



LUND UNIVERSITY

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi

Nästa Generation av Tumörterapi?

Persson, Bertil R

2026

Document Version:

Förlagets slutgiltiga version

[Link to publication](#)

Citation for published version (APA):

Persson, B. R. (2026). *Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa Generation av Tumörterapi?* Medical Radiation Physics, Lund University.

Total number of authors:

1

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



***Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi:
Nästa Generation av Tumörterapi?***

Bertil RR Persson

Citation: (Acta Scientiarum Lundensia ISSN 1651-5013)

Persson BRR (2026) Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi:
Nästa Generation av Tumörterapi?

Acta Scientiarum Lundensia, ISSN 1651-5013, Vol. 2026-007, pp. 1-193.

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, BertilRRPersson@gmail.com

ORCID <http://orcid.org/0000-0002-5502-5972>

LUND 2026

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

*

-

***Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi:
Nästa Generation av Tumörterapi?***

Bertil RR Persson

Lund 2026

Innehållsförteckning

En berättelse om att kombinera Immunoterapi med Ultrahypo-fraktionerad strålterapi

Kapitel	Titel	Sida
	Del I	
	Sammanfattning	
I-I	Prolog	15
	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	
I-2	Samspelet mellan strålterapi och immunrespons	33
	2.1 Tumörens mikromiljö	
	2.2 Strålningens effekter på tumörens mikromiljö	
	2.4 Strålningens effekter på tumörens immunosuppression	
	2.5 Referenser	
I.3	Prekliniska försök	43
	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	
i-4	Kliniska försök med kombinerad Immuno-Strål-Terapi	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	69

Del II

”Pre-Surgical Intermittent Radiation Immune Therapy”

Kapitel	Titel	Sida
---------	-------	------

Del II

Sammanfattning

II-I	Prolog	76
	1.5 Referenser	
II-2	PreKirurgisk Intermittent Strål- och Immun-terapi	91
	1.5 Referenser	
II-3	CNS: Pre-Kirurgisk Strålbehandling och Immunterapi	117
	1.5 Referenser	
II-4	Pre-Kirurgisk Intermittent Strålbehandling med hypertermi	141
	1.5 Referenser	
II-5	Pre-Kirurgisk Intermittent Elektrisk Puls Terapi	163
	1.5 Referenser	
II-6	Efterord	175
	1.5 Referenser	

Del III”

Intermittent BrachyTerapi kombinerad med Immun-Terapi

181

Sammanfattning av:

”Synergi mellan Strål- och Immun-Terapi”

Denna berättelse om *Synergi mellan Strål- och Immun-Terapi* har sitt ursprung i resultaten av försök som utfördes år 2001 vilka avsåg att kombinera tumörvaccin-behandling med strålterapi av Fischer-344 råttor med gliom-tumörer inokulerade i hjärnan.

Med 3 omgångar tumörvaccin kombinerat med endast en fraktion strålterapi á 5Gy, överlevde sex av åtta behandlade djur (ca.75%). Detta dramatiska resultat för en tidigare obotbar tumör sporrade till att försöka verka för en ny tumörbehandlings regim med immunterapi i kombination med hypo-fraktionerad strålbehandling i endast några få fraktioner.

Nu efter 20 år har det börjat rapporteras om kliniska studier som visar att immunterapi i kombination med hypo-fraktionerad strålbehandling också fungerar 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.

Sammanfattningsvis visar studier att cancerpatienter med återkommande inoperabla huvud-och hals tumörer som återbehandlats efter tidigare konventionell strålbehandling och kemoterapi, med framgång behandlats med Hypo-fraktionerad strålbehandling (HFRT) á 8 Gy/fr. Behandlingen administrerades i en, två eller tre fraktioner, med en fraktion per vecka tillsammans med *Nivolumab* anti-PD1 immunoterapi. Det objektiva tumör-responset med 3 fraktioner var över 80 %, och med endast en 8 Gy-fraktion strålning noterades 57 % respons (Koukourakis et al., 2023).

Patienter som efter konventionell radikal kemo-radioterapi fått lokalt återkommande icke-småcellig lungcancer har behandlats med anti-PD-1-immuno-terapi i kombination med en eller två 8Gy-fraktioner strålterapi.

Svarsfrekvensen med kompletta remissioner (CR) var 27,2 %, medan den partiella tumörregressionen (PR) med mer än 80 % av initiala dimensioner noterades hos 54,6 av patienterna. Resultatet av detta immuno-radioterapi schema gav 81,8 % objektiva svarsfrekvenser (OR=CR+PR) (Filippatos et al., 2023).

Del II presenterar ett nytt tumör-behandlingskoncept med ”**Pre-kirurgisk intermittent ultra-hypo-fraktionerad strålbehandling kombinerad med immunterapi**”

Intermittent ultra-hypo-fraktionerad strålbehandling innebär:

- Optimal absorberad dos 6–8 Gy per fraktion.
- Doser >10 Gy kan öka immunsuppressiva mekanismer (Treg-aktivering).
- Tidsintervall på upp till en vecka mellan fraktionerna.
- Möjlighet att lägga till annan behandling tex immunterapi i intervallen mellan strålfractionerna.

Intermittent-Strålbehandling påverkar tumörmikromiljön genom att:

- Producera DNA-skador och mutationer som producerar nya tumörspecifika antigen (**neo-antigen**) som omvandlar den bestrålade tumören till ett ”**in situ-vaccin**”.
- Neo-antigen utveckling kräver tid och därför är **intermittenta tidsintervall mellan strålfractionerna biologiskt motiverade**.
- Frisätta immunstimulerande signaler (tex DAMP, HMGB1, ATP, Typ 1-interferon).
- Aktivering av Dendritceller.
- Ökad produktion och infiltration av CD8⁺ cytotoxiska T-celler i tumören.
- Minska immunsuppressionen genom inaktivering av MDSC (myeloida suppressorceller) och minskad T_{reg}-dominans vid doser <10 Gy/fr.

Hypertermi (HT ca 41–44 °C) gör tumörceller mer känsliga för strålning (RT). Kliniska studier visar bättre respons och fler kompletta remissioner med kombinationen RT+HT jämfört med enbart strålning (RT) utan att öka allvarliga biverkningar.

Hypertermi i kombination med strålterapi fungerar som immunförstärkare (immunoadjuvant) med ökad aktivitet hos immunceller (Cytotoxiska T-celler, NK-celler och Dendrit-celler). Dessutom stimuleras tumörens antigena presentation och frisättning av DAMP-sigaler vilket medför att ”kalla” tumörer blir ”heta” (mer immunoreaktiva). Vidare minskar immunhämningen i tumörmiljön.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Kombinationen Strålning + hypertermi ger en starkare effekt än strålmig och Hypertermi var för sig. Denna synergisamverkan bidrar till:

- Ökad immunogen tumör celldöd
- Förbättrat blodflöde och syresättning i tumören
- Minskad tumör immunsuppression
- Aktivering av immunsystemet
- Ökar T-cellsinfiltration i tumören

I jämförelse med ICI immunterapi kan strålning + Hypertermi vara lika effektivt eller bättre än strålning + ICI immunterapi (t.ex. PD-1) vilket medför att Hypertermi kan ersätta eller komplettera ICI immunterapi vilket kan minska behandlings kostnader och ge färre biverkningar.

Sammanfattnings föreslås en Ny behandlingsstrategi med:

Pre-operativ intermittent strålbehandling + hypertermi som skulle kunna:

- Förbättra tumörkontroll före operation och minska risken för metastaser
- Aktivera immunförsvaret och minska risken för recidiv
- Minska behovet av dyra ICI läkemedel

Möjligen kan tillägg med vitamin-A minska tumör-suppressionen av omogna MDSC och därmed öka den terapeutiska effekten av CTL.

Kliniska försök med Strålbehandling i kombination med Elektroporation har i huvudsak genomförts med irreversibel elektroporation IRE.

Genom att anpassa pulsamplituden mellan varje elektrisk puls till förändringen i vävnadens ledningsförmåga begränsas den irreversibla elektroporationen så att en del celler erhåller reversibel elektroporation och bibehåller sina immunologiska egenskaper, vidare begränsas uppkomsten av skador på frisk vävnad (Persson, 2019).

Pre-kirurgisk strålbehandling kombinerad med Dynamisk El-puls behandling skapar ett *in situ-vaccin* vars immuneffekt kan boostas med Hypertermi och ATRA (se kap IV) eller annan immunstimulerande behandling. Om efterföljande operation kräver ytterligare behandling kan behandlingen upprepas.

Diagnoser med Särskilt stark evidens för Intermittent Strål-ImmunoTerapi:

- icke-småcellig lungcancer
- melanom
- njurcancer
- huvud-halscancer (ev. med kirurgi)
- vissa CNS-tumörer och metastaser

Stor potential för tumörer som traditionellt svarar dåligt på immunterapi

- prostatacancer
- pancreascancer
- glioblastom

Del III behandlar möjligheten att kombinera Brachyterapi med Adjuvant Immunterapi vilket faller mycket väl in i regimen Preoperativ intermittent strål- och Immun-Terapi. En tänkbar BT behandlings regim är en initial 6-8 Gy strål-fraktion och intermittent efterföljande immunterapi med anti-CTLA4 för att dämpa immunosuppressionen av T_{reg} , MDSC och anti-PD1/PDL1 för att gynna $CD8^+$ T-lymfocyternas CTL-aktivitet (även HPV vaccin skulle kunna användas).

Efter att den terapeutiska effekten av den första behandlingsomgången kontrollerats kan behandlings parametrarna för påföljande veckas behandling fastställas.

Behandlingsomgångarna kan fortsätta tills komplett remission uppnås. Även hypertermi skulle kunna kombineras med BT. Ballong metoden skulle kunna modifieras till temperaturer i ballongen kring 43-44 °C att användas i intervallen vid intermittent Brachy-Hypertermi behandling i de kropps kaviteter som behandlas.

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.

Summary in English of:

“Synergy between Radiation and Immune Therapy”

This story about Synergy between Radiation and Immune Therapy originates from the results of trials conducted in 2001, which aimed to combine tumour vaccine treatment with radiation therapy of Fischer-344 rats with glioma tumours inoculated in the brain.

With 3 rounds of tumour vaccine combined with only one fraction of radiation therapy of 5Gy, six of eight treated animals survived (approx. 75%). This dramatic result for a previously incurable tumour spurred the attempt to advocate for a new tumour treatment regimen with immunotherapy combined with hypo-fractionated radiation therapy in only a few fractions.

Now, after 20 years, clinical studies have begun to be reported showing that immunotherapy in combination with hypo-fractionated radiotherapy also works with drugs, so-called immune checkpoint inhibitors, which are used to block CTLA-4 and PD1 receptors so that the killer cells, the cytotoxic T lymphocytes CTL, can more effectively eliminate the cancer cells.

In summary, studies show that cancer patients with recurrent inoperable head and neck tumours who were re-treated after previous conventional radiotherapy and chemotherapy, were successfully treated with Hypo-fractionated radiotherapy (HFRT) á 8 Gy/fr. The treatment was administered in one, two or three fractions, with one fraction per week together with Nivolumab anti-PD1 immunotherapy. The objective tumour response with 3 fractions was over 80%, and with only one 8 Gy fraction of radiation, a 57% response was noted (Koukourakis et al., 2023).

Patients with locally recurrent non-small cell lung cancer after conventional radical chemoradiotherapy have been treated with anti-PD-1 immunotherapy in combination with one or two 8 Gy fractions of radiotherapy.

The response rate with complete remissions (CR) was 27.2%, while partial tumour regression (PR) with more than 80% of initial dimensions was noted in 54.6 of the patients. The result of this immunoradiotherapy regimen was 81.8% objective response rates (OR=CR+PR) (Filippatos et al., 2023).

Part II presents a new tumour treatment concept with
“Pre-surgical intermittent ultra-hypo-fractionated radiotherapy combined with immunotherapy”

Intermittent ultra-hypo-fractionated radiotherapy involves:

- Optimal absorbed dose 6–8 Gy per fraction.
- Doses >10 Gy can increase immunosuppressive mechanisms (Treg activation).
- Time interval of up to one week between fractions.
- Possibility to add other treatment e.g. immunotherapy in the intervals between radiation fractions.

Intermittent radiotherapy affects the tumour microenvironment by:

- Producing DNA damage and mutations that produce new tumour-specific antigens (neo-antigens) that convert the irradiated tumour into an “**in situ vaccine**”.
- Neo-antigen development requires time and therefore intermittent time intervals between radiation fractions are biologically justified.
- Releasing immunostimulatory signal (e.g. DAMP, HMGB1, ATP, Type 1 interferon).
- Activation of Dendritic cells.
- Increased production and infiltration of CD8⁺ cytotoxic T cells in the tumour.
- Reduce immunosuppression by inactivation of MDSC (myeloid suppressor cells) and reduced Treg dominance at doses <10 Gy/fr.

Hyperthermia (HT approx. 41–44 °C) makes tumour cells more sensitive to radiation (RT). Clinical studies show better response and more complete remissions with the combination RT+HT compared to radiation alone (RT) without increasing serious side effects.

Hyperthermia in combination with radiotherapy acts as an immunoadjuvant with increased activity of immune cells (Cytotoxic T cells, NK cells and Dendritic cells). In addition, the tumour's antigen presentation and release of DAMP signals are stimulated, which causes “cold” tumours to

become “hot” (more immunoreactive). Furthermore, the immune inhibition in the tumour environment is reduced.

The combination of Radiation + Hyperthermia provides a stronger effect than radiation and Hyperthermia alone. This synergistic interaction contributes to:

- Increased immunogenic tumour cell death
- Improved blood flow and oxygenation in the tumour
- Reduced tumour immunosuppression
- Activation of the immune system
- Increases T-cell infiltration in the tumour

In comparison with ICI immunotherapy, Radiation + Hyperthermia can be as effective or better than Radiation + ICI immunotherapy (e.g. PD-1), which means that Hyperthermia can replace or complement ICI immunotherapy, which can reduce treatment costs and have fewer side effects.

In summary, another new treatment strategy is proposed with:

Pre-operative intermittent radiotherapy + hyperthermia that could:

- Improve tumour control before surgery and reduce the risk of metastases
- Activate the immune system and reduce the risk of relapse
- Reduce the need for expensive ICI drugs

Possibly, supplementation with vitamin A can reduce tumor suppression of immature MDSC and thereby increase the therapeutic effect of CTL.

Clinical trials with radiotherapy in combination with electroporation have mainly been conducted with irreversible electroporation IRE.

By adapting the pulse amplitude between each electrical pulse to the change in the tissue's conductivity, the irreversible electroporation is limited so that some cells receive reversible electroporation and maintain their immunological properties, and the occurrence of damage to healthy tissue is also limited (Persson, 2019).

Pre-surgical radiotherapy combined with Dynamic Electro-pulse treatment creates an *in situ* vaccine whose immune effect can be boosted with Hyperthermia and ATRA (see chapter IV) or other immunostimulating treatment. If subsequent surgery requires additional treatment, the treatment can be repeated.

Diagnoses with Particularly Strong Evidence for Intermittent Radiation Immunotherapy:

- non-small cell lung cancer
- melanoma
- kidney cancer
- head and neck cancer (possibly with surgery)
- certain CNS tumors and metastases

Great potential for tumors that traditionally respond poorly to immunotherapy

- prostate cancer
- pancreatic cancer
- glioblastoma

Part III discusses the possibility of combining Brachytherapy with Adjuvant Immunotherapy, which fits very well into the regimen of Preoperative Intermittent Radiation and Immunotherapy. A possible BT treatment regimen is an initial 6-8 Gy radiation fraction and intermittent subsequent immunotherapy with anti-CTLA4 to attenuate the immunosuppression of Treg, MDSC and anti-PD1/PDL1 to favour the CTL activity of CD8+ T lymphocytes (HPV vaccine could also be used).

After the therapeutic effect of the first treatment cycle has been verified, the treatment parameters for the following week of treatment can be determined.

The treatment cycles can continue until complete remission is achieved. Hyperthermia could also be combined with BT. The balloon method could be modified to temperatures in the balloon around 43-44 °C to be used in the intervals of intermittent Brachy-Hyperthermia treatment in the body cavities being treated.

References

- 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.
- Koukourakis, I. M., Giaktzidis, 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.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa Generation av Tumörterapi?

Del 1

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

Bertil RR Persson

Förord

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 medicinskradiofysik och tillika chef för sjukhusfysiken i Lund, blev jag 1984 medlem i stiftelsens vetenskapliga råd 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 min verksamhet med mikrovågsbehandling 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.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Jag lämnar nu stiftelsen med denna berättelse om *immunoterapi kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålterapi*, som jag hoppas skall inspirera någon till ytterligare klinisk utvärdering av synergien mellan strål- och immun-terapis 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

Del I

En berättelse om att kombinera Immunoterapi med Ultrahypo-fraktionerad strålterapi

Bertil RR Persson

Sammanfattning:

Denna berättelse om *immunoterapi kombinerad med ultrahypo-fraktionerad strålterapi* har sitt ursprung i den kliniska studie som på engelska benämns som "*Brain Immune Gene Tumour Therapy*" (BRIGTT) som professor Leif G, Salford i Lund initierade strax innan 2000-millieniumskiftet. Ett specifikt tumörvaccin framställdes baserat på tumörceller som han extraherade ur tumörvävnad från den gliom-patient han tidigare opererat. Överlevnadstiden hos de med vaccinet 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-behandlingen 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 tumörbehandlings 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 å 2 Gy/fr.

. De hittills genomförda kliniska försöken med att kombinera immunoterapi med konventionell strålterapi har emellertid resulterat i sparsamma effekter.

Nyligen har dock 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) å 8 Gy/fr. 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 å 8 Gy var det objektiva tumör responset över 80 %, medan 57% noterades i kombination med endast en fraktion med 8 Gy strålning.

Patienter med icke-småcellig lungcancer som efter konventionell radikal kemo-radioterapi fått lokalt återkommande tumör behandlades 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 I-1 ger en prolog till hur det hela började

Kapitel I-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 discipliner kan samverka. Vilket demonstreras i det fatala misslyckandet att kombinera konventionellt fraktionerad strålbehandling med immunoterapi.

Kapitel I-3 ger en sammanfattning av de prekliniska studier som visar på synergien mellan strål- och immun-terapi och berett vägen för klinisk immunoterapi kombinerad med ultrahypofraktionerad strålterapi.

Kapitel I-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.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Kapitel I-1

Prolog

I-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 (Bauréus-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 strålbehandling.

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).

I-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 I-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 I-1-1 ansluten till mikrovågs utrustningen behandlades patienter med lokala bröstcancer recidiv (Nilsson et al., 1982b, Nilsson and Persson, 1985). Patient behandlingen 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 immunsvär.

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 bröst-cancer 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 hypertermi-behandling för lokal kontroll få klinisk betydelse (Peeken et al., 2017).

I-1.3 Immunoterapi med tumörvaccin i kombination med strålning

Graf och medarbetare genomförde 2003 immunisering genom s.c. injektion av bestrålade syngena tumörceller 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 hjärntumöribärande 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 egna 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.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

I ett försök år 2001 inokulerades 5000 N29 tumörceller i hjärnan på Fischer 344 råttor som arrangerades i grupper enligt Tabell I-1-1.

