

Die Wirkung der Radiotherapie auf molekularer Ebene

Wie wirken ionisierende Strahlen auf Tumorzellen? Die moderne molekularbiologische Forschung hat wesentlich zum Verständnis der Strahlenwirkung auf molekularer, zellbiologischer und tumorphysiologischer Ebene beigetragen. Die Klärung multipler intra- und interzellulärer Prozesse durch die Strahlung ist relevant, um Strahlenresistenzen zu verstehen und darüber hinaus neue kombinierte Radiochemotherapien zu entwickeln.



Angela Broggini-Tenzer



Martin Pruschy

Angela Broggini-Tenzer, Martin Pruschy

Stellenwert der Radiotherapie in der Behandlung von soliden Tumoren

Während des letzten Jahrhunderts hat sich die Radioonkologie von einer experimentellen Anwendung von Strahlen zu einer hochspezialisierten Behandlungsmodalität entwickelt. Etwa 60% aller Krebspatienten mit soliden Tumoren werden mit Radiotherapie allein oder als Teil einer Kombinationstherapie mit Chirurgie oder Chemotherapie behandelt.

Technischer Fortschritt in der Bildgebung und der Linearbeschleuniger

Verschiedene technische Fortschritte waren in der Strahlentherapie nötig, damit sie ihren heutigen Stellenwert erreichen konnte. Am wichtigsten waren hier-

bei die Einführung von bildgebenden Verfahren wie Computertomografie (CT), Magnetresonanztomografie (MRT) und Positronenemissionstomografie (PET), welche die genaue dreidimensionale Darstellung der Tumorausdehnung ermöglichen.

Parallel dazu brauchte es die technische Weiterentwicklung von Linearbeschleunigern, welche die ionisierende Strahlung präzise auf das Tumolvolumen richten können und dabei die Normalgewebsbelastung minimieren. Schliesslich erlaubt neuste Computertechnik eine optimale und effiziente Behandlungsplanung und Durchführung. Diese finden wir heute in der «Intensity Modulated Radiation Therapy» (IMRT), «Image Guided Radiotherapy» (IGRT) und «Stereotactic Body Radiotherapy» (SBRT), welche eine punktgenaue Bestrahlung des gewünschten Bestrahlungsvolumens erlaubt. Zukünftige technische Fortschritte werden die Präzision und damit die Behandlungseffektivität weiter verbessern können. Dennoch wird eine (unbeschränkte) Dosis-escalation immer aufgrund der damit einhergehenden Toxizität des mitbestrahlten Normalgewebes limitiert sein (1–3).

Merkmale

- ▲ **Der technische Fortschritt in den bildgebenden Verfahren** (CT, MRI, PET) erlaubt heute eine präzise Lokalisation und Ausbreitungsanalyse des Tumors, was für die Planung einer akkuraten Strahlentherapie unerlässlich ist.
- ▲ **Die Entwicklung von leistungsstarken Bestrahlungsgeräten** (Linearbeschleunigern), welche eine punktgenaue Strahlenapplikation auf ein genau definiertes Tumolvolumen gestatten, ermöglicht eine hochspezifische, personalisierte Behandlung.
- ▲ **Die moderne Molekularbiologie** liefert wichtige Erkenntnisse zur Strahlenwirkung, erklärt die Effektivität der Radiotherapie und ermöglicht die Einführung neuer Behandlungskonzepte für die Bestrahlung als Monotherapie sowie für kombinierte Radiochemotherapie.
- ▲ **Die 5 R der Radiotherapie** (Reparaturvermögen, Redistribution, Reoxygenierung, Repopulation, intrinsische Radiosensitivität) sind aus empirischer und molekularbiologischer Sicht eine gültige Beschreibung von Faktoren, welche die Reaktion eines Tumors auf die Radiotherapie bestimmen.

Vertieftes molekularbiologisches Verständnis der Strahlenwirkung

Der technische Fortschritt in der Radiotherapie wurde von dem vertieften molekularbiologischen Verständnis der Strahlenwirkung begleitet. Tumorstaging, -volumen, -entität und -lokalität bestimmten die Wahl der Behandlungsparameter Dosis, Fraktionen pro Tag und Behandlungszeit. Die molekulare Radiobiologie zeigt heutzutage auf, dass die Strahlensensitivität eines Tumors von komplexen molekularen Netzwerken in Tumorzellen und in der Tumorumgebung («micro-environment») abhängt. Diese Erkenntnisse erlauben die Entwicklung von molekular definierten Chemotherapeutika, welche die Strahlensensitivität eines Tumors erhöhen können. Solche logisch konzipierten, kombinierten Behandlungsmodalitäten sind vielverspre-

chend, da sie das therapeutische Fenster vergrössern können, ohne dass man die eigentliche Bestrahlungsdosis erhöhen muss (4, 5).

