



LUND UNIVERSITY

En berättelse om att kombinera immunoterapi med ultrahypo-fraktionerad strålterapi

Persson, Bertil R

2024

Document Version:
Förlagets slutgiltiga version

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):
Persson, B. R. (2024). *En berättelse om att kombinera immunoterapi med ultrahypo-fraktionerad strålterapi*. (Acta Scientiarum Lundensia; Vol. 2024, Nr 003). Medical Radiation Physics, Lund University.

Total number of authors:
1

Creative Commons License:
Ospecificerad

General rights

Unless other specific re-use rights are stated the following general rights apply:
Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

Read more about Creative commons licenses: <https://creativecommons.org/licenses/>

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

LUND UNIVERSITY

PO Box 117
221 00 Lund
+46 46-222 00 00



En Berättelse om att Kombinera Immunoterapi med Ultra-Hypo-Fraktionerad Strålterapi

Bertil RR Persson

Citation: (Acta Scientiarum Lundensia ISSN 1651-5013)

Persson BRR (2024) En berättelse om att kombinera immunoterapi med ultrahypo-fraktionerad strålterapi. Acta Scientiarum Lundensia, ISSN 1651-5013, Vol. 2024-003, pp. 1-58. [ORCID http://orcid.org/0000-0002-5502-5972](http://orcid.org/0000-0002-5502-5972)

Correspondence to:

Bertil RR Persson PhD, MDh.c. Professor Emeritus
Lund University,
Medical Radiation Physics, 22 185 Lund, Sweden.
E-mail: Bertil_R.Persson@med.lu.se
[ORCID http://orcid.org/0000-0002-5502-5972](http://orcid.org/0000-0002-5502-5972)

LUND November 2024

En berättelse om att kombinera immunoterapi med ultrahypo-fraktionerad strålterapi

Denna berättelse är dedicerad till minnet av min 60 åriga medverkan i John och Augusta Perssons Stiftelse för Vetenskaplig Medicinsk forskning särskilt rörande cancerforskning främst vid Lunds Universitet. Alltsedan Stiftelsens bildande 1964 deltog jag tillsammans med min mentor, laborator och senare professor Kurt Lidén i dess aktiviteter.

Efter det att jag efterträtt Kurt Lidén som professor i medicinsk radiofysik och tillika chef för sjukhusfysiken i Lund blev jag 1984 medlem i stiftelsens vetenskapliga råd, och från 1998 som dess vice ordförande, och verksam i stiftelsen fram till min avgång 2024.

Under de första åren blev min medverkan att framställa Teknetium-99m radiofarmaka till Nordens första Gammakamera som stiftelsen donerat till Jubileums kliniken i Lund.

Senare stödde stiftelsen verksamheten med mikrovågs behandling av bröstcancer-recidiv i kombination med låg-dos strålbehandling vilket bland annat initierade denna berättelse.

I samband med stiftelsens 20 års jubileum fick min verksamhet att i Lund bygga Nordens första Magnet Resonans kamera ett generöst stöd med datorkraft från IBM.

Jag lämnar nu stiftelsen med denna berättelse om *immunoterapi kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålterapi*, som jag hoppas skall inspirera någon till ytterligare klinisk utvärdering som ett terapeutiskt alternativ för patienter med återkommande cancer efter genomgången konventionell behandlings regim.

Lund den 26^e november 2024

Bertil RR Persson Fil.Dr. jub., Med.Dr. h.c.
Professor emeritus Medicinsk Strålningsfysik

En berättelse om att kombinera Immunoterapi med Ultrahypo-fraktionerad strålterapi

Bertil RR Persson

Kapitel	Titel	Sida
	Innehållsförteckning	
	Sammanfattning	3 - 5
I	Prolog	7 – 16
	1.1 “Brain Immune Gene Tumour Therapy” (BRIGTT).	
	1.2 Kombination med strålterapi	
	1.3 Immunoterapi med tumörvaccin i kombination med strålning	
	1.4 Fortsatta studier	
	1.5 Referenser	
II	Samspelet mellan strålterapi och immunrespons	17 - 26
	2.1 Tumörens mikromiljö	
	2.2 Strålningens effekter på tumörens mikromiljö	
	2.4 Strålningens effekter på tumörens immunosuppression	
	2.5 Referenser	
III	Prekliniska försök	27 – 34
	3.1 Prekliniska försök med CTLA-4	
	3.2 Prekliniska försök med anti PD1	
	3.3 Dendritiska celler och immunoterapi	
	3.4 CAR T-cellsbaserad immunoterapi	
	3.5 Referenser	
IV	Kliniska försök med kombinerad Immuno-Strål-Terapi	35 – 51
	4.1 Konventionell strålbehandling	
	4.2 Ultrahypo-fraktionerad strålbehandling	
	Prostatacancer	
	Bröstcancer	
	Rektala Adenokarcinom	
	4.3 Immunoterapi och Hypofraktionerad strålterapi	
	Bröstcancer	
	Huvud- och Hals-cancer	
	Icke-Småcellig Lungcancer	
	4.4 Sammanfattning:	
	4.5 Referenser	
V	Epilog	53 - 56

Sammanfattning:

Denna berättelse om *immunoterapi kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålterapi* har sitt ursprung i den kliniska studie som på engelska benämndes "Brain Immune Gene Tumour Therapy" (BRIGTT) som professor Leif G, Salford i Lund initierade strax innan 2000-millienium-skiftet. Ett specifikt tumörvaccin framställdes baserat på tumörceller som han extraherade ur tumörvävnad från den gliom-patient han tidigare opererat. Överlevnadstiden hos de vaccin behandlade patienterna förlängdes men inga tillfrisknade helt.

I försök att förbättra vaccinations effekten utnyttjades den tumörmodell som användes vid den prekliniska tumörimmunologiska forskning som låg till grund för Salfords kliniska studie.

I ett försök att kombinera vaccin-behandling med strålterapi behandlades Fischer 344 råttor med N29gliom-tumörer inokulerade i hjärnan.

- Enbart strålbehandling en gång med 5 Gy resulterade inte i några överlevare.
- Däremot om immuniserings-terapi med 3 omgångar vaccin kombinerades med endast en fraktion á 5Gy strålterapi, överlevde sex av åtta behandlade djur (ca.75%).

Detta dramatiska resultat för en tidigare obotlig tumör sporrade till att försöka verka för en ny tumör behandlings regim med immunoterapi i kombination med hypofraktionerad strålbehandling i endast några få fraktioner.

Nu efter 20 år har det börjat rapporterats om kliniska studier som visar att immunoterapi i kombination med hypofraktionerad strålbehandling också fungerar utmärkt med läkemedel, så kallade immunkontrollpunktshämmare, vilka används för att blockera CTLA-4 och PD1 receptorer, så att mördarcellerna de cytotoxiska T-lymfocyterna CTL mer effektivt kan eliminera cancercellerna.

Det har under årens försök att sprida kunskap om kombinationen immunoterapi med hypofraktionerad strålbehandling visat sig svårt att bryta användningen av den konventionella kliniska strålbehandlingen med uppåt 30-40 dagliga fraktioner á 2 Gy. De hittills genomförda kliniska försöken med att kombinera immunoterapi med konventionell strålterapi har emellertid resulterat i sparsamma effekter.

Nyligen har en en Grekisk studie av Koukourakis och medarbetare visat att lokaliserad hypofraktionerad strålterapi fungerar som förstärkning till immuno-terapi med kontrollpunkts PD-1 hämmare.

De behandlade cancerpatienter med återkommande inoperabla huvud-och hals tumörer efter tidigare konventionell strålbehandling och kemoterapi. Hypofraktionerad strålbehandling (HFRT) á 8 Gy administrerades i en, två eller tre fraktioner med en fraktion per vecka tillsammans med *Nivolumab* anti-PD1 immunoterapi. Tidiga och sena strålterapi-toxiciteter var minimala och även immunoterapin visade en utmärkt tolerans med endast 3 patienter som avbröt immunoterapin.

Hos patienter som fick anti-PD1 immunoterapi i kombination med 2–3 fraktioner HFRT á 8Gy var det objektiva tumör responset över 80 %, medan 57% noterades i kombination med endast en 8 Gy-fraktion strålning.

Patienter med icke-småcellig lungcancer som efter konventionell radikal kemo-radioterapi fått lokalt återkommande tumör behandades också med anti-PD1-immunoterapi i kombination med en eller två 8 Gy-fraktioner hypofraktionerad strålbehandling. Resultatet av detta immuno-radioterapischema var i en grupp NSCLC-patienter 27,2 % kompletta remissioner och 81,8 % objektiva svarsfrekvenser. Den 22-månaders lokoregionala återfallsfria frekvensen var 54,5 %, medan den beräknade 2-års sjukdomsspecifika totala överlevnaden var 62 %.

Deras resultat inspirerade till att presentera denna berättelse om immunoterapi kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålterapi:

Kapitel 1 ger en prolog till hur det hela började

Kapitel 2 ger en översikt av vilka mekanismer som kan förklara samverkan av den joniserande strålningen med immunsystemet. Det är inte helt självklart hur dessa så vitt skilda dicipliner kan samverka. Vilket demonstreras i det fatala misslyckandet att kombinera konventionellt fraktionerad strålbehandling med immunoterapi.

Kapitel 3 ger en sammanfattning av de prekliniska studier som berett vägen för klinisk immunoterapi kombinerad med ultrahypofraktionerad strålterapi.

Kapitel 4 ger en sammanfattning av kliniska studier

Kourakis och medarberates resultat inspirerade till denna berättelse om *immunoterapi kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålterapi*, som jag hoppas skall motivera till ytterligare klinisk utvärdering som ett terapeutiskt alternativ för patienter med återkommande cancer efter genomgången konventionell behandlings regim.

Kapitel I

Prolog

1.1 “Brain *Immune Gene Tumour Therapy*” (BRIGTT).

Immunsvaret mot hjärntumören malignt gliom (GBM) utgörs främst av den tumördödande funktionen hos aktiverade cytotoxiska T-celler (CTL). Således borde en vaccinationsregim som förstärker effektor funktionerna hos CTL och samtidigt ökar antalet lymfoida celler i gliomet kunna ge en effektiv terapi.

För att studera detta initierade vid millennium-skiftet Professor Leif G, Salford vid Lunds Universitet en klinisk studie som på engelska benämndes: “*Brain Immune Gene Tumour Therapy*” (BRIGTT) (Salford et al., 2001a, Salford et al., 2002, Salford et al., 2001b, Salford et al., 2022).

Ett specifikt tumörvaccin framställdes baserat på tumörceller som extraherades ur tumörvävnad från den gliom-patient han tidigare opererat. Efter separation av tumörcellerna, infekterades de med ett Adenovirus som hade en gen för humant interferon-gamma (IFN γ). De transfekterade cellerna bestrålades med gammastrålning så att tumörcellerna inte skulle kunna föröka sig efter de administrerats till patienten (Baureus-Koch et al., 2004). Efter bestrålningen undersöktes cellerna med avseende på graden av IFN γ -produktion. med hjälp av ELISA-mätningar.

Vaccinet administrerades till patienten i huden för aktivering av immunsystemet och produktion av specifikt aktiverade T-lymfocyter (CTL) som passerar genom blod-hjärnbarriären. I hjärnparenkymet söker de aktiverade T-cellerna eliminera både återväxt från den ursprungliga bortopererade tumören och migrerande “gerilla”-celler i den omgivande hjärnan (Salford et al., 2001a, Salford et al., 2002, Salford et al., 2001b, Salford et al., 2022).

Den kliniska studien omfattade åtta patienter, mellan 50 och 69 år, som tidigare programenligt behandlats med kirurgi och strålbehandling utan biverkningar eller toxicitet men fått indikationer på återkommande tumörväxt. De immuniserades mellan 8 och 14 gånger med sitt specifika tumörvaccin.

Neurologisk status och livskvalitet var oförändrad under immunoterapi. I studien ingick även en kontrollgrupp på nio liknande gliom-patienter som också primärt hade behandlats programenligt med kirurgi och strål-behandling.

Efter att patienterna immuniserades med sitt vaccin blev gruppens totala median-överlevnads tid 488 dagar (16,1 månader) vilket var signifikant längre ($p < 0,05$) jämfört med 271 dagar (9,0 månader) hos patienterna i den matchade kontrollgruppen. De immuniserade patienternas överlevnadstid var också signifikant längre jämfört med alla GBM-patienter som behandlats på samma klinik under samma period och med andra kontrollgrupper inom samma ålderskohort (Salford et al., 2022).

1.2 Kombination med strålterapi

Roszman och medarbetare visade emellertid år 1991 att eliminering av alla gliomceller inte sker ens när CNS-tumörer exponeras med stora populationer av T-lymfocyter (Roszman et al., 1991). Detta väckte frågan om immunisering med tumörvaccin kunde kombineras med någon annan terapi. Närmast till hands låg strålterapi som vi tidigare framgångsrikt använt för behandling av bröstcancer-recidiv i kombination med hypertermi.

En av mina doktorander Per Nilsson studerade på 1980-talet tillsammans med onkologläkaren Lisa Kjellén hur en kombination av mikrovågs-inducerad hypertermi och lågdos(30 Gy) konventionell strålbehandling á 2Gy per dag skulle kunna användas för behandling av bröstcancer recidiv.

Med en speciell mikrovågs-applikator behandlades först tumörer implanterade på flanken av möss. Efter att tumörerna försvann hos möss som behandlats med en kombination av hypertermi och strålbehandling, utvecklades metoden till behandling av patienter.



Figur 1-1

Min presentation av vår första hypertermi behandlings utrustning med IMSAI datorn för H.M. kung Carl XVI Gustav vid Forskningens dag 1983, i Lund.

I vänster hand håller jag den patient applikator som Per Nilsson och Lisa Kjellén använde vid behandlingen av patienter.

Till forskningens dag 1983 fick jag uppdraget att förevisa hypertermi utrustningen för Sveriges kung H.M. Carl XVI Gustav och H.M. drottning Silvia.

Med den vågledare-applikator som visas i Figur 1-1 ansluten till mikrovågs utrustningen behandlades patienter med lokala bröstcancer recidiv (Nilsson et al., 1982b, Nilsson and Persson, 1985). Patient behandling av bröstcancer-recidiv i kombination med strålbehandling genomfördes under 1980 talet framgångsrikt vid de onkologiska klinikerna i både Malmö och Lund (Lindholm et al., 1982, Lindholm et al., 1983, Nilsson et al., 1982a, Lindholm et al., 1985, Lindholm et al., 1987, Lindholm et al., 1995).

Lindholm, och medarbetare summerade år 1995 erfarenheterna av prognostiska faktorer för tumörsvar och hudskador vid kombinerad strålbehandling och hypertermi vid ytliga återkommande bröstcarcinom (Lindholm et al., 1995).

Prognostiska faktorer för fullständigt tumörsvar och akut hudskada vid kombinerad hypertermi och strålbehandling analyserades från patienter med återkommande bröstcancer i tidigare bestrålade områden. Strålbehandling gavs dagligen á 2Gy till en total absorberad stråldos av 30,0 Gy på 2 veckor eller 34,5 Gy på 3 veckor.

- Schema A: Det första strålbehandlings schemat kombinerades med värme två gånger i veckan, totalt fyra värmebehandlingar.
- Schema B: Det andra strålbehandlings schemat kombinerades med hypertermi antingen en eller två gånger i veckan vilket resulterade i totalt tre värmebehandlingar, eller
- Schema C: med sex värmebehandlingar.

Hypertermi inducerades med mikrovågor (2450, 915 eller 434 MHz) via externa applikatorer och gavs alltid efter strålbehandlingen. Den fullständiga responsen (CR) hos evaluerbara patienter var 71 % (49 av 69 patienter). Det fanns ingen signifikant skillnad i CR-frekvens mellan de tre olika hypertermischeman.

För respektive schema var CR-frekvenserna:

- Schema A: 74 % (14/19),
- Schema B: 65 % (15/23),
- Schema C: 74 % (20/27) .

(Lindholm et al., 1995).

Peeken, diskuterade år 2017 om användningen av hypertermi i modern strålningsonkologi (Peeken et al., 2017).

Förutom att förstärka effekten av strålning orsakar hypertermi förändringar i perfusion, syresättning, hämning av DNA-reparationsmekanismer. Det finns också indikationer för immunstimulering och induktion av systemiska immunsvar.

Trots det ökande antalet gedigna kliniska studier har emellertid endast ett fåtal onkologiska kliniker inkluderat hypertermibehandling i sin repertoar. Under åren har dock rikliga prospektiva och randomiserade kliniska data dykt upp som visar en tydlig fördel med kombinerad hypertermi och strålbehandling för ytliga bröstcancer recidiv, livmoderhals-cancer eller cancer i huvud och hals regionen.

Sammanfattningsvis menade Peeken att i samband med riktad systemisk terapi och förbättrad kemoterapi för mikrometastaserande sjukdom kan hypertermibehandling för lokal kontroll få klinisk betydelse (Peeken et al., 2017).

