

Sorafenib sensitiviert Kopf-Hals Tumorzellen gegenüber einer CDDP-basierten Radiochemotherapie

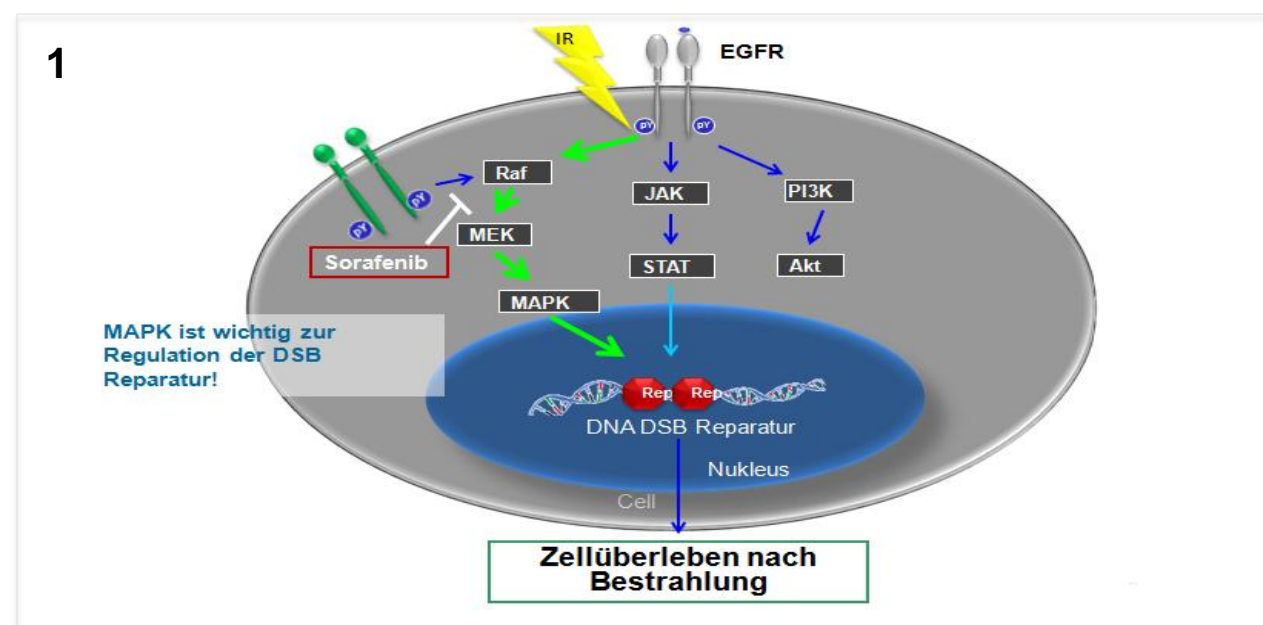
Nikolaus Möckelmann¹, Malte Kriegs², Ekkehard Dikomey², Rainald Knecht¹

¹Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

²Labor für Strahlenbiologie & Experimentelle Radioonkologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Einleitung:

Der Multikinaseinhibitor Sorafenib, der eine hohe Affinität für Raf-1 besitzt und somit potentiell in den Raf/MEK/MAPK Signalweg downstream des EGF-Rezeptors eingreift (Abb. 1), führt zu einer deutlichen Radiosensitivierung von Kopf-Hals Tumorzelllinien (1).



Da bei der Standardtherapie von HNSCC Patienten eine Radiatio in Kombination mit Cisplatin (CDDP) eingesetzt wird, ist es von großem Interesse den Einfluss von Sorafenib auf die Kombination von CDDP mit Bestrahlung zu kennen (2).

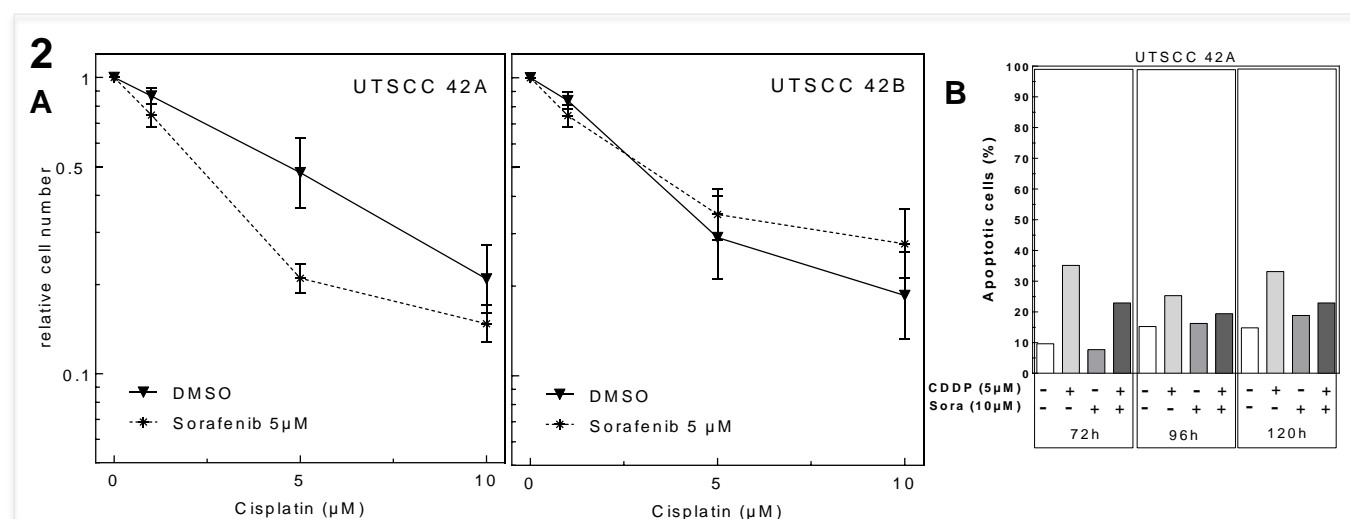
Material/Methoden:

