在諸多辦法中，對付癌細胞之輻射增敏劑 (radiosensitizers) (簡稱輻敏劑) 之採用是有發展潛力的一種。

Misonidazole 是廣泛使用之腫瘤輻射增敏劑，在 in vitro 條件下具有不錯之輻敏效果。但是，由於作用機制只及於腫瘤之缺氧細胞 (hypoxic cells)，misonidazole 只對頭頸部腫瘤比較有療效[4]。再者，misonidazole 具神經毒性，所以施用量受限，效果不佳。有一個與 misonidazole 構造相似、毒性較低之化合物，ethanidazole (SR2508)，正在發展中。不論結果如何，ethanidazole 和 misonidazole 一樣，作用點只限於腫瘤中的缺氧細胞。

某些 halogenated pyrimidines，如 5-iododeoxyuridine 及 5-bromodeoxyuridine，也有腫瘤輻敏效果，不過對正常組織也會造成大的傷害[5]。

近年來輻敏劑之發展轉由天然物質中找尋。一個頗受注目的例子是由 Western Yen 分出的 paclitaxel (taxol) [6]。Taxol 屬 diterpene 類化合物，含有一個 texane ring 結構。Taxol 可結合 microtubules 之 tubulin 次單位，會在細胞週期 (cell cycle) 將細胞阻在 G2/M 期[7,8]。因為 G2/M 在細胞循環中是輻射敏感度較高之生長期，taxol 才被考慮拿來作輻敏劑之研發。Tishler et al [9]報導說 taxol 可使人類 astrocytoma 細胞株輻敏化。不過，Liebmann et al [10]報導說 taxol 對某些人腫瘤細胞只有中度之輻敏效果，另有些腫瘤細胞並沒有因 taxol 導致輻敏反應。另外一方面，Hei et al [11]發現 taxol 會促進老鼠細胞株的輻射癌化。因此，taxol 作為輻敏劑仍有待一步研究與評估。不論如何，taxol 的例子指出了由天然化合物中分離輻敏劑之潛力。在本計劃中，我們擬利用『微生物及哺乳動物細胞系統對輻射之反應』為工具由多樣化的天然物 (中藥草) 中篩檢有潛力之輻敏劑。

輻射線對生物細胞有致死、生長抑制、及致突變等效應。這些效應所涉及之作用機轉非常複雜。一般，高劑量輻射會造成細胞重要成份 (尤其是 DNA 或染色體者) 嚴重受損。若細胞無法修復 DNA 傷害則會步上死亡。細胞輻敏劑主要在利用該化合物之存在或處理使遭受輻射照射之細胞只要更低的輻射劑量就會造成大量傷害或減低其修復能力而導致死亡。已有不少證據顯示，不同生物細胞常會有相似的生化及代謝上原因對輻射線敏感。換句話說，由原核細胞 (如細菌)，到真核的微生物 (如酵母菌)，到如人類的哺乳類細胞在 DNA 傷害方式及修復機制及其調控有相當程度的相似性。

在本計畫中，我們將試圖利用單細胞微生物來建立輻敏劑快速篩選系統。其中，奇異球菌 *Deinococcus radiodurans* 是已知最抗輻射之細胞[12]，修復 DNA double-strand breaks(一般認為此種傷害是游離輻射殺死細胞之主因)能力特強；酵母菌 *Saccharomyces cerevisiae* (為真核微生物) 及大腸桿菌 *Escherichia coli* 二者則在抗輻射之分子機制上已有較多了解；三類不同微生物可涵蓋較廣之抗輻射機制。在第一年中，我們先由 *D. radiodurans* 開始。另外，我們將利用癌細胞株與正常細胞株做為細胞系統測試輻敏劑對哺乳細胞的效果。

貳、材料與方法

一、受測樣品

計畫的第一年中，受測樣品48個，其中中藥單方(購自仙豐公司；GMP廠)10個，其餘38個來自高雄醫學院天然物研究所吳教授實驗室。樣品原上以dimethyl sulfoxide (DMSO) 溶解，並配成20,000 ppm溶液，保存於冰中待用。樣品測試濃度先定為200 ppm，若對細胞毒性太強，再適當稀釋。

二、細胞培養

D. radiodurans 菌細胞培養如前述[13-15]。液體培養基為plate count broth (PCB)、固體培養基為plate count agar (PCA)。這些培養基的成分皆包括 yeast extract, tryptone及glucose。培養溫度為32°C。液體培養採震盪培養。

哺乳動物細胞株包括中國倉鼠卵巢細胞CHO-K1及直腸癌細胞株RKO，基本培養條件如我們先前發表之文章[16]，摘要如下：CHO-K1的培養基採用F-10 (Difco) RKO用DMEM培養基。上述培養基另添加 glutamine, bicarbonate, 10% fetal calf serum, 及抗生素 penicillin 和 streptomycin。細胞株保存時以 3×10^5 cells/ 25 cm² tissue culture flask 的濃度接種。培養條件為37°C、5% CO₂ 及 95% air。欲取得對數生長期之細胞時則於24 h 前在 75 cm² 之 flask 中接種 1×10^6 cells。

三、輻射照射

照射細菌細胞時採用⁶⁰Co γ-ray或紫外光(UV 254nm)，二者都能有效傷害細胞DNA。由於原欲借用的⁶⁰Co照射器有一段長時間故障待修，

所以第一年的輻敏效應測試主要以紫外光行之。動物細胞輻射照射用 150 keV X-ray 機器 (Torrey 150D)。

四、細胞輻射存活度測試

微生物細胞懸浮液以適當輻射劑量照射後，取樣經適當稀釋後，以平板計數法 (plate count) 測定存活細胞數[13]。

哺乳動物細胞株則在輻射照射處理後，先經 trypsinized，再取適量接種在含 5 ml 培養基之 60 mm dish 中。每一次測定中，使用 3 種不同細胞濃度、每個濃度用 5 dishes。含細胞之 dishes 經培養後出現 colonies。在做存活計數時先測定 plating efficiency (PE) 值 (即以平板 (plate) 之總細胞數除 colony 數)。細胞照射存活度則為處理後之 PE 除以對照組 (不照射) 之 PE。

五、樣品細胞毒性測試

毒性測試根據樣品生長抑制測定或存活度試驗。我們將考慮到樣品的有效濃度及可用之量來規劃最合適之輻射增敏測試條件。

六、輻射增敏測試

在初步評估天然物輻射增敏效力時，細胞先以天然物樣品處理後接受輻射照射進行存活測試。無藥有照射及有藥物無照射二者為控制組。有輻射增敏效力即藥物處理組有較高的輻射致死率者。若初步結果顯示有增敏效力者才做較仔細的評估，包括藥物之濃度效應及輻射增敏最適輻射劑量範圍。不同細胞若有不同數值，也可做為推測輻射增敏可能機制之參考。

(一)、利用細菌細胞測試輻射增敏效應

利用細菌細胞測試輻射增敏效應時，考慮受測樣品成分性質、測試步驟之簡便性、及輻射生物學原理等因素建立測試步驟。基本步驟如下。

- (1) 適當量對數成長期菌液以受測試樣在生長條件下處理適當時間。
- (2) 將試樣處理過之細胞菌液離心並以磷酸緩衝液清洗細胞一次。
- (3) 細胞以適當劑量輻射 (加馬射線或 UV254nm 光) 照射。
- (4) 輻射照射後之細胞以平板計數法測細胞存活情形。
- (5) 結果與各對照組 (無試樣處理者、無輻射照射者等) 比較，以評估輻射增敏作用。

(二)、利用哺乳動物細胞系統測試輻射增敏效應

比起微生物，動物細胞系統在培養、藥物測試、及輻射照射處理上都較複雜。我們利用一株直腸癌細胞 RKO 及一株正常卵巢細胞株 CHO 為模式對一已知（對癌細胞）又輻射增敏效應的藥物 5-bromodeoxyuridine (BrdU) 來做測試，以建立利用哺乳動物細胞系統測試樣品輻射增敏效應的有效偵測系統。對數生長期的細胞（50% confluence）以終濃度 10mM 之 BrdU 處理 16 h 後，進行 X 光輻射照射（劑量為 2, 4, 6 Gy）。樣品中包括不經 BrdU 處理及未照射之細胞作為對照組。各處理組及對照組細胞之存活測定是將培養皿上之細胞經 trypsin 處理收集、適當稀釋後接種於培養基（60 mm 培養皿）中培養。培養 7—10 天後，經 1% crystal violet 染色、觀察並記錄培養皿中細胞群落（colony）數。首先以 colony 數除以原先接種的細胞總數（以血球計數器測得）得到 PE（plating efficiency）值。然後計算各處理條件下，細胞之存活率（surviving fraction, SF）；SF = 處理組 PE 除以對照組 PE。SF 對游離輻射 X 光處理時間做半對數圖則得到存活曲線（survival curve）。

參、結果

一、利用細菌細胞系統測試樣品輻射增敏效應

本計畫第一年中已完成 50 種純化樣品製備、保存、及資料建檔，及完成 48 種樣品的輻射增敏效應測試，包括 38 種純化樣品及 10 種中藥單方。我們首先採用的細胞系統為 *D. radiodurans* S101[15]。圖一為此菌的 UV 存活曲線（survival curve）包括六次實驗的結果，顯示 30 秒的 UV 照射（dose rate = $4.7 \text{ J/M}^2 \text{ s}$ ）約造成 0.5~1 logs 的存活度下降，而 60 秒的 UV 照射約造成 1.5~2 logs 的存活度下降。若此菌在 UV 照射前經某一樣品處理後，這些數值有顯著的上升，則該樣品對測試菌具有輻射增敏效應。