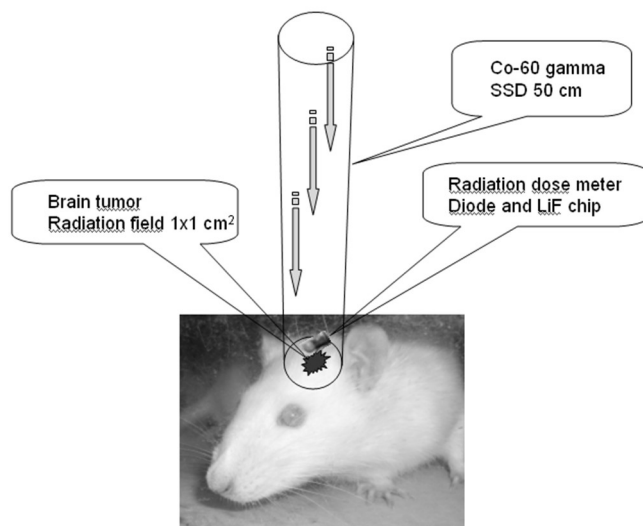
Tabell I-1-1

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 I-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 (med 70 Gy) syngena IFN γ -utsöndrande N29-celler. Vaccineringen av djuren upprepades efter 14 och 28 dagar. När dagliga observationer visade tecken på symptom på växande tumörer blev deras hjärnor histopatologiskt undersökta.



Figur I-1-2

Bestrålning av

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

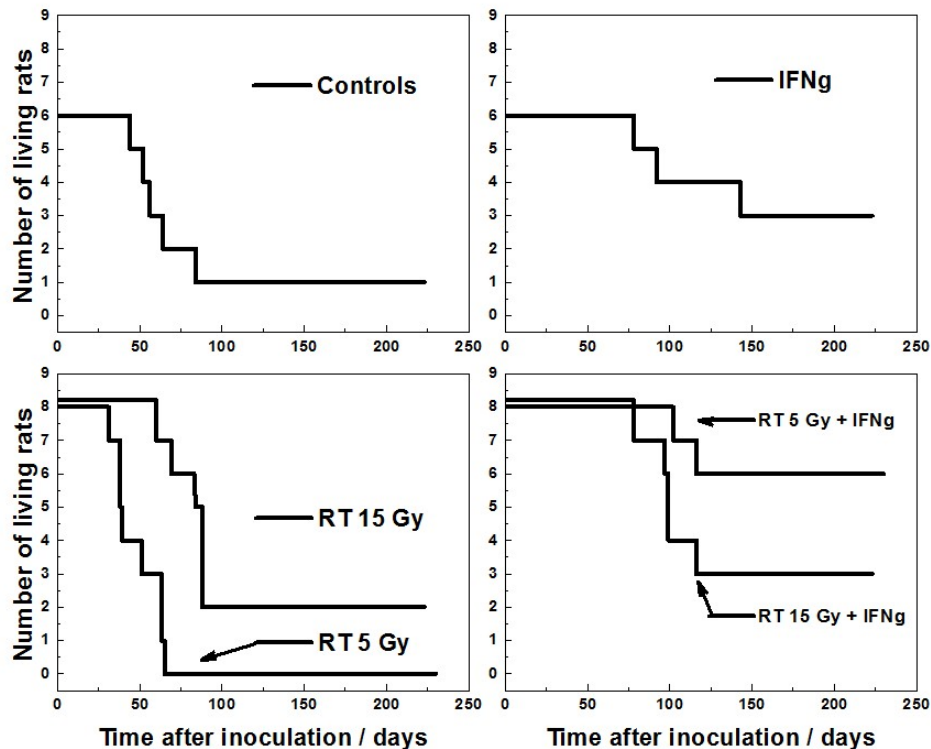
Med

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 resekerades och vägdes.

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



Figur I-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).

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 vid "Society of Neuro Oncology" årsmöte 2003 i Keystone USA (Persson et al., 2003).

Persson, och medarbetarna, Catrin Bauréus-Koch, Gustav Grafström, Per Engström, Arne Brun, Bengt Widegren, och Leif G.Salford, presenterade 2003 den terapeutiska effekten av strålbehandling i kombination med immunisering med syngena IFN-gamma-utsöndrande tumörceller på N29- och N32-hjärntumörer implanterade subkutant på flanken eller i hjärnan hos Fischer 344-råttor (Persson et al., 2003).

Syftet var att studera den terapeutiska effekten av strålbehandling i kombination med intraperitoneala injektioner av syngena interferon-gamma-utsöndrande tumörceller för att förstärka immunreaktionerna mot N29- eller N32-gliomtumörer implanterade antingen subkutant (endast N29) eller i hjärnan (Caudate Nucleus) hos Fischer 344-råttor (Persson et al., 2003).

Några anslag för att styrka upptäkten av Synergien mellan Strål- och Vaccin-behandling beviljades emellertid inte (Luk 4:24; Joh 4:44). Så resultaten hamnade i byrålådan!

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

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

I-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/fr.) ges dagligen tills en hög måldos (60 till 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 och sammanfatta 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 immun-kontrollpunkts 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 av synergien mellan strål- och immun-terapi, kan också öppna upp möjligheten för minska sannolikheten för biverkningar och recidiv.

I-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., 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, 305.
- 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.
- 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.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

- 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.
- Roszman, T., Elliot, L. & Brooks, W. 1991. "Modulation of T-cell function by gliomas." *Immunol Today* (12):37
- Salford, L. G., Siesjö, P., Skagerberg, G., Rydelius, A., Blennow, C., Lilja, Å., Persson, B. R. R., Strömlad, 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.

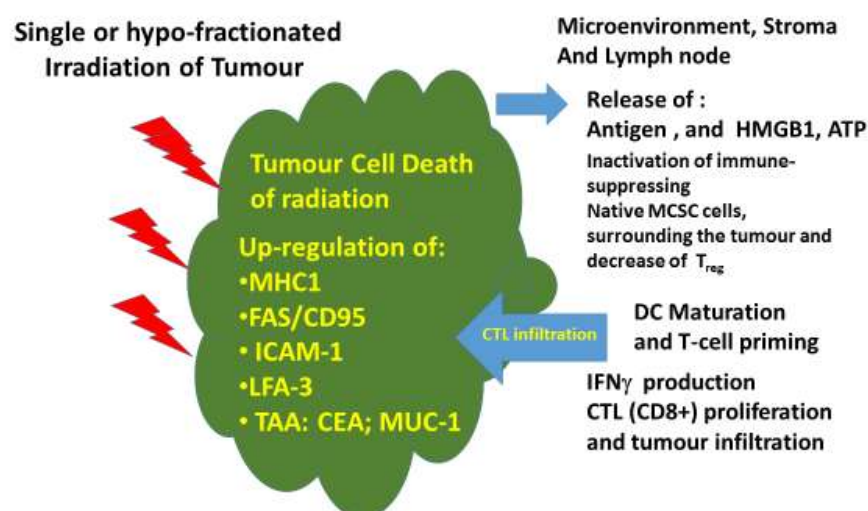
Kapitel I-2

Samspelet mellan strålterapi och immunrespons

I-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 (CTL) i mikromiljön försöker hämma tillväxten och utvecklingen av cancerceller.

En enkel fraktion strålning (6 till 8Gy) 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 I-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.

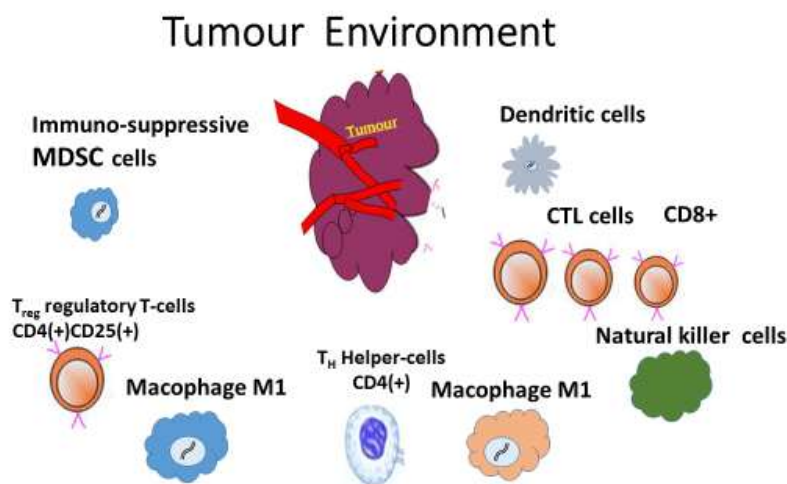
Dendritiska celler är närvarande, men deras mognad till effektiva antigenpresenterande celler hämmas av vaskulär endotel tillväxtfaktor (VEGF) från tumör och stromal sekretion, samt interleukin-10 och TGF- β .

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 I- 2-2

Celler i Tumörens mikromiljö

I-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 immuno-suppressiva effekter. Medan låg absorberad dos (5–8 Gy/fraktion) ger förut-sättningar för immunologisk död med lägre immunosuppression.

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 passera genom strålfältet.

Konventionell fraktionerad strålterapi á 2 Gy/fr. 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 antigen 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 tumorspecifikt immunsvär.

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

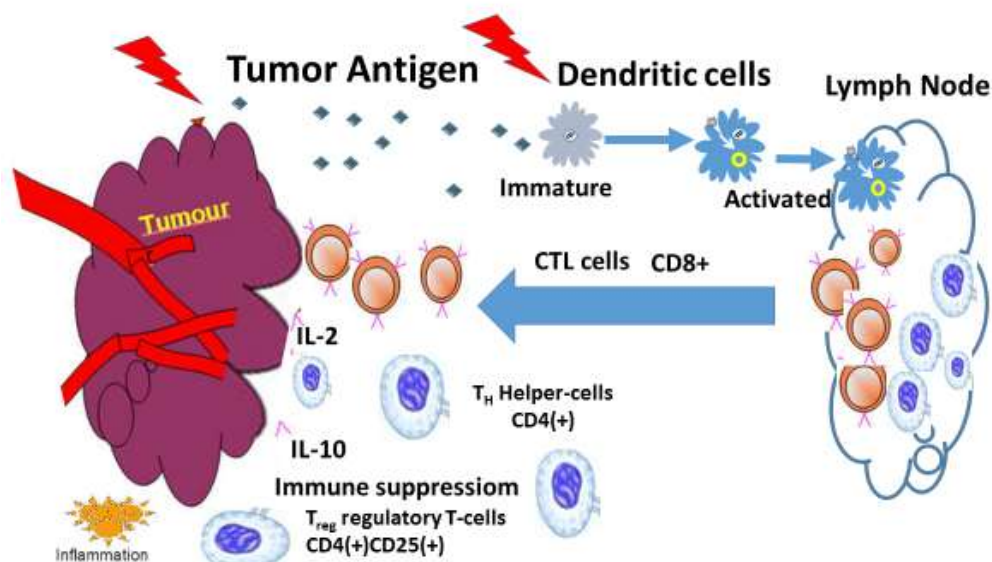
Hyperfraktionerad strålbehandling gynnar immunologiska effekter som kan förstärkas med effektiv immunoterapi. Dessa mekanismer involverar upp- eller nedreglering av membranmolekyler, såsom PD-L1, HLA-klass-I, CD80/86, CD40, CD47 och Fas/CD95, vilka spelar en viktig roll i

immunkontroll-punktsvägar och ökat cytokinuttryck (t.ex. Interferon $\text{INF}\alpha, \beta, \gamma$, $\text{IL}1, 2$ 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 I-2-3

Strålningens effekter på tumörens mikromiljö.

Emellertid överväger mestadels tumörens immunosuppressiva egenskaper vilket ofta eliminerar effekten av enbart 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 tumören och dess omgivning.

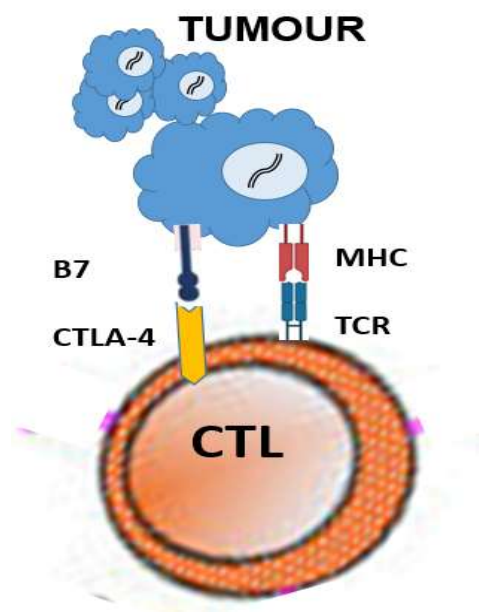
I-2.3 Cancer immunoterapi

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 I-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 I-2-5 visas hur blockering av CTLA-4 interaktionen med anti-CTLA-4 monoklonala antikroppar kan användas för behandling mot tumörer.



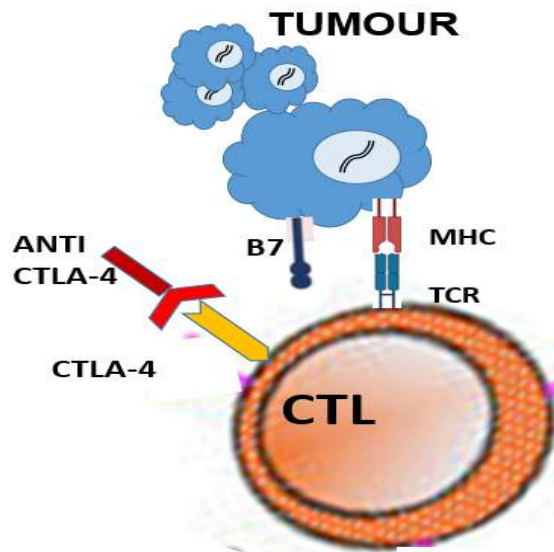
Figur I-2-4

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 värdens egna vävnader och celler förhindras

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

Figur I- 2-5

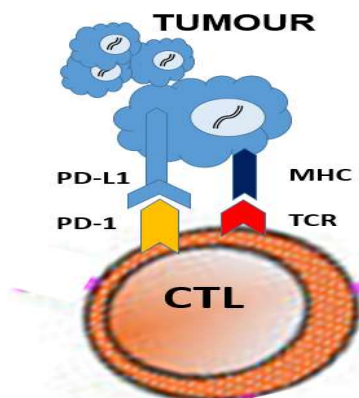
Terapeutiska insatser mot olika typer av tumörer genomförs genom blockering av CTLA-4 /B7 interaktionen med anti-CTLA-4 monoklonala antikroppar.



Programmerade celldödsreceptorn-1 (PD-1) är en annan viktig immun-modulator. 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).

Då PD-1 binder till den endogena liganden PD-L1 på cancercellen eller någon annan cell, undertrycks immun-svaret 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 I-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 I-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 I-2-7 visar blockering av PD-1 eller PD-L1 interaktionen med monoklonala antikroppar.

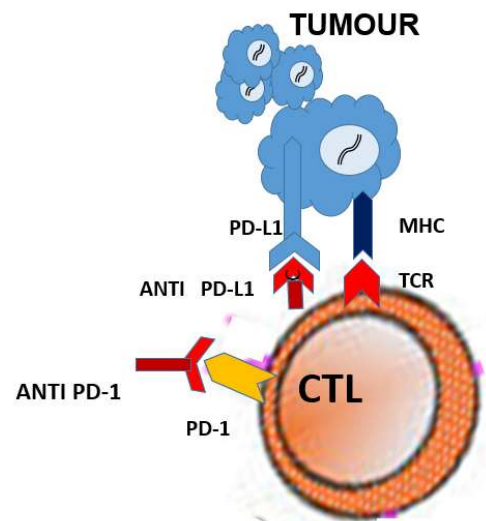
PD-L1 liganden uttrycks emellertid också i antigenpresentrande celler vilket kan påverka T cellernas respons och tumörens möjlighet att överleva (Kleffel et al., 2015, Wen et al., 2024). Det är således viktigt att överväga valet av läkemedel för optimalt respons.

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

Figur I-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.

I-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).

I-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., Ellassaiss-Schaap, J., Algazi, A., Mateus, C., Boasberg, P., Tume, 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., Kouloulas, 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 I-3

Prekliniska försök

I-3.1 Prekliniska 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 lungmetastastbildning.

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 strålterapiens förmåga att verka i synergi med immunoterapi.

TSA-bröstkarcinom celler från mus injicerades subkutant 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
- 9H10 monoklonal antikropp mot CTLA-4.
- 5 Strålbehandling 20 Gy $\times$ 1 fraktion + antikropp mot CTLA-4
 - 6 Strålbehandling 8 Gy $\times$ 3 fraktioner + antikropp mot CTLA-4
 - 7 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, och 7 med kombinationen av strålbehandling och (9H10)antikroppen mot CTLA-4 observerades signifikant ($p < 0,0001$) regression av de primära tumörerna.

I grupperna 6 och 7 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 6 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 immunkompartiment som i kombination med strålbehandling inducerar regression av resistenta 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 samt 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 resistenta tumörer svarar på kombinationen av RT och CTLA4i, vilket indikerar behovet av att rikta in sig på olika immunkompartiment (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 immunchekpoint-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).

I-2.2 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 abскопala effekten, behandlades C57BL/6hPD-1 knock-in möss, som hade två syngena kontralaterala MC38 murina koloncancertumörer, med följande fyra olika strålbehandlingsregimer:

En engångsdos á 20 Gy ($20 \text{ Gy} \times 1$ fraktion),

1. 3 fraktioner á 8 Gy ($8 \text{ Gy} \times 3$ fraktioner med en fraktion per dag),
2. 15 fraktioner á 2 Gy ($2 \text{ Gy} \times 15$ fraktioner), 30 Gy totalt
3. 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 abскопala 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.

I-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 immunsvaret 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 Wilmstumor-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 kemoterapirefraktär terminal cancer. Speciellt kan terapi med dubbeldendritisk cellvaccin med WT1 och α -galaktosylceramid pulserade dendritiska celler ge en antitumörimmuneffekt som är överlägsen den för respektive monoterapi (Nagai et al., 2024).

I-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.

I-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., Dewynngaert, 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.
- Hovhannisyan, L., Riether, C., Aebersold, 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, Wm'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 I-4

Kliniska försök med kombinerad Immuno-Strål-Terapi

I-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 à 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 Avelumabgruppen och
- 14,8 månader (11,6–18,8) i placebogruppern.

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 strålterapi-regim. 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 mukositis, 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 immunsvär 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. Intratumoral 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 I-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 tumörränerande lymfkörtlarna (TDLN) (Lee et al., 2021).

II-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- urologiska (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 behandlings grupperna, 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 tarmtoxicitet mellan de två behandlingsgrupperna vid någon tidpunkt efter strålbehandling. Dock noterades en ökning av urintoxicitet i ultrahypo-fraktioneringsgruppen 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 ultrahypo-fraktioneringsgruppen mot 12 [5 %] av 249 för den konventionella fraktionerings gruppen 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 behandlings-scheman (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: $5 \times 5\text{Gy}$ på 5 dagar alternativt med konventionell fraktionerad CFRT: $28 \times 1.8\text{Gy}$ 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: $5 \times 5\text{Gy}$ ($n = 22$) respektive konventionell strålterapi CFRT: $28 \times 1.8\text{Gy}$ ($n = 40$). 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: $5 \times 5\text{Gy}$ ($p = 0,004$) associerad med förbättrad patologisk tumör regression ($p = 0,003$) jämfört med CFRT: $28 \times 1.8\text{Gy}$.

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

Patienter som genomgick hypofraktionerad HFRT: $5 \times 5\text{Gy}$ visade signifikant ($p = 0,02$) lägre procentandelar av regulatoriska CD4 $^{+}$ /CD25 $^{+}$ T-celler.