Die Zelllinien UTSCC-42A, UTSCC-42B und die Fibroblastenzelllinie F180 wurden mit einer Kombination aus Sorafenib (10µM; Nexavar®, Bayer) und Cisplatin (1-10µM) behandelt. Das Zellwachstum wurde mittels Proliferationsassay und das Zellüberleben nach Bestrahlung (Bestrahlung 2 h nach IH-Gabe) mit Hilfe des Koloniebildungsassays bestimmt. Die Apoptoserate wurde anhand der Caspaseaktivität mittels Durchflusszytometrie quantifiziert. Die Zellzyklusanalyse erfolgte mittels PI-Färbung und Durchflusszytometrie.

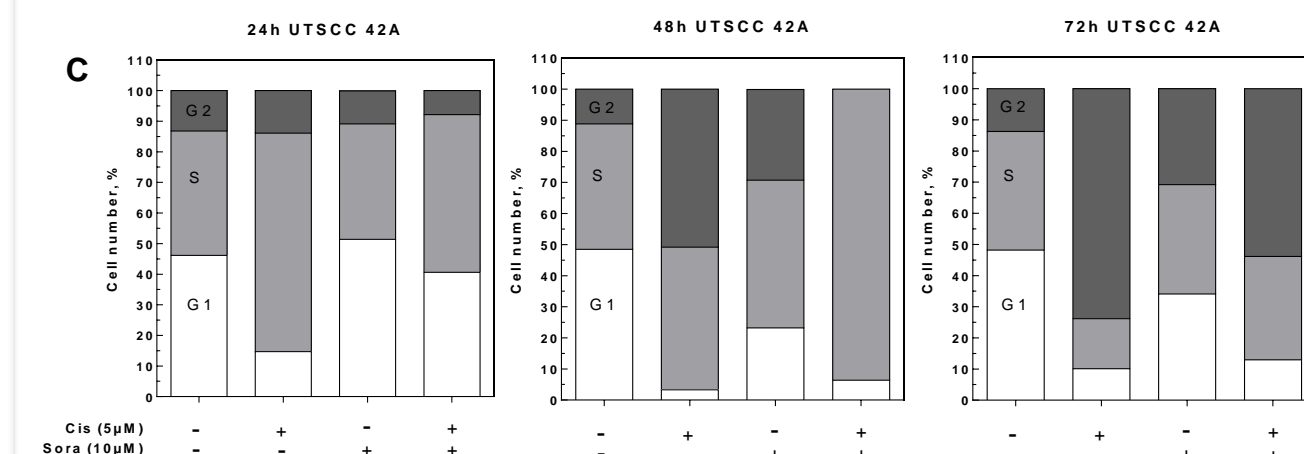
Ergebnisse:

Im Proliferationsassay zeigt CDDP sowohl in UTSCC-42A als auch 42B Zellen eine konzentrationsabhängige Inhibition des Zellwachstums, welche in Kombination mit Sorafenib in der Zelllinie UTSCC-42A deutlich verstärkt wird (Abb. 2A). Es zeigt sich keine Verstärkung der Apoptoserate durch die Addition von Sorafenib (Abb. 2B). Sorafenib bewirkt jedoch eine Akkumulation der Zellen in der S und G2 Phase in der Kombination mit CDDP (Abb. 2C).