圖二是 48 種樣品的輻射增敏效應測試的結果。樣品名稱如圖中所示。部份樣品為保密緣故，暫以編號表示，以利將來的專利權維護及發表。48 種樣品中的一個 THKM8605 有頗高的輻射增敏效應。圖三是圖二數據整理成的分佈圖。除 UV 外 THKM8605 也能增加 *D. radiodurans* S101 對 γ -ray 敏感性（圖四）。

根據以上數據，THKM8605 的確顯出與眾不同的生物細胞輻射增敏能力。我們將對 THKM8605 做更多的測試，包括不同的藥物濃度、處理時間、不同的細胞系統等。

二、利用哺乳動物細胞系統測試樣品輻射增敏效應

在哺乳動物細胞系統方面,我們首先測試已知的輻射增敏劑 BrdU 對直腸癌細胞株 RKO 和正常卵巢細胞株 CHO 之 X 光存活度的影響。結果顯示,10 μ M BrdU 前處理 16 h 後,6 Gy 劑量可殺死 90% CHO 細胞,而對 RKO 癌細胞同樣致死率只需要 2 Gy 劑量即可(圖五)。此結果表示, BrdU 對 RKO 癌細胞有輻射增敏效應,對正常卵巢細胞株 CHO 則無。這樣的結果顯示細胞種類上的差異。我們將測試更多實驗條件,使數據更完整。不論如何,至少 RHO 細胞可作為測試樣品輻射增敏效應的哺乳動物細胞偵測系統。而且這樣的結果暗示,有機會可以篩選到對正常細胞無不利影響,但對癌細胞有效的輻射增敏劑。

圖六是利用 RKO 癌細胞測八種樣品的細胞毒性(生長抑制程度)的結果。測試濃度為 10 μ M 及 20 μ M。根據此圖,我們先選兩個較無毒性的樣品進行輻射增敏效應測定。如圖七所示,actinodaphine 與 THKM8601 皆無輻射增敏效應。此外,數據也顯示 actinodaphine 藥物處理本身會降低細胞的 colony-forming ability。

肆、討論

一、初步篩檢工作得到樂觀結果,遠景可期

在運用微生物細胞建立檢測輻射增敏效應系統上,我們已有令人鼓舞的初步結果。在受測試 48 個樣品中, *D. radiodurans* S101 菌株(此菌在輻射抗性方面的特性已有部分在去年發表[15]),對其中的一個樣品顯現出相當高的輻射增敏反應。我們相信,往後持續篩檢工作會找到更多的細胞輻射增敏化合物。特別是,當我們採用不同的微生物細胞做為測試系統時,相信會有更多的細胞輻射增敏化合物被篩選出來。如此,為數比較多的各類化合物將會涵蓋或反應多樣的輻射增敏效應機制。而最重要的是,希望其中一種或數種輻射增敏效應機制也可以運用在人類的癌細胞輻敏化上。根據已知的輻射生物效應的機制,這種可能性是可以期待的。如此,當那些被篩選出的輻射增敏化合物在最後藥物臨床評估時,相信其中會有真正能用於減少人體放射治療時的輻射劑量而且確實有效提升治療效果者。

二、哺乳類細胞初步輻敏測試的有趣數據

數據顯示,化學藥劑 BrdU(已知的輻敏劑)對我們選取的正常細胞 CHO

沒有輻射增敏反應，但對癌病細胞 RKO 則有。這暗示，此一檢測系統不但能篩選到輻射增敏劑，更重要的是，似乎可以篩選到只對癌細胞有效的輻射增敏劑。這種能力在實際應用時非常重要；因為，臨床治療最重要的就是如何設法使放射線能殺死癌病細胞，而同時不要對正常細胞造成太大的傷害。

三、本藥物研發應用計畫也提供基礎科學新知

本應用型計畫的藥物研發策略也可經由新藥物及藥效的發現導致細胞輻射生物效應機制的發掘與了解。本計畫第一年的初步研究成果即顯示，某種新的化合物可能有特殊的輻射生物效應。因此，也提供輻射生物學研究的新途徑。這點反過來也會有助於新藥物研發工作的構思。因此，在本藥物研發計畫中，應用與基礎二者有相輔相成之功。

伍、結論與建議

篩選工作已有初步令人樂觀的結果，顯示本計畫構想可行性高。建議擴大篩選工作規模，確保最後成功早日到來，開展國內製藥生物技術領先國際的一個契機。

圖之說明 (Figure legends)

圖一： *D. radiodurans* S101 之 UV 存活曲線(六次測定之結果)。

Fig. 1. UV survival curves of *D. radiodurans* S101. Results from 6 experiments are shown.

圖二： *D. radiodurans* S101 細胞經樣品處理後之 UV 存活測定(共 48 個樣品)。

Fig. 2. UV survival curves of *D. radiodurans* S101 with sample pretreatment.

圖三： *D. radiodurans* S101 細胞經樣品處理後之 UV 存活。共 48 個樣品之數據顯示，兩個樣品有輻射增敏效應(最高者為 THKM8605)。

Fig. 3. Distribution of *D. radiodurans* S101 UV (30 seconds) survival rate for 48 samples indicating high UV sensitization ability of two samples (the highest one was THKM8605).

圖四: *D. radiodurans* S101 細胞經 THKM8605 樣品處理後之 UV (左) 及 γ -ray (右) 存活曲線 (N = 3)。

Fig. 4. Sensitization of *D. radiodurans* S101 cells to by THKM8605 (N = 3).

圖五: BrdU 對 CHO 及 RK0 細胞之輻射敏感度的影響。細胞經 0, 2, 4, 6 KGy X-射線照射後之敏感度以細胞存活率來表示。BrdU 之影響是 10 μ M 濃度處理 16 h 後再照射以上劑量而決定的。圖中之結果是 3 次不同實驗之平均值。

Fig. 5. Effect of bromodeoxyuridine (BrdU) on radiation sensitivity of CHO and RK0 cells. Radiation sensitivity was determined by survival fraction (S.F.) after a dose of 0, 2, 4, and 6 Gy. Cells were without pre-treated (IR) or pretreated with 10 μ M bromodeoxyuridine (IR + BrdU) for 16 h. The results were the average of three measurements.

圖六: 不同藥物對 RK0 細胞生長速率之影響。8 種不同藥物對 RK0 細胞之毒性是由生長抑制程度來決定。RK0 細胞 (10^5 /60 mm dish) 之生長速率是由 16~24 h 後計算細胞數目而求得。藥物之濃度為 10 或 20 μ M, 處理時間是 4 h。圖中結果是 3 次不同實驗之平均值。

Fig. 6. Effects of various compounds on growth of RK0 cells. Eight natural compounds were used to test the toxicity on RK0 cells by growth inhibition. RK0 cells were seeded at a density of $\sim 10^5$ cells/60 mm dish, without or with 10 or 20 each compound. The treatment was for a period of 4 h and the compound was washed off and cells were replenished with fresh F10 medium. The number of cells were determined by counting in a hemacytometer after 16-24 h. The results were the average of three measurements.

圖七: Actinodaphine 及 THKM8601 對 RK0 細胞之輻射敏感度之影響。細胞經 0, 2, 4 KGy X-射線照射後之敏感度是由細胞存活率來決定。藥物之影響是 10 μ M 濃度處理 16 h 後再照射以上劑量而決定。圖中的結果是三次不同實驗的平均值。

Fig. 7. Effects of actinodaphine and THKM8601 on radiation sensitivity of RK0 cells. Radiation sensitivity was determined by survival fraction (S.F.) after X-irradiation with a dose of 0, 2, and 4 Gy. The concentration used was 10 μ M for each compound and the treatment was for 16 h. The radiation sensitivity of untreated RK0 cells was inoculated as a control for comparison. The results were the average of three measurements.