Experimentelle und theoretische Studien in klinischer Radiobiologie haben sich über Jahrzehnte auf die Identifikation von Mechanismen und biologischen Prozessen konzentriert, welche die Wirkung ionisierender Strahlung beschreiben. Diese phänomenologischen Studien identifizierten die Bedeutung des DNA-Schadens, der Tumorphoxie und der Repopulation für die Strahlensensitivität und Tumorkontrolle nach Bestrahlung. Diese Erkenntnisse führten zur Basis für die heutige klinische Strahlentherapie, einschliesslich fraktionierter Behandlungsschemata und kombinierter Radiochemotherapie mit klassischen Zytotoxika.

Wirkung der Radiotherapie auf molekularer Ebene

Ionisierende Strahlung wirkt entweder direkt im biologisch kritischen Zielmolekül (direkte Strahlenwirkung) oder erzeugt kleine reaktive Radikale, die über Radikalkettenreaktionen zu einer Schädigung der biologisch kritischen zellulären Strukturen führen (indirekte Strahlenwirkung). Wassermoleküle stellen in einem biologischen System die häufigsten Moleküle dar (> 80%), weshalb die Radiolyse des Wassers durch ionisierende Strahlung (mit hochenergetischen Photonen im MV-Bereich) für die biologische Wirkung am wichtigsten ist. In Anwesenheit von Sauerstoff werden Hydroxyl-Peroxy-Radikale (HO₂·) und weitere reaktive Oxygen Spezies (ROS) gebildet, welche ebenfalls zur Schädigung kritischer Moleküle beitragen, was sich im sogenannten Sauerstoffeffekt (mehr Schaden in oxygenierten Zellen) zeigt. Die ausgelöste Kaskade chemischer Veränderungen erreicht unterschiedliche zelluläre Komponenten, einschliesslich Proteine, Lipide und DNA, wobei die DNA-Schädigung die wichtigste Rolle für den strahleninduzierten Zelltod spielt. Während die physikalisch-chemischen Prozesse nach Bestrahlung innerhalb von Sekundenbruchteilen ablaufen, manifestiert sich die Schädigung der DNA (über 40 DNA-Doppelstrangbrüche/Zelle/Gy ionisierender Strahlung) auf der Ebene von Überleben und Zelltod erst nach Stunden oder auch Tagen. Aufgrund von höchst effizienten DNA-Reparatur-Mechanismen werden bis 95% der Doppelstrangbrüche korrekt repariert. Fehlerhaft oder nicht reparierte Schäden führen letztlich zum Zelltod. Die molekularbiologische Forschung konnte diese Prozesse bereits detailliert aufschlüsseln und unterscheidet zwischen DNA-Schaden-Erkennung und Induktion von Signalübermittlungskaskaden, die letztlich zur Aktivierung von Effektoren führen, welche das Muster zellbiologischer Reaktionen auf die erfolgte DNA-Schädigung steuern.

Letztlich bestimmen das genetische «Make-up» der

Zelle und die Quantität und Qualität des DNA-Schadens, wie und wann eine Arretierung des Zellzyklus, der Versuch einer korrekten DNA-Reparatur durch die zwei in der Zelle vorhandenen DNA-Doppelstrangbruch-Reparaturmaschinerien oder welche Art des Zelltodes erfolgt (z.B. eine kontrollierte Aktivierung des Apoptoseprogrammes oder der mitotischen Katastrophe) (6).