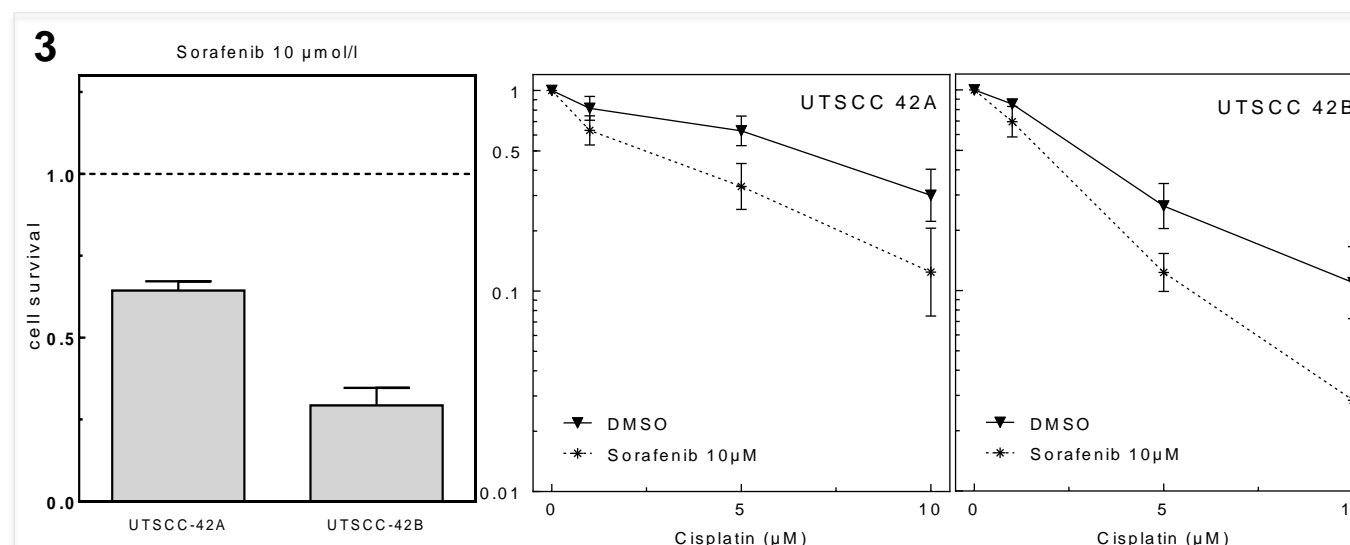
Sorafenib bewirkt bei beiden Zelllinien eine Zellabtötung. CDDP alleine zeigt eine konzentrationsabhängige Zytotoxizität im Koloniebildungsassay. Die Kombination von Sorafenib mit CDDP zeigt einen synergistischen Effekt – damit eine Chemosensitivierung durch Sorafenib (Abb. 3).



(A) Inhibition der Proliferation durch CDDP und Sorafenib. Reduktion des Zellwachstums nach drei Tagen Behandlung mit Cisplatin (1-10 µmol/l) und Sorafenib (5 µmol/l). Zahl der behandelten Zellen in Relation zu Anzahl der unbehandelten Zellen. (B) Anteil der Zellen 72h, 96h und 120h nach Behandlung. In Prozent.



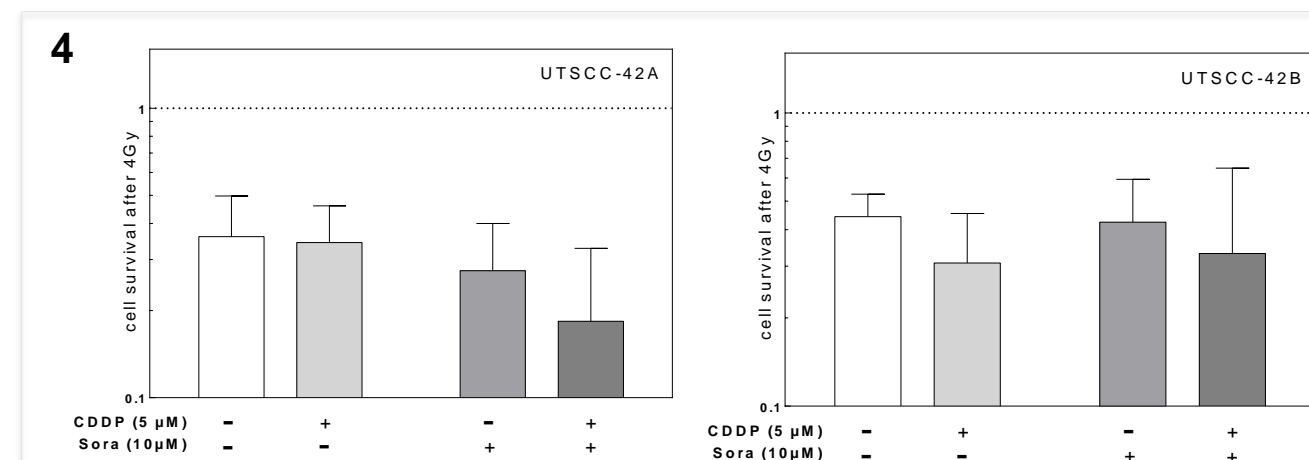
(C) Zellzyklusverteilung nach Behandlung mit Cisplatin (5 µmol/l) und Sorafenib (10 µmol/l). Anteil aller gemessenen Zellen in Prozent in der Zeit von 24, 48 und 72 Stunden nach Behandlung.