1.3 Immunoterapi med tumörvaccin i kombination med strålning

Graf och medarbetare genomförde 2003 immunisering genom s.c. injektion av bestrålade syngena tumörceller som inducerar lokalisering av T-celler (CTL) till Fischer-344-råttor med intrakraniella implanterade T9-glioblastom tumörer. Denna procedur korrelerade dock inte med en botande effekt utan verkade istället förstärka tumörprogression (Graf et al., 2002).

De fann emellertid att kombinationen av immunisering med strålnings-exponering i råttmodeller visade ett ökat terapeutiskt svar på T9-glioblastom, och att total remission av tumörer förekom hos nästan 50 % av djuren (Graf et al., 2002). Dessutom utvecklade djuren gliomspecifik immunitet genom strålbehandling kombinerad med cellulär vaccination.

Samtidig administrering av cellulär immunisering och strålbehandling hämmade således tumören från att producera immunosuppressiva faktorer, vilket gynnade ett antitumörsvar (Graf et al., 2002).

Lumniczky och medarbetare rapporterade år 2002 om att den terapeutiska effekten i en hjärn-tumörmodell för musgliom (GL261) ökar genom att kombinera cytokinproducerande cancercell-vacciner och lokal konventionell strålbehandling (Lumniczky et al., 2002).

De behandlade hjärntumörbärande möss med olika cytokinproducerande vacciner, framställda genom *in-vitro*-transfektion av GL261 musgliom-celler med motsvarande adenovirala vektorer (IL-4, IL-6, IL-7, GM-CSF, TNF γ , LIF, LT).

Det vaccin som producerade IL-4 eller GM-CSF visade sig eliminera 20-40 % av tumörerna hos mössen.

Genom att kombinera lokal tumörbestrålning och vaccination av syngena tumörceller transfekterade med GM-CSF, IL-4, eller IL-12 vektorer eliminerades emellertid omkring 80-100 % av tumörerna hos de gliombärande mössen. Hög effektivitet av kombinerad behandling bibehölls även under suboptimala förhållanden där ingen av modaliteterna ensamma botade någon av mössen (Lumniczky et al., 2002).

Dessa experimentella fynd i rått- och mus-modeller tyder på att vaccinationsterapi kan öppna en ny potential i den kliniska behandlingen av höggradigt gliom när den appliceras som adjuvans till befintliga behandlingsmodaliteter såsom strålterapi (Graf et al., 2002, Lumniczky et al., 2002 42).

Denna berättelse om immunoterapi *kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålterapi* har sitt ursprung i våra studier i Lund av hur immunisering med interferon-gamma-utsöndrande syngena tumörceller kombinerades med strålbehandling. Försöken började år 2003 med den tumörmodell som använts vid den pre-kliniska forskning som låg till grund för Salfords kliniska studie som redovisats ovan.

I ett försök år 2004 inokulerades 5000 N29 tumörceller i hjärnan på Fischer 344 råttor som arrangerades i grupper enligt Tabell 1-1.

Tabell 1-1

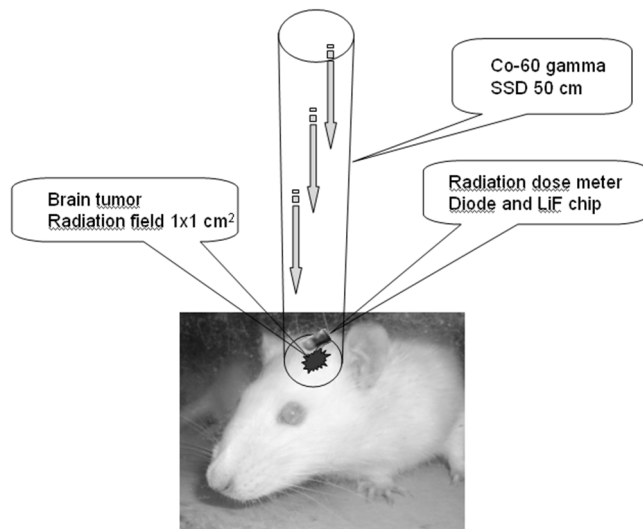
Djuren med intracerebrala tumörer arrangerades i följande grupper:

Gruppnummer	Behandling	Antal djur
B1	Kontroller utan behandling	6
B2	Strålning 5 Gy	8
B3	Strålning 15 Gy	8
B4	Immunisering	6
B5	Strålning 5 Gy + Immunisering	8
B6	Strålning 15 Gy + Immunisering	8

En vecka efter inokuleringen då djuren utvecklat intracerebrala tumörer bestrålades de, såsom visas i figur 1-2, genom att tillföra en absorberad stråldos

på antingen 5 eller 15 Gy mätt med ett TLD-chip placerat bredvid tumören under fältbolus.

Inom en timme efter strålbehandlingen skedde immunisering hos hälften av djuren med i.p. injektion av tre miljoner strålsteriliserade (70Gy) syngena IFN γ -utsöndrande N29-celler. Vaccineringen av djuren upprepades efter 14 och 28 dagar. När dagliga observationer visade tecken på symtom på växande tumörer blev deras hjärnor histopatologiskt undersökta.



Figur 1-2

Bestrålning av Intracerebral rått-tumör med en strålnings fältstorlek kollimerad för att täcka hjärnan (1x1 cm²).

Med joniseringskammare mättes den adsorberade dosen av antingen 5 eller 15 Gy och TLD-dos sensor.

Ett 5 mm tjockt ark av vävnadsekvivalent bolus placerades över huvudet för uppbyggnad av strålningen.

Djuren observerades dagligen med avseende på symtom av de växande tumörerna. När de var starkt påverkade offrades de och hjärnan undersöktes för tumörtillväxt. Tumören resekteades och vägdes.

I Figur 1-3 visas diagram av överlevnadstiden efter inokuleringen av råttor i de olika grupperna med olika behandlingar.

Av kontrollerna utan behandling överlevde 1 av 8, vilket var extremt ovanligt.

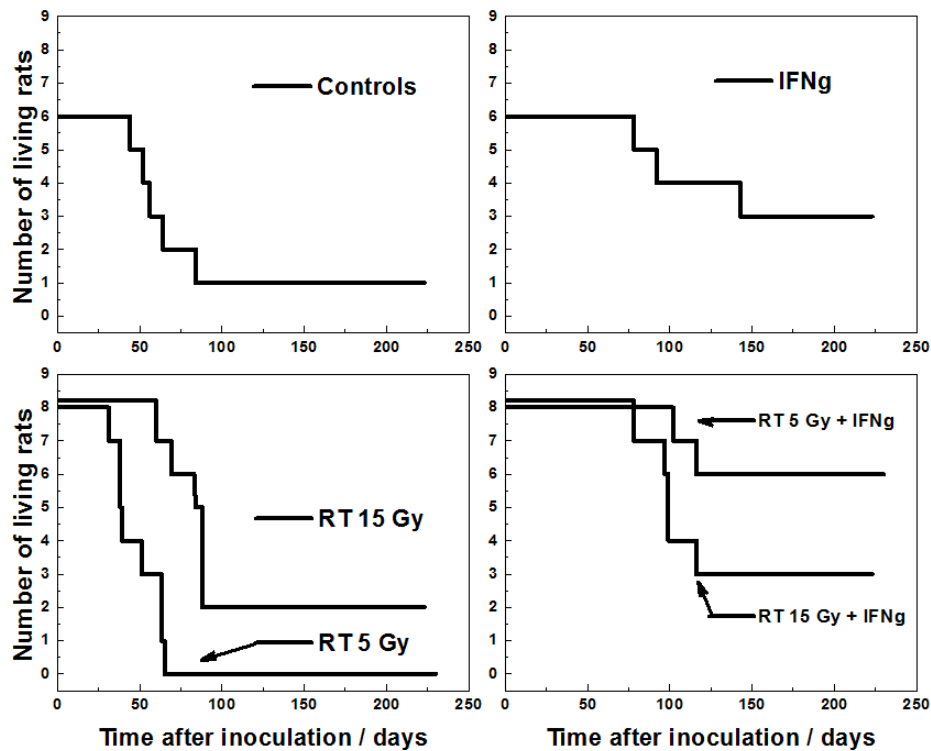
Med endast immunoterapi utan strålning överlevde 2 av 6 behandlade djur (ca 33%).

Enbart strålbehandling en gång med 5 Gy resulterade inte i några överlevare, men med 15 Gy överlevde 2 av 8 djur (ca 25%).

Däremot med immuniseringsterapi 3 gånger kombinerat med en fraktion av 15Gy strålterapi överlevde fem av åtta (63%) och med 5 Gy sex av åtta behandlade djur (ca.75%).

Resultaten presenterades emellertid först vid “*The International Conference on Biomedical Engineering and Informatics*” (BMEI 2008) i Sanya, Hainan, China (Persson et al., 2008).

Studien blev också publicerad i tidskrifter ”*Radiation Research*” med benäget bistånd från Silvia C Formenti, och Sandra Demaria som studerat immunförmedlad hämning av metastaser efter tumör behandling med lokal strålning och CTLA-4-blockad alternativt vaccination (Demaria et al., 2005, Newcomb et al., 2006, Persson et al., 2010).“



Figur 1-3

Överlevnadsdiagram av antalet råttor med intracerebralt implanterade N29-tumörkontroller (övre till vänster), Immunisering med syngena N29-tumörceller (övre till höger); strålbehandling RT (nedre till vänster) och en kombination av strålbehandling RT och immunisering IFNg (nedre höger) (Persson et al., 2010).

1.4 Fortsatta studier

Strålbehandling för cancerbehandling har levererats mer eller mindre på samma sätt under de senaste 100 åren. Fraktioner med låg dos (2 Gy) ges dagligen tills en hög måldos (60-70 Gy) uppnås. Denna behandlingsregim syftar till att eliminera tumören genom strålningsinducerad cancercelldöd. Men traditionell fraktionerad strålbehandling minskar emellertid också antalet strålningskänsliga T-celler (CD3+, CD4+ och CD8+) i tumören och förhindrar därmed immunogen celldöd.

Vi har under de gångna åren försökt sprida kunskap om strålbehandling i kombination med immunoterapi sammanfattades effekterna av olika

fraktioneringsmetoder för strålning på tumören och olika immunceller: CD4+ och CD8+ T-celler, Treg, naturliga mördarceller (NK) och dendritiska celler (DC) (Persson, 2011, Ceberg and Persson, 2013).

Nyligen har kliniska studier i Grekland med storframgång testat lokaliserad hypofraktionerad strålterapi som förstärkning till immunoterapi med immunkontrollpunkts PD-1 hämmare (Koukourakis et al., 2023).

Detta inspirerade mig till att presentera denna berättelse om immunoterapi kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålterapi. Kanske kan den stimulera någon till att genomföra kliniska studier av att kombinera etablerade immunoterapiregimer med intermittent 5 till 8 Gy ultra-hypo-fraktionerad strålterapi iHFIRT. Denna terapeutiska samverkans regim kan också öppna upp möjligheten för minska sannolikheten för biverkningar och recidiv.

1.5 Referenser

- Bauréus-Koch, C., Nyberg, G., Widegren, B., Salford, L. G. & Persson, B. R. R. 2004. "Radiation sterilisation of cultured human brain tumour cells for clinical immune tumour therapy." *British Journal of Cancer* 90 (1):48-54.
- Ceberg, C. & Persson, B. R. R. 2013. "Co-operative radio-immune-stimulating cancer therapy." *Trends in Cancer Research* 9:87 - 108.
- Danish, A., Della Pia, A., Fogel, L., Alkhatatneh, H., Zhao, C., Varughese, T., Al Feghali, K. A., Pascual, L., Sinclair, B., Marafelias, M., Zenreich, J., Kuo, Y.-H., Feldman, T. A., Zhang, Y., Goy, A. H., Ip, A. & Rowley, S. D. 2024. "Prevalence of non-Hodgkin lymphoma patients at high-risk of failure after CAR T-cell therapy eligible for bridging radiation therapy." *FRONTIERS IN ONCOLOGY* 14:1425506. doi: 10.3389/fonc.2024.1425506.
- Demaria, S., Kawashima, N., Yang, A. M., Devitt, M. L., Babb, J. S., Allison, J. P. & Formenti, S. C. 2005. "- Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 Blockade in a Mouse Model of Breast Cancer". - *Clin Cancer Res.* 2005 Jan 15;11(2 Pt 1):728-34. (- 1078-0432 (Print)):- 728-34.
- Graf, M. R., Prins, R. M., Hawkins, W. T. & Merchant, R. E. 2002. "Irradiated tumor cell vaccine for treatment of an established glioma. I. Successful treatment with combined radiotherapy and cellular vaccination." *Cancer Immunology Immunotherapy* 51 (4):179-189. doi: 10.1007/s00262-002-0269-3.
- Koukourakis, I. M., Giakzidis, A. G. & Koukourakis, M. I. 2023. "Anti-PD-1 immunotherapy with dose-adjusted ultra-hypofractionated re-irradiation in patients with locoregionally recurrent head and neck cancer." *Clinical and Translational Oncology* 25 (10):3032-3041. doi: 10.1007/s12094-023-03172-y.

- Lee, N. Y., Dunn, L. A., Ferris, R. L., Psyrri, A., Haddad, R. I., Tahara, M., Bourhis, J., Harrington, K., Chang, P. M. H., Lin, J. C., Razaq, M. A., Teixeira, M. M., Lövey, J., Chamois, J., Rueda, A., Hu, C., Dvorkin, M. V., De Beukelaer, S., Pavlov, D., Thurm, H. & Cohen, E. 2021. "Avelumab plus standard-of-care chemoradiotherapy versus chemoradiotherapy alone in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre, phase 3 trial." *The Lancet Oncology* 22 (4):450-462-462. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30737-3.
- Lindholm, C. E., Kjellén, E., Landberg, T., Nilsson, P., Hertzman, S. & Persson, B. 1983. "Microwave-induced hyperthermia and ionizing-radiation - technique and preliminary clinical-results." *Strahlentherapie* 159 (6):379-379.
- Lindholm, C. E., Kjellén, E., Landberg, T., Nilsson, P., Hertzman, S. & Persson, B. 1985. "Microwave-induced hyperthermia and ionizing-radiation - clinical-results." *Strahlentherapie* 161 (9):543-543.
- Lindholm, C. E., Kjellén, E., Landberg, T., Nilsson, P. & Persson, B. 1982. "Microwave-induced hyperthermia and ionizing-radiation - preliminary clinical-results." *Acta Radiologica Oncology* 21 (4):241-254. doi: 10.3109/02841868209134013.
- Lindholm, C. E., Kjellén, E., Nilsson, P. & Hertzman, S. 1987. "Microwave-induced hyperthermia and radiotherapy in human superficial tumors - clinical-results with a comparative-study of combined treatment versus radiotherapy alone." *International Journal of Hyperthermia* 3 (5):393-411. doi: 10.3109/02656738709140410.
- Lindholm, C. E., Kjellén, E., Nilsson, P., Weber, L. & Hill, S. 1995. "Prognostic factors for tumor response and skin damage to combined radiotherapy and hyperthermia in superficial recurrent breast carcinomas." *International Journal of Hyperthermia* 11 (3):337-355. doi: 10.3109/02656739509022470.
- Lumniczky, K., Desaknai, S., Mangel, L., Szende, B., Hamada, H., Hidvegi, E. J. & Safrany, G. 2002. "Local tumor irradiation augments the antitumor effect of cytokine-producing autologous cancer cell vaccines in a murine glioma model." *Cancer Gene Therapy* 9 (1):44-52.
- Newcomb, E. W., Demaria, S., Lukyanov, Y., Shao, Y., Schnee, T., Kawashima, N., Lan, L., Dewyngaert, J. K., Zagzag, D., McBride, W. H. & Formenti, S. C. 2006. "The combination of ionizing radiation and peripheral vaccination produces long-term survival of mice bearing established invasive GL261 gliomas." *Clin Cancer Res* 12 (15):4730-7. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-06-0593.
- Nilsson, P. & Persson, B. 1985. "Computer controlled microwave system for clinical hyperthermia." *Physics in Medicine and Biology* 30 (4):283-292-292. doi: 10.1088/0031-9155/30/4/001.
- Nilsson, P., Persson, B., Kjellén, E., Lindholm, C. E. & Landberg, T. 1982a. "Technique for microwave-induced hyperthermia in superficial human-tumors." *Acta Radiologica Oncology* 21 (4):235-239. doi: 10.3109/02841868209134012.
- Nilsson, P., Persson, B., Kjellen, E., Lindholm, C. E. & Landberg, T. 1982b. "Technique for microwave-induced hyperthermia in superficial human tumours." *Acta Oncologica* 21 (4):235-239-239. doi: 10.3109/02841868209134012.
- Peeken, J. C., Vaupel, P. & Combs, S. E. 2017. "Integrating Hyperthermia into Modern Radiation Oncology: What Evidence Is Necessary?" *Frontiers in Oncology* 7. doi: 10.3389/fonc.2017.00132.