Beispiel: EGFR-Tyrosinkinase

Ionisierende Strahlen können aber auch – ganz unabhängig vom DNA-Schaden – plasmamembran-zytoplasmatische und nukleäre Signalübermittlungskaskaden auslösen. Das am besten erforschte Beispiel hierfür ist die ROS-abhängige Aktivierung der plasmamembranständigen EGF-Rezeptortyrosinkinase und der von ihr ausgehenden intrazellulären Signalübermittlungskaskaden und Transkriptionsfaktoren. Genexpressionsstudien nach Bestrahlung zeigen, dass die grosse Anzahl an Genen im Rahmen der ROS-induzierten Stressantwort sowohl pro- als auch antiproliferative Prozesse steuern können. Letztlich ist der genetische «Background» des einzelnen (Tumor-)Zelltyps bestimmend, welche Prozesse aktiviert werden. Interessanterweise zeigte sich beim EGF-Rezeptor, dass dieser nach Bestrahlung internalisiert wird und in einem Komplex mit DNA-PKc die DNA-Reparatur verstärken und das Zellüberleben erhöhen kann (7). Nur schon aus diesem Grund stellt der EGF-Rezeptor eine interessante Zielstruktur für eine kombinierte Radiochemotherapie dar. Durch die strahleninduzierte Genexpression werden zugleich auch auto- und parakrine Liganden und Wachstumsfaktoren, Zyto- und Chemokine exprimiert und sezerniert, welche wiederum die Stressantwort an mit- und unbestrahlte Zellen kommunizieren und die Adaptation des Tumormikromilieus an die Bestrahlung determinieren. Nicht die Tumorzelle allein bestimmt die Wirksamkeit der Strahlentherapie, sondern viele weitere Zelltypen (Endothelzellen, Fibroblasten, Immunzellen) im Tumor sind am Signalübermittlungsnetzwerk beteiligt und für die Strahlensensitivität der Einzelzelle und des Tumors wichtig.

Die 5 R der Radiotherapie

Die klinische Radiobiologie der letzten 50 Jahre charakterisierte die Reaktionsmuster der Tumorzelle und des Tumors bezüglich Bestrahlung phänomenologisch durch die 5 R der Radiotherapie: Reparaturvermögen, Redistribution, Repopulation, Reoxygenation und intrinsische Radiosensitivität. Die molekulare Tumorbilogie ermöglicht es uns heute, diese empirisch erfassten Reaktionsmuster (bzw. «Hallmarks of Radiotherapy») analog zu den «Hallmarks of Cancer» auf molekularer, zellbiologischer und tumorphysiologischer Ebene zu erklären (8–10).

Reparaturvermögen

Die fraktionierte Strahlentherapie nützt den Vorteil aus, dass insbesondere im Tiefdosisbereich die Reparatur von Strahlenschäden im Normalgewebe effizienter als im Tumorgewebe funktioniert. (Subletale) Schäden können zwischen den einzelnen Fraktionen im gesunden Gewebe besser repariert werden, während sie im Tumorgewebe zum Zelltod führen. Je spezifischer und genauer das Tumorgewebe bestrahlt werden kann, desto weniger fällt die Toxizität im restlich mitbestrahlten Normalgewebe ins Gewicht. Die enorme technische Entwicklung der Radiotherapie und die damit einhergehende Minimierung des bestrahlten Volumens erlauben deshalb erhöhte Einzelfractionen von ionisierender Strahlung. Heutzutage beginnen wir zu verstehen, wie genau und unter welchen Verhältnissen die DNA-Reparatur in verschiedenen Zelltypen aktiviert und reguliert wird und inwiefern spezifische genetische Voraussetzungen (Mutationen) die Reparatur- und die Erholungsfähigkeit der bestrahlten Zelle beeinträchtigen. Auch kann die Quantität und Qualität der DNA-Schäden in Abhängigkeit der Strahlenartdosis und -dosisleistung variieren, was wiederum zur Aktivierung unterschiedlicher Reparaturmechanismen führen kann. Die detaillierte Erforschung dieser Prozesse birgt viele Möglichkeiten, die Strahlentherapie noch spezifischer und personalisierter einzusetzen.