Resultaten visar att hypofraktionerad HFRT: $5 \times 5\text{Gy}$ 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: $28 \times 1.8\text{Gy}$ (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 lymfototoxicitet och begränsar även de immunsuppressiva 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 cancerpatienter. Detta enligt en Lancet Onkologi Kommission ledd av Internationella atomenergiorganet (IAEA).

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

I-4.3 Immunoterapi och Hypofraktionerad strålterapi

Ahmed, och medarbetare presenterade år 2013 en översikt över strålningsinducerade 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 celldöd.

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, Lumnitzky 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 ultrahypo-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 strålterapischeman 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).

I-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 à 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-radioterapiskema 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 strålterapiskeman i denna grupp NSCLC-patienter.

I-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., Dese, 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., Kouloulas, 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., Kouloulas, 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., Björnlinger, 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.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Kapitel I-5 Epilog

I-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 erhöjls 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.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

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 á 5-8Gy och mikrovågs inducerad hypertermi skulle medföra ytterligare förbättringar i kombination med immunoterapi (Logghe et al., 2024).

I-5.2 Referenser

- Filippatos, K., Koukourakis, I. M., Anevllavis, 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.

Synergi mellan strål- och immun-terapi

En ny generation av tumör terapi

Mekanismer bakom synergien mellan strål- och Immun-Terapi

1. Ökad presentation av tumören

Tumörceller kan efter bestrålning med > 4 Gy producera Neo-antigen som uttrycker nya signalmolekyler på MHC-I, vilket gör det lättare för T-celler att upptäcka tumören,

2. Frisättning av tumörantigen

När strålning skadar cancer celler frigörs tumörfragment och antigener som immunsystemet kan känna igen.

3. Immunstimulering

Strålning skapar DAMP ”ät mig signaler” som lockar till sig immunceller, särskilt Dendritiska celler och T-celler.

4. Immunsuppression

Bestrålning av tumören med fraktioner < 10 Gy minskar populationen av de starkt immunsuppressiva MDSC cellerna som gör det svårare för T-celler att infiltrera tumören.

5. Tidsspann och Immunterapi

Genom att införa ett tidsspann mellan strålfractionerna (Intermittent strålterapi) hinner de strålningsinducerade molekyllära processerna utvecklas och ger dessutom utrymme för Adjuvant Immunterapi mellan strålfractionerna.

6. Abskopal effekt

Intermittent strålbehandling (6-9 Gy/fr.) leder till krympning även av metastaser utanför det bestrålade området.

Ett förenklat biologiskt schema

Intermittent Strålning i enstaka fraktioner (6-9 Gy/fr.) orsakar:

Bildning av Neo-antigen → Tumörcellsöd → antigenfrisättning → T-cellsaktivering.

Immunterapi: Anti-CTLA4 som tar bort “bromsarna” på T-cellerna
Tillsammans med antiPD1/PDL1 som ger

tumörigenkänning + starkare T-cellsrespons

Farmaka för kontrollpunkts immunterapi (ICI)

- Pembrolizumab: Anti-PD1
- Nivolumab: Anti-PD1
- Ipilimumab: Anti-CTLA4
- Durvalumab: Anti-PDL1

Diagnoser med Särskilt stark evidens för syngen strål-ImmunoTerapi:

- icke-småcellig lungcancer
- melanom
- njurcancer
- huvud-halscancer (ev. med kirurgi)
- vissa CNS-tumörer och metastaser

Stor potential för tumörer som traditionellt svarar dåligt på immunterapi

- prostatacancer
- pankreascancer
- glioblastom

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

***Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi:
Nästa generation av tumörbehandling?***

Del II

**Pre-kirurgisk intermittent
strålbehandling med immunterapi**

Bertil RR Persson

Kapitel II-1

Prolog till Pre-Kirurgisk Intermittent Strålbehandling i kombination med Immunterapi

II-1.1 Mikrovågs Hypertermi och strålbehandling 1980 – 1990

Som professor i Medicinsk Radiofysik och chef för Sjukhusfysiken vid Lunds universitetssjukhus var det nära samverkan med onkologi och strålterapi.

En av mina radiofysik doktorander Per Nilsson visade tillsammans med onkolog läkaren Lisa Kjellén intresse att pröva om en kombination av mikrovågs inducerad hypertermi och lågdos strålbehandling (30 Gy) skulle kunna användas för behandling av bröstcancer recidiv (Persson, 2025).

Med en speciell mikrovågs-applikator behandlades i en pre-klinisk studie tumörer implanterade på flanken av möss. Efter att det visat sig att tumörerna försvann hos möss som behandlats med en kombination av hypertermi och strålbehandling utvecklades metoden till behandling av patienter. Med en vågledare applikator ansluten till egen-utvecklad mikrovågs utrustning behandlades tumörer lokalt på patienter med bröstcancer recidiv (Nilsson and Persson, 1985, Nilsson et al., 1982).

I samarbete med docenten Torsten Landberg i Lund och onkologläkaren i Malmö Claes-Ebbe Lindholm startades en klinisk studie med hypertermi behandling av patienter med återkommande tumör på bröstkorgen s.k. recidiv,

vilka var svåra att behandla eftersom patienten redan fått full konventionell strålbehandling med total absorberad dos på ca. 60 Gy (Lindholm et al., 1982).

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



Figur II- 1-1

På Forskningens dag 1983, står jag vid min presentation inför H.M. kung Carl XVI Gustav.

Till höger i bild skimtar kontrollpanelen till vår egen-utvecklade hypertermi utrustning med IMSAI datorn.

I vänster hand håller jag applikatorn för behandling av patienter.

Vid presentationen på forskningens dag 1983 deltog också neurokirurgen Leif G Salford som för både HM kungen och drottningen presenterade sin idé att behandla hjärntumörer (Gliom) med magnetiska partiklar laddade med cytostatika



Figur II-1-2

Bredvid mig vid presentationen på forskningens dag 1983 stod neuro-kirurgen Leif G Salford som för H.M. kungen och drottningen presenterade sin idé om att behandla hjärntumörer (Gliom) med magnetiska partiklar.

Det visade sig att Leif och jag hade många gemensamma intressen och detta kungliga sammanträffande blev början till ett långt och fruktsamt forsknings samarbete.

II-1.2 “Brain Immune Gene Tumour Therapy” (BRIGTT).

Professorn i Neurokirurgi Leif G, Salford vid Lunds Universitet initierade vid millennium-skiftet 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).

En vaccinationsregim som förstärker effektor funktionerna hos aktiverade cytotoxiska T-celler (CTL) och samtidigt ökar antalet lymfoida celler antogs kunna ge en effektiv terapi mot hjärntumören malignt gliom (GBM).

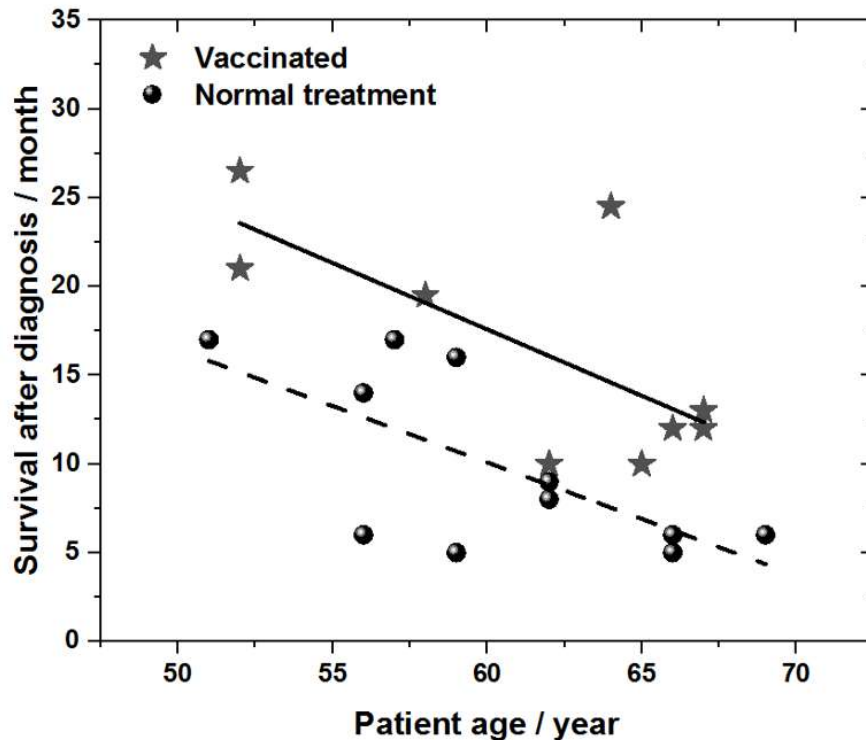
Ett specifikt tumörvaccin framställdes baserat på tumörceller som extraherades ur tumörvävnad från de gliom-patienter Salford opererat. Efter separation av tumörcellerna, transfekterades de med ett Adenovirus som hade genetisk information för produktion av humant interferon-gamma (IFN γ). Med min medverkan bestrålades de transfekterade cellerna med gammastrålning så att tumörcellerna inte skulle kunna föröka sig efter att 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.

Till patienter som fått tumör recidiv administrerades de med sitt personliga tumörvaccin under huden på armen för aktivering av immun-systemet och produktion av specifikt aktiverade tumör dödande T-lymfocyter (CTL). Dessa passerar genom blod-hjärnbarriären in i hjärnparenkymet där de skulle eliminera både tumör-recidiv 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 nio patienter, mellan 50 och 69 år, som tidigare programenligt behandlats med kirurgi och konventionell strålbehandling utan biverkningar eller toxicitet. De immuniserades mellan 8 och 14 gånger med sitt personliga tumörvaccin. Neurologisk status och livskvalitet var oförändrad under immunterapin. I studien ingick även en kontrollgrupp på elva gliom-patienter som endast primärt hade behandlats programenligt med kirurgi och standard strålbehandling.

För gruppen av de patienter som immuniserades med sitt personliga vaccin blev den totala median-överlevnads tiden 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 tidigare behandlats på samma klinik i Lund under samma period och med andra kontrollgrupper inom samma ålderskohort (Salford et al., 2022).



Figur II-1-3.

Överlevnad efter diagnos hos nio gliompatienter behandlade med vaccination efter tidigare behandlats med kirurgi och efterföljande standard strålbehandling samt med och 11 patienter som endast behandlades med kirurgi och efterföljande strålbehandling enbart (Salford et al., 2022)..

Regressionsformler:

Överlevnad (månader) vaccinerade = $62 - 0,75 \times \text{Ålder}(\text{år})$

Överlevnad (endast normalt behandlade) = $46 - 0,64 \times \text{Ålder}(\text{å})$ (streckad linje)
(Salford et al., 2022).

Roszman och medarbetare visade emellertid att eliminering av alla gliomtumör celler inte sker ens då 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 (Lindholm et al., 1982).

II-1.3 Strålning i kombination med tumörvaccin

I Lund startade sålunda en studie av strålterapi kombinerad med vaccin av interferon-gamma utsöndrande syngena tumörceller. Försöken började år

2001 med den tumörmodell som använts vid den prekliniska forskning som låg till grund för Salfords kliniska BRIGTT-studie som refererats ovan (Persson et al., 2003).

Försök genomfördes med intracerebrala tumörer på 44st Fischer-344 råttor som inokulerats i hjärnan med 5000 N29 tumörceller. Råttorna arrangerades i 6 grupper som visas i Tabell II-1-1.

Tabell II-1-1

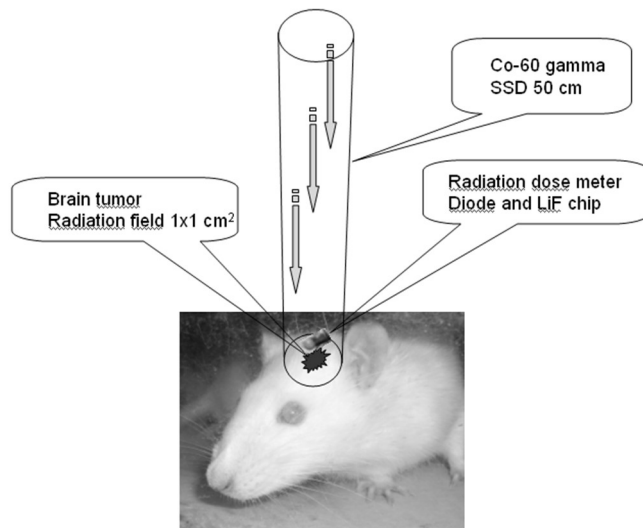
Djuren med intracerebrala tumörer arrangerades i följande grupper:

Gruppnummer	Behandling	Antal djur
B1	Kontroller utan behandling	6
B2	Strålning en fraktion 5 Gy	8
B3	Strålning en fraktion 15 Gy	8
B4	Immunisering med vaccin 3 gånger	6
B5	Strålning 5 Gy + Immunisering	8
B6	Strålning 15 Gy + Immunisering	8

En vecka efter inokuleringen då djuren utvecklat intracerebrala tumörer bestrålades de med en enda fraktion, såsom visas i figur II-1-4,. Den absorberad stråldosen var antingen 5 eller 15 Gy mätt med ett TLD-chip placerat bredvid tumören under en fältbolus.

Inom en timme efter strålbehandlingen skedde immunisering av djuren i grupperna B5 & B6 med i.p. injektion av tre miljoner strålsteriliserade (70 Gy) syngena IFN γ -utsöndrande N29-celler. Vaccineringen av djuren upprepades även 14 och 28 dagar efter bestrålningen.

Djuren observerades dagligen med avseende på symtom av växande tumör och avlivades då de var starkt påverkade av växande tumör. Tumören resekerades och undersöktes histopatologiskt med avseende på infiltrerande lymfocyter.



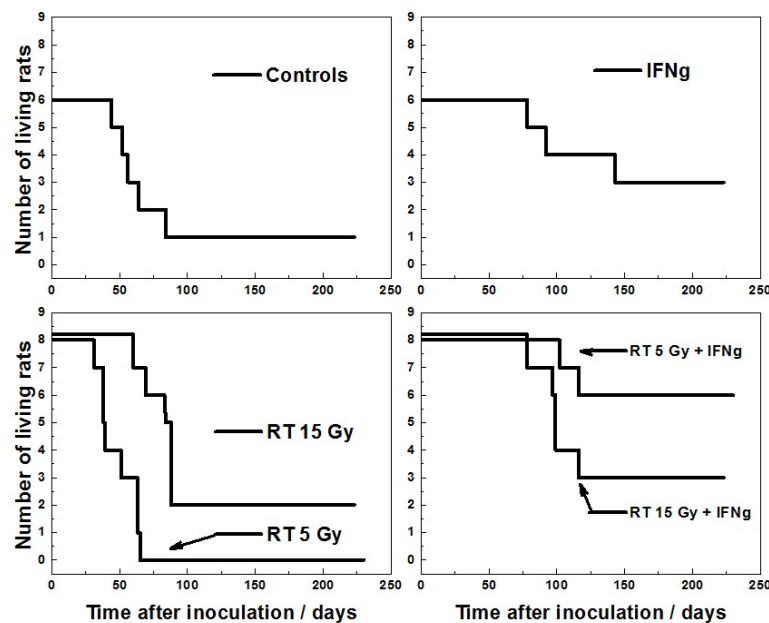
Figur II-1-4

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

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

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

I **Figur II-1-5** visas diagram av antal överlevnande efter inokuleringen (vid tiden = 0) av råttor i de olika grupperna med olika behandling och kontroller utan behandling.



Figur II-1-5

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

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

- Av kontrollerna utan behandling överlevde en av 8, vilket var extremt ovanligt.
- Immunterapi utan strålning: 2 av 6 behandlade djur överlevde (ca 33%).
- Enbart strålbehandling en gång med 5 Gy resulterade inte i några överlevare,
- Strålbehandling med 15 Gy resulterade i att 2 av 8 djur överlevde (ca 25%).
- Immuniseringsterapi 3 gånger kombinerat med 15 Gy strålterapi resulterade i att fem av åtta överlevde (63%)
- Immuniseringsterapi kombinerat med 5 Gy resulterade i att sex av åtta behandlade djur överlevde (ca.75%).

Strålbehandling med endast en fraktion strålning med 5 Gy kombinerat med immuniseringsterapi gav ett överraskande resultat som ingen annan tidigare behandlingsform av maligna gliom hade uppnått.

Resultaten från upptäkten av *Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi* presenterades vid "Society of Neuro Oncology" årsmöte 2003 i Keystone USA (Persson et al., 2003).

Persson, och medarbetarna, Catrin Bauréus-Koch, Gustav Grafström, Per Engström, Arne Brun, Bengt Widegren, och Leif G. Salford, presenterade 2003 den terapeutiska effekten av strålbehandling i kombination med immunisering med syngena IFN-gamma-utsöndrande tumörceller på N29- och N32-hjärntumörer implanterade subkutan på flanken eller i hjärnan hos Fischer 344-råttor (Persson et al., 2003).

Syftet var att studera den terapeutiska effekten av strålbehandling i kombination med intraperitoneala injektioner av syngena interferon-gamma-utsöndrande tumörceller för att förstärka immunreaktionerna mot N29- eller N32-gliomtumörer implanterade antingen subkutan (endast N29) eller i hjärnan (Caudate Nucleus) hos Fischer 344-råttor (Persson et al., 2003).

Antalet djur i studien bedömdes emellertid vara alltför liten för att upptäkten skulle kunna användas i någon doktorsavhandling. Men några anslag för att styrka effekten av intermittent hypo-fraktionerad strålbehandling i kombination immunterapi och fortsatta studier med upprepade fraktioner beviljades inte heller (Luk 4:24; Joh 4:44). Så resultaten hamnade i byrålådan!

Liknande observationer gjordes emellertid samtidigt av andra forskare.

Graf och medarbetare presenterade 2002 resultaten av 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 medförde dock inte någon botande effekt utan verkade istället förstärka tumörprogression (Graf et al., 2002).

De fann emellertid att kombinationen av immunisering och 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 strål-behandling kombinerad med cellulär vaccination.

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

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

Hjärntumörbärande möss med olika cytokinproducerande vacciner, framställda genom *in-vitro-transfektion* av GL261 musgliom-celler med olika adenovirala vektorer (IL-4, IL-6, IL-7, GM-CSF, TNF γ , LIF, LT). De vacciner som producerade IL-4 eller GM-CSF visade sig eliminera 20-40 % av tumörerna hos mössen.

Genom att kombinera lokal tumörbestrålning och vaccination med 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 ensamt 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 högradigt gliom när den appliceras som adjuvans till befintliga

behandlingsmodaliteter såsom strålterapi (Graf et al., 2002, Lumnitzky et al., 2002).

Efter att jag 2005 blivit emeritus professor presenterades emellertid resultaten från Lunda studien i tidskriften ”*Radiation Research*” med benäget bistånd från Silvia C. Formenti, och Sandra Demaria i USA som deltog i ESTRO mötet i Göteborg 2008. Där presenterade dom resultaten av immunförmedlad hämning av bröstcancer metastaser med lokal strålbehandling kombinerad med CTLA-4-blockad, alternativt vaccination (Demaria et al., 2005, Newcomb et al., 2006, Persson et al., 2010).“

Lunda studien blev även uppmärksammas vid “The *International Conference on Biomedical Engineering and Informatics*” (BMEI 2008) i Sanya, Hainan, China (Persson et al., 2008).

II-1.4 Nästa generations tumörbehandling?