Fig. 1

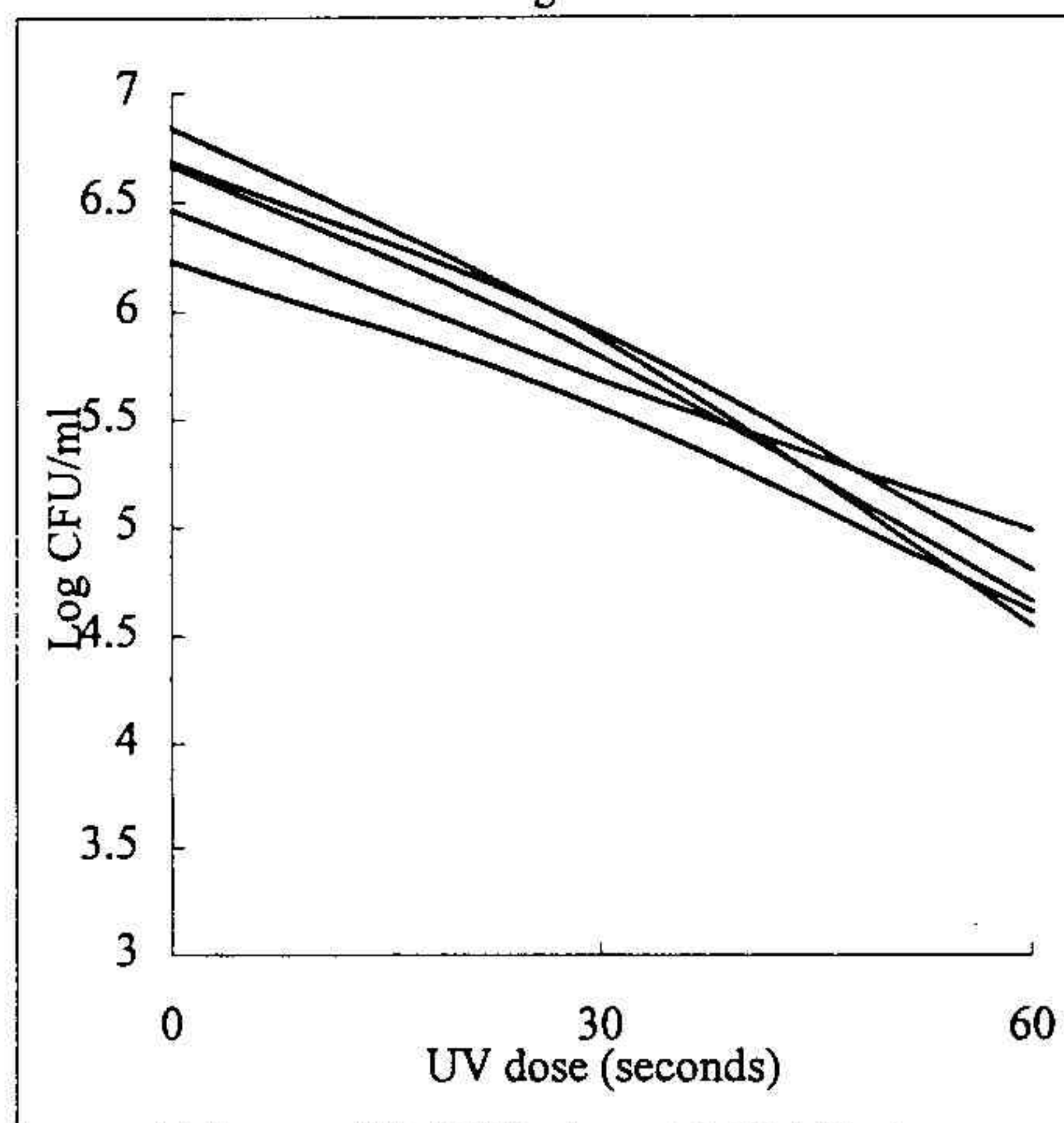


Fig.2-1

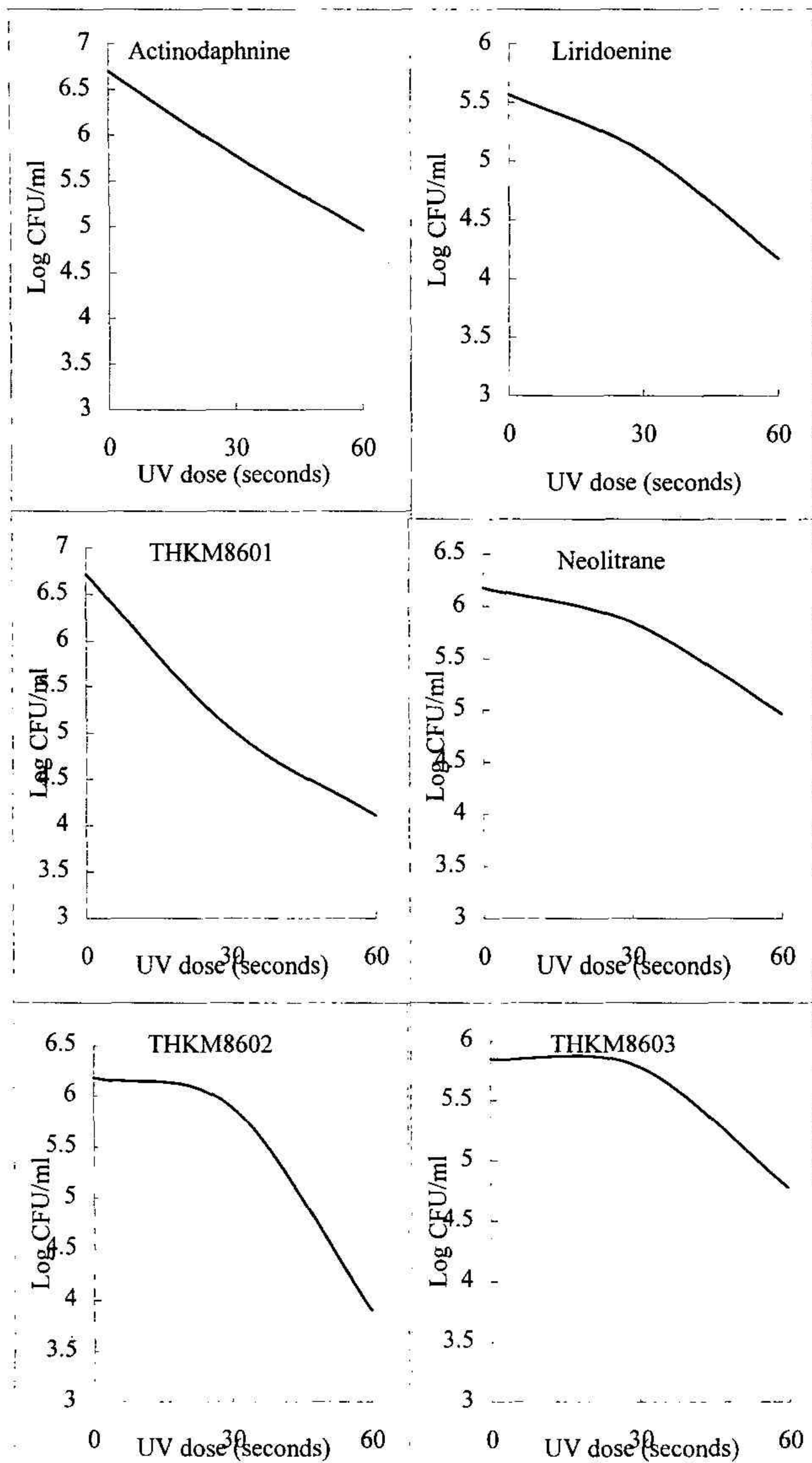


Fig.2-2

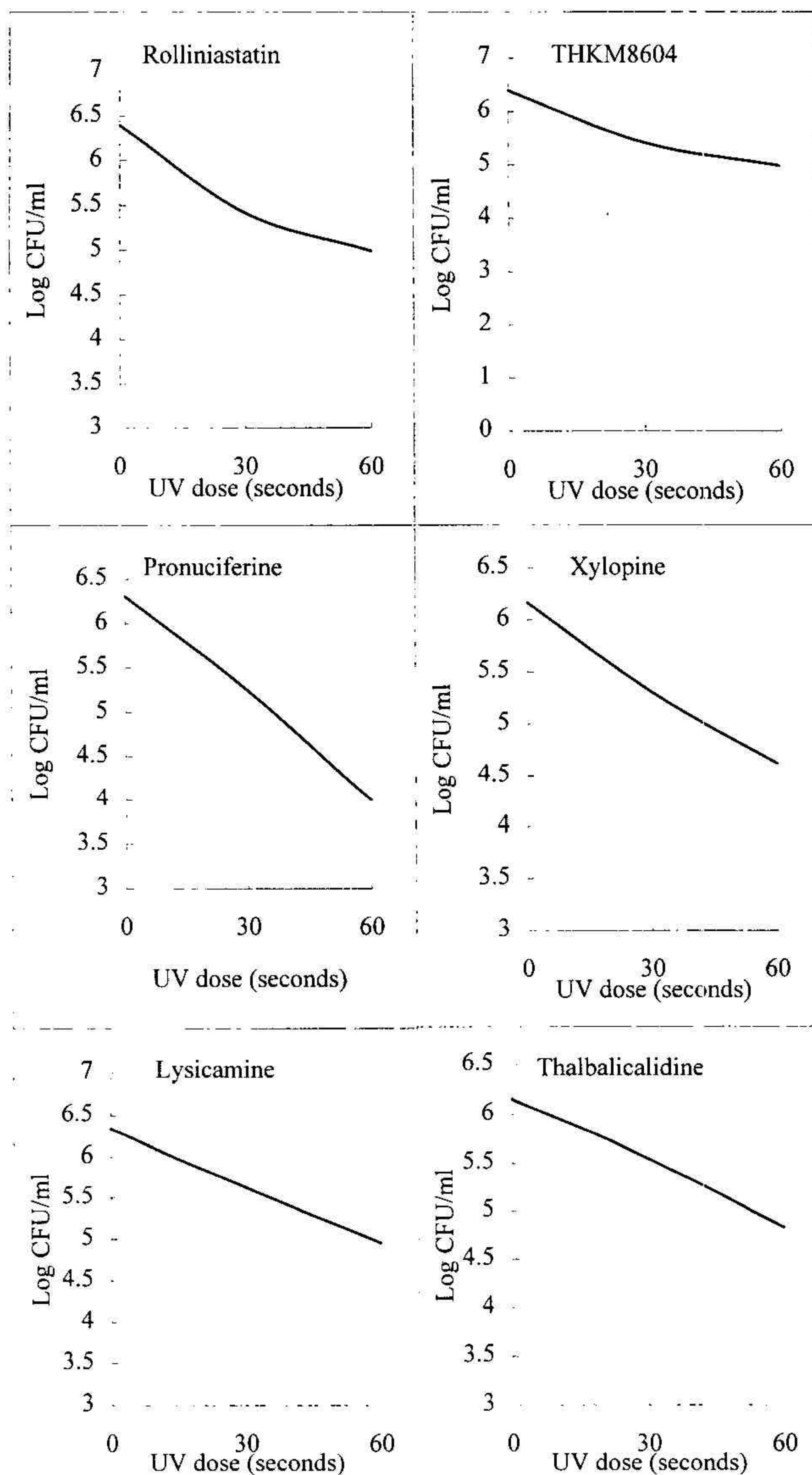


Fig.2-3

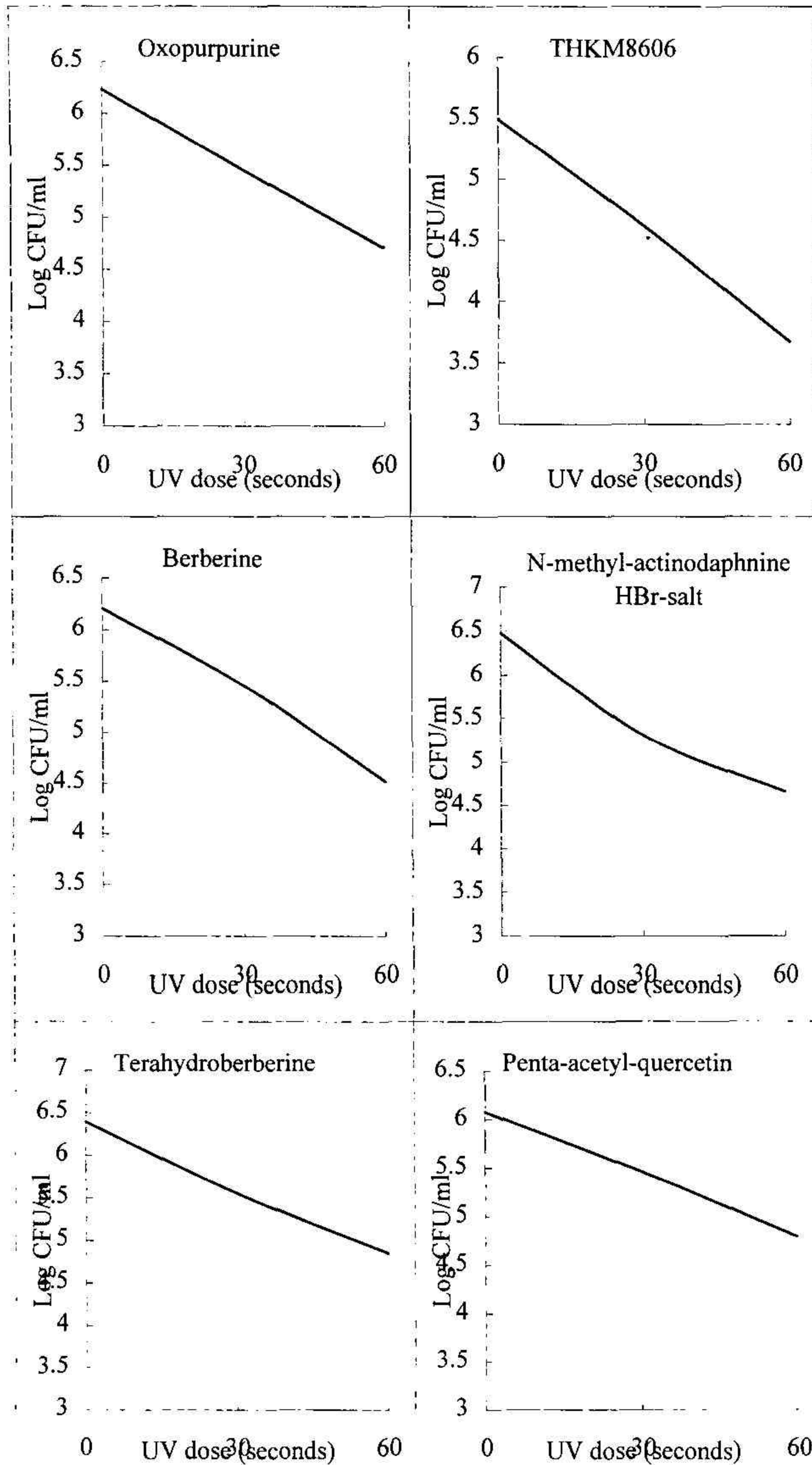


Fig.2-4

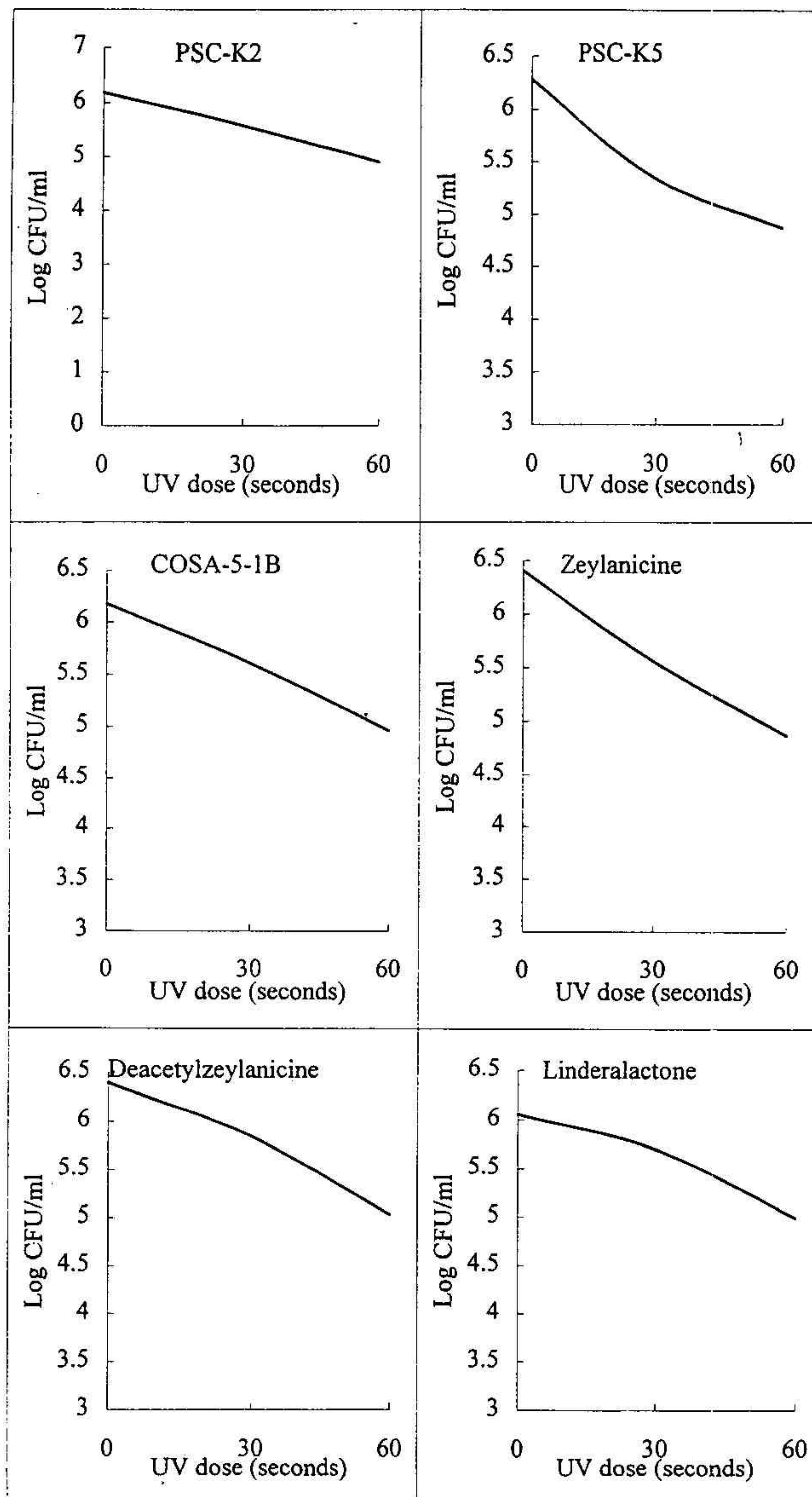


Fig.2-5

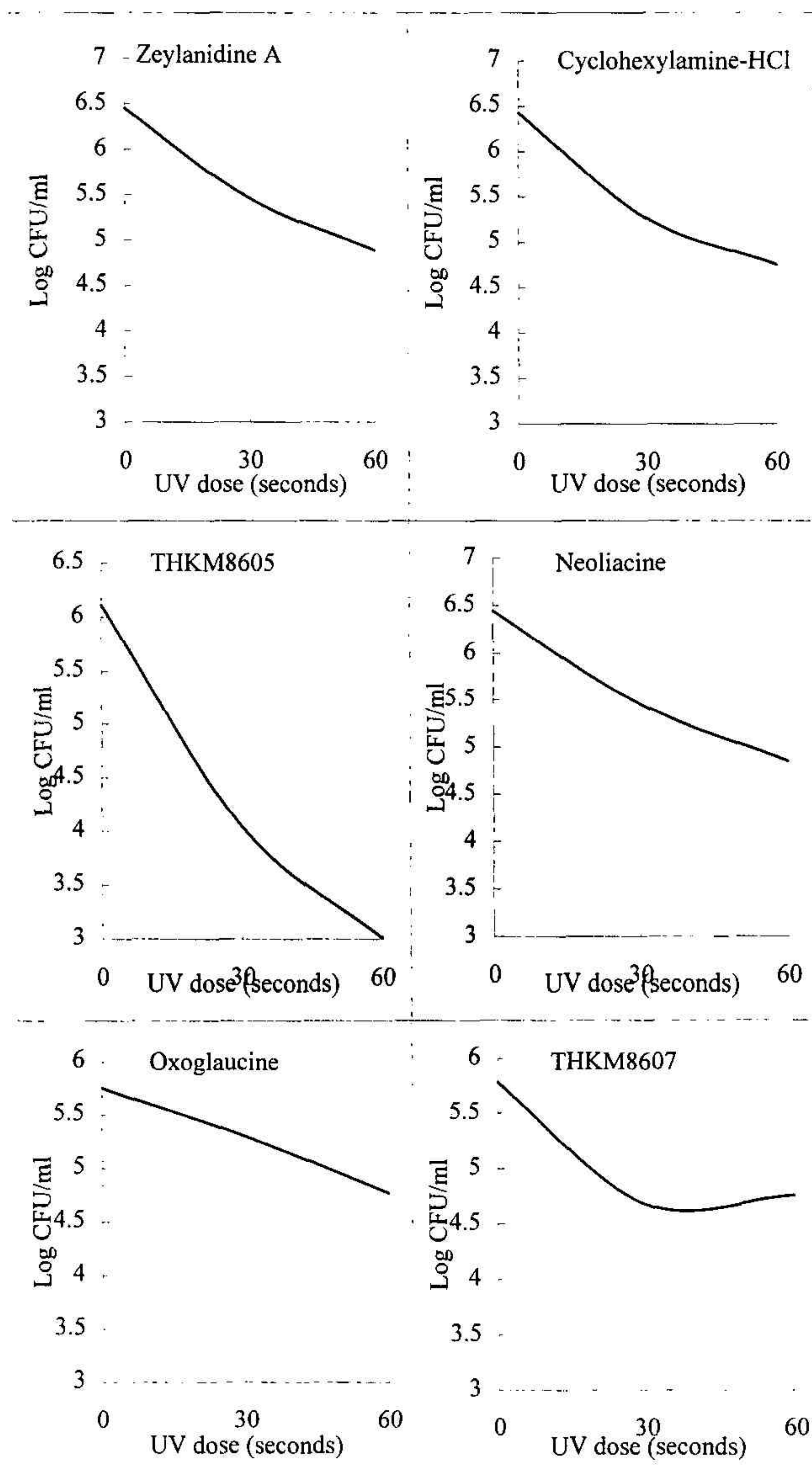


Fig.2-6

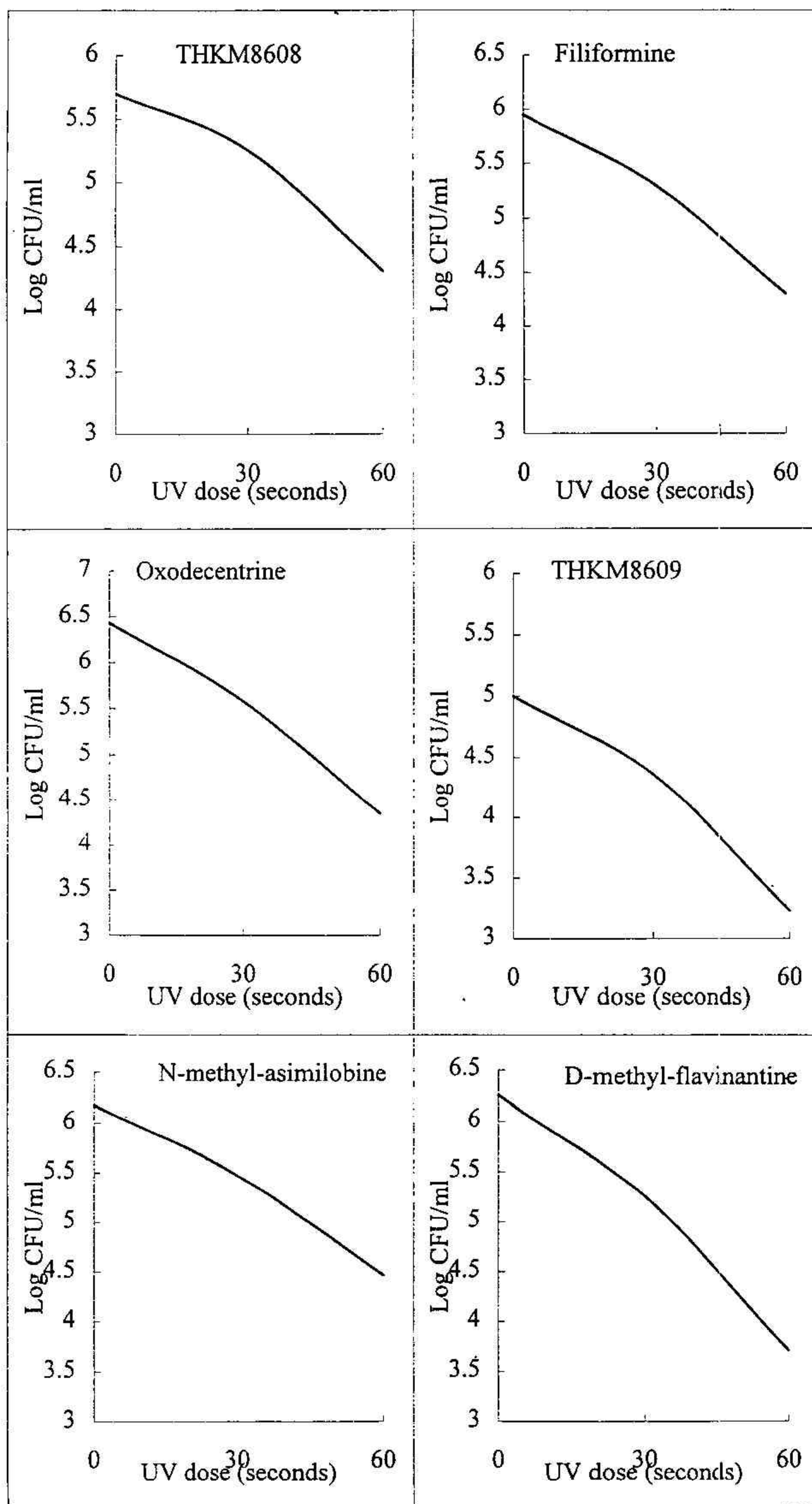


Fig.2-7

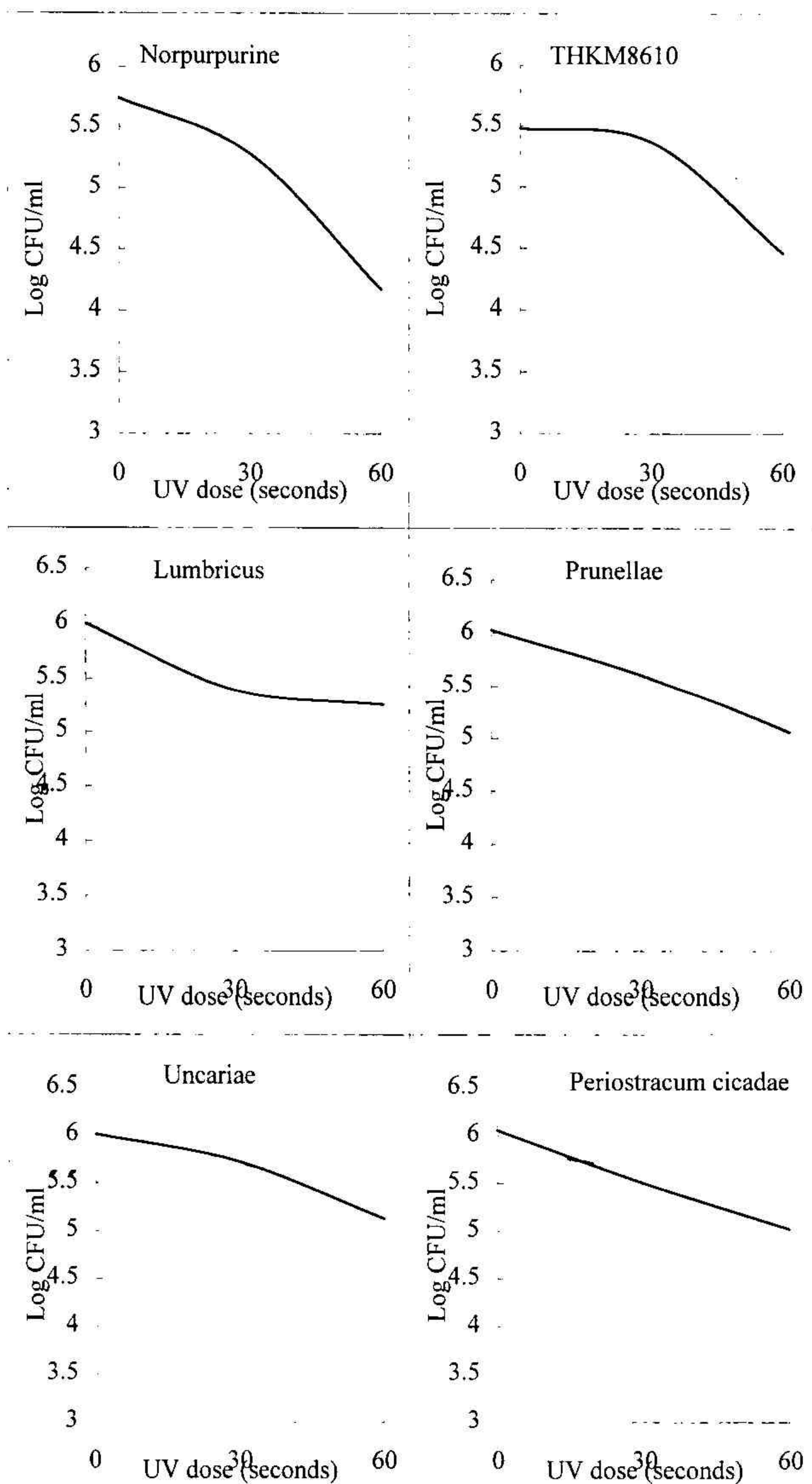


Fig.2-8

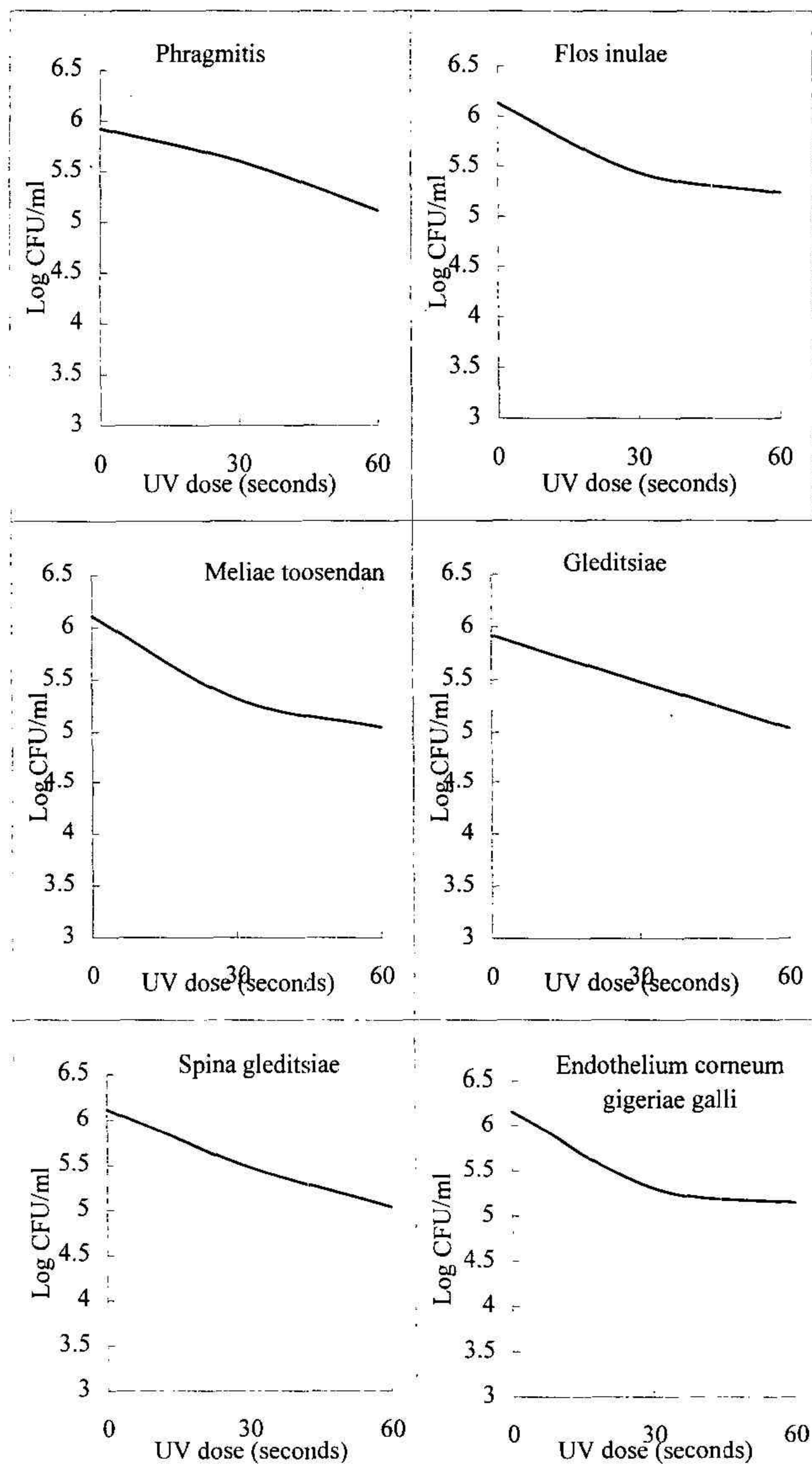


Fig. 3

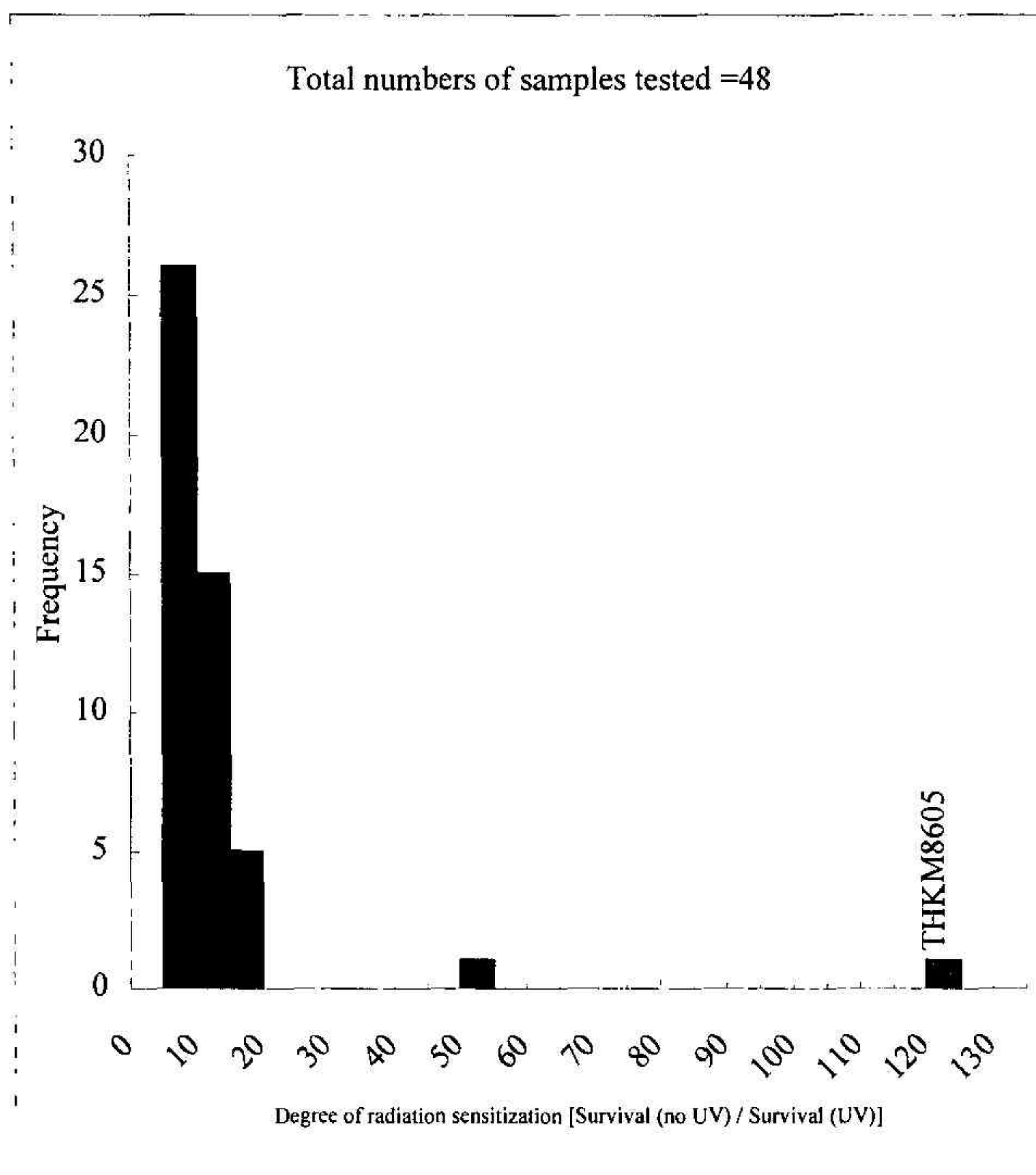


Fig 4

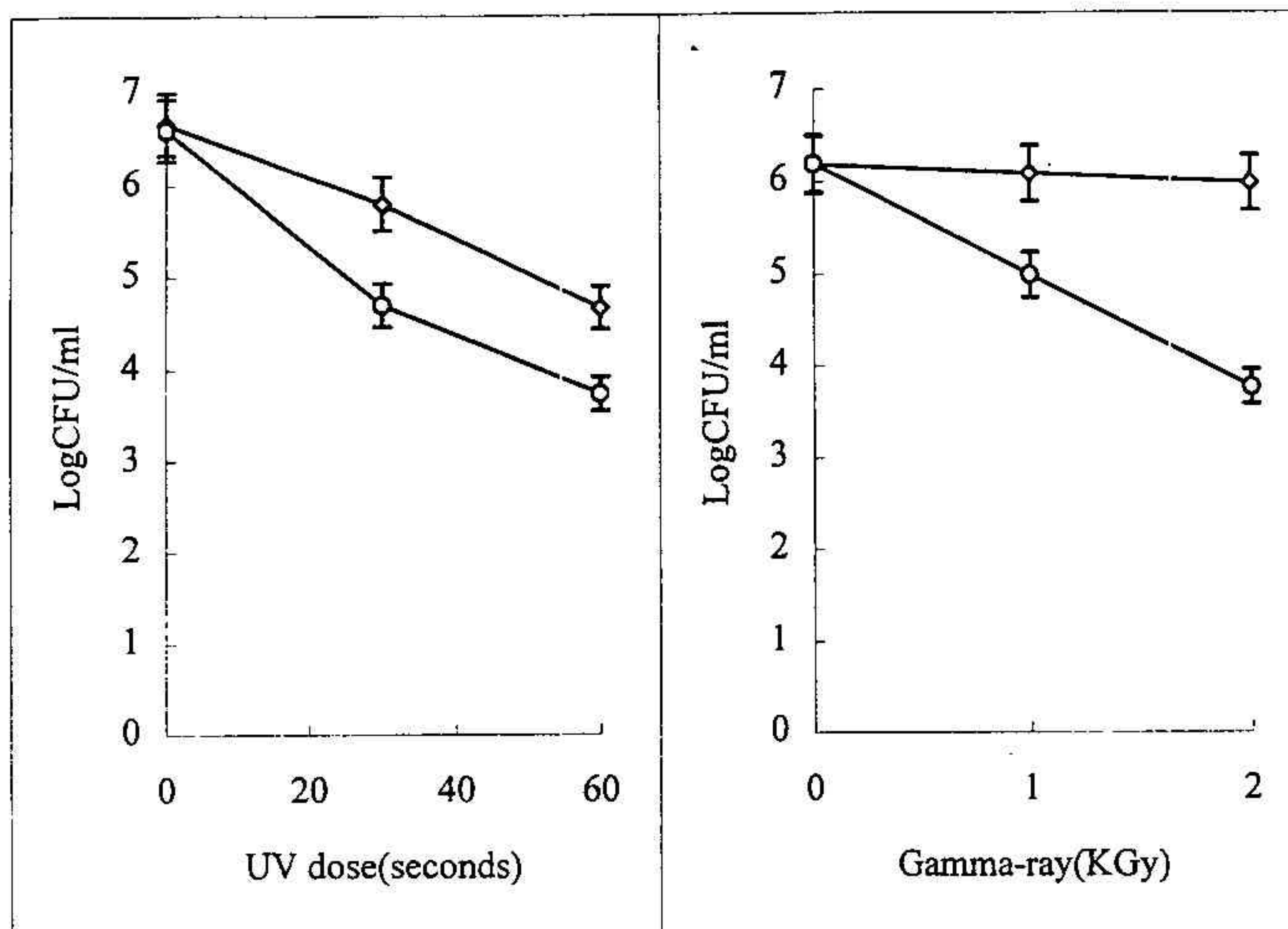


Fig. 5

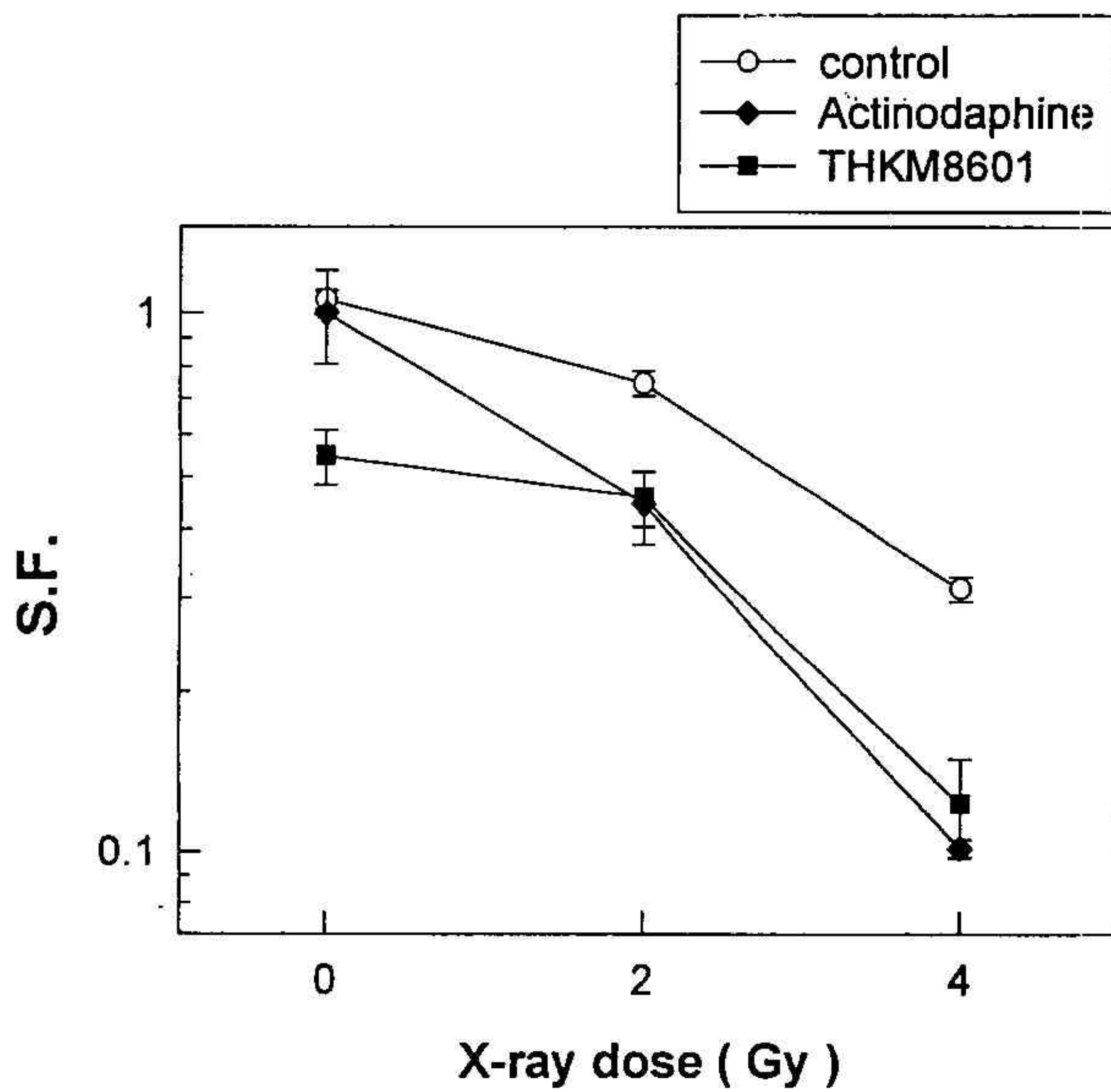


Fig. 6

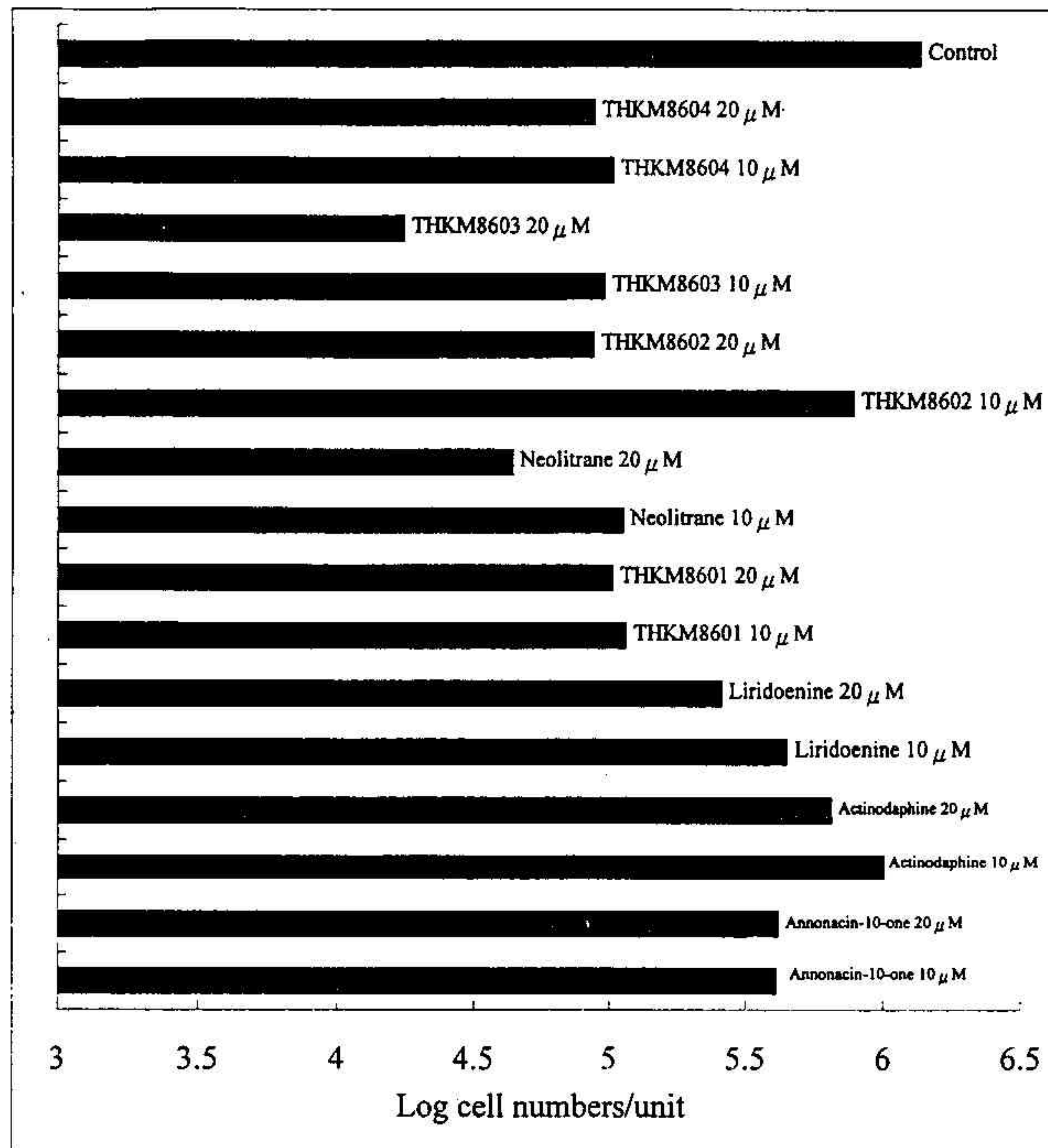