Redistribution

Die Zyklusphase, in welcher sich eine Zelle zum Zeitpunkt der Bestrahlung befindet, ist für die zelluläre Strahlensensitivität mitentscheidend. Zellen in der Mitose und der frühen S-Phase zeichnen sich durch höchste Strahlensensitivität aus, Zellen in der späten S- und G2-Phase des Zellzyklus sind hingegen sehr strahlenresistent. Ein fein abgestimmtes Kontrollsystem («checkpoints») stellt sicher, dass genügend Zeit zur DNA-Reparatur der Zelle zur Verfügung steht, bevor sie nach Wiederaufnahme des Zellzyklus ihr Genmaterial verdoppelt respektive an die Tochterzellen weitergibt. Ungenügende DNA-Reparatur aufgrund korrupter Kontrollpunkte in Tumorzellen, aber auch permanente Zellzyklusarretierung sind letztlich dafür verantwortlich, dass Zellen ihre Klonogenizität verlieren. Gleichzeitig können eine strahlenabhängige Aktivierung der Zellzyklus-Checkpoints und ein Absterben von Zellen in strahlensensitiven Zellzyklusphasen auch zur Umverteilung (Redistribution) des Zellzyklus innerhalb der gemischten Tumorzellpopulation führen. Dies kann im Rahmen einer fraktionierten Bestrahlungsserie ausgenützt werden. Die molekulare Radiobiologie konnte viele Signalübermittlungskaskaden ermitteln, welche den Zellzyklus regulieren respektive in Tumorzellen unterschiedlich wie in Normalgewebszellen auf die Bestrahlung reagieren. Faktoren, welche die Zellzyklusre-

gulation beeinflussen, sind deshalb äusserst interessante Zielstrukturen für eine kombinierte Radiochemotherapie.

Intrinsische Radiosensitivität

Repair, Recovery und Redistribution stellen Faktoren dar, die in Abhängigkeit vom genetischen «Background» und der genomischen Integrität der jeweiligen Zelle stehen. Die daraus resultierenden unterschiedlichen Radiosensitivitäten können auf Einzelzellebene direkt durch klassische Tests der Radiobiologie bestimmt werden (intrinsische Radiosensitivität). Im Unterschied dazu stellen Repopulation und Reoxygenation Faktoren dar, die nur im Tumor als komplexes System verstanden werden können.

Repopulation

In den meisten Organen und Organismen werden abgestorbene Zellen wieder durch neu gebildete Zellen ersetzt. Zellen unterliegen einem programmierten Zelltod (Apoptose), während andere Zellen sich zu teilen beginnen, um die Funktion eines Organs respektive des Gesamtorganismus aufrechtzuerhalten. Durch die Strahlentherapie abgetötete Zellen können innerhalb des Tumors jedoch unerwünschterweise zu einer erhöhten Repopulationsrate weiterer Tumorzellen führen. Dieses Phänomen konnte bei Kopf-Hals-Tumoren, aber auch bei weiteren Tumorentitäten identifiziert werden und führte in den Achtziger- und Neunzigerjahren zur Weiterentwicklung der konventionell fraktionierten Bestrahlung hin zu hyperfraktioniert akzelerierten Radiotherapieschemata in den entsprechenden Tumorentitäten. Biochemische und zellbiologische Forschung insbesondere im Bereich der Repopulation hat dazu beigetragen, die strahleninduzierte, aber DNA-Schaden-unabhängige Aktivierung von plasmamembranständigen Rezeptortyrosinkinasen und intrazellulären Signalübermittlungskaskaden zu identifizieren. Entsprechende Radiochemotherapieformen der fraktionierten Bestrahlung (z.B. in Kombination mit dem anti-EGFR-ausgerichteten monoklonalen Antikörper Cetuximab [Erbix[®]]) konnten daraus entwickelt werden (11).

Reoxygenation

Hypoxie wirkt im schnell wachsenden Tumor als biologischer Selektionsfaktor für aggressivere Tumorzellen. Zudem weisen viele Tumorentitäten ein schlecht ausgebildetes, unstrukturiertes Blutgefässsystem auf, welches die Hypoxie weiter begünstigt. Gleichzeitig vermindert ein tiefer Sauerstoffpartialdruck die Ausbildung von ROS, die damit einhergehende chemische Derivatisierung zu komplexen und schwer zu reparierenden DNA-Schäden und senkt deshalb die Strahlensensitivität auch direkt auf physikalisch-chemischer Ebene (Sauerstoffeffekt). Tumorzellen unter Hypoxie

zeichnen sich durch eine zwei- bis dreifach erhöhte Strahlenresistenz aus. Eine fraktionierte Radiotherapie tötet deshalb im Rahmen eines iterativen Prozesses gut mit Sauerstoff versorgte Tumorbereiche zuerst ab, worauf die verbliebenen hypoxischen Tumorzellen besser reoxygeniert und strahlenanfälliger werden. Modernste bildgebende Verfahren und die Entwicklung geeigneter Hypoxie-Tracer ermöglichen es uns heute, hypoxische Areale und die Dynamik der Hypoxie in einem Tumor bildlich darzustellen. Dies erlaubt eine räumlich individuelle, den Sauerstoffbedingungen angepasste Strahlentherapie.