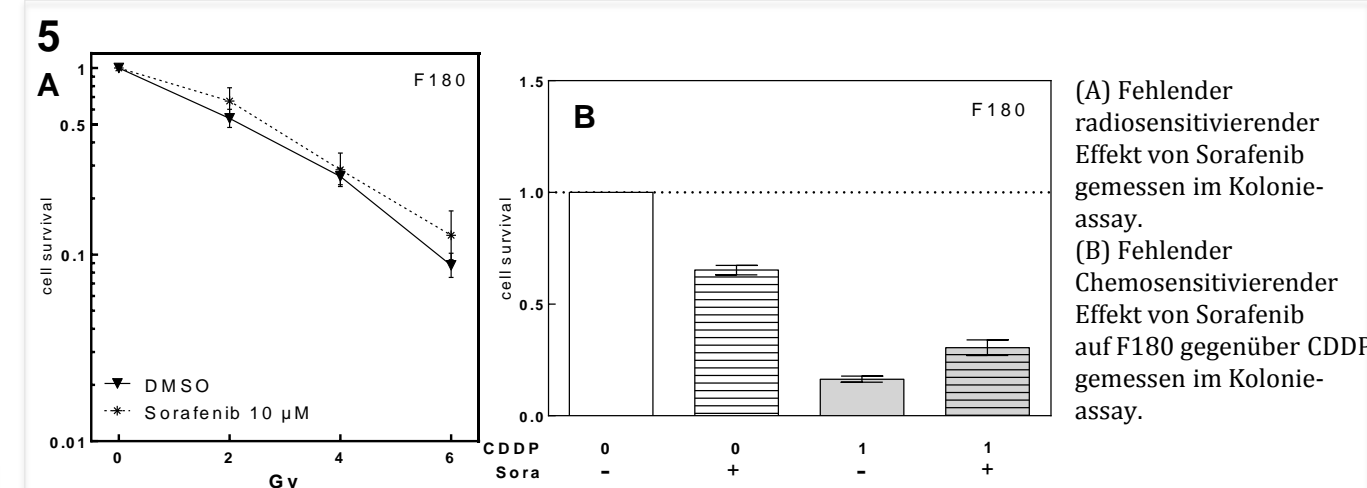
Zytotoxizität von 10 µmol/l Sorafenib in den Zelllinien UTSCC-42A & 42B nach 24 Std. Behandlung. Reduktion des Zellüberlebens nach Therapie mit Cisplatin (1-10 µmol/l) und Sorafenib (10 µmol/l) für 24 Stunden im Kolonieassay.

Eine radiosensitivierende Wirkung von Sorafenib (10µM) kann in Anwesenheit von CDDP beobachtet werden (Abb. 4). In der Zelllinie UTSCC-42A zeigt die Kombinationsbehandlung eine verstärkte Radiosensitivierung.

In Normalzellen (F180) zeigt sich keine Radiosensitivierung durch Sorafenib (Abb. 5A) und ein protektiver Effekt in der Kombination mit CDDP (Abb. 5B).



Radiosensitivierender Effekt von Cisplatin und Sorafenib gemessen im Kolonieassay. Zellen wurden 2 h vor Bestrahlung (4 Gy) mit Cisplatin (1-5 µmol/l) und Sorafenib (10 µmol/l) behandelt. Nach 24 h erfolgte ein Mediumwechsel. Kolonien wurden nach 7-14 Tagen fixiert.



(A) Fehlender radiosensitivierender Effekt von Sorafenib gemessen im Kolonieassay. (B) Fehlender Chemosensitivierender Effekt von Sorafenib auf F180 gegenüber CDDP gemessen im Kolonieassay.

Schlussfolgerung:

Sorafenib bewirkt auf zellulärer Ebene eine Sensitivierung gegenüber einer CDDP-basierten Chemotherapie in HNSCC. Die beschriebene Radiosensitivierung durch Sorafenib bleibt in Anwesenheit von Cisplatin erhalten und zeigt in der Zelllinie UTSCC-42A eine Zunahme des radiosensitivierenden Effekts. Die Daten deuten somit an, dass diese Dreifachkombination ein potentielles neues Therapiemodell für HNSCC Patienten darstellt.

Literatur:

- Laban, S., et al. (2013). "Sorafenib sensitizes head and neck squamous cell carcinoma cells to ionizing radiation." Radiother Oncol.
- Möckelmann, N., et al. (2015) Molecular targeting in combination with platinum-based chemoradiation in head and neck cancer treatment. Head Neck.