Nu efter 20 år har Intermittent-Hypofraktionerad Strålterapi med en fraktion per vecka i kombination både med hypertermi (iRHT) eller ICI-immunterapi (iRIT) framgångsrikt prövats kliniskt på patienter som efter genomgången konventionell terapi fått återkommande tumörer (dock inte gliom) (Notter et al., 2020, Koukourakis et al., 2023, Filippatos et al., 2023).

Denna prolog är kapitel 1 till del II av ”***Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumör-behandling ?***” som följs av följande kapitel:

I kapitel II-2 diskuteras Pre-Kirurgisk Intermittent Strålbehandling med Immunterapi ψ RIT

I kapitel II-3 diskuteras Pre-Kirurgisk Strålbehandling och Immunterapi av tumörer i CNS.

I kapitel II-4 diskuteras Intermittent Strålbehandling med Immunterapi och Hypertermi.

I kapitel II-5 diskuteras dynamisk Elektro Puls Terapi med och utan strålterapi i kombination med immunterapi och hypertermi

II-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, 48-54.
- 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., - 728-34.
- 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, 5083.
- 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, 179-189.
- 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, 3032-3041.
- 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, 241-254.
- 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, 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, 4730-7.
- Nilsson, P. & Persson, B. 1985. Computer controlled microwave system for clinical hyperthermia. *Physics in Medicine and Biology*, 30, 283-292-292.
- Nilsson, P., Persson, B., Kjellén, E., Lindholm, C. E. & Landberg, T. 1982. Technique for microwave-induced hyperthermia in superficial human-tumors. *Acta Radiologica Oncology*, 21, 235-239.
- Notter, M., Thomsen, A. R., Nitsche, M., Hermann, R. M., Wolff, H. A., Habl, G., Münch, K., Grosu, A.-L. & Vaupel, P. 2020. Combined wIRA-Hyperthermia and Hypofractionated Re-Irradiation in the Treatment of Locally Recurrent Breast Cancer: Evaluation of Therapeutic Outcome Based on a Novel Size Classification. *Cancers*, 12, 606.
- Persson, B. R. R. 2025. A story about combining Hyperthermia with radiotherapy. *Acta Scientiarum Lundensia, ISSN 1651-5013*, 2025, 1-22.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

- 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, 305.
- Persson, B. R. R., Koch, C. B., Grafstrom, G., Ceberg, C., Af Rosenschold, P. M., Nittby, H., Widegren, B. & Salford, L. G. 2010. Radiation Immunomodulatory Gene Tumor Therapy of Rats with Intracerebral Glioma Tumors. *Radiation Research*, 173, 433-440.
- Persson, B. R. R., Koch, C. B., 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*, 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*. Rijeka: IntechOpen.
- Salford, L. G., Group, BRIGGT. & 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- γ gene. *Neuro-Oncology*, 4.
- 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- γ gene. *The 2nd International Mt. BANDAI Symposium for Neuroscience 2001*. Yatsuyamada Koriyama-City, Fukushima 936-8563 Japan: Southern Yohoku Research Institute for Neurosciences.

Sammanfattning av Kapitel II-1

Kapitel II-I är en historisk och vetenskaplig prolog till konceptet: **Intermittent Strålbehandling med Immunterapi (iRIT)**, baserad 1980-talet's försök med kombinationer av strålbehandling med hypertermi på patienter och 2001år's upptäkt av **Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi vid** försök med tumörvaccination vid gliom på råttor.

Hypertermi och strålbehandling (1980–1990) visade att effekten av strålbehandling förstärks vid kombination med hypertermi.

Vid millennieskiftet startades den kliniska studien: **BRIGTT (Brain Immune Gene Tumour Therapy)**. Tumörceller från opererade gliom-patienter isolerades och transfekterades med en gen för **interferon-gamma (IFN- γ)**. Cellerna bestrålades för att förhindra vidare celledelning och användes för att vaccinera patienterna upprepade gånger med sina egna modifierade tumörceller. Studien visade att immunterapi med vaccin kan förlänga överlevnaden vid glioblastom, men att den inte ensamt eliminerar tumören helt.

Eftersom immunterapi ensam inte var tillräcklig undersöktes kombinationer av tumörvaccin med strålbehandling i samma råttmodell som använts vid utvecklingen av BRIGTT vaccinet.

Råttor med intracerebrala gliom behandlades med en kombination av strålning + tumörvaccin

Vilket resulterade i:

~75 % överlevnad med 5 Gy strålning + immunisering:

~63 % överlevnad med 15 Gy strålning + immunisering:

Det mest överraskande fyndet var att **en enda fraktion med**

låg stråldos (5 Gy) i kombinerad med vaccination gav bäst effekt.

Detta tyder på att strålning kan:

- Minska tumörens immunhämmande mekanismer
- Göra tumören mer immunologiskt synlig genom bildning av neoantigen
- Samverka med T-cellsaktivering typ vaccinering med kroppsegna tumörceller

Liknande resultat rapporterades samtidigt av andra forskargrupper i rått- och musmodeller.

Trots lovande resultat fick forskningen inget fortsatt ekonomiskt stöd och modellen utvecklades inte vidare i Lund.

Dock har nu under senaste åren (2020-2023) andras kliniska studier visat framgång med: **Intermittent hypofraktionerad strålbehandling i kombination med immunterapi** (t.ex. PD-1-hämmare) och i kombination med hypertermi. Detta stärker hypotesen att kombinationen intermittent strålbehandling i kombination med immunterapi representerar en ny behandlingsgeneration. –

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Prologen visar hur flera decenniers forskning kring intermittent strålbehandling i kombination med hypertermi och immunterapi leder till frågan om detta - särskilt i pre-kirurgiskt sammanhang (**PSIRIT**) , är

Nästa generation av tumörbehandling?

Kapitel II-2

Pre-kirurgisk strålbehandling och immunterapi

II-2.1 Olika Fraktionerad Strålbehandling

Konventionell fraktionering (2 Gy/fr.)--Standardmetoden

Konventionell fraktionerad strålbehandling är standardmetoden med en absorberad dos kring 1,8–2 gray(Gy) en gång om dagen, 5 dagar i veckan, under flera veckor för att med upp emot 35-40 sessioner uppnå totala stråldoser i tumören kring 70-80 Gy och effektivt döda cancerceller. I mitten av behandlingen ges uppehåll så att friska vävnader får tid att reparera sig, vilket minimerar sena biverkningar.

Konventionell strålbehandling använder ett fast standardschema, i kontrast till följande mer flexibla metoder som hyperfraktionering eller hypofraktionering som syftar till att förkorta behandlingstiden eller förbättra resultaten.

Hyperfraktionering (< 1,8 Gy/fr.)

Hyperfraktionering är ett strålbehandlingsschema som ger minskad dos per fraktion till < 1,8 Gy som ofta ges med två dagliga behandlingar. Det innebär att normalvävnaden skonas förhållandevis mer än tumörvävnaden, men fler fraktioner måste ges för att komma upp i en adekvat totaldos i tumören.

Måttlig hypofraktionering (2,6–3,4 Gy/fr.)

Måttlig hypofraktionering är ett strålbehandlingsschema som ger större doser (cirka 2,4–3,4 Gy) under färre sessioner (t.ex. 20–30) jämfört med konventionella metoder, vilket minskar behandlingstiden samtidigt som man strävar efter liknande eller bättre cancerkontroll, särskilt för prostatacancer,

genom att utnyttja tumörens känslighet för högre doser. Det är numera en standardmetod, med 20 behandlingar vanligtvis till 60 Gy totalt i tumören vilket visar sig vara effektivt och säkert för lokaliserad prostatacancer och som ofta förbättrar patientens bekvämlighet och sjukvårdssystemets effektivitet.

Ultra-hypo-fraktionering (>5 Gy/fr.) UHRT

Ultrahypofraktionering är en avancerad strålbehandlingsteknik som ger högre stråldoser per behandlingstillfälle (över 5 Gy), vilket avsevärt förkortar den totala behandlingstiden (t.ex. till 1–5 sessioner med 1-2 dagars intervall mellan fraktionerna) för cancer i prostata eller bröst. UHRT-metoden erbjuder bekvämlighet, effektivitet och resulterar i långsiktiga behandlingsresultat jämförbara med konventionella metoder, ibland med mer akuta biverkningar, men med liknande sen toxicitet. Denna metod, som ofta använder SBRT (*Stereotactic Body Radiation Therapy*, eller stereotaktisk strålbehandling) vilket gynnar patienter genom snabbare återhämtning med höga nivåer av cancerkontroll, färre sjukhusbesök och potentiellt lägre kostnader för sjukvården.

Sammanfattningsvis visar en Svensk studie att Ultrahypofraktionerad strålbehandling med 6 Gy fraktioner ger varken bättre eller sämre överlevnad än konventionell fraktionerad strålbehandling för prostatacancer (Widmark et al., 2019).

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

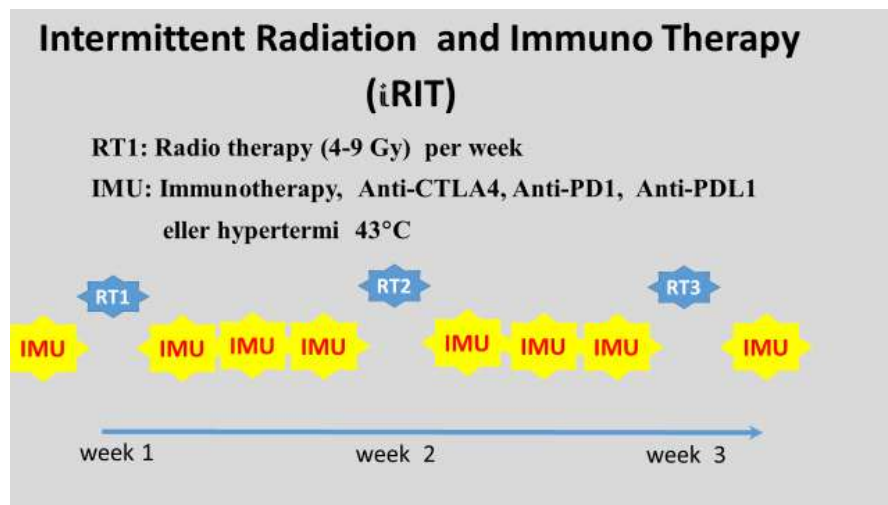
Resultaten stödjer användningen av ultra-hypo-fraktionering för strålbehandling av prostatacancer (Widmark et al., 2019).

Intermittent Ultrahypofraktionering (4-9 Gy/fr), iRT

Intermittent Ultrahypofraktionering är en strålbehandlingsteknik som innebär en tidskillnad på mer än 2 dagar mellan strålfractionerna på 4-9 Gy vars antal kan variera från en till fem fraktioner. Tidsspannet som avser att gynna strålningens immunbefrämjande egenskaper har i kliniska studier varit upp till en vecka (Koukourakis et al., 2023a).

Inom tids spannet kan ytterligare terapi åtgärder appliceras tex immunterapi med immun checkpoints hämmande läkemedel (ICI) eller andra immunstimulerande läkemedel. Även hypertermibehandling i kombination

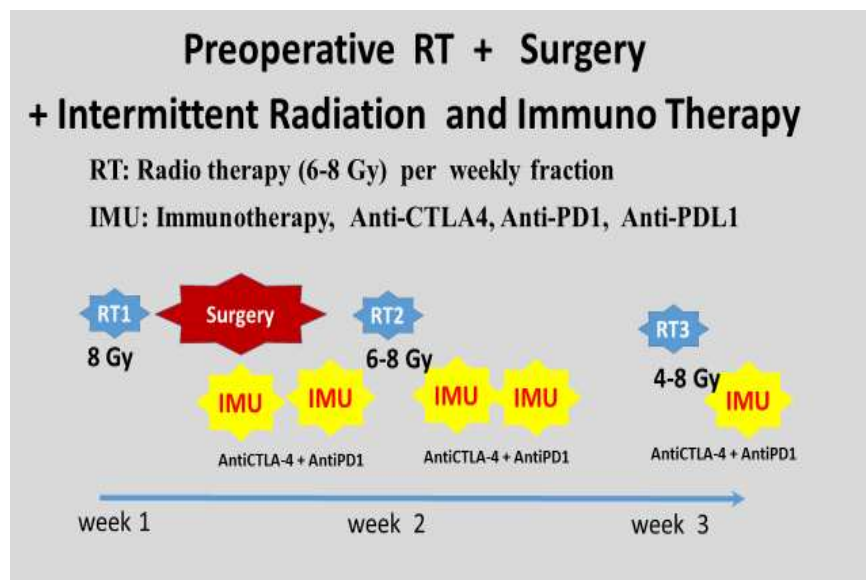
med intermittent strålterapi (iRHT) har visat sig vara framgångsrik (Notter et al., 2020).



Figur II-2-1

Intermittent Ultrahypofraktioneradstrålbehandling kombinerad med immunterapi.

I det här aktuella kapitlet behandlas bakgrunden till att kombinera intermittent strålterapi med kirurgi ca 1 vecka efter första strålfractionen och immunterapi i tidsintervallen mellan strålfractioner med succesivt reducerad dos per fraktion.



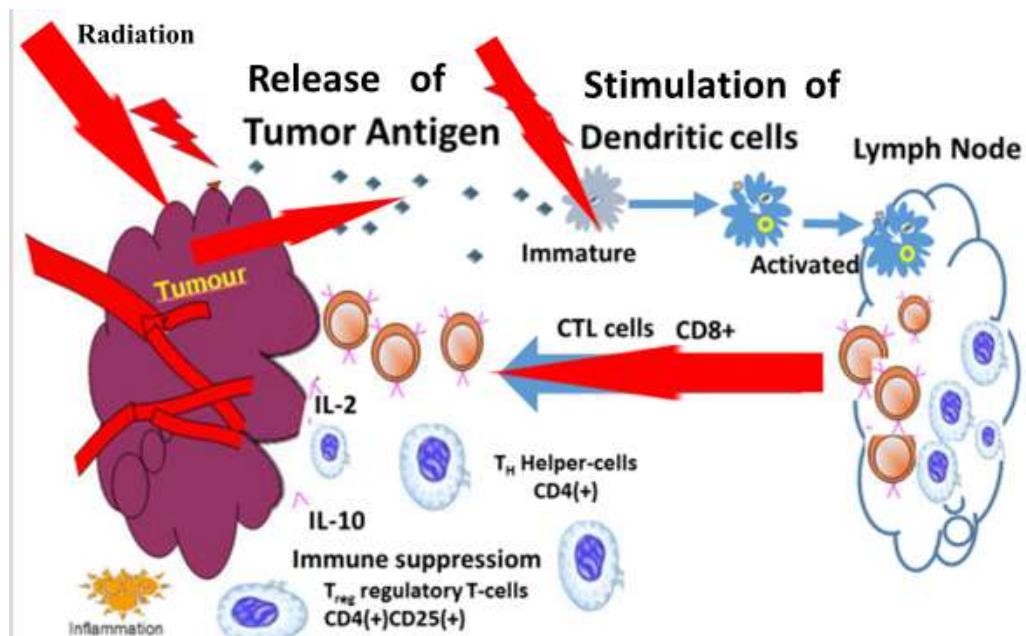
Figur II-2-2

Preoperativ iRT 4-8 Gy + kirurgi följt av intermittent strålbehandling med en 6-8 Gy veckofraktion i kombination med anti-CTLA4+AntiPD1 immunterapi i tidsintervallen mellan de veckovisa strålfractionerna verkar vara en intressant studie för behandling av immunresistenta tumörer, recidiv och metastaser

II-2.2 Primära effekter av strålning på tumörmikromiljön

Joniserande strålning producerar och frisätter många olika immun-aktiva substanser från tumörceller :

- CDAMP = *Cell Death Associated Molecular Patterns*, vilka interagerar med Toll-liknande receptorer på naiva T-celler (TLR)
- HMGB1 = "*High Mobility Group1*" är ett kärnprotein
- Frisätter adenin-trifosfat ATP
- Stimulerar mognad av dendritiska celler
- DC- dendrit celler och
- T-celler med IFN γ -produktion ökar proliferation och tumörinfiltration av CTL = Cytotoxiska leukocyter (CD8+T-celler)



Figur II-2-3 Primära effekter av strålning på tumörmikromiljön

Joniserande strålning producerar och frisätter antigen från tumörceller

CDAMP = Cell Death Associated Molecular Patterns,

vilka interagerar med Toll-liknande receptorer på naiva T-celler (TLR)

HMGB1 = "High Mobility Group1" ett kärnprotein

Frisätter adenin-trifosfat ATPS

Stimulerar mognad av

APC- Antigenpresenterade celler t.ex.

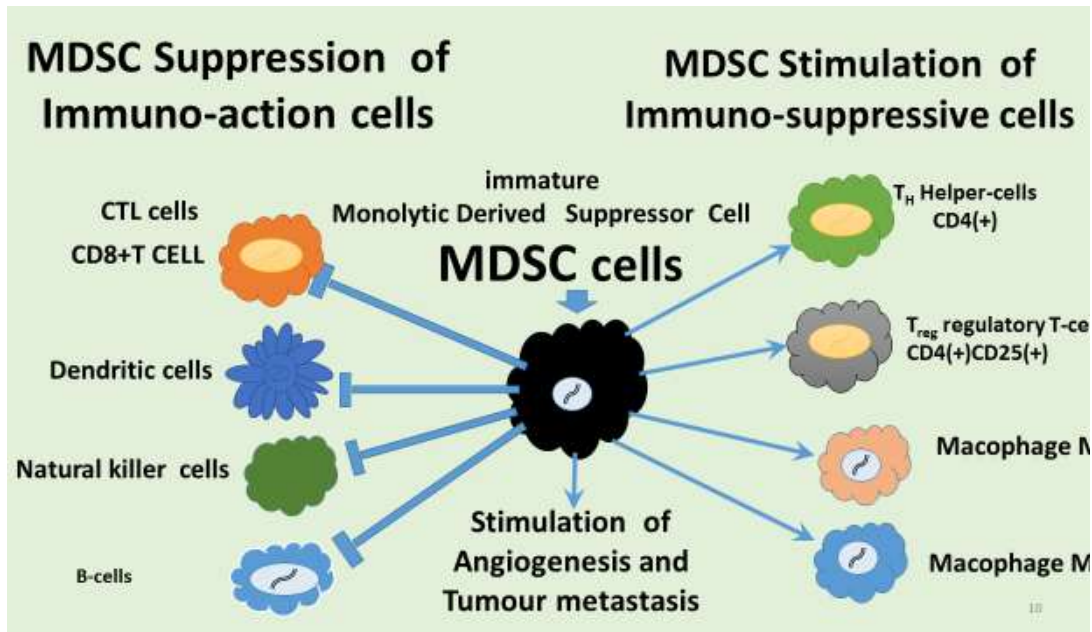
DC- dendritiska celler och

T-celler med IFN γ -produktion ökar proliferation och tumörinfiltration av

CTL = Cytotoxiska leukocyter (CD8+T-celler)

Vanligtvis överväger emellertid tumörens immunsuppressiva egenskaper, vilket ofta eliminerar effekten av T-cell Boost immunterapi.

Men intermittent strålbehandling (IRT) reducerar tumörens suppressiva egenskaper genom att redan den första strålfractionen på 8 Gy inaktiverar immunsuppressiva omogna monolytiskt härledda suppressor celler, MDSC (*monolytic derived suppressor cells*).