Radiotherapie heute auf hohem Niveau personalisierter Therapie

Gerade die Sauerstoffthematik zeigt deutlich auf, dass die Radiotherapie den Tumor als komplexes, heterogenes System versteht, welches sich aus unterschiedlichen Zelltypen mit unterschiedlicher Strahlensensitivität zusammensetzt. Wir haben heute ein detailliertes Bild auf molekularer und zellulärer Ebene gewonnen, welche Signalübermittlungskaskaden intrazellulär aktiviert werden, welche Faktoren von welchen Zelltypen durch die ionisierende Strahlung sezerniert werden und welche Dynamik auf tumorphysiologischer Ebene durch eine fraktionierte Radiotherapie ausgelöst wird. Aufgrund technisch höchstentwickelter Computer-, Imaging- und Linearbeschleunigertechnologien zeichnet sich die Radiotherapie heutzutage durch ein extrem hohes Niveau an personalisierter Therapie aus.

Das molekulare Verständnis der ionisierenden strahleninduzierten Prozesse hat bis anhin nur bedingt zum klinischen Erfolg der Radiotherapie auf dieser individualisierten Therapie-Ebene beigetragen. Umso mehr braucht es die Interaktion und nahe Zusammenarbeit mit der medizinischen Onkologie und der pharmazeutischen Industrie beispielsweise zur Entwicklung neuer, kombinierter Radiochemotherapien. Die molekulare und klinische Radiobiologie ist deshalb herausgefordert, ihre Errungenschaften, die zum Verständnis der Wirkungsweise ionisierender Strahlung auf molekularer Ebene beigetragen haben, und ihre eigenen Forschungskonzepte intensiver mit ihrem Gegenüber in der onkologischen Forschung zu diskutieren. ▲

Prof. Dr. sc. nat. Martin Pruschy

(Korrespondenzadresse)

E-Mail: martin.pruschy@usz.ch

und

Dr. sc. nat. Angela Broggini-Tenzer

Labor für Angewandte Radiobiologie

Klinik für Radioonkologie

UniversitätsSpital Zürich

8091 Zürich

ABSTRACT

Effects of radiotherapy on molecular level

The insult on the level of DNA is most important for the cytotoxicity of ionizing radiation (IR). However, IR damages not only DNA, but IR also affects multiple cellular components that induce a multilayered stress response in the tumor. These intra- and intercellular processes play determining roles in the tumor response to radiotherapy. The elucidation of these processes is important to understand radiation resistances on the molecular, cellular and tumor physiological level in order to develop novel combined treatment modalities.

Keywords: Ionizing radiation, DNA damage, multilayered stress response

Quellen:

1. Bentzen SM.: Radiation therapy: intensity modulated, image guided, biologically optimized and evidence based. *Radiother Oncol* 2005; 77(3): 227–30.
2. Brown JM, Carlson DJ, Brenner DJ.: The tumor radiobiology of SRS and SBRT: are more than the 5 Rs involved? *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2014. 88(2): 254–62.
3. Bernier EJ, Hall J, GiacciaA.: Radiation oncology: a century of achievements. *Nat Rev Cancer* 2004; 4(9): 737–47.
4. Begg, A.C., F.A. Stewart, and C. Vens, Strategies to improve radiotherapy with targeted drugs. *Nat Rev Cancer* 2011; 11(4): 239–53.
5. Oehler C et al.: Current concepts for the combined treatment modality of ionizing radiation with anticancer agents. *Curr Pharm Des* 2007; 13(5): 519–35.
6. Lomax ME, Folkes LK, O'Neill P.: Biological consequences of radiation-induced DNA damage: relevance to radiotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2013; 25(10): 578–85.
7. Dittmann K, Mayer C., Rodemann HP.: Nuclear EGFR as novel therapeutic target: insights into nuclear translocation and function. *Strahlenther Onkol* 2010; 186(1): 1–6.
8. Steel GG., McMillan TL, Peacock JH.: The 5Rs of radiobiology. *Int J Radiat Biol* 1989; 56(6): 1045–48.
9. Hanahan D, Weinberg RA.: The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000. 100(1): 57–70.
10. Hanahan D, Weinberg RA.: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646–74.
11. Bonner JA, et al.: Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol* 2010; 11(1): 21–28.