- Persson, B. R. R. 2011. Radiation Immune Modulation Therapy of Glioma, . In: CHEN, C. C. (ed.) *Advances in the Biology, Imaging and Therapies for Glioblastoma*,. Vienna: InTech.
- Persson, B. R. R., Bauréus-Koch, C., Grafström, G., Ceberg, C., af Rosenschöld, P. M., Nittby, H., Widegren, B. & Salford, L. G. 2010. "Radiation Immunomodulatory Gene Tumor Therapy of Rats with Intracerebral Glioma Tumors." *Radiation Research* 173 (4):433-440. doi: 10.1667/rr1733.1.
- Persson, B. R. R., Bauréus-Koch, C., Grafström, G., Ceberg, C., af Rosenschöld, P. M., Widegren, B. & Salford, L. G. 2008. "Survival of rats with N29 brain tumours after irradiation with 5 or 15 Gy and immunization with IFN-gamma secreting tumour cells." *Bmei 2008: Proceedings of the International Conference on Biomedical Engineering and Informatics, Vol 2*:243-247.
- Roszman, T., Elliot, L. & Brooks, W. 1991. "Modulation of T-cell function by gliomas." *Immunol Today* (12):370.
- Salford, L. G., Siesjö, P., Skagerberg, G., Rydelius, A., Blennow, C., Lilja, Å., Persson, B. R. R., Strömblad, S., Visse, E. & Widegren, B. 2022. A Story of Immunization with Autologous IFN- γ Secreting Glioma Cells in Patients with Glioblastoma Multiforme is Safe and Prolongs Both Overall and Progress Free Survival. In: AMIT, A. & DAULAT SINGH, K. (eds.) *Glioblastoma*. Ch. 10, Pages 157-173. Rijeka: IntechOpen.
- Salford, L. G., Group, BRIGTT. & Persson, B. R. R. 2001a. Brain Immuno-Gene Tumour Therapy- Translational Research from laboratory to clinical use. In: FOUNDATION, L. K. S. (ed.) *3rd National Telemedicine Education Symposium*. Shantou, China: Shantou University Medical College China.
- Salford, L. G., Siesjö, P., Skagerberg, G., Persson, B. R. R., Visse, E., Larsson, E. M., Englund, E. & Widegren, B. 2002. "A-32 Clinical Immunization with autologous glioma cells transduced with human interferon-g gene." *Neuro-Oncology* 4 (Supplement 2).
- Salford, L. G., Siesjö, P., Skagerberg, G., Persson, B. R. R., Larsson, E.-M., Lindvall, M., Visse, E. & Widegren, B. 2001b. Search for effective therapy against glioblastoma multiforme - clinical immunisation with autologous glioma cells transduced with the human Interferon-g gene. *The 2nd International Mt. BANDAI Symposium for Neuroscience 2001*. Yatsuyamada Koriyama-City, Fukushima 936-8563 Japan: Southern Yohoku Research Institute for Neurosciences.

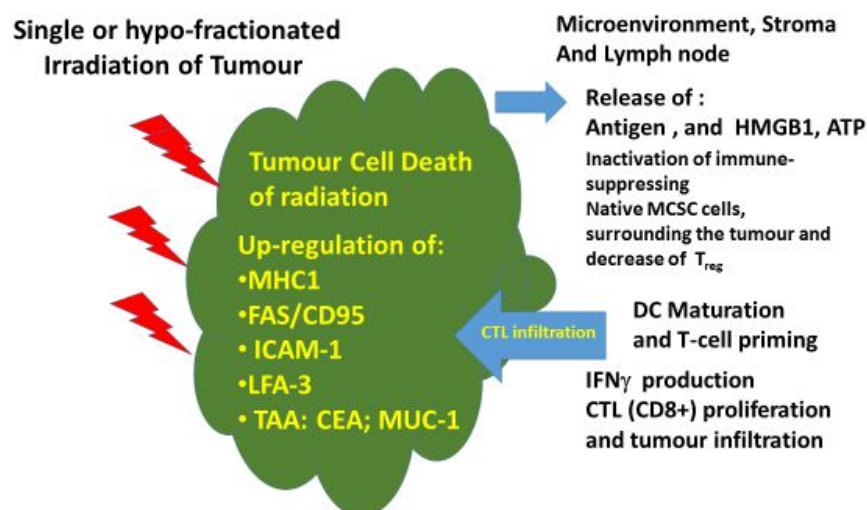
Kapitel II

Samspelet mellan strålterapi och immunrespons

2.1 Tumörens mikromiljö

Cancerprogression är nära relaterad till tumörmikromiljön där tumören existerar tillsammans med omgivande blodkärl, immunceller, fibroblaster, benmärgshärledda inflammatoriska celler (MDSC), signalmolekyler och den extracellulära matrisen. Tumörer kan påverka mikromiljön genom att frigöra extracellulära signaler som främjar tumörangiogenes och inducera immun-tolerans vilket stimulerar tumör tillväxten, medan immunceller i mikromiljön försöker hämma tillväxten och utvecklingen av cancerceller.

Strålbehandling dödar cancerceller vilket ökar frisättningen av endogena tumör-antigen som aktiverar antigen-presenterande celler APC. Detta gynnar produktionen av tumördödande Cytotoxiska Tumör Lymfocyter (CTL) som är CD8+T-lymfocyter (Formenti and Demaria, 2009, Formenti, 2017).



Figur 2-1
Strålningseffekter på tumörens mikromiljö

Tumörernas beteende bestäms i hög grad av tumörcellernas interaktion med olika immunceller, såsom

- T-celler: CTL(CD8⁺) , T_H (CD4⁺), Treg (CD4⁺, CD25⁺)
- Naturliga mördarceller (NK),
- Dendritiska celler (DC),
- Myeloid-härledda suppressorceller (MDSC) och
- Tumörassocierade makrofager (TAM).

Myeloid-härledda suppressorceller (MDSC) bidrar till angiogenes och vaskulärgenes och är, liksom regulatoriska T-celler, Treg(CD4⁺,CD25⁺), kraftfulla suppressorer av antitumöreffekten hos CTL-celler.

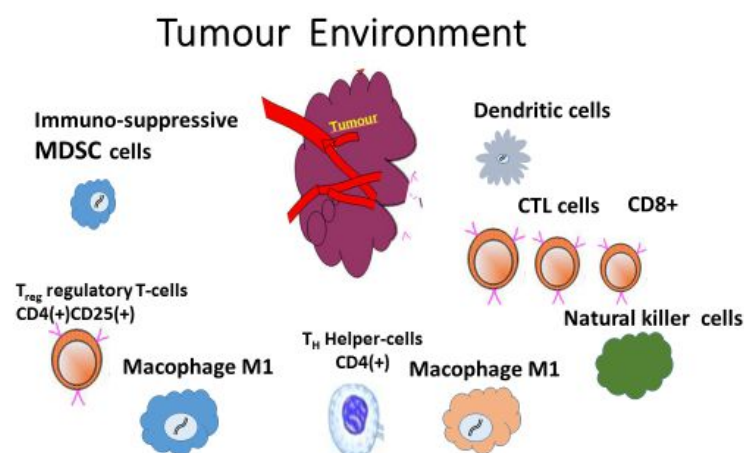
Dendritiska celler är närvarande, men deras mognad till effektiva antigenpresenterande celler hämmas av vaskulär endotel tillväxtfaktor (VEGF) från tumör och stromal sekretion, samt interleukin-10 och TGF-β.

Tumörassocierade makrofager(TAM) främjar tumörprogression genom att utsöndra en mängd olika faktorer, inklusive matrismetalloproteinaser och immunosuppressiva cytokiner.

M1-makrofager är pro-inflammatoriska celler som kan utsöndra pro-inflammatoriska cytokiner, aktivera endotelceller och inducera rekryteringen av andra immunceller till inflammerad vävnad.

M2-makrofager hämmar inflammation genom frisättning av anti-inflammatoriska mediatorer och säkerställer vävnadsintegritet.

Dessutom finns en vaskulär komponent som innefattar blod och lymfatiska endotelceller som kommunicerar med varandra och med cancercellerna.



Figur 2-2

Celler i Tumörens mikromiljö

2.2 Strålningens effekter på tumörens mikromiljö

Strålterapi kan påverka tumörceller både med DNA-skada och genom att modifiera tumörens mikromiljö (TME) med olika effekter beroende på levererad absorberad dos, Strålbehandling med hög absorberad dos (10–20 Gy/fraktion) inducerar nekros och massiv inflammation och ger upphov till immunsuppressiva effekter. Medan låg absorberad dos (5–8 Gy/fraktion) ger förutsättningar för immunologisk död med lägre immunsuppression.

Lymfocyter är bland de mest strålkänsliga vita blodkropparna och akut lymfopeni observeras ofta efter fokal strålterapi med hög stråldos, troligen på grund av att bestrålningen dödar lymfocyter när de passerar genom strålfältet.

Konventionell fraktionerad strålterapi á 2 Gy resulterar i förlust av aktiva lymfocyter i helkroppsvolymen med en förlust i genomsnitt ca. 11% (Ellsworth et al., 2020). Efter avslutad konventionell strålbehandling kan en del patienter uppvisa ihållande Lymfopeni under långa perioder.

Hyperfraktionerad strålning kan främja dendritiska cellers upptag av anti-gen från döende cancerceller, och frigörandet av antigener som kan presenteras mer effektivt. Även ”*High mobility group box 1*”-protein (kodas av HMGB1-genen) som frigörs från döende cancerceller är en så kallad farosignal som aktiverar dendritiska celler och har föreslagits som ett DNA-vaccinadjuvans

I överlevande cancerceller kan bestrålningen bidra till ökat uttryck av adhesions molekyler, såsom *intercellulär adhesionsmolekyl* (ICAM)-1, celldödsreceptorn-1 PD-L1, *Fas* (apoptos receptor) och *major histocompatibility complex class I* (MHC-I). Dessutom aktiveras anti-gen-presenterande molekyler (APC) som stimulerar produktionen av cytotoxiska tumör lymfocyter CTL med förmåga att identifiera och döda tumör-celler.

Flera timmar efter exponering för strålning aktiveras även mTOR-vägen, med frisättning av strålningsspecifika peptider som kan inducera ett tumörspecifikt immunsvar.

Joniserande strålning genererar även kemokiner, såsom CXCL16, som attraherar CTL-celler till den bestrålade tumörvolymen.

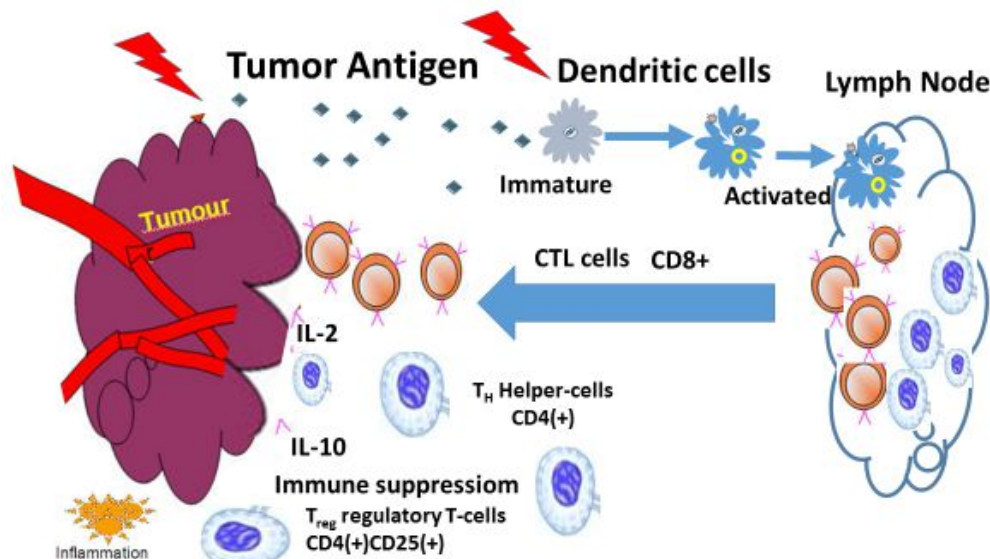
Hyperfraktionerad strålbehandling gynnar immunologiska effekter som kan förstärkas med effektiv immunoterapi. Dessa mekanismer involverar upp- eller nedreglering av membranmolekyler, såsom PD-L1, HLA-klass-I, CD80/86, CD40, CD47 och Fas/CD95, vilka spelar en viktig roll i immunkontrollpunktswägar och ökat cytokinuttryck (t.ex. Interferon $\text{INF}\alpha, \beta, \gamma$, IL1,2 och $\text{TNF}\alpha$)

av cancer eller immunceller. För att verkan av alla dessa biologiska processer som initieras av en enda 8Gy strålfraction skall hinna fullföljas bör tidsintervallet mellan ytterligare strålfractioner vara tillräckligt långt, åtminstone en vecka (Koukourakis et al., 2023b).

Med endast en fraktion hypo-fraktionerad strålterapi induceras också immunogen modulering som förändrar biologin och miljön för överlevande tumörceller vilket gör dem mer mottagliga för T-cellsmedierad immunogen celldöd (Ahmed et al., 2013).

Sammanfattning av Strålningens effekter på tumörens mikromiljö

- Frigör anti-gen och:
CDAMP= CellDödsAssocierade Molekylära mönster
TLR = Toll Like-receptorer på naiva T-celler (TLR 4)
HMGB1 = "High Mobility Group1" ett icke-histonkromatinbindande kärnprotein
- Frigör Adenin-Tri-Fosfat ATP
- Stimulerar mognad av Dendritceller DC och T-celler med IFN produktion
- Ökar proliferation och tumörinfiltration av CTL= Cyto-Toxiska Leukocyter (CD8+T-celler)



Figur 2-3

Strålningens effekter på tumörens mikromiljö.

Emellertid överväger mestadels tumörens immunosuppressiva egenskaper vilket ofta eliminerar effekten av immunoterapi. Hyperfraktionerad strålterapi reducerar emellertid tumörens suppressiva egenskaper genom inaktivering av

immun-suppressiva omogna MCSC celler och reduktion i populationen av regulativa T-celler T_{reg} i tumörens omgivning.

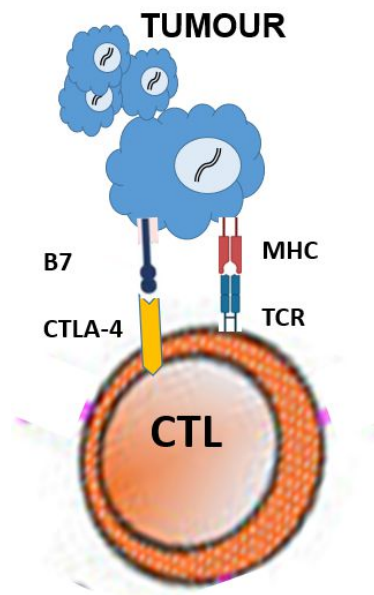
2.3 Cancer immunoterapi

Som framgår av ovanstående beskrivning av T-cellernas funktion spelar de en framträdande roll i det cellmedierade adaptiva immunsvaret mot främmande patogener och maligna celler (Rudolph et al., 2006).

Men för att förhindra immunförsvarets inriktning på normal värdvävnad, är det utrustat med reglermekanismer för modulering och nedreglering av immunsvaret.

CTLA-4 är ett protein som finns på de T-celler som hjälper till att hålla kroppens immunsvaret i schack. När CTLA-4 binder till ett annat protein som kallas B7, som finns på såväl normala som tumörceller, hindras CTL mördarcellerna från att döda både normala och tumör-celler.

I Figur 2-4 visas hur CTLA-4 receptorn på CTL cellen kopplar till B7 liganden varigenom immunsvaret från CTL undertrycks. Härigenom kan CTL med kroppsegna anti-gen visa immuntolerans mot kroppens egna vävnader och celler. I Figur 2-5 visas hur blockering av CTLA-4 interaktionen med anti-CTLA-4 monoklonala antikroppar kan användas för behandling mot tumörer.



Figur 2-4

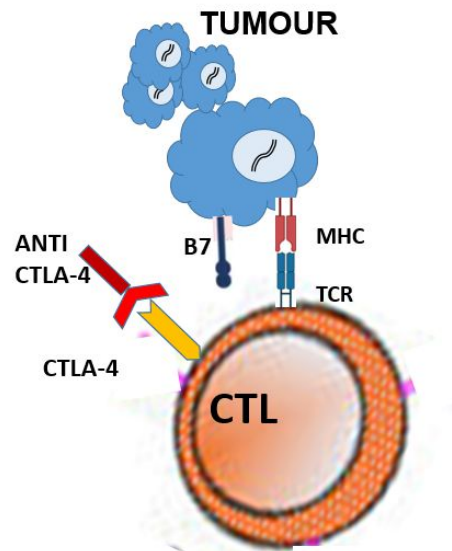
Då CTLA-4 Receptorn på CTL cellen kopplar till B7-liganden på Cancercellen själv eller någon annan cell undertrycks CTL cellens immunsvaret.

Härigenom kan även CTL cellers attack mot världens egna vävnader och celler förhindras

Läkemedel så kallade immunkontrollpunktshämmare, används för att blockera CTLA-4 så att mördarcellernas CTL immunsvaret kan eliminera tumörcellerna.