Figur II-2-4

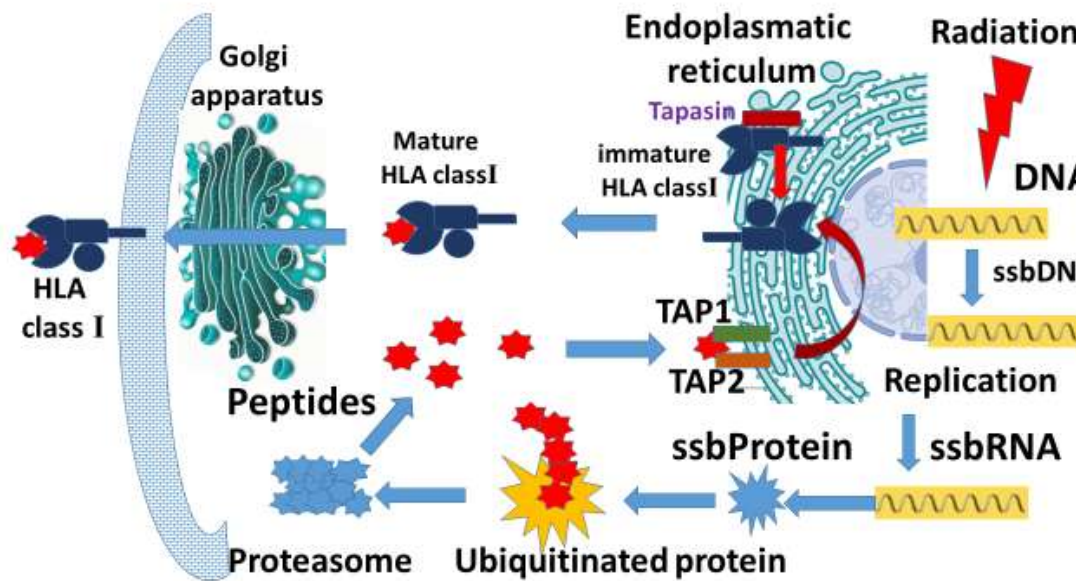
MDSC-celler kan utöva en dubbel immunsuppressiv effekt med olika mekanismer på varierande immunceller. De producerar reaktiva syre/kväve-radikaler, uttrycker Arginas och undertrycker T-cellsaktivering genom olika vägar.

Strålningsinducerade neo-antigener

Strålskador på DNA t.ex. enkelsträngsbrott, (*single strand break*, ssb) som inte lagas korrekt kan leda till mutationer, vilka i sin tur kan producera förändrade proteinsekvenser som fungerar som nya antigen (neoantigen).

De förändrade proteinerna i cytoplasman märks med Ubiquitin och bryts ned av proteasomer till korta peptider. Peptiderna transporteras in i endoplasmatiskt retikulum (ER) via TAP-transportörer. I ER laddas peptiderna på MHC klass I-molekyler med hjälp av Tapasin. Det färdiga peptid-MHC-I-komplexet transporteras via Golgiapparaten och presenteras på cellens yta som peptid-MHC I-komplex.

MHC (*Major Histocompatibility Complex*) är en grupp proteiner avgörande för immunsystemet, hos människor kallas de HLA (*Human Leukocyte Antigen*), som återges i Figur II-2-5



Figur II-2-5

Vägen genom vilken strålningsproducerade intracellulära antigener bearbetas och hos människor presenteras av HLA (*Human Leukocyte Antigen*) klass I-molekyler. Proteiner som genetats an ssbRNA bryts ned av proteosomer för att bilda små peptider som transporteras av TAP-protein (*Transporter associated with antigen processing*) in i lumen i Endoplasmatiskt retikulum (ER) där Tapasin hjälper till att ladda optimala peptider på HLA klass I. Komplex av HLA klass I och peptider lämnar ER och rör sig genom Golgiapparaten till plasmamembranet där de känns igen av CD8⁺ T-celler (Cruz-Tapias et al., 2013).

HLA-klass I molekyler på tumörcellens yta presenterar peptider för cytotoxiska T-celler (CD8⁺) som dödar tumörcellerna s.k- immunogen celledöd.

Direkt stråldödade tumörcellet frigör extracellulära antigener som tas om hand av professionella antigenpresenterande celler (APC, t.ex. makrofager, dendritceller) genom endocytos/fagocytos. Dessa antigen bryts ned i endolysosomer till peptider. I endoplasmatiskt retikulum (ER) syntetiseras MHC klass II-molekyler som transporteras till endosomer. Där ersätts en inbindande "CLIP"-peptid med det exogena antigenet och transporteras till ytan som MHC II-peptidkomplexet vilket aktiverar CD4⁺ T-celler.

Vissa APC, främst Dendritceller, kan ta upp externa antigener och presentera dem på MHC klass I som aktiverar CD8⁺ T-celler,

II-2.3 Studier med Strålningsinducerade neo-antigener

Pilonos och medarbetare beskrev 2015 effekten av att kombinera strålbehandling och immunkontrollpunktshämmare (Pilonos et al., 2015).

Joniserande strålnings förmåga att orsaka celldöd och inflammatoriska reaktioner har varit känd sedan dess terapeutiska användning inom onkologi började för 100 år sedan. Det är dock först nyligen som denna egenskap hos strålning har uppmärksamats av tumörimmunologer som försöker inducera eller förbättra antitumör immunitet. Experimentella studier visar att en enstaka fraktion strålning främjar rekrytering och funktion av T-celler i tumörmikromiljön och kan omvandla en icke immunogen sk ”kall tumör” till en immunogen sk ”varm tumör” som svarar på immunterapi.

Denna egenskap hos strålning är nyckeln till dess synergi med antikroppar mot immunkontrollpunktshämmare, (*Immune Checkpoint Inhibitor*, ICI) som riktar sig mot hämmande receptorer på T-celler såsom cytotoxiskt T-lymfocyt-antigen-4 (CTLA-4) och programmerad celldöd-1, (PD-1). Immunterapi med ICI gynnar patienter med befintlig antitumör-immunitet men är ineffektiv hos patienter med tumörer som saknar spontana immunsvär.

Strålning inducerar emellertid specifika antitumör-T-celler som aktiveras av immunkontroll-punktshämmare. Härvid ökar inducerad immunogen celldöd samt befrämjande av rekrytering och funktion av T-celler i tumörmikromiljön. Detta skeende stöder hypotesen att strålning kan omvandla tumören till ett in situ individualiserat vaccin (Pilonos et al., 2015).

Sharabi och medarbetare visade 2015 att stereotaktisk strålbehandling (XRT) förstärker antigenspecifika PD-1-medierade antitumörimmunsvär via korspresentation av tumörantigen (Sharabi et al., 2015).

De demonstrerade att stereotaktisk XRTs förmåga att inducera endogena antigenspecifika immunsvär när det kombineras med immunterapi med blockad mot kontrollpunkt PD-1. Med hjälp av SARRP (*Small Radiation Research Platform*) studerades utvecklingen av antigenspecifika T-cells- och B-cellsmedierade immunsvär i B16-OVA-melanom- eller 4T1-HA-bröstkarcinom tumörer efter bildstyrd stereotaktisk strålbehandling, XRT.

Immunstimulerande effekter av XRT ökade signifikant när XRT kombinerades med antingen anti-PD-1-behandling eller utarmning av

regulatoriska T-celler (Treg), vilket resulterade i förbättrad lokal tumörkontroll.

Fenotypiska analyser av antigenspecifika CD8-T-celler visade att XRT ökade andelen antigen-effektor-T-celler (CTL) och effektorminnes-T-celler.

Mekanistiskt visades att XRT uppreglerar tumörassocierade antigen-MHC-komplex, förbättrar antigen-korspresentation i den dränerande lymfkörteln och ökar T-cellsinfiltration i tumörer.

Deras fynd visar XRT:s förmåga att initiera ett endogent antigenspecifikt immunsvaret och ger ytterligare en mekanistisk motivering för att kombinera strålning med PD-1-blockad i kliniken.

Sammantaget har deras resultat flera kliniska implikationer. För det första stöder dessa fynd tydligt att samtidig administrering av XRT med checkpoint-blockad immunterapi förbättrar lokal tumörkontroll.

Trenden mot ökad mängd T-reglerande celler i tumören efter enbart strålbehandling tyder på att strålbehandling bör kombineras med CTLA-4 hämmare som hämmar Treg's immunosuppression (Persson, 2025).

Dessutom tyder ökningen av antigenspecifika T-celler och anti-tumörantikroppar med samtidig XRT och anti-PD-1 immunterapi att kombinationen också potentiellt kan bidra till systemisk eller fjärrtumörkontroll via den så kallade Abscopal effekten.

Stereotaktisk UltraHypofraktionerad strålbehandling kan vara överlägsen konventionell fraktionerad strålbehandling genom att spara bestrålning av dränerande lymfkörtel(LN)-regioner. Deras data ger en preklinisk motivation för att utvärdera dessa frågor i prospektiva kliniska prövningar (Sharabi et al., 2015).

Maity och medarbetare presenterade 2018 resultaten av en klinisk fas I-studie (NCT02303990) med hypo-fraktionerad-strålbehandling(HFRT) och *Pembrolizumab*(Anti-PD1) hos patienter med metastatiska solida tumörer (Maity et al., 2018).

Studien innefattade 24 patienter med mer än 2 lesioner som indelades i två grupper med 12 patienter vardera):

- (i) NSCLC/melanom som progredierade på tidigare anti-PD-1-behandling,
- (ii) andra cancertyper; anti-PD-1-naiva.

Inom varje grupp fick sex patienter per lesion 24 Gy (3×8Gy) och de andra sex patienterna fick en fraktion med 17 Gy.

HFRT tolererades väl med *Pembrolizumab* med följande resultat,

- I Grupp (i) återupplivades ett systemiskt svar trots tidigare progression på enbart anti-PD-1-behandling.
- I Grupp (ii): upplevde en patient ett komplett svar och två hade förlängd stabil sjukdom

Deras studie öppnar för ytterligare studier för att undersöka hur strålbehandling modulerar upplivandet av immunsvaret med anti-PD-1-behandlingar och de underliggande mekanismerna för resistens. I slutändan krävs en randomiserad studie för att visa synergistiska fördelar med strålbehandling med checkpointblockad jämfört med enbart checkpointblockad (Maity et al., 2018).

Theelen, och medarbetare påvisade 2020 att metastaserande icke-småcellig lungcancer svarar systemiskt vid immunterapi kombinerad med strålbehandling (Theelen et al., 2020).

Immunterapi har fått en säker plats i behandlingen av metastaserande icke-småcellig lungcancer (NSCLC) och har haft stor inverkan på prognosen för patienter som svarar på behandlingen. Tyvärr har inte alla NSCLC-patienter nytta av denna behandling. Flera immunförsvars mekanismer har postulerats, vilket förklarar misslyckandet av tumörimmunterapi. En bättre förståelse av dessa mekanismer hjälper oss att söka behandlings strategier för att övervinna resistens mot immunterapi.

Strålbehandling har immunmodulerande egenskaper som kan förstärka immunsvaret mot cancer genom att hantera ett antal av dessa tumörförsvarsmekanismer. Deras översikt fokuserar på mekanismer för *off-target-effekter* av strålbehandling, den så kallade Abscopal effekten, genom att beskriva den nuvarande rollen för immunchekpointhämmare (ICI) vid NSCLC, de möjliga orsakerna till dess misslyckanden och visa på hur strålbehandling kan motverka dessa mekanismer. Deras översikt presenterar prekliniska och kliniska data som stöder förstärkning av abscopala händelser genom strålbehandling i kombination med ICI immunterapi (Theelen et al., 2020).

Lussier, och medarbetare rapporterade 2021 att strålningsinducerade neoantigener breddar det immunterapeutiska fönstret för cancer med låg mutationsbelastning, så kallade "kalla" tumörer (Lussier et al., 2021).

Immun kontrollpunktsinhibitor ICI-terapier ICI-T är ett lovande framsteg inom cancerbehandling. Men eftersom inte alla tumörtyper svarar mot dessa behandlingar är det viktigt att hitta mekanismer som kommer att bredda användningsområdet. Generellt sett har tumörer med hög mutationsbelastning potential att uttrycka ett större antal muterade neoantigener. Eftersom neoantigener kan vara mål för skyddande adaptiv immunitet, är mycket muterade tumörer vanligtvis mer känsliga för immunterapi.

Extern strålterapi RT kan användas för att påverka immunsvaret genom genereringen av mutanta målceller :

- RT är en standardiserad cancerterapi,
- RT inducerar uttryck av mutanta proteiner och potentiellt mutanta neoantigener
- RT har visat sig samverka kliniskt med immunkontrollpunktsterapi (ICT),

Sålunda kan HFRT- antagas vara *Medlet* för att göra *kalla* tumörer *varma* och mottagliga för immuno kontrollpunkts terapi ICI-T,

För att studera om så är fallet använde **Lussier**, och medarbetare - sarkomcellinjer (KP-Kras G12D x p53 sarkom) som har visat sig vara dåligt antigena och nästan helt utan mutationer. De kontrolleras inte av ICI-T och inducerar inte ett skyddande antitumörminnessvar.

Efter en enda *in vitro* fraktion av 4- eller 9-Gy-bestrålning förvärvar KP-sarkomcellerna emellertid mutationella neoantigener och blir känsliga för ICI-T *in vivo* på ett T-cellsberoende sätt.

Deras fynd visar att det finns en tröskel-bestrålningsdos på 4 Gy som krävs för induktion av immunogenicitet.

Deras resultat visar att induktion av nya antigena mål i bestrålade tumörceller representerar en ytterligare mekanism som förklarar synergien mellan strålning och immunterapi (Lussier et al., 2021).

ICI-T medierad avvisning av bestrålade tumörceller var beroende av aktiviteten av både CD4+ och CD8+ T-celler och inducerade immunologiskt minne som var tumör cellspecifik och inte beroende av annan strålningsinducerad cellulär förändringar. Dessa fynd visar ett "proof of

concept” att en enkel fraktion icke-kurativ bestrålning >4 Gy har förmåga att sensibilisera dåligt immunogena tumörer genom, delvis, induktion av de novo-neo-antigenspecifika T-cellssvar.

Detta är den första dimensionen hos iRT som bidrar till förbättrad tumörcellsimmunogenicitet.

Deras data tyder på att, förutom neoantigengenerering som ett resultat av genomisk instabilitet, utveckling av cancer-neoantigener kan också bildas av effekterna av strålning på själva tumörcellerna. Specifikt har de visat att icke-kurativa doser av strålning (4 - 9 Gy) kan inducera mutationer i modertumören som kan fungera som MHC-I neopitoper. Dessa strålningsinducerade neoantigener framkallar cytolytiska tumörspecifika CD8⁺T-cellpopulationer och sensibiliserar icke-immunogena tumörer på ett T-cellsberoende sätt.

I framtiden kommer det att vara viktigt att bedöma hur bidraget från dessa nyligen härledda neoantigener ger synergier mellan icke-kurativ strålning och immunterapi i samband med strålningsinducerade förändringar i tumörens mikromiljö.

Strålbehandlingens varaktighet, tidpunkt och dos kommer att behöva vara noggrant övervägda när man riktar in sig på behandlingsinducerade mutationer i kombination med ICI. Neoantigen generation efter strålningsinducerad DNA-skada kräver cellproliferation som tar sin tid.

Därför rekommenderas iRT i kombination med immunterapi veckovisa upprepade Strålfractioner (4-9 Gy).

Detta är den andra dimensionen hos iRT som bidrar till förbättrad tumörcellsimmunogenicitet.

Deras resultat ökar möjligheten att använda strålning för att skapa immunterapeutiska möjligheter för behandlingen av tumörer med låg mutationsgrad som inte är immunogena vid diagnos (Lussier et al., 2021).

Man kan även överväga användningen av en strålfraction på 4-9 Gy före kirurgisk behandling för att uppnå systemisk effekt.

II-2.4 Klinisk Pre-kirurgisk strålbehandling

Verbus och medarbetare presenterade 2022 de första resultaten av klinisk pre-kirurgisk användning av strålningsboost för att öka effektiviteten av immun-kontrollpunktsblockad-terapi vid operabel bröstcancer (Verbus et al., 2022).

Immunkontrollpunktshämmare (ICI), såsom programmerade celldöds-protein-1 (PD-1)-receptorhämmare, utövar sina effekter genom att hämma celler i tumörmikromiljön (TME) med dessa immunkontrollpunkts-receptorer.

Deras presenterade kliniska resultat stöder användningen av strålbehandling (RT) "boost" (vanligtvis mer riktad och/eller med en högre absorberad dos per behandlingsfraktion) för att öka effekten av immunterapi genom att öka populationen av CTL och minska den immunosuppressiva effekten hos tumörmikromiljön (TME).

Strålbehandling i kombination med *Pembrolizumab* (en PD-1 hämmare) som användes vid behandling av patienter med solida tumörer som tidigare inte svarat på ICI-behandling visade ett ökat svar efter behandlingen.

Denna behandlings strategi kringgår problemet med "kalla" tumörer med dålig immunogenicitet och möjliggör framgångsrik behandling för patienter som inte skulle ha svarat på endast ICI behandling.

Koukourakis och medarbetare diskuterade 2023 anti-tumörimmunitet och preoperativ radiovaccination som ett nytt koncept inom behandling av bröstcancer (Koukourakis et al., 2023b).

Neoadjuvant kemoterapi (NACT) för vissa subtyper av bröstcancer (BC) ger betydande tumörregressionsfrekvenser och en överlevnadsfördel för patienter med ett komplett patologiskt svar. Kliniska och prekliniska studier har visat att immunrelaterade faktorer är ansvariga för bättre behandlingsresultat, och därför har neoadjuvant immunterapi (ICI) framträtt som ett sätt att ytterligare förbättra patienters överlevnad.

Medfödd immunologisk "kyla" hos specifika subtyper av bröst cancer, särskilt de luminala, hindrar dock effekten av immunterapi med immun-kontrollpunkts-hämmare (ICI-T). Behandlingsstrategier som syftar till att motverka denna immunologiska tröghet behövs därför. Dessutom har

intermittent strålbehandling (iRT) visat sig ha ett betydande samspel med immunsystemet och främja antitumörimmunitet. Denna "radiovaccinationseffekt" skulle kunna utnyttjas vid neoadjuvant behandling av bröstcancer och avsevärt förstärka effekterna av redan etablerad klinisk praxis.

Moderna stereotaktiska bestrålningstekniker riktade mot primärtumören och involverade lymfkörtlar kan visa sig vara viktiga för kombination med ICI behandling

Koukourakis diskuterar kritiskt den biologiska logiken, klinisk erfarenhet och pågående forskning som ligger till grund för samspelet mellan neoadjuvant kemoterapi, antitumörimmunsvar och den framväxande rollen för radioterapi som ett preoperativt tillägg med immunologiska terapeutiska implikationer vid bröstcancer (Koukourakis et al., 2023b).

Han ger en omfattande översikt av aktuella neoantigener och hur joniserande strålning interagerar med cellernas DNA och påverkar stimulering och produktion av ett flertal genprodukter (Koukourakis et al., 2023b):

Gensymbol Genens namn (Genomisk lokalisering)

Cellulär funktion Relevans för bestrålning

ICAM-1 Intercellulär adhesionsmolekyl-1 (19p13.2)

ICAM1 är en ligand för lymfocytfunktionsassocierade (LFA) antigener.

Strålningsexponering ökar uttrycket av ICAM-1 på tumörceller (33)

MHC/HLA klass I/II Huvudhistokompatibilitetskomplex I/II (6p21-p22)

Interagerar med T-cells receptormolekyler, såväl som mördar-immunoglobulin liknande receptorer som uttrycks på naturliga mördarceller och vissa T-celler.