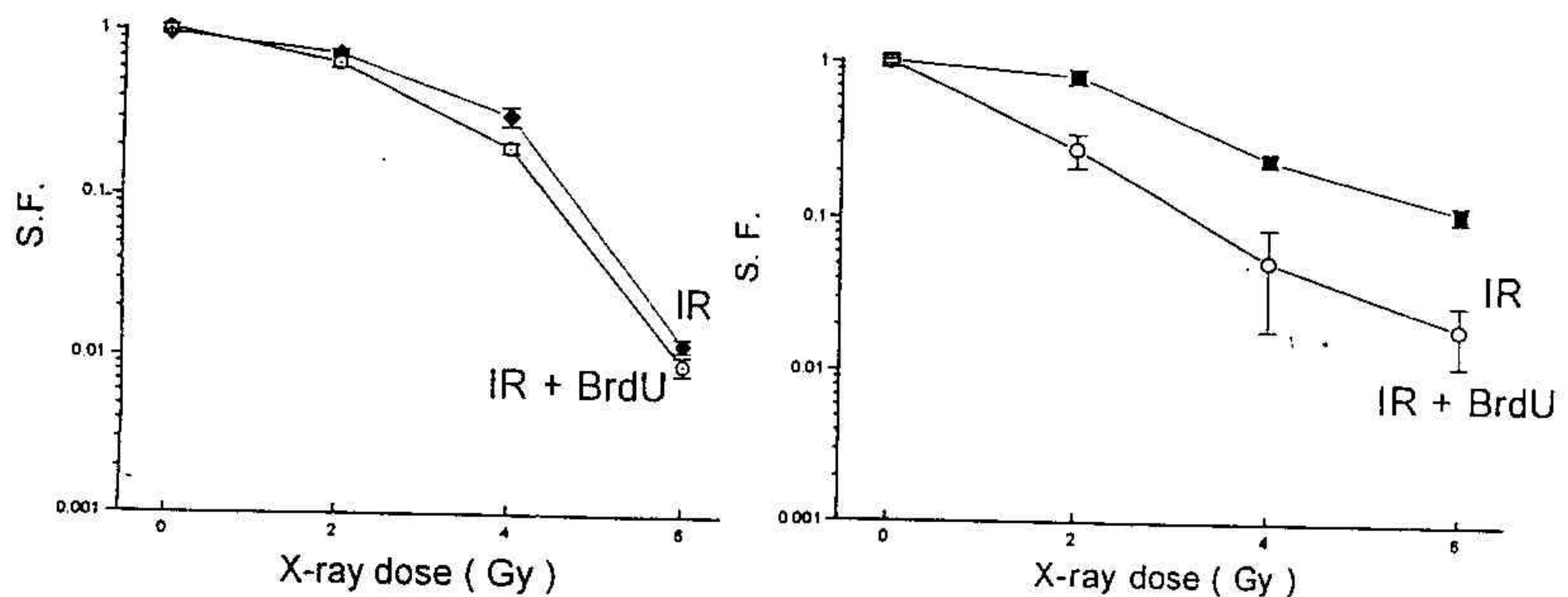


Fig. 7



肆、討論

一、初步篩檢工作得到樂觀結果,遠景可期

在運用微生物細胞建立檢測輻射增敏效應系統上,我們已有令人鼓舞的初步結果。在受測試 48 個樣品中, *D. radiodurans* S101 菌株(此菌在輻射抗性方面的特性已有部分在去年發表[15]),對其中的一個樣品顯現出相當高的輻射增敏反應。我們相信,往後持續篩檢工作會找到更多的細胞輻射增敏化合物。特別是,當我們採用不同的微生物細胞做為測試系統時,相信會有更多的細胞輻射增敏化合物被篩選出來。如此,為數比較多的各類化合物將會涵蓋或反應多樣的輻射增敏效應機制。而最重要的是,希望其中一種或數種輻射增敏效應機制也可以運用在人類的癌細胞輻敏化上。根據已知的輻射生物效應的機制,這種可能性是可以期待的。如此,當那些被篩選出的輻射增敏化合物在最後藥物臨床評估時,相信其中會有真正能用於減少人體放射治療時的輻射劑量而且確實有效提升治療效果者。

二、哺乳類細胞初步輻敏測試的有趣數據

數據顯示,化學藥劑 BrdU(已知的輻敏劑)對我們選取的正常細胞 CHO 沒有輻射增敏反應,但對癌病細胞 RKO 則有。這暗示,此一檢測系統不但能篩選到輻射增敏劑,更重要的是,似乎可以篩選到只對癌細胞有效的輻射增敏劑。這種能力在實際應用時非常重要;因為,臨床治療最重要的就是如何設法使放射線能殺死癌病細胞,而同時不要對正常細胞造成太大的傷害。

三、本藥物研發應用計畫也提供基礎科學新知