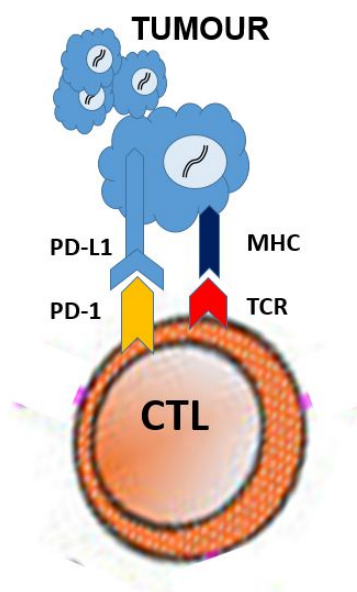
Figur 2-5

Terapeutiska insatser mot olika typer av tumörer genomförs genom blockering av CTLA-4 /B7 interaktionen med anti-CTLA-4 monoklonala antikroppar.



Programmerade celldödsreceptorn-1 (PD-1) är en annan viktig immunmodulator. Den är ett transmembranprotein av CD28-familjen, med 288 aminosyror vilket uttrycks i membranet på aktiverade T-celler (CTL), B-celler och tumörassocierade makrofager (Xu., 2020). När PD-1 binder till den endogena liganden PD-L1 på cancercellen eller någon annan cell, undertrycks immunsvaret av aktiverade T-celler (CTL), varigenom immuntolerans upprätthålls mot kroppens normala vävnader och celler (Hamid et al., 2013).

Emellertid överuttrycks PD-L1 ofta i olika tumörer, såsom melanom, icke-småcellig lungcancer, njurcellscancer, blåscancer och Hodgkin-lymfom, vilket gör det möjligt för dessa cancerformer att undkomma en attack av immunsystemets CTL (Kataoka et al., 2016).



Figur 2-6

Då PD1 Receptorn på CTL cellen kopplar till PDL1 liganden på Cancercellen själv eller någon annan cell undertrycks immunsvaret mot kroppsegna antigener, varigenom immuntolerans mot världens normala vävnader och celler upprätthålls.

Terapeutiska insatser mot olika typer av tumörer genomförs genom blockering av PD-1/PD-L1 interaktionen med monoklonala antikroppar mot dessa receptorer (Tomasiak et al., 2021). I Figur 2-6 visas hur PD1 receptorn på CTL cellen kopplar till PD-L1 liganden på cancercellen vilket undertrycker immunsvaret och hindrar CTL att döda cancercellen. I Figur 2-7 visar blockering av PD-1 eller PD-L1 interaktionen med monoklonala antikroppar.

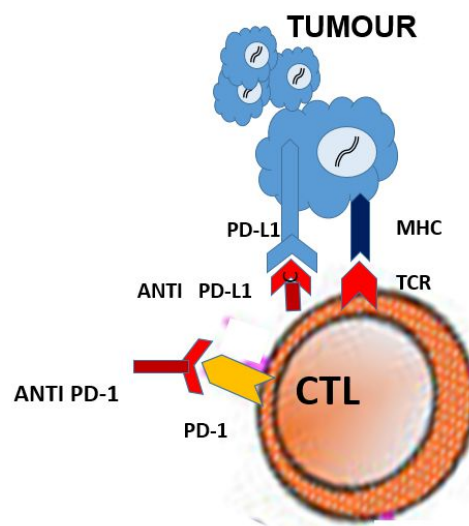
PD-L1 liganden uttrycks emellertid också i antigenpresentrande celler vilket kan påverka T cellernas respons och tumörens möjlighet att överleva (Kleffel et al., 2015, Wen et al., 2024). Det är således viktigt att överväga valet av läkemedel för optimalt respons.

Hos PD-L1 negativ avancerad icke-småcellig lungcancer visar sig dubbel PD-1/CTLA-4-blockad ha klinisk betydelse (Wang et al., 2024).

Figur 2-7

PD-L1 liganden överuttrycks ofta i olika tumörer vilket gör det möjligt för dessa cancerformer att undkomma en attack av immunsystemets CTL.

Terapeutiska insatser mot tumörer genomförs genom blockering av PD-1 eller PD-L1 interaktionen med monoklonala antikroppar.



Immunoterapi med dessa immunkontrollpunktshämmare verkar emellertid bekämpa tumörer över ett brett spektrum av tumörtyper och är associerad med lägre toxicitetsnivåer än andra immunoterapier, med varaktiga svar. Därför anses PD1/PD-L1-hämmare vara en lovande läkemedelskategori för många olika cancerformer. Men blir effekten för kraftig angrips även normalvävnad med allvarliga biverkningar som följd.

2.4 Strålningens effekter på tumörens immunosuppression

Yin och medarbetare diskuterade år 2019 samverkan mellan Myeloid-härledda suppressorceller (MDSC) i tumörens mikromiljö och strålbehandling.

En av de viktigaste cellkomponenterna i tumörmikromiljön som främjar tumörtillväxt och metastasering är myeloid-härledda suppressorceller (MDSC).

MDSCs har dykt upp som viktig regulator av immunsvaret i cancer och viktig för effekten av cancerterapi med strålbehandling.

Strålbehandling kan förutom att frigöra tumör-antigen främja både lokal och systemisk antitumörimmunitet genom att påverka myeloid-härledda celler MDSCs inklusive makrofager TAMs i tumören. Beroende på stråldos och fraktionering kan emellertid strålbehandling ha både protumör- eller antitumör-immuneffekt.

Rätt strålbehandlings-regim kombinerad med immunoterapi motverkar effektivt MDSCs hämmande funktion, vilket främjar infiltrationen av dödliga CD8⁺T-celler (CTL) i tumören. Att rikta in sig på att reducera MDSC och stärka antitumör immuniteten är avgörande för den terapeutiska effekten hos immunoterapi kombinerad med hypofraktionerad strålbehandling HFRT.

I kombination med anti-PD-L1-immunoterapi är HFRT potent för cancerbehandling. Genom att HFRT minskar antalet MDSC gynnas CD8⁺T-cellernas infiltration i tumören. Nyare studier har visat att kombinationen anti-PD-L1 med HFRT strålbehandling effektivt minskar ackumuleringen av MDSC i tumörens mikromiljö vilket hämmar tumörens tillväxt. Emellertid kan för höga stråldosfraktioner i HFRT öka nivån av regulatoriska T-celler T_{reg} som undertrycker strålnings-inducerande immunsvaret, vilket begränsar det fullständiga uttrycket av antitumör-immunitet och underlättar återfall. Därför är effekten av MDSC celler i tumörens mikromiljö beroende av strålterapiens dosnivå och fraktionering.

Kombinationsterapi med PD-L1-blockad och rätt avvägd HFRT leder till eliminering av MDSC genom ökad produktion av T-cellshärledd TNF.

Koukourakis, och medarbetare redovisade år 2023 en sammanfattning av den molekylära grunden för samspelet mellan immunoterapi och strålterapi (Koukourakis et al., 2023b).

Den prekliniska forskningen visar vikten av att utnyttja samspelet mellan de cytotoxiska effekterna av strålterapi och immunsystemet. Deras översikt ger grunderna för antitumör immunitet och fokuserar på de mekanismer som ligger till grund för det molekylära samspelet i immuno-HFRT som också kan betraktas som radiovaccination.

Dessutom är strålningens interaktioner med tumörmikromiljöns fibroblaster, tumörinfiltrerande lymfocyter, monocyter och dendritiska celler också en viktig komponent i radiovaccinations processen. Således kan rätt avvägd HFRT

utnyttjas som hjälpmedel vid immunoterapi för att mer effektivt kunna behandla olika subtyper av cancer (Koukourakis et al., 2023b, Koukourakis et al., 2023a).

2.5 Referenser

- Ahmed, M. M., Hodge, J. W., Guha, C., Bernhard, E. J., Vikram, B. & Coleman, C. N. 2013. "Harnessing the Potential of Radiation-Induced Immune Modulation for Cancer Therapy." *Cancer Immunology Research* 1 (5):280-284. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0141.
- Ellsworth, S. G., Yalamanchali, A., Zhang, H., Grossman, S. A., Hobbs, R. & Jin, J.-Y. 2020. "Comprehensive Analysis of the Kinetics of Radiation-Induced Lymphocyte Loss in Patients Treated with External Beam Radiation Therapy." *Radiation Research* 193,:73–81 doi: DOI: 10.1667/RR15367.1.
- Formenti, S. C. 2017. "Optimizing Dose Per Fraction: A New Chapter in the Story of the Abscopal Effect?" *International journal of radiation oncology, biology, physics* 99 (3):677-679. doi: 10.1016/j.ijrobp.2017.07.028.
- Formenti, S. C. & Demaria, S. 2009. "Systemic effects of local radiotherapy." *Lancet Oncology* 10 (7):718-726. doi: 10.1016/s1470-2045(09)70082-8.
- Hamid, O., Robert, C., Daud, A., Hodi, F. S., Hwu, W.-J., Kefford, R., Wolchok, J. D., Hersey, P., Joseph, R. W., Weber, J. S., Dronca, R., Gangadhar, T. C., Patnaik, A., Zarour, H., Joshua, A. M., Gergich, K., Elassaiss-Schaap, J., Algazi, A., Mateus, C., Boasberg, P., Tumeh, P. C., Chmielowski, B., Ebbinghaus, S. W., Li, X. N., Kang, S. P. & Ribas, A. 2013. "Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma." *The New England journal of medicine* (2).
- Hughes, C. E. & Nibbs, R. J. B. 2018. "A guide to chemokines and their receptors." *FEBS Journal* 285 (16):2944-2971. doi: 10.1111/febs.14466.
- Kataoka, K., Nagata, Y., Watatani, Y., Kakiuchi, N., Suzuki, H., Yoshizato, T., Yoshida, K., Ogawa, S., Shiraishi, Y., Tanaka, H., Chiba, K., Ito, S., Miyano, S., Takeda, Y., Matsumoto, M., Seya, T., Sakata, S., Takeuchi, K., Nagano, S., Maeda, T., Masuda, K., Kawamoto, H., Kitanaka, A., Shide, K., Kubuki, Y., Hidaka, T., Kameda, T., Shimoda, K., Mizuno, S., Takahashi, S., Sanada, M., Itonaga, H., Imaizumi, Y., Miyazaki, Y., Totoki, Y., Nakamura, H., Hama, N., Shibata, T., Munakata, W., Minato, N., Kashiwase, K., Izutsu, K., Takaori-Kondo, A. & Akatsuka, Y. 2016. "Aberrant PD-L1 expression through 3'-UTR disruption in multiple cancers." *Nature* 534 (7607):402-406-406. doi: 10.1038/nature18294.
- Kleffel, S., Posch, C., Barthel, S. R., Mueller, H., Elco, C. P., Lee, N., Mihm, M. C., Frank, M. H., Kupper, T. S., Schatton, T., Schlapbach, C., Thomi, R., Guenova, E., Hoetzenecker, W., Cozzio, A., Dummer, R., Zhan, Q., Lian, C. G., Murphy, G. F., Sharpe, A. H., Juneja, V. R. & Flaherty, K. T. 2015. "Melanoma Cell-Intrinsic PD-1 Receptor Functions Promote Tumor Growth." *Cell* 162 (6):1242-1256-1256. doi: 10.1016/j.cell.2015.08.052.
- Koukourakis, I. M., Giakzidis, A. G. & Koukourakis, M. I. 2023a. "Anti-PD-1 immunotherapy with dose-adjusted ultra-hypofractionated re-irradiation in patients with locoregionally recurrent head and neck cancer." *Clinical and Translational Oncology* 25 (10):3032-3041. doi: 10.1007/s12094-023-03172-y.

- Koukourakis, I. M., Tiniakos, D., Kouloulis, V. & Zygogianni, A. 2023b. "The molecular basis of immuno-radiotherapy." *International Journal of Radiation Biology* 99 (5):715-736. doi: 10.1080/09553002.2023.2144960.
- Rudolph, M. G., Stanfield, R. L. & Wilson, I. A. 2006. "How TCRs bind MHCs, peptides, and coreceptors." *Annual review of immunology* 24:419-466. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115658.
- Tomasiak, L., Karch, R. & Schreiner, W. 2021. The Monoclonal Antibody Pembrolizumab Alters Dynamics of the Human Programmed Cell Death Receptor 1 (PD-1). *2021 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM), Bioinformatics and Biomedicine (BIBM), 2021 IEEE International Conference on.* IEEE.
- Wang, L., Liu, L., Zhao, J., Yu, X. & Su, C. 2024. "Clinical Significance and Molecular Annotation for PD-L1 Negative Advanced Non-Small Cell Lung Cancer with Sensitivity to Responsive to Dual PD-1/CTLA-4 Blockade." *ImmunoTargets and Therapy* 13 435–445
- Wen, Q. E., Li, L., Feng, R. Q., Li, D. H., Qiao, C., Xu, X. S. & Zhang, Y. J. 2024. "Recent Advances in Immunotherapy for Breast Cancer: A Review." *Breast Cancer: Targets and Therapy* ume 16:497-516.
- Xu, J. Regulation of Cancer Immune Checkpoints. Molecular and Cellular Mechanisms and Therapy. 1st ed. 2020. ed. XU, J., editor: Springer Nature Singapore; 2020.

Kapitel III

Preklinska försök

3.1 Preklinska försök med CTLA-4

Demaria, och medarbetare rapporterade år 2005 om immunförmedlad hämning av metastaser efter lokal strålbehandling kombinerad med CTLA-4 blockad i en musmodell av bröstcancer (Demaria et al., 2005).

De var först med att testa hypotesen att lokal strålbehandling till den primära tumören i kombination med CTLA-4-blockad kan framkalla tumör-regression och hämma metastasering.

Möss injicerades s.c. med 4T1-bröstcancer celler, och 13 dagar senare när de primära tumörerna mätte 5 mm i medeldiameter påbörjades behandlingen. Mössen indelades slumpmässigt i följande fyra behandlingsgrupper:

- (1) kontroll IgG (IgG),
- (2) Strålbehandling RT + IgG,
- (3) 9H10 monoklonal antikropp mot CTLA-4,
- (4) Strålbehandling RT + antikropp mot CTLA-4 (9H10).

Strålbehandlingen (RT) levererades till den primära tumören med en, eller två fraktioner á 12 Gy som gavs med 48 timmars intervall.

Monoklonal antikropp mot CTLA-4 (9H10) och immuno-globulin IgG som placebo, gavs med intraperitoneala injektioner (IP) in i bukhinnehålan tre gånger efter strålbehandlingen (RT).

I grupp 2 med enbart strålbehandling fördröjdes tillväxten av den primärt bestrålade tumören, men överlevnaden motsvarade den för kontrollmöss i grupp 1 (Demaria et al., 2005).

I överensstämmelse med det faktum att 4T1-bröstcancer är dåligt immunogen, hade enbart monoklonal antikropp mot CTLA-4 (9H10) som i grupp 3 ingen effekt på primär tumörtillväxt eller överlevnad.

Däremot hade möss i grupp 4 som behandlades med Strålbehandling i kombination med Monoklonal antikropp mot CTLA-4(9H10), en statistiskt

signifikant ökad överlevnad jämfört med kontrollerna i grupp 1. Den ökade överlevnaden korrelerade också med hämning av lungmetastasbildning.

Sammanfattningsvis verkar kombinationen av lokal Hypo-Fraktionerad strålbehandling i kombination med CTLA-4-blockad vara en lovande ny immunoterapeutisk strategi mot dåligt immunogena metastaserande cancerformer (Demaria et al., 2005).

Dewan och medarbetare visade år 2009 att rätt fraktionerad strålbehandling inducerar en immunmedierad abskopal effekt i kombination med anti-CTLA-4-antikropp (Dewan et al., 2009).

De testade hypotesen att typen av dosfraktioneringsregim påverkar strålterapins förmåga att verka i synergi med immunoterapi.

TSA-bröstkarcinom celler från mus injicerades subkutan s.c. i syngena möss på två separata platser. En definierades som "primär" plats vilken bestrålades, och den andra som "sekundär" plats utanför strålterapiområdet simulerade metastas. När tumörerna börjat växa indelades mössen slumpmässigt i följande åtta grupper:

- 1 Utan någon strålbehandling
- 2 Strålbehandling 20 Gy $\times$ 1 fraktion
- 3 Strålbehandling 8 Gy $\times$ 3 fraktioner med en fraktion dagligen
- 4 Strålbehandling 6 Gy $\times$ 5 fraktioner med en fraktion dagligen
- 5 9H10 monoklonal antikropp mot CTLA-4.
- 6 Strålbehandling 20 Gy $\times$ 1 fraktion + antikropp mot CTLA-4
- 7 Strålbehandling 8 Gy $\times$ 3 fraktioner + antikropp mot CTLA-4
- 8 Strålbehandling 6 Gy $\times$ 5 fraktioner + antikropp mot CTLA-4

I var och en av strålbehandlings regimerna 2, 3, och 4 observerades jämförbara fördröjningar av tillväxten av de primära tumörerna, men ingen effekt noterades på de sekundära tumörerna utanför strålfältet.

Vid behandling i regim 5 med enbart (9H10)antikropp mot CTLA-4 observerades ingen detekterbar regression av tumören.

Däremot i grupperna 6, 7 och 8 med kombinationen av strålbehandling och (9H10)antikroppen mot CTLA-4 observerades signifikant ($p < 0,0001$) regression av de primära tumörerna.