Strålningsexponering ökar uttrycket av MHC klass I/II på tumörceller.

IFN γ Interferon-gamma (12q15)

IFN γ är ett cytokin som är avgörande för medfödd och adaptiv immunitet mot virala och intracellulära bakterieinfektioner och för tumörkontroll.

Strålningsexponering ökar IFN γ -produktionen.

LFA-3 (CD58) Lymfocytfunktionsassocierat antigen 3 (1 p13.1)

CD58-genen kodar för en CD2-receptor. Närvaron av dessa två antigener på motstående celler underlättar kontakter mellan hjälpar-T-lymfocyter och antigenpresenterande celler samt mellan cytolytiska effektorer och målceller.

Strålningsexponering ökar uttrycket av LFA-3 på tumörceller.

B7-1 (CD 80) B-lymfocyttaktiveringsantigen (3q13.33)

Ger en kostimulerande signal till T-celler genom att interagera med CD28 och CTLA4.

Strålningsexponering ökar uttrycket av B7-1 på antigen-presenterande celler.

CTLA-4 Cytotoxiskt T-lymfocytantigen-4 (2q33.2)

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

CTLA-4 överför en hämmande signal till T-celler. Anti-CTLA-4-antikroppar inducerar effektiv antitumörimmunitet genom att inducera tumörspecifik T-cellsaktivering och undertrycka Treg-celler.

Strålningsexponering kan undertrycka nedregleringen av CD28 och uppregleringen av CTLA-4 på lymfocyter.

HMGB1 Högt mobilitetsgrupp box-1 (13q12.3)

Aktiverar antigenpresenterande celler och stimulerar antigenbearbetning och antigenpresentation till T-celler.

Strålningsexponering inducerar uttryck av HMGB1.

HSP70 Värmechockprotein 70

Aktiverar antigenpresenterande celler och stimulerar antigenbearbetning och antigenpresentation till T-celler.

Strålningsexponering ökar intracellulära och extracellulära HSP70-nivåer.

MHCA *Major Histocompatibility Complex Class I Gene A* (6p21.33).

Aktiverar naturliga mördarceller (NK), naturliga mördar-T-celler, $\gamma\delta$ T-celler och $\alpha\beta$ CD8⁺ T-celler (Cytotoxiska Lymfocyter CTL) via NKG2D-receptorn.

Strålningsexponering inducerar MHCA-uttryck

MICB *Major Histocompatibility Complex Class I Gene B* (6p21.33)

Aktiverar naturliga mördarceller (NK), naturliga mördar-T-celler (NKT), $\gamma\delta$ T-celler och $\alpha\beta$ CD8⁺ T-celler via NKG2D-receptorn.

Strålningsexponering inducerar MICB-uttryck.

ULBP1-2-3 UL16-Binding Protein 2 (6q25.1)

Aktiverar naturliga mördarceller (NK), naturliga mördar-T-celler (NKT), $\gamma\delta$ T-celler och $\alpha\beta$ CD8⁺ T-celler via NKG2D-receptorn.

Strålningsexponering inducerar NKG2D-liganduttryck (ULBP1-2-3).

FASLG Fas-ligand (1q24.3)

Fas-FASLG-bindning inducerar kaspasaktivering och apoptos. uppreglerar Fas-liganduttryck i tumörceller.

PD-L1 (PDCD1LG1) Programmerad dödsligand 1 (9p24.1)

Hämmar antitumörfunktionen hos infiltrerande effektor-T-celler.

Strålningsexponering ökar PD-L1-uttryck på tumörceller

CALR Calreticulin (19p13.2)

Viktiga molekyler för sammansättning och cellyteuttryck av MHC klass 1-Molekyler.

Strålningsexponering ökar presentationen av calreticulin vid cellmembran.

FOXO3a Forkhead Box O3A; (6q21)

FOXO3a utlöser apoptos genom att inducera uttrycket av gener som är kritiska för celldöd, såsom TNFSF6-genen.

Strålningsexponering ökar uttrycket och den nukleära lokaliseringen av FOXO3a

(Koukourakis et al., 2023b):

.

Huang och medarbetare visade 2025 att HFRT-strålbehandling kombinerad med Pembrolizumab inducerar systemiska antitumörimmunsvaret vid immuno-logiskt ”kall” icke-småcellig lungcancer (Huang et al., 2025).

De undersökte de immunstimulerande effekterna av strålbehandling med hjälp av multiomiska analyser av seriella vävnads- och blodbioprover. Studien omfattade 293 patienter med metastaserande icke-småcellig lungcancer i en klinisk fas 2-studie (NCT02492568) av stereotaktisk strålbehandling (SBRT) med 8 Gy dagliga fraktioner i 3 dagar följt av *Pembrolizumab* (Theelen et al., 2020).

Deltagare med immunologiskt *kalla* tumörer (låg tumörmutationsbörda av programmerad dödsigand PD1-uttryck eller Wnt-vägsmutationer) hade signifikant längre progressionsfri överlevnad i SBRT-gruppen.

Induktion av interferon-gamma, interferon-alfa och antigenbearbetnings- och presentations genuttryck berikades signifikant efter SBRT i icke-bestrålade tumörställen. Signifikanta expansioner av nya och redan existerande T-cellskloner under behandling noterades både lokalt i tumör och systemiskt i blod-kompartiment, tillsammans med klonala neoantigenreaktiva autologa T-cellssvar hos deltagare med långsiktig överlevnad efter HFRT-strålbehandling kombinerad med immunterapi. Dessa fynd stöder de systemiska immunmodulerande och antitumöreffekterna av HFRT-strålbehandling kombinerad med immunterapi och kan öppna ett terapeutiskt tillfälle att övervinna immunterapi resistens (Huang et al., 2025).

Shaitelman, och medarbetare rapporterade 2025 resultaten från en klinisk fas 2-studie av preoperativ strålbehandling för att framkalla kritiska immunstimulerande effekter - ”*PRECISE*” (Shaitelman et al., 2025).

Deras studie avsåg att undersöka om en pre-operativ strålbehandlingsboost var associerad med en signifikant förändring av tumörinfiltrerande lymfocyter (TIL) i tumörer med östrogenreceptor-positiva, HER2Neu-icke-amplifierade former av bröstcancer.

I studien deltog 20 patienter i en klinisk fas 2-studie som 6 till 8 dagar före operation fick strålbehandling med:

- En-fraktion, á 7,5 Gy/fraktion
- eller
- Fem-fraktioner, á 2 Gy/ fraktion, totalt 10 Gy

Procentuell stromala tumör infiltrerande lymfocyter (TIL) utvärderades på hematoxylin- och eosin-färgade prover. Kortsiktigt behandlingsresultat bedömdes baserat på tid till operation, toxicitet och kosmetisk effekt upp till 6 månader efter boost-strålbehandling.

Stromalt tumörinfiltrerande lymfocyter (TIL) ökade signifikant ($P = 0,0037$) från grad 3 till grad 5, vid 6 till 8 dagar efter avslutad boost-strålbehandling. Ingen nämnvärd toxicitet upplevdes upp till 6 månader efter boostbehandling.

Sammanlagt hade 94 % (16/17) patienter med 6-månaders uppföljande bedömning efter bröstkonservering god-utmärkt kosmetisk effekt enligt läkares bedömning.

I denna fas 2-studie resulterade preoperativ boostbehandling i en kortsiktig ökning av stromalt tumörinfiltrerande lymfocyter TIL med minimal toxicitet. Preoperativ bröststrålbehandling verkar vara säker och kan vara ett genomförbart sätt att förbättra tumörens immunogena mikromiljö.

Pre-operativ bröststrålbehandling med $1 \times 7,5$ Gy kombinerad med ICI-immunterapi borde ge ytterligare förbättrat behandlingsresultat för bröstcancer (BRRP ff. anm.).

Gaorav Gupta, University of North Carolina, presenterade den 11 december 2025 resultaten av den kliniska fasII-studien P-RAD vid San Antonio Breast Cancer Symposium i San Antonio USA (Gupta, 2025).

Preoperativ strålbehandling förbättrade T-cellsinfiltration (TCI) hos patienter med hormonreceptor (HR)-positiv, HER2-negativ bröstcancer vid administrering i kombination med pembrolizumab (*Keytruda*) och kemoterapi, och ledde till förbättrade behandlingssvar före operation, enligt resultaten av den kliniska fas II-studien P-RAD som presenterades vid San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS), som hölls 9-12 december 2025.

"Många patienter med HR-positiv, HER2-negativ bröstcancer – den vanligaste typen av bröstcancer – upplever sena återfall, och det finns ett kritiskt behov av att förbättra resultaten för denna patientpopulation", säger presentatören Gaorav Gupta, MD, PhD, docent i strålbehandlingsonkologi och medledare för bröstcancerforskningsprogrammet vid University of North

Carolina Lineberger Comprehensive Cancer Center. "Immunterapi har visat tidiga tecken på lovande resultat, men nya strategier behövs för att göra den mer effektiv vid denna form av bröstcancer. Immunkontrollpunktshämmare är beroende av T-cellsinfiltration för att effektivt motverka cancer, och baserat på tidigare forskning som visade strålningsmedierad förbättrad T-cellsinfiltration, syftade vi till att testa detta vid bröstcancer."

I denna kliniska prövning inkluderade Gupta och kollegor från *Translational Breast Cancer Research Consortium* patienter med HR-positiv, HER2-negativ bröstcancer som hade spridit sig till de regionala lymfkörtlarna. Medianåldern för patienterna var 49,5 år, med ett åldersintervall på 23 till 78 år. De randomiserade 51 patienter 1:1:1 enligt

- ingen strålning,
- en låg absorberad dos strålning (9 Gy) eller
- en hög absorberad dos strålning med 3 dagliga fraktioner á 8 Gy (totalt 24 Gy) tillsammans med Pembrolizumab innan kemoterapi påbörjades.

Alla patienter fortsatte med att få 12 veckor med Pembrolizumab och Paklitaxel, följt av fyra cykler med Pembrolizumab och Doxorubicin och β -cyklofosfamid.

Forskarna i studien bedömde två samverkande primära effektmått:

- T-cellsinfiltration vid tidpunkten för en biopsi tagen två veckor efter strålbehandling och
- Patologiskt komplett respons i lymfkörtlarna vid tidpunkten för definitiv kirurgi för att avlägsna cancer.
- Sekundära effektmått var patologiskt komplett respons (pCR) och kvarvarande cancerbörda.

Efter strålbehandling och immunterapi ökade andelen tumörer med den högsta kvartilen av T-cellsinfiltration hos de 49 patienter som kunde utvärderas beroende på stråldosen:

- 31 %, i 0 Gy
- 40 % i 9 Gy
- 53 % i 24 Gy-grupperna.

Median T-cellsinfiltration ökade för alla patienter efter att de fått behandling, vilket innebär att strålbehandling tillät fler T-celler att komma till

och attackera tumören. Emellertid upplevde endast patienter i 24 Gy-gruppen en statistiskt signifikant förbättring av T-cellsinfiltration jämfört med obehandlade tumörer.

Gupta och kollegor observerade också dosberoende respons i lymfkörtlarna. För alla 48 utvärderbara patienter var andelen tumör som eliminerades från kirurgiskt borttagna lymfkörtlar 29 %, vilket visade en ökande trend med stråldosen: 24 % vid 0 Gy, 29 % vid 9 Gy och 33 % vid 24 Gy.

Sekundära effektmått. pCR och kvarvarande cancerbörda förbättrades också med ökade stråldoser. På grund av det begränsade antalet patienter uppnådde dock dessa skillnader i kirurgiska svarsfrekvenser inte statistisk signifikans.

Sammanfattningsvis säger **Gupta**:

"Pre-operativ strålbehandling är säker, exakt och allmänt tillgänglig för behandling av bröstcancer. Deras studie tyder på att strålbehandling skulle kunna användas på ett nytt sätt – för att 'prima' immunförsvaret och förstärka effekterna av immunterapi vid HR-positiv, HER2-negativ bröstcancer",

"Vi fann tidiga bevis för att en fokuserad stråldos på 24 Gy given under tre dagar, i kombination med Pembrolizumab, kan öka immunförsvaret och kan förbättra reduceringen av tumör före operation. Dessa resultat lägger grunden för framtida kliniska prövningar som utforskar Pre-operativ strålbehandling för att förbättra långsiktiga resultat för bröstcancerpatienter" (Gupta, 2025).

Pre-operativ strålbehandling av bröstcancer med intermittent fraktionering (8 Gy per vecka) kombinerad med ICI-immunterapi (CTLA4 + PD1 hämmare) borde ge ytterligare förbättrade behandlingsresultat för bröstcancer med kompletta remissioner. En klinisk studie enligt ett sådant protokoll är ytterst önskvärd (BRRP ff. anm).

Gomà och medarbetare rapporterade i januari 2026 resultat från *YOUNGSTER-studien* avseende preoperativ strålbehandling vid bröstcancer i

tidigt stadium, vilka visar på inducering av molekylär och immunmodulering (Gomà et al., 2026)

Effekten av preoperativ strålbehandling (RT) på bröstcancer i tidigt stadium är underutforskad men har potential att avsevärt förbättra resultaten och erbjuda nya terapeutiska strategier.

YOUNGSTER-studien syftade till att karakterisera de molekylära förändringar som induceras av preoperativ strålbehandling (RT) kombinerad med tillförsel av human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) till bröstcancer patienter med subtyper: luminal A, luminal B,

Denna explorativa studie inkluderade 20 patienter med bröstcancer i tidigt stadium som var lämpliga för bröstbevarande kirurgi och inte hade fått tidigare behandling.

Biologiska förändringar utvärderades mellan baslinjeprovtagning, 3 till 5 dagar efter preoperativ strålbehandling RT och med kirurgiska prover.

Preoperativ strålbehandling (5 fraktioner med 2,67 Gy/fraktion måndag till fredag) administrerades, följt av en kärn-nålsbiopsi.

Efter 2–8 veckor (i genomsnitt 4 veckor) behandlades patienterna efter strålbehandling med kirurgi

. Genutryck analyserades med hjälp av en panel med 192 gener

- PAM50 (Prediction Analysis of Microarray 50) är en genexpressionsprofil som analyserar aktiviteten hos 50 gener för att klassificera bröstcancer i fyra huvudsakliga molekylära undertyper: Luminal A, Luminal B, HER2-anrikad och Basal-lik,

Immunhistokemi och färgning användes för:

- Ki67 (markör som finns i cellkärnan och uttrycks endast när celler prolifererar) och
- CD68 (markör för tumör associerade makrofager TAM),
- TIL tumörinfiltrerande lymfocyter
- gH2AX för bedömning av DNA-skador.

Prover tagna strax efter strålbehandling visade signifikant nedreglering av proliferationen (PAM50, Ki67), men en ökning av DNA-skada (gH2AX) och uppreglering av makrofag markörer CD68.

Prover tagna 2–8 veckor efter strålbehandling) (n=13) visade signifikant uppreglering adaptiva immunmarkörer, tillsammans med en ökning av 14-gens immunglobulinsignatur. TIL visade en trendvis ökning som dock inte var statistiskt signifikant.

Sammanfattningsvis inducerar Preoperativ strålbehandling tidiga och sena biologiska förändringar i bröstcancer, med initiala effekter på

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

proliferationsreduktion och DNA-skada inom några dagar, följt av adaptiv immunaktivering inom veckor. Strålbehandling kan fungera som en effektiv primer för immunterapi, särskilt för subtyper med högre risk, vilket stöder potentialen för kombinatoriska metoder vid behandling av bröstcancer.

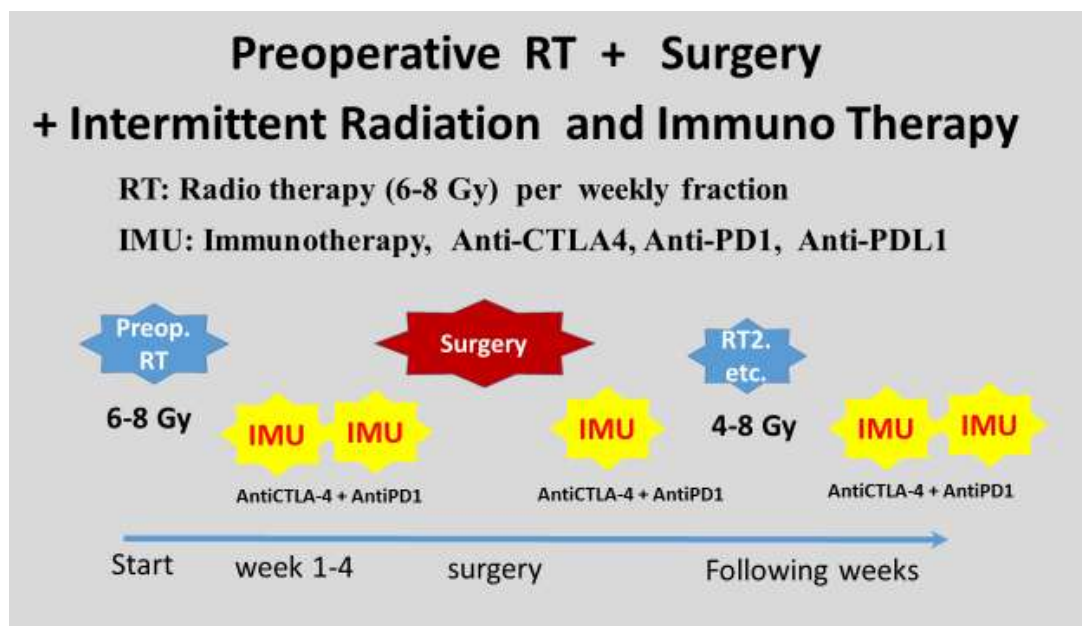
Med intermittent strålbehandling (4-9 Gy) i kombination med prekirurgi. och/ immunterapi eller hypertermi har stor potential att avsevärt förbättra behandlings resultaten.

Med strålfractioner >10Gy ökar strålningens inducerd immunosuppression genom ökningen av *FOXO3a*, Forkhead och därmed immunsuppressiva regulatoriska T-celler Treg

- En optimal dosfraktionering för intermittent strålbehandling verkar vara omkring 6–8 Gy per fraktion.
- Tidsintervallen mellan strålfractionerna kan vara upp till en vecka men kan varieras efter behov och erfarenhet.
- Kombination med anti-CTLA4 + AntiPD1-immunterapi i tidsintervallen mellan de veckovisa strålfractionerna verkar vara en utmanande prövning för behandling av immunresistenta tumörer.

Där:

- Anti CTLA4 minskar immunosuppressinen av MDSC och Treg och
- Anti PD1 stimulerar effekten av CD8+ T.celler.



Figur II-2-6

Pre-operativ Intermittent strålbehandling i kombination med immunterapi

II-2.5 Intermittent strål-immunterapi's 3-dimensioner

Första Dimensionen: Stråldos

En strålboost på < 10 Gy genererar:

-neoantigen som stimulerar produktion av CD8⁺ T-celler (CTL).

Se Fig. II-2-5

-IFN-typ1 som stimulerar CTL aktiviteten bildas vid dubbelsträngbrott i DNA, Se Figur II-3-2

-Reduktion av MDSC celler dämpar tumörens immunosuppression,
Se Figur II-2-4

En strålboost på mer än >10 Gy genererar kraftig celldöd och stimulerar bildningen immunosuppressiva Treg-celler.

Andra Dimensionen: Intermittenta tidsintervall

Ett tidsintervall mellan strålfraktioner upptill en vecka ger tid att utveckla produktionen av neoantigen som initieras av en strålboost.