本應用型計畫的藥物研發策略也可經由新藥物及藥效的發現導致細胞輻射生物效應機制的發掘與了解。本計畫第一年的初步研究成果即顯示,某種新的化合物可能有特殊的輻射生物效應。因此,也提供輻射生物學研究的新途徑。這點反過來也會有助於新藥物研發工作的構思。因此,在本藥物研發計畫中,應用與基礎二者有相輔相成之功。

伍、結論與建議

篩選工作已有初步令人樂觀的結果,顯示本計畫構想可行性高。建議擴大篩選工作規模,確保最後成功早日到來,開展國內製藥生物技術領先國際的一個契機。

陸、参考文献

1. Haffty BC: Results of radical radiation therapy in clinical stage I, technically operable NSCLS. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1988;15:69-73.
2. Ncordijk EM: Radiotherapy as an alternative to surgery in elderly patients with resectable lung cancer. *Radiother Oncol.* 1988;13:83-89.
3. Zhang HX: Curative radiotherapy of early operable NSCLC. *Radiother. Oncol.* 1988;14:89-94.
4. Coleman CN: Hypoxic cell radiosensitizer: expectations and progress in drug development. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1985 11:323-329.
5. Kinsella TJ, *et al* : The use of halogenated thymidine analogs as clinical radiosensitizer: rationale, current status, and future prospects – nonhypoxic cell sensitizer. *Int. J. Radiat. Oncol. Phys.* 1984;10:1398-1406.
6. Wani MC *et al* : Plant antitumor agents. VI. The isolation and structure of taxol: a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J. Amer. Chem. Soc.* 971;93:2325-2327.
7. Schiff PB, Horwitz SB: Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells. *Proc. Acad. Sci. USA.* 1980;77:1561-1565.
8. Manfredi IJ, Horwitz SB: An antitumor agent with a unique mechanism of action. *Pharmacol. Ther.* 1984;25:83-93.