I grupperna 7 och 8 orsakade dessutom kombinations behandlingen abskopaleffekt med signifikant ($p < 0,01$) reduktion av tillväxten hos de sekundära tumörerna utanför fältet. Frekvensen av CD8⁺CTL-celler som uppvisade

tumörspecifik IFN- γ -produktion var proportionell mot hämningen av den sekundära tumören.

Däremot induceras ingen abskopal effekt i regim 6 med en gångs 20 Gy strålbehandling i kombination med anti-CTLA-4-antikropp.

Den bästa terapi effekten uppnåddes i grupp 7 med regimen hypofraktionerad strålbehandling: 8 Gy $\times$ 3 fraktioner med en fraktion per dag + antikropp mot CTLA-4 (Dewan et al., 2009).

Rudqvist och medarbetare rapporterade år 2023 om prekliniska studier av Immunoterapi riktad mot olika immunkompartment som i kombination med strålbehandling inducerar regression av resistent tumörer (Rudqvist et al., 2023).

Strålbehandling med 8 Gy per dag under 3 konsekutiva dagar (RT) ökar tumörsvaret av att hämma CTLA-4 (CTLA4i) hos möss och hos vissa patienter, men kompletta remissioner är sällsynta.

För att identifiera rationella kombinationer av immunoterapi för att förbättra svaren användes modeller av trippelnegativ bröstcancer som är mycket resistent mot immunoterapi hos honmöss.

Kombinationsterapi (CTLA4i+RT) minskar regulatoriska CD4⁺T-celler och ökar effektorminnet och aktiverar CD8⁺T-celler. En kombinerad gensignatur som omfattar tre CD8⁺ T-cellkluster är associerad med överlevnad.

De visar att inriktning på PD1 immunkontrollpunkter uttryckta av intratumorala T-celler inte är effektivt, medan CD40-agonistterapi bidrar till att resistent tumörer svarar på kombinationen av RT och CTLA4i, vilket indikerar behovet av att rikta in sig på olika immunkompartment (Bullock, 2022)..

Strålbehandling med 3 fraktioner á 8 Gy (RT) med en fraktion per dag, har visat sig förbättra svaren på immunoterapi i prekliniska cancermodeller, men kompletta remissioner hos patienter är fortfarande sällsynta. Författarna ger immunologiska insikter om svaret på RT- och CTLA4-hämning hos tumörbärande möss och visar att agonistisk CD40-terapi förbättrar svaret på kombinationen av RT och immuncheckpoint-hämning.

Medan tillsatsen av anti-CD40 dramatiskt förbättrade avstötningen av den bestrålade tumören förbättrade den inte ytterligare hämningen av lungmetastaser som i 4T1-bärande möss uppnåddes av RT+CTLA4i. Deras resultat tyder på att terapeutisk CD40-agonism öka effektiviteten av RT+CTLA4i hos etablerade tumörer som domineras av ett immunsuppressivt myeloidinfiltrat.

Effekten av strålning med CTLA4i på den funktionella differentieringen av intratumorala T-celler i ett aggressivt och immunoterapi-refraktärt muskarcinom visar att endast när de används tillsammans leder till uppkomsten av CD8-

funktionella undergrupper som är associerade med ökad överlevnad hos patienter, åtföljd av en minskning av CD4-regulatoriska T-celler (Rudqvist et al., 2023).

3.2 Prekliniska försök med anti PD1

Schaue, och medarbetare studerade år 2012 hur tumörimmunitet kunde maximeras med fraktionerad strålbehandling i kombination med antikroppar mot PD1 (Schaue et al., 2012).

För att utvärdera den abskopala effekten, behandlades C57BL/6 hPD-1 knock-in möss som bar två syngena kontralaterala MC38 murina koloncancer tumörer.

Vid kombination med anti-PD-1 valdes strålbehandling med tre fraktioner á 8 Gy under konsekutiva dagar. Anti-PD1 administration förbättrade både lokal och systemisk antitumör-immunitet av cytotoxiska T-celler (CTL). Under kombinations behandlingen uppvisade mjälten minskad nivå av myeloid-härledda suppressor-celler (MDSC).

Vidare avslöjade RNA-sekvensering signifikant ökad nivå av tumör-nekrosfaktor (TNF)-receptorer och cytokiner associerade med lymfocyt-infiltrering i tumörerna hos den kombinerade gruppen.

Resultaten visar att hypofraktionerad strålbehandling med 8 Gy i 3 fraktioner var den optimala fraktionerade dosen för att maximera immuneffekten, och kombinationen med anti-PD-1 visade lovande resultat för att öka abskopal-effekten.

Underliggande mekanismer tycks inkludera både aktivering av T-celler och reduktion av Myeloid-härledda suppressorceller (MDSC), vilket uppnås genom verkan av Tumörnekrosfaktor (TNF) och relaterade cytokiner (Schaue et al., 2012).

Teng, och medarbetare bekräftade år 2023 den optimala effekten av 8 Gy fraktionering av strålbehandling i kombination med PD1-blockad (Teng et al., 2023).

Deras studie syftade till att undersöka fraktionerad strålbehandling för att maximera immuniteten under kombinationsterapi. För att utvärdera den abskopala effekten, behandlades C57BL/6hPD-1 knock-in möss, som hade två syngena kontralaterala MC38 murina koloncancertumörer, med följande fyra olika strålbehandlingsregimer:

1. En engångsdos á 20 Gy ($20 \text{ Gy} \times 1 \text{ fraktion}$),
2. 3 fraktioner á 8 Gy ($8 \text{ Gy} \times 3 \text{ fraktioner med en fraktion per dag}$),
3. 15 fraktioner á 2 Gy ($2 \text{ Gy} \times 15 \text{ fraktioner}$), 30 Gy totalt
4. En enstaka fraktion av 8 Gy följt av 10 fraktioner á 2 Gy under på varandra följande dagar ($8 \text{ Gy} + 2 \text{ Gy} \times 10$), 28 Gy totalt.

Grupp 2 med tre fraktioner á 8 Gy visade sig vara den optimala fraktioneringen vid kombination med anti-PD-1 för att maximera immuniteten. Anti-PD-1-administration förstärkte både lokal och systemisk antitumörimmunitet på ett cytotoxiskt T-cells beroende sätt. Dessutom uppvisade mjälten minskad nivå av myeloid-härledda suppressorceller (MDSC) under kombinationsbehandling. Vidare avslöjade RNA-sekvensering signifikant ökade tumörnekrosfaktor (TNF)-receptorer och cytokiner associerade med lymfocytinfiltration i den kombinerade gruppen.

Undersökningen bekräftar att hypofraktionering med 8 Gy i 3 fraktioner var mest optimalt för att maximera immuniteten vid kombination med anti-PD-1.

Resultaten visade ökning av den abskopala effekten. Underliggande mekanismer kan inkludera aktivering av T-celler och reduktion av MDSC, vilket uppnås genom verkan av TNF och relaterade cytokiner. Deras studie indikerar att en kombination av immunoterapi med hypofraktionerad strålbehandling skulle kunna utvecklas till en klinisk metod för att övervinna nuvarande begränsningar med tumör-immunsuppression vid enbart immunoterapi.

Deras studier bekräftar hypotesen om att reduktion av MDSC, är en viktig del i processen att övervinna tumörimmunsuppressionen som reducerar effekten av immunoterapi (Graf et al., 2005, Persson et al., 2010, Ceberg and Persson, 2013).

Den moderata totala stråldosen vid ultrahyperfraktionering möjliggör även kombinerad immunoterapi behandling av tumörer i strålningskänsliga organ typ koloncancer. Det öppnar även för möjlig reduktion av immunoterapidosen av kontrollpunktsinhibitorer för att reducera graden av allvarliga biverkningar.

3.3 Dendritiska celler och immunoterapi

Även om immunkontrollpunktshämmare har etablerats som en nytt paradigm inom cancerbehandling dock inte mot immunexkluderade tumörer. Dendritiska cellvaccination berikar tumörmiljön och potentierar patientens systemiska antitumorala svar. Hittills har dendritiska cellvacciner (DCV) inducerat

immunsvar hos patienter dock utan någon betydande inverkan på behandlingsresultatet.

Hata och medarbetare granskade dendritiskt cellvaccin's roll i olika solida tumörer med dess styrkor och svagheter, i försök att förbättra effektiviteten av denna immunstrategi (Hato et al., 2024).

Nagai och medarbetare presenterade år 2024 resultaten av en kombination av strålbehandling, med dendritisk cellvaccinterapi för tunntarmscancer i slutstadiet (Nagai et al., 2024).

De utförde intensitetsmodulerad strålbehandling med 8 Gy för smärtlindring hos en 40-årig manlig patient med tunntarmscancer i slutstadiet som hade diagnostiserats med en förväntad livslängd på två månader efter att kemoterapi hade varit ineffektiv. Efterföljande administrering med sju doser av dendritiskt cellvaccin som känner igen Wilmstumör-1 (WT1) och α -galaktosyl-ceramid-antigener, resulterade i signifikant reduktion av tumören och markant förbättring av patientens allmäntillstånd.

Kombinationsterapi av strålbehandling med 8 Gy och dendritiska cellvaccinterapi kan undertrycka cancerprogression och förlänga överlevnaden, även hos patienter med kemoterapiresistenta terminal cancer. Speciellt kan terapi med dubbeldendritisk cellvaccin med WT1 och α -galaktosylceramid pulsade dendritiska celler ge en antitumörimmuneffekt som är överlägsen den för respektive monoterapi (Nagai et al., 2024).

3.4 CAR T-cellsbaserad immunoterapi

Hovhannisyan, och medarbetare diskuterade 2023 potentiella möjligheter med CAR T-cellsbaserad immunoterapi och strålbehandling av solida tumörer (Hovhannisyan et al., 2023).

CAR T-cellsbaserade terapier har revolutionerat behandlingen av hematologiska maligniteter som leukemi och lymfom under de senaste åren. I motsats till framgången inom hematologiska cancerformer är behandlingen av solida tumörer med CAR T-celler fortfarande inte särskilt framgångsrik. Kombinationer av strålning med immunkontrollpunktshämmare har som redovisats ovan visat sig framgångsrik. Därför borde en kombination av strålbehandling även ha potentialen att övervinna begränsningarna av CAR T-

cellterapi i solida tumörenheter. Dock har hittills forskning inom området med CAR T-celler och strålning varit sparsam (Hovhannisyan et al., 2023).

Danish, och medarbetare rapporterade år 2024 resultaten från en studie av icke-Hodgkin-lymfompatienter som efter CAR T-cellsterapi fick överbryggande strålbehandling (Danish et al., 2024).

Cirka 47 % (38/81) av patienterna som klassificerades med hög risk för återfall efter CART omfattas normalt av en standardbehandling. Dessa patienter kvalificerade för överbryggande strålterapi med 1,80 Gy i 23 fraktioner vid en total dos av 41.4 Gy. Överbryggande strålterapi gav inga signifikant skillnad jämfört med standardbehandling men kan ha spelat en roll för att förbättra responsen eller tillhandahålla lokoregional kontroll av sjukdom i denna miljö (Danish et al., 2024).

Några studier med CAR-T och ultrahyperfraktionering med optimal stråldos och fraktionering (8 Gy per fraktion i en till tre fraktioner) tycks för närvarande inte vara aktuella.

3.5 Referenser

- Bullock, T. N. J. 2022. "CD40 stimulation as a molecular adjuvant for cancer vaccines and other immunotherapies." *Cellular & Molecular Immunology* 19 (1):14-22. doi: 10.1038/s41423-021-00734-4.
- Ceberg, C. & Persson, B. R. R. 2013. "Co-operative radio-immune-stimulating cancer therapy." *Trends in Cancer Research* 9:87 - 108.
- Danish, A., Della Pia, A., Fogel, L., Alkhatatneh, H., Zhao, C., Varughese, T., Al Feghali, K. A., Pascual, L., Sinclair, B., Marafelias, M., Zenreich, J., Kuo, Y.-H., Feldman, T. A., Zhang, Y., Goy, A. H., Ip, A. & Rowley, S. D. 2024. "Prevalence of non-Hodgkin lymphoma patients at high-risk of failure after CAR T-cell therapy eligible for bridging radiation therapy." *Frontiers in Oncology* 14:1425506. doi: 10.3389/fonc.2024.1425506.
- Demaria, S., Kawashima, N., Yang, A. M., Devitt, M. L., Babb, J. S., Allison, J. P. & Formenti, S. C. 2005. "Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 Blockade in a Mouse Model of Breast Cancer". *Clin Cancer Res.* 2005 Jan 15;11(2 Pt 1):728-34. (- 1078-0432 (Print)):- 728-34.
- Dewan, M. Z., Galloway, A. E., Kawashima, N., Demaria, S., Babb, J. S., Dewyngaert, J. K. & Formenti, S. C. 2009. "Fractionated but not single-dose radiotherapy induces an immune-mediated abscopal effect when combined with anti-CTLA-4 antibody." *Clinical Cancer Research* 15 (17):5379-5388-5388. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0265.

- Graf, M. R., Sauer, J. T. & Merchant, R. E. 2005. "Tumor infiltration by myeloid suppressor cells in response to T cell activation in rat gliomas." *Journal of Neuro-Oncology* 73 (1):29-36. doi: 10.1007/s11060-004-3347-x.
- Hato, L., Vizcay, A., Eguren, I., Pérez-Gracia, J. L., Rodríguez, J., Gállego Pérez-Larraya, J., Sarobe, P., Inogés, S., Díaz de Cerio, A. L. & Santisteban, M. 2024. "Dendritic Cells in Cancer Immunology and Immunotherapy." *Cancers* 16 (5):981. doi: 10.3390/cancers16050981.
- Hovhannisyanyan, L., Riether, C., Aebbersold, D. M., Medová, M. & Zimmer, Y. 2023. "CAR T cell-based immunotherapy and radiation therapy: potential, promises and risks." *Molecular Cancer* 22 (1). doi: 10.1186/s12943-023-01775-1.
- Nagai, H., Chen, H., Karube, R., Koitabashi, Y., Numata, O. & Yamahara, K. 2024. "Combination of Radiation Therapy, Wilm's Tumor 1 (WT1) Dendritic Cell Vaccine Therapy, and α -Galactosylceramide-Pulsed Dendritic Cell Vaccine Therapy for End-Stage Small Bowel Cancer." *Cureus* 16 (7):e64972. doi: 10.7759/cureus.64972.
- Persson, B. R. R., Bauréus-Koch, C., Grafström, G., Ceberg, C., af Rosenschöld, P. M., Nittby, H., Widegren, B. & Salford, L. G. 2010. "Radiation Immunomodulatory Gene Tumor Therapy of Rats with Intracerebral Glioma Tumors." *Radiation Research* 173 (4):433-440. doi: 10.1667/rr1733.1.
- Rudqvist, N.-P., Charpentier, M., Lhuillier, C., Wennerberg, E., Spada, S., Sheridan, C., Zhou, X. K., Zhang, T., Formenti, S. C., Sims, J. S., Alonso, A. & Demaria, S. 2023. "Immunotherapy targeting different immune compartments in combination with radiation therapy induces regression of resistant tumors." *Nature Communications* 14 (1). doi: 10.1038/s41467-023-40844-3.
- Schaue, D., Ratikan, J. A., Iwamoto, K. S. & McBride, W. H. 2012. "Maximizing Tumor Immunity With Fractionated Radiation." *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 83 (4):1306-1310. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.09.049.
- Teng, F., Yin, T., Ju, X., Wang, P., Wang, Y. & Yu, J. 2023. "Optimum fractionation of radiation to combine PD-1 blockade." *MedComm* 4 (3):1-10. doi: 10.1002/mco2.271.

Kapitel IV

Kliniska försök med kombinerad Immuno-Strål-Terapi

4.1 Immunoterapi och Konventionell strålbehandling

Lee, och medarbetare undersökte år 2021 om en kombination av läkemedlet *Avelumab* (anti-PD-L1) med konventionell kemo-radioterapi kunde förbättra behandlingsresultaten (Lee et al., 2021).

Kemo-radioterapi är standarden för icke-kirurgisk behandling av lokalt avancerad skivepitelcancer i huvud och hals regionen. I en randomiserad, dubbel-blind, placebokontrollerad fas3-studie rekryterades patienter från 196 sjukhus och cancerbehandlingscenter i 22 länder.

I *Avelumab*-gruppen administrerades patienterna varannan vecka med 10 mg/kg *Avelumab* intravenöst i kombination med kemo-radioterapi enligt:

- Immunoterapi *Avelumab* intravenöst 10mg/kg varannan vecka
- Kemoterapi (100 mg/m² *Cisplatin*) var tredje vecka och
- Intensitetsmodulerad strålbehandling med standardfraktionering
å 2Gy under 7 veckor med 35 fraktioner till totalt 70 Gy.

Som jämförelsegrupp användes placebo immunoläkemedel i kombination med samma kemoradioterapi behandling.

Behandlingen föregicks av en 7 dagars inledande läkemedelsdos på 10 mg/kg *Avelumab* eller placebo. Efter avslutad strålbehandling gavs 10 mg/kg *Avelumab* eller placebo varannan vecka som underhållsbehandling i upp till 12 månader.