Vid Pre-kirurgisk strålboost kan tidsintervallet behöva varieras.

Tredje Dimensionen: Immunostimulering

I tidsintervallen mellan strålfraktionerna appliceras immunostimulerande moment t.ex.

- Tumörvaccin
- Immunkontrollpunkts hämmare typ anti-CTLA4, Anti-PD1, Anti-PDL1, eller andra Immunstimulerande läkemedel
- Hypertermi (Kap.II- 4)
- Dynamisk Elektro-Puls Terapi (Kap. II-5)

II-2-6 Referenser

- Cruz-Tapias, P., Castiblanco, J. & Juan-Manue, A. 2013. Chapter 10 Major histocompatibility complex: Antigenprocessing and presentation. In: ANAYA, J. M., SHOENFELD, Y., ROJAS-VILLARRAGA, A., & AL., E. (eds.) *Autoimmunity: From Bench to Bedside*. Bogota (Colombia): : El Rosario University Press; 2013 Jul 18.
- Gomà, C., Mollà, M., Oses, G., Sanfeliu, E., Rodríguez-Hernández, A., González-Farré, B., Galván, P., Sirenko, V., Castillo, O., Blasco, P., Llop-Guevara, A., Serra, V., Ganau, S., Ubeda, B., Bargallo, X., Cases, C., Latorre-Musoll, A., Martinez-Sáez, O., Garcia-Fructuoso, I., Gomez-Bravo, R., Schettini, F., Adamo, B., Pascual, T., Vidal, M., Muñoz, M., Laplana, M., Cebrecos, I., Mension, E., Prat, A. & Braso-Maristany, F. 2026. "Preoperative Radiation Therapy-Induced Molecular and Immune Modulation in Early-Stage Breast Cancer: Results From the YOUNGSTER trial." *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 124 (1):122-132. doi: 10.1016/j.ijrobp.2025.07.1443.
- Gupta, G. 2025. Preoperative Radiation May Improve Antitumor Immune Response in Most Common Form of Breast Cancer. *San Antonio Breast Cancer Symposium (SABCS)*.
- Huang, J., Theelen, W., Belcaid, Z., Najjar, M., van der Geest, D., Singh, D., Cherry, C., Balan, A., White, J. R., Wehr, J., Karchin, R., Niknafs, N., van den Heuvel, M. M., Velculescu, V. E., Smith, K. N., Baas, P. & Anagnostou, V. 2025. "Combination of pembrolizumab and radiotherapy induces systemic antitumor immune responses in immunologically cold non-small cell lung cancer." *Nature Cancer*. doi: 10.1038/s43018-025-01018-w.
- 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., Dese, 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.
- Lussier, D. M., Alspach, E., Ward, J. P., Miceli, A. P., Runci, D., White, J. M., Mpoy, C., Arthur, C. D., Kohlmeier, H. N., Jacks, T., Artyomov, M. N., Rogers, B. E. & Schreiber, R. D. 2021. "Radiation-induced neoantigens broaden the immunotherapeutic window of cancers with low mutational loads." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118 (24):1-9.
- Maity, A., Mick, R., Huang, A. C., George, S. M., Farwell, M. D., Lukens, J. N., Berman, A. T., Mitchell, T. C., Bauml, J., Schuchter, L. M., O'Hara, M., Lin, L. L., Demichele, A., Christodouleas, J. P., Haas, N. B., Patsch, D. M., Hahn, S. M., Minn, A. J., Wherry, E. J. & Vonderheide, R. H. 2018. "A phase I trial of pembrolizumab with hypofractionated radiotherapy in patients with metastatic solid tumours." *Br J Cancer* 119 (10):1200-1207. doi: 10.1038/s41416-018-0281-9.

- Notter, M., Thomsen, A. R., Nitsche, M., Hermann, R. M., Wolff, H. A., Habl, G., Münch, K., Grosu, A.-L. & Vaupel, P. 2020. "Combined wIRA-Hyperthermia and Hypofractionated Re-Irradiation in the Treatment of Locally Recurrent Breast Cancer: Evaluation of Therapeutic Outcome Based on a Novel Size Classification." *Cancers* 12 (3):606. doi: 10.3390/cancers12030606.
- Persson, B.R.R. 2025. "Intermittent Radiation Therapy;III. Intermittent Radio Therapy & T_{reg} " *Acta Scientiarum Lundensia, ISSN 1651-5013*, 2025 (008):34.
- Pilones, K.A., Vanpouille-Box, C. & Demaria, S. 2015. "Combination of Radiotherapy and Immune Checkpoint Inhibitors." *Seminars in Radiation Oncology* 25 (1):28-33. doi: 10.1016/j.semradonc.2014.07.004.
- Shaitelman, S. F., Le-Petross, H., Raso, M. G., Swanson, D. M., Schalek, A. P., Contreras, A., Yang, F., Muruganandham, M., Zhao, G. Z., Sawakuchi, G. O., Kim, L. H., Batra, H., Smith, B. D., Stauder, M. C., Woodward, W. A., Reddy, J. P., Litton, J. K., Thompson, A., Bedrosian, I. & Mittendorf, E. A. 2025. "PRECISE: Preoperative Radiation Therapy to Elicit Critical Immune Stimulating Effects-A Phase 2 Clinical Trial." *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 121 (1):90-96. doi: 10.1016/j.ijrobp.2024.08.008.
- Sharabi, A. B., Nirschl, C. J., Kochel, C. M., Nirschl, T. R., Francica, B. J., Velarde, E., Deweese, T. L. & Drake, C. G. 2015. "Stereotactic Radiation Therapy Augments Antigen-Specific PD-1-Mediated Antitumor Immune Responses via Cross-Presentation of Tumor Antigen." *Cancer Immunol Res* 3 (4):345-55. doi: 10.1158/2326-6066.Cir-14-0196.
- Theelen, W., de Jong, M. C. & Baas, P. 2020. "Synergizing systemic responses by combining immunotherapy with radiotherapy in metastatic non-small cell lung cancer: The potential of the abscopal effect." *Lung Cancer* 142:106-113. doi: 10.1016/j.lungcan.2020.02.015.
- Verbus, E. A., Rossi, A. J., Clark, A. S., Taunk, N. K., Nayak, A., Hernandez, J. M. & Tchou, J. C. 2022. "Preoperative Use of a Radiation Boost to Enhance Effectiveness of Immune Checkpoint Blockade Therapy in Operable Breast Cancer." *Annals of Surgical Oncology* 29 (3):1530-1532. doi: 10.1245/s10434-021-10987-y.
- Widmark, A., Gunnlaugsson, A., Beckman, L., Thellenberg-Karlsson, C., Hoyer, M., Lagerlund, M., Kindblom, J., Ginman, C., Johansson, B., Björnlinger, 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.

Sammanfattning Kapitel II-2

Presentation av ett nytt tumör-behandlingskoncept med **”Pre-kirurgisk intermittent ultrahypofraktionerad strålbehandling” (PSiRT) ”kombinerad med immunterapi” (PSiRIT)**, särskilt med immun-kontrollpunktshämmare (anti-CTLA4 och anti-PD-1/PDL1).

Intermittent ultrahypofraktionerad strålbehandling innebär:

- Optimal absorberad dos 6–8 Gy per fraktion
- Doser >10 Gy kan öka immunosuppressiva mekanismer (Treg-aktivering).
- Tidsintervall på upp till en vecka mellan fraktionerna
- Möjlighet att lägga till annan behandling tex immunterapi i intervallet mellan strålfractionerna

Intermittent Strålbehandling påverkar tumörmikromiljön genom att:

- Producera DNA-skador och mutationer som producerar nya tumörspecifika antigen (**neoantigen**) som omvandlar den bestrålade tumören till ett **”in situ-vaccin”**.
Neoantigenutveckling kräver tid och därför är **intermittenta tidsintervall mellan strålfractionerna biologiskt motiverade**
- Frisätta immunstimulerande signaler (tex CDAMP, HMGB1, ATP, Typ 1-interferon)
- Aktivering av dendritceller
- Ökad produktion och infiltration av CD8⁺ cytotoxiska T-celler i tumören
- Minska immunosuppressionen genom Inaktivering av MDSC (myeloida suppressorceller) och minskad Treg-dominans vid doser <10Gy

Kliniska och prekliniska studier som stöder konceptet:

- **Lungcancer (NSCLC) med Kombination SBRT + Pembrolizumab** ger förbättrad progressionsfri överlevnad med systemiska (abskopala) effekter och aktivering av interferonsignaturer
- **Bröstcancer (flera studier 2022–2026) med pre-operativ strålboost 3×8 Gy** ger ökad T-cellsinfiltration (TIL), minskad tumörcells proliferation, induction av DNA-skador ökning av adaptiva immunmarkörer samt visar låg toxicitet
Den kliniska YOUNGSTER-studien (2026) visade tidiga effekter som ger stöd för pre-operaativ strålbehandling som immunologisk primer

Intermittent pre-kirurgisk strålbehandling (PSiRIT) med måttliga ultrahypofraktioner (6–8 Gy) i kombination med immunterapi kan:

- Producera DNA-skador som omvandlar den bestrålade tumören till ett ”**in situ-vaccin**”
- Göra kalla tumörer immunogena
- Övervinna immunterapieresistens
- Skapa systemisk antitumöreffekt
- Förbättra kirurgiska resultat
- Potentiellt öka andelen kompletta remissioner

Konceptet PSiRIT som bygger på både strålningens samverkan med biologiska mekanismer och med erfarenhet i växande mängd kliniska data, kan PSiRIT bli nästa generations tumörbehandling.

Kapitel II-3 Pre-Kirurgisk Strålbehandling av CNS Tumörer

3.1 Personlig och riktad strålbehandling av hjärntumörer

Preoperativ strålbehandling används redan för behandling av hjärnmetastaser för att förbättra lokal kontroll och minska toxicitet. Genom att förbättra strålbehandlingens målinriktning minskar även risken för recidiv och återfall av Leptomeningeala sjukdomar.

Asher, och medarbetare presenterade 2014 resultat av klinisk prekirurgisk Neoadjuvant strålkirurgi för kirurgisk resektion av hjärnmetastaser som ett nytt behandlings-paradigm (Asher et al., 2014).

Områden med resektade hjärnmetastaser (BM) strålbehandlas för att minska lokalt återfall. Även strålbehandling av hela hjärnan (WBRT) minskar risken för återfall, men orsakar potentiell toxicitet. Postoperativ stereotaktisk strålkirurgi (SRS) är en annan strategi, dock utan prospektiva data och med problematisk målavgränsning.

Däremot möjliggör strålbehandling som ges pre-operativt (*Neoadjuvant*, eller *NaSRS*) tydlig måldefinition och minskning av intraoperativ spridning av tumörceller.

Asher et al's behandling av resektabla hjärnmetastaser BM med pre-operativ neoadjuvant strålkirurgi (*NaSRS*) påbörjades 2005. Därefter genomfördes en prospektiv studie av 47 behandlade patienter med hjärnmetastaser. Patienterna strålbehandlades först med en mediandos på 14 Gy (12–18 Gy) och resektades sedan en dag efter den pre-operativa strålbehandlingen.

Den totala överlevnaden var 78% efter 6 månader och 60% efter 12 månader.

Andelen kompletta remissioner var :

- 98 %, vid 6 månaders kontrollen
- 86 %, vid 12 månaders kontrollen
- 72 %, vid 24 månaders kontrollen.

Det fanns inga postoperativa biverkningar.

Sammanfattningsvis visar resultaten att Pre-kirurgisk Neoadjuvant strålkirurgi (*NaSRS*) kan utföras säkert och effektivt med utmärkta resultat utan dokumenterad strålningsnekros. Den lokala kontrollen var utmärkt även vid stora (>3 cm) lesioner (Asher et al., 2014).

Patel, och medarbetare presenterade 2016 en multi-institutions-jämförelse av pre-operativ och post-operativ stereotaktisk radiokirurgi för resektabla hjärn-metastaser (Patel et al., 2016).

Stereotaktisk radiokirurgi (SRS) är en allt vanligare modalitet som används

vid kirurgi för resektabla hjärnmetastaser (BM). Journaler granskades mellan 2005 och 2013 vid två institutioner, för patienter som genomgick resektion av BM antingen med Pre-SRS eller Post-SRS enbart.

Pre-SRS och Post-SRS för resektad BM ger liknande gynnsamma frekvenser av lokalt recidiv, fjärrhjärnrecidiv och total överlevnad. Men Pre-SRS-kohorten uppvisar jämfört med Post-SRS signifikant lägre frekvenser av symtomatisk strålningsnekros och Leptomeningeal sjukdom (Patel et al., 2016).

Vetlova, och medarbetare rapporterade 2017 preliminära resultat från en klinisk studie av pre-operativ stereotaktisk strålkirurgi av hjärnmetastaser. (Vetlova et al., 2017).

Pre-operativ stereotaktisk strålkirurgi (pre-SRS) är ett nytt framsteg inom strategin för hantering av hjärnmetastaser (BM), och tillgängliga data visar fördelar med pre-SRS jämfört med postoperativ strålbehandling,

inkluderande lägre andel lokal toxicitet, Leptomeningeal progression och en hög andel lokal kontroll.

Nitton patienter med hjärnmetastaser, varav 11 kvinnor och åtta män. med totalt 22 symtomatiska metastatiska lesioner, behandlades med pre-SRS. Åtta patienter hade mellan två och sju benmärgmetastaser. Median-målvolymen för behandlade metastaser var 14 cm³ och medianen för den genomsnittliga targetdosen var 18 Gy.

Alla patienter tolererade pre-SRS väl, utan någon neurologisk försämring, och kirurgisk behandling genomfördes 24 timmar efter strålbehandling enligt schemat. Magnet-resonansbilder (MR) erhållna två eller tre månader efter den kombinerade behandlingen visade inga tecken på förändringar i de perifokala vävnaderna efter strålbehandling (Vetlova et al., 2017).

Resultaten visar att Pre-operativ stereotaktisk strålbehandling av sekundära hjärntumörer har visat låga nivåer av strålningsinducerad toxicitet och lokal tumörprogression (Vetlova et al., 2017).

Diehl, och medarbetare rapporterade 2019 resultaten från ”*NepoMUC*”: en fas I-dos-eskalerings studie av neoadjuvant stereotaktisk strålkirurgi för intracerebrala metastaser från solida tumörer (Diehl et al., 2019).

Mer än 25 % av patienter med solida cancerformer utvecklar intracerebrala metastaser. Förutom kirurgi är strålbehandling (RT) en grundpelare i behandlingen av intracerebrala metastaser. Postoperativ fraktionerad stereotaktisk strålbehandling (FSRT) till resektions kaviteten vid intracerebrala metastaser är en behandling som utförs för att minska risken för lokalt återfall. Den postoperativa strålbehandlingen FSRT måste dock skjutas upp tills tillräcklig sårsläkning efter kirurgin har uppnåtts.

Pre-operativ stereotaktisk strålkirurgi (SRS) kan emellertid erbjuda fördelar jämfört med Post-kirurgisk i form av bättre målavgränsning och tidigare start av kombinations behandling.

Diehl et al. genomförde en klinisk studie för att söka den maximalt tolererade stråldosen (MTD) av pre-operativ neoadjuvant SRS för intracerebrala metastaser. En fas I-dosöknings studie genomfördes på 72 patienter med intracerebrala metastaser vid *Klinikum rechts der Isars*.

Studien genomfördes med 3 dosnivåer och 4 olika kohorter beroende på lesionsstorlek. Det primära effektmåttet är den absorberad dos för vilken inga biverkningar uppstår.

Tabell II-3-1

Kohorter och i den aktuella studien Pre-kirurgiska strålbehandlings SRS-dosnivåer

Kohort	SRS Absorberad dos nivå (Gy)		
Meastas storlek	I	II	III
Lesion diam. < 1,0 cm	18	20	22
Lesion diam. 1,1-2,5 cm	16	18	20
Lesion diam. 2,6-3,0 cm	14	16	18
Lesion diam. 3,1-4,0 cm	12	14	16

Sekundära effektmått inkluderar: lokal kontrollfrekvens, överlevnad, immunologiska tumörkaraktistika, livskvalitet samt graden av sena kliniska, neurologiska och neurokognitiva toxiciteter (Diehl et al., 2019)

Sammanfattningsvis visar resultaten att Pre-kirurgisk strålbehandling SRS för intracerebrala metastaser erbjuder potentiella fördelar jämfört med post-kirurgisk strålbehandling till resektions-kaviteten.

Resultaten indikerar bättre definition av målvolymen med efterföljande högre effektivitet vid eliminering av tumörceller och lägre skador på omgivande frisk vävnad, dessutom kan systemisk kombinationsterapi påbörjas snabbare (Diehl et al., 2019).

Xu, och medarbetare presenterade 2019 en översikt av strålningsgenomik: integrering av patientens strålningsrespons med genomik för personlig och riktad strålbehandling (Xu et al., 2019).

Framgången med konventionell strålbehandling för cancerpatienter är beroende av förmågan att leverera en total tumördödande stråldos som kan utrota alla cancerceller inom den kliniska målvolymen. Stråldostoleransen hos omgivande friska vävnader blir dock den huvudsakliga dosbegränsande faktorn.

Negativa effekter på normal vävnad efter konventionell strålbehandling är vanliga och påverkar patienternas livskvalitet avsevärt. Sannolikheten för att utveckla dessa negativa effekter efter strålbehandling kan inte förutsägas enbart baserat på dosbegränsande fysikalisk-tekniska parametrar.

Det finns indikationer som tyder på att vissa vanliga genetiska varianter är associerade med låg strålbehandlingsrespons och risk för att utveckla negativa effekter.

Strålningsgenomik är ett område som studerar hela arvsmassan (genomet), inklusive DNA-sekvenser och deras funktioner i organismer. Området har utvecklats under senare år och undersöker sambandet mellan patientens genomdata och responsen på strålbehandling. Detta område syftar till att identifiera genetiska markörer som är kopplade till individuell strålkänslighet med potential att förutsäga risken för att utveckla negativa effekter på grund av strålbehandling med hjälp av patient-genom information. Det syftar också till att fastställa patienters relativa strålrespons med hjälp av deras genetiska information för en potentiell förutsägelse av patienters respons på strålbehandling.

Xu et al's översiktsartikel rapporterar om aktuella studier inom strålningsgenomik, som undersöker sambandet mellan genomiska data och patienters svar på strålbehandling, inklusive undersökning av genetiska varianter roll i en individs predisposition för ökad strålbehandlingskänslighet eller radiorespons.

Potentialen för tidig förutsägelse av behandlingsrespons och patientresultat är avgörande för att cancerpatienter ska kunna fatta beslut om fortsättning, eskalering, avbrytande och/eller förändring av behandlingsalternativ för att maximera patientens överlevnad samtidigt som biverkningar minimeras och patienternas livskvalitet bibehålls (Xu et al., 2019).

Prabhu, och medarbetare presenterade 2021 *"PROPS-BM Multicenter Cohort Study"*, vilken avser Pre-operativ radiokirurgi för resektade hjärnmetastaser (Prabhu et al., 2021).

PROPS-BM studien avser att utvärdera pre-operativa utfall och prognostiska faktorer från en stor multicenterkohort av Pre-operativ radiokirurgi för hjärnmetastaser.

I studien inkluderades 5 institutioner och 242 patienter med hjärnmetastaser (BM) från solida cancerformer som hade minst en lesion. Patienter med en median total tumörvolym på ca.10 cm³ strålbehandlades pre-operativt med en enda strål-fraktion till en mediandos på 15 Gy och genomgick därpå en planerad resektion.