9. Tishler RB *et al* : Taxol sensitizes human astrocytoma cells to radiation. *Cancer Res.* 1992;52:3495-3497.
10. Liebmman J *et al* : Changes in radiation survival curve parameters in human tumor and rodent cells exposed to paclitaxel. *J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1994;29:559-564.
11. Hei TK, *et al* : Taxol and ionizing radiation: Interaction and mechanisms. *Int. J. Radiat. Oncol. Phys.* 1994;29:267-271.
12. Moseley BEB: Photobiology and radiology of *Micrococcus (Deinococcus) radiodurans*. *Photochem. Photobiol. Rev.* 1983;7:223-274.
13. Chou FI, Tan ST: Manganese(II) induces cell division and increases in catalase and superoxide dismutase activities in aging deinococcal culture. *J. Bacteriol.* 1990;172:2029-2035.
14. Lin CL *et al* : Mutations showing specificity for normal growth or Mn(II)-dependent post-exponential-phase cell division in *Deinococcus radiodurans*. *Microbiology* 1995;141:1707-1714.
15. Lin CL Tan ST: Isolation and characterization of a novel *Deinococcus radiodurans* mutant abnormally susceptible to mutation induction by UV, γ -

- ray, and mitomycin C. *Int. J. Radiat. Biol.* 1996;69:493-502.
16. Zhu W et al: Differential gene expression in wild type and x-ray sensitive Chinese hamster ovary cell lines. *Mutat. Res.* 1992;274:237-245.