Det primära målet med behandlingen var progressionsfri överlevnad genom utredares bedömning:

Medianuppföljning för progressionsfri överlevnad resulterade i

- 14,6 månader (8,5–19,6) i *Avelumab*-gruppen och
- 14,8 månader (11,6–18,8) i placebogruppen.

“ Median progressionsfri överlevnad uppnåddes inte ($p>0,05$)

- 16,9 månader i Avelumabgruppen
- 23,0 månader i placebogruppern

Allvarliga behandlingsrelaterade biverkningar inträffade hos

- 124 (36 %) patienter i *Avelumab*-gruppen och hos
- 109 (32 %) patienter i placebogruppern.

Behandlingsrelaterade dödsfall inträffade med

- två (1 %) patienter i *Avelumab*-gruppen (på grund av allmänna störningar och vaskulär ruptur) och
- en (<1%) i placebogruppern (på grund av akut andningssvikt).

Sammanfattningsvis uppfylldes inte det primära målet att förlänga progressionsfri överlevnad hos patienter med lokalt avancerad skivepitelcancer i huvud och nacke med immunoterapi plus standard kemo-radioterapi följt av *Avelumab* underhåll (Lee et al., 2021).

Tao, och medarbetare rapporterade år 2023 resultaten av konventionell strålbehandling kombinerad med *Pembrolizumab*(PD1-hämmare) eller med *Cetuximab* (hämmar bindningen av epidermal tillväxtfaktor *EGF*) i en randomiserad fasII-studie av patienter med lokalt avancerad skivepitelcancer i huvud och nacke olämplig för behandling med *Cisplatin* kemoterapi (Tao et al., 2023).

Standardbehandlingen av patienter med lokalt avancerad skivepitelcancer i huvud och hals (LA-SCCHN) är strålterapi med 2Gy en gång dagligen upp till 70Gy i kombination med *Cetuximab*. I studien behandlades även en grupp med 200 mg *Pembrolizumab* i kombination med samma strålterapiregim. Någon placebo Immuno-läkemedels grupp ingick inte i studien.

Det primära effektmåttet var uppkomst av locoregional tumör 15 månader efter avslutad strålterapi. Studien visade ingen signifikant skillnad för progressionsfri eller total överlevnad mellan *Cetuximab* och *Pembrolizumab* grupperna. Toxiciteten hos patienter med minst en grad 3 biverkning typ mukosit, radiodermatit eller hudutslag var i *Pembrolizumab*+RT-gruppen 74 % , jämfört med 92 % i *Cetuximab*+RT-gruppen (Tao et al., 2023).

Danish, och medarbetare rapporterade år 2024 resultaten från en studie av icke-Hodgkin-lymfompatienter som efter CAR T-cellsterapi fick överbryggande strålbehandling (Danish et al., 2024).

Cirka 47 % (38/81) av patienterna klassificerades med hög risk för återfall efter CART och omfattas normalt av en standardbehandling. Dessa patienter kvalificerade för överbryggande strålterapi med 1,80 Gy i 23 fraktioner till en total dos av 41,4 Gy. Överbryggande strålterapi gav inga signifikant skillnad jämfört med standardbehandling men kan ha spelat en roll för att förbättra responsen eller tillhandahålla lokoregional kontroll av sjukdom i denna miljö (Danish et al., 2024).

Ovannämnda studier som utfördes med konventionellt fraktionerad strålbehandling á 2Gy, indikerar att då denna kombineras immunoterapi uppnås inte något signifikant förbättrat behandlings resultat.

Den fraktionerade strålterapien initierar visserligen inledningsvis en viss radiovaccinationseffekt genom frigörelse av tumöranitgen som bidrar till produktion av aktiva CD8-T-celler. Påföljande fraktioner dödar emellertid de infiltrerande T-cellerna successivt även vid extra immunstimulering.

En annan anledning till att konventionell fraktionerad strålbehandling misslyckas med att visa en överlevnadsfördel i kombination med immunoterapi kan bero på bestrålningen av de tumörränerande lymfkörtlarna (TDLN), vilket ofta är standard vid radikal strålbehandling av huvud hals tumörer (HNSCC). De tumörränerande lymfkörtlarna TDLN är den centrala stationen för aktivering av cytotoxiska T-celler av tumör-antigen primade dendritiska celler som kommer från den initialt bestrålade tumören genom lymfan. Dessa dödas emellertid av den dagligen upprepade bestrålningen av TDLN varvid radiovaccinationseffekten av T-cellerna blockeras (Koukourakis and Giatromanolaki, 2022).

Koukourakis, och Giatromanolaki visade år 2022 på betydelsen av tumörränerande lymfkörtlarnas immunsvaret vid strålbehandling (Koukourakis and Giatromanolaki, 2022).

De tumörränerande lymfkörtlarna (TDLN) är de primära platserna för utvecklingen av anti-tumörimmunitet. Primär tumörbestrålning ökar frisättningen av tumörantigener och aktiverar interferon typ I-vägen. Intratumorala dendritiska celler (DC) som aktiverats med tumörantigen, vandrar mot TDLN där de adaptiva antitumörimmunsvaren utvecklas. Dendritcellerna DC kommer där att presentera

tumörrelaterade anti-gen för att aktivera produktionen av CD4+ och CD8+T-celler CTL (Se Figur 2-3 Strålnings effekter på tumörens mikromiljö).

Deras experimentella resultat tyder på att tumör clearance efter bestrålning är starkt beroende av ackumuleringen av sådana cytotoxiska T-celler i tumörerna.

Under konventionell strålbehandling exponeras TDLN varvid den kritiska populationen av immunceller som finns i TDLN reduceras successivt vilket blockerar immunsvaret och äventyrar effektiviteten av immunstimulerande kombinationer.

Eftersom TDLN är väsentliga för att inkommande dendritiska celler som tidigare aktiverats i tumörmiljön skall producera aktiva CTLceller bör följande beaktas:

- TDLN-bestrålning eller avlägsnandet av noder bör undvikas om immunologin under eller efter strålbehandling, skall kunna ha terapeutisk betydelse.
- TDLN representerar den huvudsakliga platsen för att bilda och producera tumörspecifika cytotoxiska immunceller CTL som påverkar resultaten av både den lokala strålbehandlingen och manifestationen av abскопala effekter.

Den biologiska och kliniska rollen för TDLN utgör således en kritisk faktor att beakta vid utformningen av kliniska kombinations försök med immunoterapi och strålbehandling som syftar till att eliminera cancerceller på lokal och systemisk nivå (Koukourakis and Giatromanolaki, 2022).

En anledning till att konventionell fraktionerad strålbehandling misslyckas med att visa en överlevnadsfördel i kombination med immunoterapi kan bero på bestrålningen av de tumördränerande lymfkörtlarna (TDLN) (Lee et al., 2021).

4.2 Hypo-fraktionerad strålbehandling

Prostatacancer

Hickey och medarbetare rapporterade 2019 resultaten från sökningar av studier rörande kontrollerade jämförelser som inkluderade män med kliniskt lokaliserat prostata-adenokarcinom där extern strålbehandling till prostata med Hypo-Fraktionerad (större än 2 Gy per fraktion) jämfördes med konventionell fraktionerad strålbehandling till prostata som levereras med standardfraktionering (1,8 Gy till 2 Gy per fraktion) (Hickey et al., 2019).

De inkluderade 10 studier med 8278 män i sin analys som jämförde hypofraktionering med konventionell fraktionering för att behandla prostatacancer.

För män i mellanriskgruppen som genomgår konventionell fraktionering noteras 97,6 % överlevnad efter 6 år. Hypofraktionering resulterar inte i någon signifikant skillnad i

- prostatacancerspecifik ($HR \approx 1,00 \pm 0,3$),
- metastasfri ($HR \approx 1,07 \pm 0,4$) eller
- i total överlevnad ($HR \approx 0,94 \pm 0,1$).

Hypofraktionering resulterar sannolikt i liten eller ingen skillnad i sena gastro-unnrinitära (GU) strålterapi toxicitetshändelser och sen strålterapi toxicitet jämfört med konventionell fraktionering ($RR \approx 1,05 \pm 0,1$).

Hypofraktionering resulterar sannolikt i en liten, möjligen med en obetydlig minskning av biokemisk återfallsfri överlevnad baserat på Phoenix-kriterier ($HR \approx 0,88 \pm 0,2$).

Hypofraktionering leder sannolikt till liten eller ingen skillnad jämfört med akut GU-strålterapi toxicitet ($RR \approx 1,03 \pm 0,1$).

Sammanfattningsvis tyder deras fynd på att måttlig hypofraktionering (upp till en fraktionsstorlek på 3,4 Gy) resulterar i liknande onkologiska resultat när det gäller sjukdomsspecifika symptom, metastasering och total överlevnad. Det verkar också vara liten eller ingen ökning av både akut och sen toxicitet (Hickey et al., 2019).

Widmark och medarbetare rapporterade år 2019 fem-åriga resultat av Ultra-hypofraktionerad kontra konventionellt fraktionerad strålbehandling för prostatacancer (Widmark et al., 2019).

Hypofraktionerad strålbehandling för prostatacancer har fått ökad uppmärksamhet på grund rapporter från studier som jämför måttligt hypofraktionerad och konventionell fraktionerad strålbehandling stöder klinisk användning av måttlig hypofraktionering.

Widmark och medarbetare initierade studier som jämförde ultrahypofraktionerad strålbehandling med konventionellt fraktionerad strålbehandling. Deras rapport redovisar resultaten av den skandinaviska HYPO-RT-PC fas 3-studien med syftet att visa effekten av ultrahypofraktionering kontra konventionell fraktionering. Denna öppna, randomiserade, fas 3-studie utfördes vid 12 centra i Sverige och Danmark. Det rekryterades män upp till 75 år med medelhög till högrisk prostatacancer och WHO prestationsstatus mellan 0 och 2. Patienterna grupperades slumpmässigt enligt:

- ultrahypofraktionering (42,7 Gy i sju fraktioner á 6 Gy, 3 dagar per vecka i 2,5 veckor) eller
- konventionell fraktionerad strålbehandling (78,0 Gy i 39 fraktioner á 2Gy, 5 dagar per vecka i 8 veckor).

Ingen androgendeprivationsterapi var tillåten. Det primära effektmåttet var tiden till biokemiskt eller kliniskt recidiv, analyserad i populationen per protokoll.

Läkarregistrerad toxicitet mättes enligt Morbiditetsskalan enligt *Radiotherapy Oncology Group* (RTOG) och patientrapporterade utfallsmätningar med enkäten *Prostate Cancer Symptom Scale* (PCSS). Denna testversion är registrerad hos ISRCTN-registret, nummer ISRCTN45905321.

Mellan 1 juli 2005 och 4 november 2015 slumpades 1200 patienter till konventionell fraktionering (n=602) eller ultrahypofraktionering (n=598), av vilka 1180 (591 konventionell fraktionering och 589 ultrahypofraktionering) utgjorde populationen per protokoll. 1054 (89 %) deltagare hade medelrisk och 126 (11 %) hade hög risk. Medianuppföljningstiden var 5 år. Den uppskattade felfria överlevnaden efter 5 år var 84 % (95 % CI=80-87) i båda behandlingsgrupperna, med en justerad HR på 1,002 (95 % CI 0,758-1,325; log-rank p= 0,99).

Det fanns svaga indikationer för en ökad frekvens av akut läkare-rapporterad RTOG grad 2 eller värre urinårtoxicitet i gruppen med ultrahypofraktionering vid slutet av strålbehandlingen (158 [28 %] av 569 patienter mot 132 [23 %] av 578 patienter; p =0,057). Det fanns inga signifikanta skillnader i grad 2 eller sämre urin- eller tarmtxotoxicitet mellan de två behandlingsgrupperna vid någon tidpunkt efter strålbehandling. Dock noterades en ökning av urintoxicitet i ultrahypofraktioneringsgruppen jämfört med den konventionella fraktioneringsgruppen vid

1-års uppföljning (32 [6%] av 528 patienter mot 13 [2%] av 529 patienter; ($p=0.0037$).

De observerade inga skillnader mellan grupper i frekvens vid 5 år av RTOG grad 2 eller värre urinärtoxicitet (11 [5 %] av 243 patienter för ultrahypofraktioneringsgruppen mot 12 [5 %] av 249 för den konventionella fraktioneringsgruppen och tarmtoxicitet (tre [1 %] av 244 patienter mot nio [4 %;] av 249 patienter. Patientrapporterade resultat avslöjade signifikant högre nivåer av akuta urin- och tarmsymtom i gruppen med ultrahypofraktionering, men inga signifikanta öknings av sena symtom hittades, förutom för ökade urinvägssymtom vid 1-årsuppföljning, i överensstämmelse med läkarens utvärderade toxicitet.

Sammanfattningsvis är Ultrahypofraktionerad strålbehandling varken bättre eller sämre än konventionell fraktionerad strålbehandling för prostatacancer med medelhög till hög risk vad gäller felfri överlevnad.

Tidiga biverkningar är mer uttalade med ultrahypofraktionering jämfört med konventionell fraktionering medan sen toxicitet är likartad i båda behandlingsgrupperna.

Resultaten stödjer strålbehandling med ultrahypofraktionering för behandling av prostatacancer (Widmark et al., 2019).

Wieslander och medarbetare presenterade år 2024 en behandlings planerings studie baserad på Ultrahypofraktionerad Strålbehandling för Prostatacancer (Wieslander et al., 2024).

Ultrahypo-fraktionerad strålbehandling betraktas numera som ett vanligt behandlingsalternativ för patienter med lokaliserad prostatacancer.

Vid behandling av patienter med högt Gleason-poäng, det vill säga högt PSA/T3-ratio, inkluderas seminalblåsor (SV) rutinmässigt i målvolymen. Det primära syftet med deras arbete var därför att utvärdera genomförbarheten av att implementera behandling med ultrahypo-fraktionerad integrerad boost (UHF-SIB) för prostatacancer RT, inklusive seminalblåsor SVs. Behandlingen baserades på resultaten från den Scandinaviska HYPO-RT-PC-fas-3 prostatacancer studien med fraktionerings schemat: 7 fraktioner á 6 Gy över 2,5 veckor (Widmark et al., 2019).

Ett sekundärt mål var att analysera den oavsiktliga dostäckningen av seminalblåsor SVs vid volymetrisk modulerad bågterapi (VMAT) behandlingar av prostatakörteln endast i kliniska target volymen.

Det visade sig att Ultrahypo-fraktionerad strålbehandling UHF-RT baserat på HYPO-RT-PC-fraktioneringsschemat med en simultan integrerad boost SIB-teknik till prostata och seminalblåsor SVs kan planeras med generellt lägre doser (EQD2) till OARs, jämfört med konventionellt fraktionerad á 2Gy strålterapi baserat på en sekventiell boost teknik.

Den oavsiktliga dosen till de proximala delarna av seminalblåsor vid VMAT-behandling av endast prostata kan dock vara betydande och bör beaktas vid utformning av ultrahypofraktionerad simultan integrerad boost SIB behandlingsscheman (Wieslander et al., 2024).

Bröstcancer

Park och medarbetare presenterade år 2024 en systematisk översikt och meta-analys av postoperativa komplikationer med hypofraktionerad (HF) alternativt konventionell fraktionerad strålbehandling (CF) hos patienter med implantatbaserad bröstrekonstruktion (Park et al., 2024).

Strålbehandling efter mastektomi är en viktig komponent i adjuvant terapi för högriskpatienter. Strålning till rekonstruerade bröst kan dock orsaka olika komplikationer. Nyligen har hypofraktionerade (HF) behandlings protokoll börjat användas i flera länder.

Sju artiklar med 924 implantat rekonstruktioner, där 506 (54,8 %) genomgick HF inkluderades i studien. HF-patienter fick totalt 43,8 Gy i genomsnitt, medan CF-patienter fick 51,2 Gy. Genomsnittlig uppföljning varierade från 10,6 till 35 månader. Sju studier ingick i meta-analysen.

HF-grupper hade jämfört med CF-grupper en signifikant lägre risk (OR) för:

- kapselkontraktur (OR $\approx$ 0,25; 95 % KI 0,11-0,55),
- större revisionskirurgi (OR $\approx$ 0,19; 95 % KI 0,05-0,80) och
- sårupplösning (OR $\approx$ 0,24; 95 % KI 0,07- 0,707).

Riskerna för andra komplikationer var inte statistiskt signifikanta.

Deras studie indikerar att HF-protokoll är associerade med färre komplikationer än CF-protokoll hos implantat rekonstruerade patienter vilket ger stöd för användningen av hypofraktionering vid strålbehandling av implantatrekonstruerade patienter med bröstcancer (Park et al., 2024).

Rektala Adenokarcinom

Koukourakis, och medarbetare presenterade år 2024 resultaten av IFN-Typ-I-svar och systemisk immunitet hos patienter med rektala adenokarcinom efter

behandling med konventionellt fraktionerad CFRT alternativt hypofraktionerad HFRT strålbehandling (Koukourakis et al., 2024).

Patienter med Avancerade rektala adenokarcinom behandlades med hypofraktionerad HFRT:5×5Gy på 5 dagar alternativt med konventionellt fraktionerad CFRT:28×1.8Gy strålterapi. Denna modell används i studien för att jämföra de immunstimulerande egenskaperna hos strålterapi på en systemisk nivå.

De analyserade prospektivt IFN β -plasmanivåer och lymfocytantal (LCs) hos rektala adenokarcinompatienter före och efter behandling med hypofraktionerad strålbehandling HFRT:5×5Gy (n = 22) respektive konventionell strålterapi CFRT:28×1.8Gy (n = 40). Flödescytometri utfördes för att bedöma effekterna på lymfocytiska subpopulationer i en undergrupp av 20 patienter.

En statistiskt signifikant ökning av interferon- β (IFN β) plasma nivåer noterades post-RT hos patienter som genomgick HFRT:5×5Gy (p = 0,004) associerad med förbättrad patologisk tumör regression (p = 0,003) jämfört med CFRT:28×1.8Gy.

Även om alla patienter upplevde betydande lymfopeni efter behandling, var lymfocytantal-värdet LC för patienter som behandlades med HFRT:5×5Gy signifikant (p = 0,001) högre jämfört med CFRT:28×1.8Gy.

Patienter som genomgick hypofraktionerad HFRT:5×5Gy visade signifikant (p = 0,02) lägre procentandelar av regulatoriska CD4+/CD25+ T-celler.

Resultaten visar att hypofraktionerad HFRT:5×5Gy strålterapi möjliggör effektivare strål-stimulering av IFN-typ-I-vägen på systemisk nivå och ger minskad lymfocytisk cytotoxicitet och lägre nivå av immunosuppressiva regulatoriska T-celler jämfört med CFRT:28×1.8Gy (Koukourakis et al., 2024).

Även om det inte finns några tydliga bevis angående överlägsenheten hos någondera fraktionerings-schemat för strål-behandling av lokalt avancerade rektalkarcinom indikerar de presenterade resultaten att hypofraktionerad strålbehandling HFRT:5×5Gy ger mer potenta anti-tumör immunsvaret genom IFN-typ-I-vägen jämfört med standardfraktionering (CFRT). Dessutom orsakar hypofraktionerad HFRT:5×5Gy lägre lymfotoxicitet och begränsar även de immunosuppressiva effekterna av regulatoriska T-celler och MDSC.

Hypofraktionering innebär färre men högre doser av strålning per daglig behandlingssession över en kortare tidsram. Då behandlingsresultaten med konventionell strålbehandling vid prostata- och bröstcancer är jämförbara skulle

strålbehandling med hypofraktionering kunna frigöra befintliga resurser för behandling av ytterligare cancer patienter. Detta enligt en Lancet Onkologi Kommission ledd av Internationella atomenergiorganet (IAEA).

(<https://www.thelancet.com/commissions/radiotherapy-theranostics>)

4.3 Immunoterapi och Hypofraktionerad strålterapi

Ahmed, och medarbetare presenterade år 2013 en översikt över strålnings inducerade moduleringar av immunsystemet som skulle kunna utnyttjas för klinisk cancerterapi (Ahmed et al., 2013).

Den konventionella 2 Gy-fraktionerade strålterapi för lokal tumörkontroll med höga stråldoser (60-80 Gy) i primärtumören skapar i allmänhet ingen immunstimulerande miljö som skulle kunna behandla systemisk sjukdom.

Däremot borde strålningsinducerad tumördestruktion med Hypo-Fraktionerad strålterapi med 1-3 fraktioner á 8 Gy med en fraktion varje vecka vara en strategi där tumör-antigen frisatta från döende tumörceller under en tid kan presenteras i en mer immunstimulerande miljö. Hypofraktionerad strålbehandling reducerar nämligen vanligtvis immunosuppressionen i tumörens mikromiljö. Med hypo-fraktionerad strålterapi induceras också immunogen modulering i olika tumörtyper som förändrar biologin och miljön för överlevande tumörceller vilket gör dem mer mottagliga för T-cellsmedierad immunogen celledöd.

Dessa egenskaper hos hypofraktionerad strålbehandling borde fungera i kombinatoriska immunoterapier som syftar till att förstärka systemisk antitumörimmunitet (Ahmed et al., 2013).

Initiala prekliniska studier av kombination av hypofraktionerad strålterapi med immunoterapi genomfördes initialt mestadels med tumörvaccin (Graf et al., 1999, Lunnitzky et al., 2002, Persson et al., 2003, Persson et al., 2010, Persson, 2011, Ceberg and Persson, 2013).

Kliniska studier av effekten att kombinera hypofraktionerad strålterapi med immunoterapi genomförs numera mestadels med läkemedel baserade på antikroppar som blockerar CTLA-4 och PD1/PD-L1 receptorer som tidigare beskrivits.

För att framgångsrikt utnyttja fördelar med att kombinera med immunoterapi krävs emellertid modifieringar av standard strålbehandlingsregimer för att

förbättra antitumörimmunsvar till stöd för meningsfulla kliniska fördelar (Galluzzi et al., 2023, Demaria et al., 2021, Demaria et al., 2005).

Intermittent hypofraktionerad strålterapi med en fraktion per vecka i kombination med immunoterapi testades nyligen framgångsrikt på patienter med återkommande tumörer efter genomgången konventionell terapi (Koukourakis et al., 2023a, Filippatos et al., 2023).

Bröstcancer

Koukourakis, rapporterade år 2023 om nya koncept inom behandling av bröstcancer såsom anti-tumörimmunitet och preoperativ radiovaccination (Koukourakis et al., 2023b).

Neoadjuvant kemoterapi (NACT) för vissa subtyper av bröstcancer (BC) ger betydande tumörregression och en överlevnadsfördel för patienter med ett fullständigt patologiskt svar.

Kliniska och prekliniska studier har emellertid visat att immunrelaterade faktorer skulle kunna ge ännu bättre behandlingsresultat, och därför har neoadjuvant immunoterapi dykt upp som ett sätt att ytterligare förbättra patientöverlevnaden.

Moderna stereotaktiska bestrålningstekniker riktade mot den primära tumören och involverade lymfkörtlar skulle kunna kombineras med kemoterapi och eller immunoterapi. I deras översikt diskuteras den grundläggande biologin, den kliniska erfarenheten och pågående forskning som ligger till grund för samspelet mellan neoadjuvant kemoterapi, antitumörimmunsvar och den framväxande rollen av strålbehandling som ett preoperativt komplement med immunologiska terapeutiska implikationer för bröst cancer (Koukourakis et al., 2023b).

Enstaka fraktioner av strålbehandling (RT) har visat sig ha ett betydande samspel med immunsystemet och främja antitumörimmunitet (Demaria et al., 2005, Formenti and Demaria, 2009). Denna "radiovaccinations"-effekt skulle kunna utnyttjas i den neoadjuvanta miljön av bröst cancer och avsevärt förstärka effekterna av redan etablerad klinisk praxis.

Huvud- och Hals-cancer

Koukourakis och medarbetare presenterade 2023 en klinisk studie av patienter med lokoregionalt recidiv av huvud- och halscancer, som behandlades

med anti-PD-1 immunoterapi och ultrahypofraktionerad strålbehandling (Koukourakis et al., 2023a).

Studien omfattade 17 patienter som efter konventionell strålbehandling och kemoterapi hade återkommande inoperabel skivepitelcancer i huvud-hals (HNSCC), samt en patient med melanom. De utvärderade effektiviteten och toleransen av ultrahypofraktionerad immunoradioterapi (uhypo-IRT).

7 patienter fick 1 fraktion av 8 Gy till tumören.

7 patienter fick 2 fraktioner á 8 Gy till tumören med en per vecka.

4 patienter fick 3 fraktioner á 8 Gy till tumören med en per vecka.

Nivolumab anti-PD1-immunoterapi administrerades samtidigt med strålterapi och därefter i max 24 omgångar, tills tumörprogression eller manifestation av immunrelaterade biverkningar (irAEs) tillstötte.

Med hänsyn till tillgängliga prekliniska experimentella data (Koukourakis et al., 2023d) föreslogs att 3 strålterapifraktioner á 8 Gy med en fraktion per vecka är optimalt för att inducera interferon typ I-svaret och förbättra effektiviteten av immunoterapi, även om endast en fraktion har påtaglig effekt.

I den aktuella studien testades ovanstående hypotes i en grupp av huvud- och halscancerpatienter med återkommande inoperabel sjukdom efter tidigare konventionell strålbehandling och kemoterapi.

Återbestrålning med konventionell strålbehandling anses vara en standard-metod, men den stråldos som krävs för att förutse acceptabel effekt överstiger 60 Gy, vilket oundvikligen är kopplat till höga frekvenser av svår fibros och nekros, ofta med dödlig utgång (Dionisi et al., 2019).

Tre kohorter av patienter behandlades med 1, 2 eller 3 fraktioner á 8 Gy med en fraktion per vecka tillsammans med *Nivolumab* anti-PD1 immunoterapi. Tidiga och sena strålterapi-toxiciteter var minimala och även immunoterapi visade en utmärkt tolerans med endast 3 patienter som avbröt immunoterapin.

Denna utmärkta toleransprofil motiverar storskalig utvärdering av ultra-hypo-strålterapi även som primärbehandling där antalet 8 Gy fraktioner kan utökas och immunoterapi dosen minskas.

Detta motiveras ytterligare av den höga totala svarsfrekvensen OR på i genomsnitt 70,6 %, där 41,2 % gällde kompletta remissioner CR. Andelen patienter med Objektivt respons OR är summan av andelen med kompletta remissioner CR, och andelen med partiellt respons PR (OR=CR+PR). Hos patienter som fick behandling med 2 eller 3 fraktioner á 8Gy var OR över 80 %, och OR=57 % noterades efter administrering av endast en 8 Gy-fraktion strålning.

De flesta som svarade uppvisade en ökning av antalet perifera lymfocyter. Mediantiden till tumörprogression var 10 månader. Den 3-åriga prognostiserade lokoregionala progressionsfria överlevnaden var 35 %, medan den 3-åriga sjukdomsspecifika totala överlevnaden var 50 %.

Sammanfattningsvis visar studien att Anti-PD1 i kombination med ultrahypofraktionerad strålbehandling á 8Gy resulterar i höga objektiva svarsfrekvenser och ökad överlevnad utan tecken på sjukdom, vilket stödjer ytterligare försök med ultrahypo-IRT.

Icke-Småcellig Lungcancer

Filippatos, och medarbetare redovisade år 2023 resultaten av Ultrahypofraktionerad 8 Gy återbestrålning med anti-PD-1-immunoterapi hos patienter som efter konventionell radikal kemo-radioterapi fått för lokalt återkommande icke-småcellig lungcancer(Filippatos et al., 2023).

I studien ingick en kohort på 11 patienter med lokoregionalt återkommande icke-småcellig lungcancer (NSCLC) efter radikal kemoradioterapi, Mellan 2019 och 2021 behandlades dessa patienter med en eller två fraktioner av ultrahypofraktionerad strålbehandling á 8Gy och samtidig administrering av anti-PD-1 immunoterapi (*Nivolumab* eller *Pembrolizumab*).

Svarsfrekvensen av kompletta remissioner var 27,2 %, medan den partiella tumörregressionen med mer än 80 % av initiala dimensioner noterades hos 54,6 av patienterna. Resultatet av detta immunradioterapischema gav 81,8 % objektiva svarsfrekvenser.

Den 22-månaders lokoregionala återfallsfria frekvensen var 54,5 %, medan den beräknade 2-års sjukdoms-specifika totala överlevnaden var 62 %. Dessa uppmuntrande resultat utgör grunden för att fortsätta tester med immunradioterapi med ultrahypofraktionerade strålterapi-schema i denna grupp NSCLC-patienter.

Strålterapi relaterade toxiciteter var försumbara, medan immunrelaterade biverkningar framtvungade immunoterapiavbrott hos 36 % av patienterna men resultaten var oberoende av PD-L1-status.

Denna observation motiverar vidare utvärdering av ultra-hypo-strålterapi med intermittenta 5-8 Gy fraktioner och reducerad immunoterapi dos för att minska bieffekter av immunintolerans (anm. BRP)

Resultaten från denna studie ger uppmuntrande bevis för att strålbehandling med en eller två 8 Gy-fraktioner är genomförbar och kan säkert kombineras med anti-PD-1-immunoterapi.

Trots det låga antalet patienter, ger den signifikanta tumörregression som uppnåtts och den långvariga lokoregionala kontrollen och övergripande progressionsfria intervallen, en grund för att fortsätta immuno-strålterapi-försök med intermittenta ultrahypo-fraktions scheman i denna grupp av NSCLC-patienter med dålig prognos (Filippatos et al., 2023).

4.4 Sammanfattning:

Huvud-och hals cancerpatienter med återkommande inoperabel sjukdom efter tidigare konventionell strålbehandling och kemoterapi kan återbehandlas med 1, 2 eller 3 fraktioner hypofraktionerad strålbehandling (HFRT) á 8 Gy med en fraktion per vecka tillsammans med *Nivolumab* anti-PD1 immunoterapi. Tidiga och sena strålterapi-toxiciteter var minimala och även immunoterapin visade en utmärkt tolerans med endast 3 patienter som avbröt immunoterapin. Hos patienter som fick anti-PD1 immunoterapi behandling i kombination med 2–3 fraktioner HFRT á 8Gy var objektiva tumör responset över 80 %, och 57 % noterades med endast en 8 Gy-fraktion strålning.

Sammanfattningsvis visar studien att patienter som efter konventionell radikal kemo-radioterapi fått lokalt åter-kommande icke-småcellig lungcancer kan behandlas med anti-PD-1-immuno-terapi i kombination med en eller två 8Gy-fraktioner (Filippatos et al., 2023).

Svarsfrekvensen av kompletta remissioner var 27,2 %, medan den partiella tumörregressionen med mer än 80 % av initiala dimensioner noterades hos 54,6 av patienterna. Resultatet av detta immun-radioterapischema gav 81,8 % objektiva svarsfrekvenser.

Den 22-månaders lokoregionala återfallsfria frekvensen var 54,5 %, medan den beräknade 2-års sjukdoms-specifika totala överlevnaden var 62 %. Dessa uppmuntrande resultat utgör grunden för att fortsätta tester med immun-radioterapi med intermittenta ultrahypofraktionerade strålterapi-scheman i denna grupp NSCLC-patienter.

4.5 Referenser

- Ahmed, M. M., Hodge, J. W., Guha, C., Bernhard, E. J., Vikram, B. & Coleman, C. N. 2013. "Harnessing the Potential of Radiation-Induced Immune Modulation for Cancer Therapy." *Cancer Immunology Research* 1 (5):280-284. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0141.
- Ceberg, C. & Persson, B. R. R. 2013. "Co-operative radio-immune-stimulating cancer therapy." *Trends in Cancer Research* 9:87 - 108.
- Danish, A., Della Pia, A., Fogel, L., Alkhatatneh, H., Zhao, C., Varughese, T., Al Feghali, K. A., Pascual, L., Sinclair, B., Marafelias, M., Zenreich, J., Kuo, Y.-H., Feldman, T. A., Zhang, Y., Goy, A. H., Ip, A. & Rowley, S. D. 2024. "Prevalence of non-Hodgkin lymphoma patients at high-risk of failure after CAR T-cell therapy eligible for bridging radiation therapy." *Frontiers in Oncology* 14:1425506. doi: 10.3389/fonc.2024.1425506.
- Demaria, S., Guha, C., Schoenfeld, J., Morris, Z., Monjazeb, A., Sikora, A., Crittenden, M., Shiao, S., Khleif, S., Gupta, S., Formenti, S. C., Vikram, B., Coleman, C. N. & Ahmed, M. M. 2021. "Radiation dose and fraction in immunotherapy: one-size regimen does not fit all settings, so how does one choose?" *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* (4).
- Demaria, S., Kawashima, N., Yang, A. M., Devitt, M. L., Babb, J. S., Allison, J. P. & Formenti, S. C. 2005. "Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 Blockade in a Mouse Model of Breast Cancer". *Clin Cancer Res.* 2005 Jan 15;11(2 Pt 1):728-34. (- 1078-0432 (Print)):- 728-34.
- Dionisi, F., Giacomelli, I., Cianchetti, M., Fiorica, F., D'Angelo, E., Maddalo, M., Tornari, E., Rosca, A., Vigo, F., Romanello, D., Tommasino, F., Massaccesi, M. & Orlandi, E. 2019. "Organs at risk's tolerance and dose limits for head and neck cancer re-irradiation: A literature review." *Oral Oncology* 98:35-47-47. doi: 10.1016/j.oraloncology.2019.08.017.
- Filippatos, K., Koukourakis, I. M., Anevlavis, S., Giaktzidis, A. & Koukourakis, M. I. 2023. "Ultra-Hypofractionated Re-Irradiation with Anti-PD-1 Immunotherapy for Locoregionally Recurrent (after Radical Chemo-Radiotherapy) Non-Small Cell Lung Cancer." *Cancers* 15 (20):5083. doi: 10.3390/cancers15205083.
- Formenti, S. C. & Demaria, S. 2009. "Systemic effects of local radiotherapy." *Lancet Oncology* 10 (7):718-726. doi: 10.1016/s1470-2045(09)70082-8.
- Galluzzi, L., Aryankalayil, M. J., Coleman, C. N. & Formenti, S. C. 2023. "Emerging evidence for adapting radiotherapy to immunotherapy." *Nature reviews. Clinical oncology* 20 (8):543-557. doi: 10.1038/s41571-023-00782-x.
- Graf, M. R., Jadus, M. R., Hiserodt, J. C., Wepsic, H. T. & Granger, G. A. 1999. "Development of systemic immunity to glioblastoma multiforme using tumor cells genetically engineered to express the membrane-associated isoform of macrophage colony-stimulating factor." *Journal of Immunology* 163 (10):5544-5551.
- Hickey, B. E., James, M. L., Daly, T., Soh, F. Y., Jeffery, M. & James, M. L. 2019. "Hypofractionation for clinically localized prostate cancer." *Cochrane Database of Systematic Reviews* (9).

- Koukourakis, I. M., Giakzidis, A. G. & Koukourakis, M. I. 2023a. "Anti-PD-1 immunotherapy with dose-adjusted ultra-hypofractionated re-irradiation in patients with locoregionally recurrent head and neck cancer." *Clinical and Translational Oncology* 25 (10):3032-3041. doi: 10.1007/s12094-023-03172-y.
- Koukourakis, I. M., Papadimitriou, M., Desse, D., Zygogianni, A. & Papadimitriou, C. 2023b. "Anti-Tumor Immunity and Preoperative Radiovaccination: Emerging New Concepts in the Treatment of Breast Cancer." *International Journal of Molecular Sciences* 24 (11):9310-9310. doi: 10.3390/ijms24119310.
- Koukourakis, I. M., Tiniakos, D., Kouloulis, V. & Zygogianni, A. 2023d. "The molecular basis of immuno-radiotherapy." *International Journal of Radiation Biology* 99 (5):715-736. doi: 10.1080/09553002.2023.2144960.
- Koukourakis, I. M., Xanthopoulou, E., Koukourakis, M. I., Tiniakos, D., Kouloulis, V. & Zygogianni, A. 2024. "IFN-Type-I Response and Systemic Immunity in Rectal Adenocarcinoma Patients Treated with Conventional or Hypofractionated Neoadjuvant Radiotherapy." *Biomolecules* (2218-273X) 14 (4):448. doi: 10.3390/biom14040448.
- Koukourakis, M. I. & Giatromanolaki, A. 2022. "Tumor draining lymph nodes, immune response, and radiotherapy: Towards a revisal of therapeutic principles." *Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer* 1877 (3). doi: 10.1016/j.bbcan.2022.188704.
- Lee, N. Y., Dunn, L. A., Ferris, R. L., Psyrri, A., Haddad, R. I., Tahara, M., Bourhis, J., Harrington, K., Chang, P. M. H., Lin, J. C., Razaq, M. A., Teixeira, M. M., Lövey, J., Chamois, J., Rueda, A., Hu, C., Dvorkin, M. V., De Beukelaer, S., Pavlov, D., Thurm, H. & Cohen, E. 2021. "Avelumab plus standard-of-care chemoradiotherapy versus chemoradiotherapy alone in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre, phase 3 trial." *The Lancet Oncology* 22 (4):450-462-462. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30737-3.
- Lumniczky, K., Desaknai, S., Mangel, L., Szende, B., Hamada, H., Hidvegi, E. J. & Safrany, G. 2002. "Local tumor irradiation augments the antitumor effect of cytokine-producing autologous cancer cell vaccines in a murine glioma model." *Cancer Gene Therapy* 9 (1):44-52.
- Park, S.-H., Yang, Y.-J., Sung, S., Choi, Y. & Yang, E.-J. 2024. "Postoperative complications of hypofractionated and conventional fractionated radiation therapy in patients with implant-based breast reconstruction: A systematic review and meta-analysis." *Breast (Edinburgh, Scotland)* 77:103782. doi: 10.1016/j.breast.2024.103782.
- Persson, B. R. R. 2011. Radiation Immune Modulation Therapy of Glioma, . In: CHEN, C. C. (ed.) *Advances in the Biology, Imaging and Therapies for Glioblastoma*,. Vienna: InTech.
- Persson, B. R. R., Bauréus-Koch, C., Grafström, G., Engström, P. E., Widegren, B. & Salford, L. G. 2003. "Therapeutic effect of radiation therapy combined with immunization by syngeneic IFN-gamma secreting tumor cells on N29 and N32 brain tumors implanted either subcutaneously on the flank or in the brain of Fischer 344 rats." *Neuro Oncology* 5 (4):305.
- Persson, B. R. R., Bauréus-Koch, C., Grafström, G., Ceberg, C., af Rosenschöld, P. M., Nittby, H., Widegren, B. & Salford, L. G. 2010. "Radiation Immunomodulatory Gene Tumor Therapy of Rats with Intracerebral Glioma Tumors." *Radiation Research* 173 (4):433-440. doi: 10.1667/rr1733.1.

- Tao, Y., Ruffier, A., Biau, J., Miroir, J., Chautard, E., Sun, X. S., Sire, C., Martin, L., Alfonsi, M., Prevost, J. B., Modesto, A., Lafond, C., Tourani, J. M., Kaminsky, M. C., Coutte, A., Liem, X., Vauleon, E., Drouet, F., Ramee, J. F., Waksi, G., Péchery, A., Wanneveich, M., Guigay, J., Aupérin, A. & Bourhis, J. 2023. "Pembrolizumab versus cetuximab concurrent with radiotherapy in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of head and neck unfit for cisplatin (GORTEC 2015-01 PembroRad): a multicenter, randomized, phase II trial." *Annals of Oncology* 34 (1):101-110-110. doi: 10.1016/j.annonc.2022.10.006.
- Widmark, A., Gunnlaugsson, A., Beckman, L., Thellenberg-Karlsson, C., Hoyer, M., Lagerlund, M., Kindblom, J., Ginman, C., Johansson, B., Björnlinder, K., Seke, M., Agrup, M., Fransson, P., Tavelin, B., Norman, D., Zackrisson, B., Anderson, H., Kjellén, E., Franzén, L. & Nilsson, P. 2019. "Ultra-hypofractionated versus conventionally fractionated radiotherapy for prostate cancer: 5-year outcomes of the HYPO-RT-PC randomised, non-inferiority, phase 3 trial." *Lancet* 394 (10196):385-395. doi: 10.1016/s0140-6736(19)31131-6.
- Wieslander, E., Jóhannesson, V., Nilsson, P., Kjellén, E. & Gunnlaugsson, A. 2024. "Ultrahypofractionated Radiation Therapy for Prostate Cancer Including Seminal Vesicles in the Target Volume: A Treatment-planning Study Based on the HYPO-RT-PC Fractionation Schedule." *Advances in Radiation Oncology* 9 (7). doi: 10.1016/j.adro.2024.101531.

Kapitel 5 Epilog

5 Epilog

På 1980-talet kunde vi i Malmö/Lund visa att mikrovågs inducerad hypertermibehandling av tumör-recidiv framgångsrikt kunde kombineras med strålterapi (Lindholm et al., 1987, Lindholm et al., 1995).

Detta ledde till att även försöka kombinera strålterapi med syngent tumörvaccin som Leif G Salford i BRIGTT projektet framgångsrikt utvecklat, och som i en patient studie signifikant förlängde överlevnadstiden (Salford et al., 2022).

Med användning av samma råttgliom modell som användes i BRIGTT projektet för utvecklingen av syngent tumörvaccin, behandlades gliom inokulerade i råttor med syngena strål-steriliserade IFN γ -transfekterade tumör-celler och endast en fraktion strålbehandling med 5 alternativt 15 Gy.

Resultaten med 5Gy visade överraskande hög andel med 75 %, kompletta remissioner av implanterade hjärntumörer vilket tidigare inte uppnåts med någon annan terapi regim mot gliom tumörer. Med det sparsamma antalet individer i studien uppfattades dock resultatet som alltför osäkert för att kunna publiceras.

Med hjälp av Silvia Formenti och Sandra Demaria, som i sina experiment med kontrollpunkthämmare CTLA 4 observerat samma fenomen, kunde emellertid resultaten efter 5år i byrålådan publiceras i tidskriften Radiation Research (Formenti and Demaria, 2009, Persson et al., 2010).

År 2023 presenterade Koukourakis och medarbetare i Grekland en klinisk studie med anti-PD1 immunoterapi och strålterapi med 8 Gy intermittent ultrahypo-fraktionerad behandling av patienter med locoregional återkommande huvud- och halscancer (Koukourakis et al., 2023). Tre kohorter av patienter behandlades med endast en fraktion á 8 Gy, eller 2-3 fraktioner med en fraktion per vecka, tillsammans med *Nivolumab* anti-PD1 immunoterapi.

Resultaten visar att efter administrering av endast en 8 Gy-fraktion strålning observerades objektiva respons-svar på 57 %. Hos patienter som fick 2 eller 3 fraktioner á 8 Gy veckovis noterades objektiva respons-svar (OR) över 80 %. Med 3 fraktioner á 8 Gy erhöles 66% kompletta remissioner (CR) av primärtumör och CR 75% av metastaser (Koukourakis et al., 2023).

De behandlade också patienter som efter konventionell radikal kemo-radioterapi fått lokalt återkommande icke-småcellig lungcancer. De behandlades med anti-PD-1-immunoterapi i kombination med en eller två 8 Gy-fraktioner med en fraktion per vecka. Detta immunradioterapischema var säkert och gav 81,8 % objektiva svarsfrekvenser. Den fullständiga svarsfrekvensen (CR) var 27,2 %, medan tumörregression med 80–100 % av initiala dimensioner noterades hos 63,5 % av patienterna (Filippatos et al., 2023).

Slutsatsen blir att anti-PD1 immunoterapi kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålbehandling med 5-8 Gy per fraktion som upprepas varje vecka upp till 3 gånger är en lovande terapeutisk regim för patienter med recidiv efter konventionell behandling som inte kan åtgärdas med operation eller annan gängse behandling.

Det Grekiska greppet med en Strålfraction per vecka är helt i linje med min vision om hur immuno-radioterapi skulle kunna genomföras. Detta beskriver jag också i *“A tale of a promising immuno-therapeutic strategy for Malignant Glioma”* (Persson, 2023).

“Thus a single irradiation fraction of eight gray (Gy) suggested being optimal for enhancing the effect of immune therapy by cell-vaccination or electro-chemotherapy, and could be applied in repeated sessions until complete remission occurs”.

Koukourakis och medarberates resultat inspirerade till denna berättelse om immunoterapi kombinerad med intermittent ultrahypo-fraktionerad strålterapi. Förhoppningsvis skall den motivera till ytterligare klinisk utvärdering som ett terapeutiskt alternativ för behandling av patienter med återkommande cancer efter genomgången full konventionell strålbehandlings regim.

Med kliniska erfarenheter av olika stråldos-nivåer 5-8 Gy, olika antal fraktioner och intermittenta tidsintervall beroende på graden av recidiv och typ av tumör kan man så småningom hoppas på en randomiserad studie av primära

tumörer med Immunoterapi och intermittent ultrahypo-fraktionerad strålterapi kontra konventionell behandling.

Det är inte heller helt otänkbart att en kombination av intermittent ultrahypo-fraktionerad strålterapi å 5-8Gy och mikrovågs inducerad hypertermi skulle medföra ytterligare förbättringar i kombination med immunoterapi (Logghe et al., 2024).

5.2 Referenser

- Filippatos, K., Koukourakis, I. M., Anevlavis, S., Giaktzidis, A. & Koukourakis, M. I. 2023. "Ultra-Hypofractionated Re-Irradiation with Anti-PD-1 Immunotherapy for Locoregionally Recurrent (after Radical Chemo-Radiotherapy) Non-Small Cell Lung Cancer." *Cancers* 15 (20):5083. doi: 10.3390/cancers15205083.
- Formenti, S. C. & Demaria, S. 2009. "Systemic effects of local radiotherapy." *Lancet Oncology* 10 (7):718-726. doi: 10.1016/s1470-2045(09)70082-8.
- Koukourakis, I. M., Giaktzidis, A. G. & Koukourakis, M. I. 2023. "Anti-PD-1 immunotherapy with dose-adjusted ultra-hypofractionated re-irradiation in patients with locoregionally recurrent head and neck cancer." *Clinical and Translational Oncology* 25 (10):3032-3041. doi: 10.1007/s12094-023-03172-y.
- Lindholm, C. E., Kjellén, E., Nilsson, P. & Hertzman, S. 1987. "Microwave-induced hyperthermia and radiotherapy in human superficial tumors - clinical-results with a comparative-study of combined treatment versus radiotherapy alone." *International Journal of Hyperthermia* 3 (5):393-411. doi: 10.3109/02656738709140410.
- Lindholm, C. E., Kjellén, E., Nilsson, P., Weber, L. & Hill, S. 1995. "Prognostic factors for tumor response and skin damage to combined radiotherapy and hyperthermia in superficial recurrent breast carcinomas." *International Journal of Hyperthermia* 11 (3):337-355. doi: 10.3109/02656739509022470.
- Logghe, T., van Zwol, E., Immordino, B., Van den Cruys, K., Peeters, M., Giovannetti, E. & Bogers, J. 2024. "Hyperthermia in Combination with Emerging Targeted and Immunotherapies as a New Approach in Cancer Treatment." *Cancers* 16 (3):505. doi: 10.3390/cancers16030505.
- Persson, B. R. R. 2023. "A tale of a promising immunotherapeutic strategy for Malignant Glioma." *Acta Scientiarum Lundensia ISSN1651-5013*, 2023 (001):1-23.
- Persson, B. R. R., Bauréus-Koch, C., Grafström, G., Ceberg, C., af Rosenschöld, P. M., Nittby, H., Widegren, B. & Salford, L. G. 2010. "Radiation Immunomodulatory Gene Tumor Therapy of Rats with Intracerebral Glioma Tumors." *Radiation Research* 173 (4):433-440. doi: 10.1667/rr1733.1.
- Salford, L. G., Siesjö, P., Skagerberg, G., Rydelius, A., Blennow, C., Lilja, Å., Persson, B. R. R., Strömblad, S., Visse, E. & Widegren, B. 2022. A Story of Immunization with Autologous IFN- γ Secreting Glioma Cells in Patients with Glioblastoma Multiforme is Safe and Prolongs Both Overall and Progress Free Survival. In: AMIT, A. & DAULAT SINGH, K. (eds.) *Glioblastoma*. Ch. 10, Pages 157-173. Rijeka: IntechOpen.

En berättelse om immunoterapi kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålterapi



Rolf Bertil Ragnar PERSSON, PhD, MDh.c.

born : October 12, 1938 in Malmö, Sweden.

1970 PhD, 2004 MD h.c.

since 1980-2005 professor of medical radiation physics

2005 – present: Professor emeritus at

Lund University, Sweden

Published : >400 scientific publications, >20 extensive reports and books

Tutor of 40 doctoral dissertations on the faculties of medicine and science

Denna berättelse har sitt ursprung i den kliniska studie som på engelska benämndes "*Brain Immune Gene Tumour Therapy*" (BRIGTT) som professor Leif G, Salford i Lund, initierade strax innan vid millenni- skiftet. Ett specifikt tumörvaccin framställdes baserat på tumörceller som han extraherade ur tumörvävnad från den gliom-patient han tidigare opererat. Överlevnadstiden hos de vaccin behandlade patienterna förlängdes men inga tillfrisknade helt.

I försök att förbättra vaccinations effekten med utnyttjandes den tumörmodell som använts vid den pre-kliniska tumörimmunologiska forskning som låg till grund för Salfords kliniska vaccinations studie med maligna gliom.

Vaccin-behandlingen kombinerades med strålterapi av Fischer 344 råttor med N29gliom tumörer inokulerade i hjärnan och resultaten visade att:

- Enbart strålbehandling en gång med 5 Gy resulterade inte i några överlevare.
- Däremot om immuniseringsterapi med 3 omgångar vaccin kombinerades med endast en fraktion á 5Gy strålterapi, överlevde sex av åtta behandlade djur (ca.75%).

Detta oväntat positiva resultat för en tidigare obotlig tumör sporrade till att försöka verka för en ny tumör behandlings regim med immunoterapi i kombination med hypofraktionerad strålbehandling i endast några fraktioner.

Nu efter 20 år har det börjat rapporteras om kliniska studier som visar att immunoterapi i kombination med hypofraktionerad strålbehandling fungerar utmärkt med immunkontroll-punktshämmare, vilka används för att blockera CTLA-4 och PD1, så att mördarcellerna, de cytotoxiska T-lymfocyter CTL, inte hindras att eliminera cancercellerna.

Koukourakis och medarbetares resultat inspirerade till denna berättelse om immunoterapi kombinerad med intermittent ultrahypo-fraktionerad strålterapi, som jag hoppas skall motivera till ytterligare klinisk utvärdering som ett terapeutiskt alternativ för patienter med återkommande cancer efter genomgången konventionell behandlings regim.

Lund November 11, 2024, Bertil RR Persson FilDr, MDhc, professor emeritus