Frekvensen av lokalt återfall (LR) i kaviteten var vid ett år 15% och vid två år var den 18 %.

Frekvensen av radiografisk meningeal sjukdom (MD) efter ett och två år var 6,1 % respektive 7,6 % och alla grader av negativ strålningseffekt (ARE) var 4,7 % respektive 6,8 %. Den 2-åriga medianöverlevnads-frekvensen var 38,4 % och medianöverlevnaden (OS) var 16,9 månader.

Denna multicenterstudie med pre-operativ strålbehandling visar samma gynnsamma resultat som visats i tidigare studier, särskilt de låga frekvenserna av MD och ARE, utan tecken på komplikationer. En randomiserad studie mellan preoperativ och postoperativ SRS är dock motiverad och håller för närvarande på att utformas (Prabhu et al., 2021).

Hoyle, och medarbetare rapporterade 2025 resultaten från en klinisk fas 1-dosökningsstudie av pre-operativ *Stereotaktisk Radiokirurgi*(SRS) för hjärn-metastaser: som visar minskad Leptomeningeal sjukdom (Hoyle et al., 2025).

Pre-operativ stereotaktisk radiokirurgi (SRS) har föreslagits som en strategi för att minska nodulär Leptomeningeal sjukdom (nLMD) efter resektion av hjärnmetastaser genom att strålbehandla före kirurgisk manipulation. Deras studie syftade till att fastställa säkerheten för pre-operativ SRS via en fas 1-dosökningsstudie och jämföra lokal kontroll och total överlevnad (OS) - mellan pre-operativa och post-operativa behandlingskohorter.

Fas 1-studien utvärderade säkerheten för pre-operativ SRS med en fraktion vid eskalerande doser (12 och 15 Gy) hos patienter med tumörer av storleken 2 till 6 cm (Hoyle et al., 2025).

Studien visar att pre-operativ stereotaktisk radiokirurgi (SRS) upp till 15 Gy är säker för tumörer med storlekar 2 till 6 cm och minskar nodulär Lepto-Meningeal sjukdom (nLMD) signifikant utan att kompromissa med lokal kontroll eller total överlevnad. Dessa fynd stöder att pre-operativ SRS är en användbar behandlings-strategi (Hoyle et al., 2025).

3.2 Preoperativ strålterapi av Glioblastom (POBIG)

Waqar och medarbetare presenterade 2023 ett protokoll avseende en fas I-studie av pre-operativ *strålbehandling av glioblastom* (POBIG) (Waqar et al., 2023).

Glioblastom är en höggradigt aggressiv tumör vars resultat inte har förändrats på årtionden. I den nuvarande behandlingsvägen fortsätter tumörtillväxten och patienten förblir obehandlad i flera veckor efter diagnos. Intensifierad initialbehandling kan rikta in sig på annars obehandlade tumörceller och förbättra behandlingsresultatet. POBIG-studien avser att utvärdera säkerheten och genomförbarheten av pre-operativ strålbehandling med en fraktion för nydiagnostiserat glioblastom, bedömd utifrån den maximalt tolererade dosen (MTD) och maximalt tolererade strålningsvolymen (MTIV).

POBIG är en öppen, dubbelcentrerad fas I-dos- och volymeskalerings studie som har fått etiskt godkännande. Patienter med en ny radiologisk diagnos av glioblastom kommer att få en enda fraktion pre-operativ strålbehandling från 6 till 14 Gy följt av standardbehandling bestående av maximal säker resektion och postoperativ kemo-radioterapi (60 Gy/30 fr) med samtidig och adjuvant *Temozolomid*.

Pre-operativ strålbehandling riktas mot den del av tumören som löper högst risk att kvarstå som postoperativ kvarvarande sjukdom (*hot-spot*). En del av tumören kommer att förbli obestrålad (*cold-spot*) och samplas separat för diagnostiska ändamål. Dos-volym-escalering kommer att vägledas av en *Continual Reassessment Method* (CRM)-modell. Translationella möjligheter kommer att ges genom jämförelse av bestrålad och obestrålad primär glioblastomvävnad.

POBIG-avser att bidra till att fastställa strålbehandlingens roll i preoperativa modaliteter för glioblastom .

Studieregistrering NCT03582514 (clinicaltrials.gov) (Waqar et al., 2023).

Borst, och medarbetare presenterade 2025 interimresultat från POBIG-studien avseende neoadjuvan strålbehandling vid glioblastom (Borst et al., 2025).

Glioblastom IDH-vildtyp är en mycket infiltrativ och aggressiv hjärntumör, vilket gör fullständig kirurgisk resektion omöjlig. Prekliniska bevis tyder på att kirurgisk manipulation kan bidra till tumöråterfall genom att

stimulera tumörens proliferativa och migrerande potential. Kliniska Neoadjuvanta metoder, där tumören behandlas i ostört tillstånd, är fortfarande i stort sett utforskade vid glioblastom.

POBIG-studien (NCT03582514) initierades för att bedöma genomförbarheten, säkerheten och den preliminära effekten av preoperativ strålbehandling vid glioblastom. Studien rekryterar patienter med hjälp av MR-baserade diagnostiska kriterier, vilket eliminerar behovet av biopsi före behandling. Studien följer en initial dosökning (8–14 Gy) följt av en bestrålad volymsökning ($< 30 \text{ cm}^3$, $30\text{--}60 \text{ cm}^3$, $>60 \text{ cm}^3$).

En enskild högdos strålfraction administreras pre-operativt, följt av standard postoperativ kemo-radioterapi (60 Gy i 30 fraktioner med samtidig *Temozolamide*). Efter varje kohort av tre patienter används en tre månaders observationsperiod för att övervaka biverkningar innan dos eller volym ökas. I initiala kohorter utfördes endast partiell tumörbestrålning för att möjliggöra jämförelse mellan bestrålad och icke-bestrålad vävnad för molekylära och patologiska analyser. Total överlevnad (OS) mäts från tidpunkten för pre-operativ behandling, med rekrytering av de planerade 18 patienterna som förväntas vara slutförda senast tredje kvartalet 2025. Denna rapport presenterar interimistiska resultat från de första tio patienterna som rekryterades mellan 2022 och 2024.

Nio hade histologiskt bekräftat glioblastom; en diagnostiserades med pilocytiskt astrocytom och exkluderades. Median-överlevnadstiden (OS) var 20,4 månader och sex patienter levde vid tidpunkten för analysen. Inga kirurgiska komplikationer observerades orsakade av pre-operativ strålbehandling.

Sju patienter (78 %) utvecklade nya kontrastförstärkande avvikelser, med en median debut-tid på 5,9 månader. Tre genomgick reoperation på grund av misstänkt progression; patologin avslöjade reaktiv glios och inflammation utan entydig återfall.

Dessa fynd tyder på att preoperativ strålbehandling är genomförbar, och är inte förknippad med ökade kirurgiska komplikationer och kan minska lokalt återfall. Men fortsatt utredning genom POBIG är dock motiverad.

Mansour, och medarbetare publicerade 2024 en översikt om hur man genom att låsa upp koden till molekylär och genetisk profilerings skulle kunna revolutionera glioblastombehandling (Mansour et al., 2024).

Glioblastom (GBM) är den mest aggressiva primära hjärncancerformen, kännetecknad av djupgående molekyllär och cellulär heterogenitet, vilket bidrar till dess resistens mot konventionella terapier och dålig prognos. Trots multimodala behandlingar inklusive kirurgisk resektion, strålning och kemoterapi är medianöverlevnaden fortfarande cirka 15 månader.

Nya framsteg inom molekyllär och genetisk profilering har visat på viktiga genetiska förändringar och molekyllära sub-typer av GBM, såsom EGFR-amplifiering, PTEN- och ATRX-förlust, samt TP53-förändringar, vilka har betydande prognostiska och terapeutiska implikationer. Dessa upptäckter har sporrat utvecklingen av riktade terapier som syftar till att störa avvikande signalvägar som RTK/RAS/PI3K och TP53.

Behandlingsresistens är dock fortfarande en formidabel utmaning, driven av tumörheterogenitet, den komplexa tumörmikromiljön (TME) och inneboende adaptiva mekanismer. Framväxande terapeutiska metoder syftar till att ta itu med dessa utmaningar, inklusive användningen av immunterapier som immun-kontrollpunkts hämmare ICI och CAR T-cellsterapier, som riktar sig mot specifika tumörantigener, men möter hinder på grund av den immun-suppressiva TME.

Dessutom visar nya strategier som biopolymerbaserade interstitiella terapier, fokuserat ultraljud för att störa blod-hjärnbarriären och nanopartikelbaserade läkemedels leverans-system lovande resultat när det gäller att förbättra effekten och precisionen hos GBM-behandlingar.

Deras översikt belyser det föränderliga landskapet för GBM-terapi och betonar vikten av personlig medicinsk behandling genom molekyllär profilering. Fortsatt forskning om GBM's biologi och utveckling av behandlingsmetoder med kombinationsterapier och andra innovativa metoder ger hopp om att förbättra patientresultaten.

Mansour, och medarbetare betonar att genom-baserade terapeutiska implikationer kräver bekämpning av den immunsuppressiva effekten i GBM's mikromiljö (TME).

Med hypo-fraktionerad strålterapi i kombination med CTLA-4 hämmare uppnås en effektiv dämpning av den immun-suppressiva effekten från MDSC och T_{reg} vilket ökat den Immunogena-tumörcell-Döden med PD1-hämmare som aktiverar effektor T-celler (CTL) (BRRP anm.)

Fernandez-Gil, och medarbetare rapporterade 2024 om effekter av pre-operativ strålbehandling i en preklinisk glioblastom modell (Fernandez-Gil et al., 2024).

Som redovisats i avsnitt 3.1 används Pre-operativ strålbehandling vid behandling av hjärnmetastaser och olika cancertyper. Fernandez-Gil et al's prekliniska modell syftar till att validera användningen av pre-operativ strålbehandling för behandling av Glioblastom, GBM.

Humana primära glioblastomceller, GBM1A, som tidigare transfecterats med grönt fluorescerande protein (GFP) och Luciferas (Luc), odlades i komplett medium och inokulerades i hjärnan på immunsupprimerade honrättor (Charles River Laboratories, Wilmington, MA).

När tumören var väletablerad, randomiserades rättorna till fyra grupper

- Obestrålade obehandlade kontroller
- Obestrålade resektade kontroller
- Postoperativ strålbehandling efter resektion och
- Pre-operativ strålbehandling före resektion.

I den postoperativa strålbehandlingen resektades tumören efter 7 veckor och strålbehandling utfördes vecka 9. Hos den pre-operativa strålbehandlingsgruppen bestrålades tumören 7 veckor efter den initiala glioblastomcellsinjektionen och kirurgisk resektion utfördes vecka 9.

Rått hjärnor bestrålades lokalt med 30 Gy, som Hypo-Fraktionerad i fem fraktioner à 6 Gy per dag 2 veckor före eller efter resektion av intrakraniella GBM.

Kaplan-Meier-analys fastställde överlevnad. Hematoxylin-eosin-färgning utfördes, och kärnstorlek och p21-senescens markör mättes i både resektade och återkommande gnagartumörer. Immunohistokemi bedömde mikrogliamakrofagmarkörer och RNA-seq analyserade förändringar i genuttryck i återkommande tumörer.

Kaplan-Meier överlevnadskurva visade en signifikant skillnad i överlevnad hos den pre-operativa RT-gruppen med 19 veckor jämfört med den postoperativa RT-gruppens 15 veckor, ($p < 0,05$). Obehandlade kontroller uppvisade en överlevnad på 6 veckor och kontroller som endast fick resektion visade en överlevnad på 7 veckor ($p < 0,001$).

Tid till återfall från resektion baserat på bioluminescens signal var 4 veckor i PostOP-gruppen och 12 veckor i PreOp-gruppen, $p < 0,001$.

Akoya multiplex-färgning på två mänskliga patienter från deras pågående kliniska fas I/IIa-studie fungerade som bevis på principen.

Medianöverlevnaden i pre-operativa strålbehandlingsgruppen var signifikant högre än i post-operativ-RT gruppen ($p < 0,05$).

Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) tydde på en mer proliferativ profil i pre-operativ RT-gruppen. Pre-operativ RT visade lägre rekrytering av makrofager/mikroglia i återkommande tumörer ($p < 0,01$) jämfört med post-operativ RT.

Akoya Multiplex-resultat indikerade TGF- β -ackumulering i cytoplasman hos TAM och CD4+ lymfocyt-dominans i postoperativa gruppen.

Deras prekliniska studie visar på genomförbarhet och längre total överlevnad med neoadjuvant strålbehandling före GBM-resektion i en däggdjursmodell.

Resultaten tyder på stark överlägsenhet hos pre-operativ strålbehandling jämfört med andra strål-strategier. Med ytterligare studier och prövningar för att bekräfta deras resultat kan detta bli ett paradigmskifte (Fernandez-Gil et al., 2024).

Fernandez-Gil studien visar att pre-operativ hypo-fraktionerad strålbehandling 5×6 Gy resulterar i jämfört med post-operativ strålbehandling fördubblad överlevnadstid men inga kompletta remissioner (Fernandez-Gil et al., 2024).

Liknande resultat har rapporterats med tumörvaccin, vilket indikerar att pre-kirurgisk strålbehandling genererar ett in situ-vaccin (Salford et al., 2022).

Med pre-operativ intermittent strålbehandling i kombination med immunterapi torde det bli möjligt att i likhet med vaccin-behandling uppnå ökad terapeutisk effekt och kompletta remissioner (BRRP anm.).

II-3.3 Pre-operativ strålterapi med immunterapi

Sharabi, och medarbetare visade 2015 att stereotaktisk strålbehandling förstärktes med antigenspecifika PD-1-medierade antitumör immunsvär via korspresentation av tumörantigen (Sharabi et al., 2015).

De immunmodulerande effekterna av stereotaktisk strålbehandling (XRT) har fått stort intresse på senare tid, och det har förekommit flera rapporter om synergier mellan stereotaktisk strålbehandling (XRT) och immunterapi.

Ytterligare prekliniska studier behövs dock för att påvisa den antigenspecifika naturen hos strålningsinducerade immunsvaret och belysa potentiella mekanismer för synergier med immunterapi. De demonstrerar att stereotaktisk XRT har förmåga att inducera endogena antigenspecifika immunsvaret i kombination med immunterapi som blockerar PD-1-kontrollpunkt.

Med hjälp av SARRP (*Small Animal Radiation Research Platform*) resulterade bildstyrd stereotaktisk XRT som administrerades till B16-OVA-melanomalternativt 4T1-HA-bröstkarcinomtumörer i utvecklingen av antigen-specifika T-cells- och B-cellsmedierade immunsvaret.

Dessa immunstimulerande effekter av XRT ökade signifikant när XRT kombinerades antingen med anti-PD-1-behandling eller utarmning av regulatoriska T-celler (T_{reg}), vilket resulterade i förbättrad lokal tumörkontroll.

Fenotypiska analyser av antigenspecifika CD8⁺T-celler visade att XRT ökade andelen antigen-specifika T-celler och effektor-minnes-T-celler. Mekanistiskt fann de att XRT uppreglerar tumörassocierade antigen-MHC-komplex, förbättrar antigen-korspresentation i den dränerande lymfkörteln och ökar T-cellsinfiltration i tumörer (Sharabi et al., 2015).

Sharabi, och medarbetares fynd visar att stereotaktisk strålbehandling XRT har förmåga att initiera ett endogent antigenspecifikt immunsvaret som ger ytterligare motivation för att kombinera intermittent strålterapi med PD-1-blockad i kliniken (BRRP anm.).

Zhang och medarbetare presenterade 2022 en omfattande översikt av mekanismerna vid strålbehandling i kombination med immunterapi (Zhang et al., 2022).

Synen på enkel (intermittent) lokal strålbehandling (iRT) har förändrats dramatiskt under senare år, och det är nu allmänt accepterat att iRT kan provocera fram ett systemiskt immunsvaret, vilket ger en stark grund för kombinationen av intermittent strålbehandling (iRT) och immunterapi (iRIT).

Det finns dock flera punkter att studera, såsom

- interaktionen mellan iRT och immunsystemet,
- identifiering av den bästa kombination med immunterapi iRIT,
- och mekanismen för att förstärka abscopal effekten

Dessa avgörande frågor diskuterar Zhang et al i detalj, såväl som kliniska prövningar för att försöka identifiera de bästa schemana för iRIT (Zhang et al., 2022)..

Sammantaget kan enkel intermittent strålterapi (iRT) betraktas som en utlösande faktor för systemiskt antitumörimmunsvär, och i kombination med immunterapi (iRIT) användas både som en lokal och som systemisk behandling för patienter med metastatisk cancer (BRRP anm.).

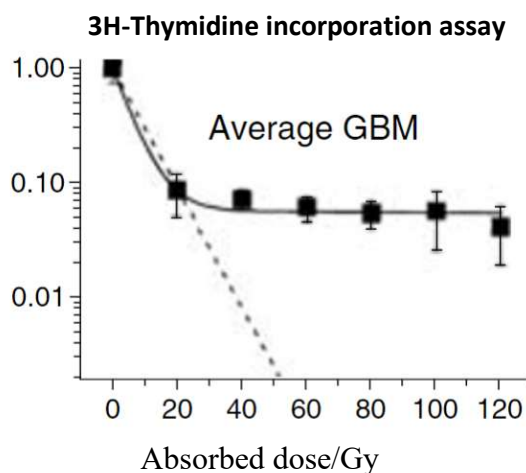
II-3.4 Pre-operativ strålterapi med immunterapi av gliom

Catrin Baurèus-Koch, och medarbetare rapporterade 2004 resultat från strålsterilisering av odlade humana hjärntumörceller för klinisk tumör-immuno-terapi (Baureus-Koch et al., 2004).

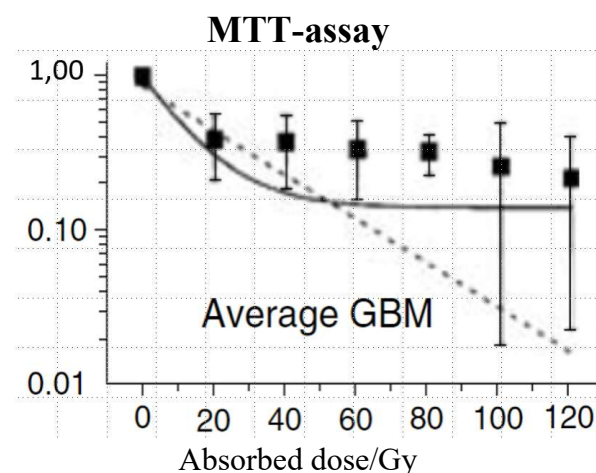
Syftet var att undersöka strålkänsligheten hos icke-transfekterade odlade

humana gliomceller för att fastställa om intrakutant administrerade celler efter strålsterilisering är tillräckligt livskraftiga för att producera interferon-gamma. Cellkulturer etablerades från fem patienter som genomgått hjärntumörkirurgi. Genom karyotypning fann vi fyra maligna kulturer (tre glioblastoma multiforme (GBM), ett jättecellsgliom) och en kultur med normala celler.

Cellkulturer bestrålades med ^{137}Cs -gammastrålning vid absorberade dosnivåer på respektive 0, 20, 40, 60, 80, 100 och 120 Gy. Fraktioner av icke prolifererande celler undersöktes med ^3H -tymidin-inkorporerings assay och fraktionen av livskraftiga celler undersöktes med MTT-inkorporerings analys.



Figur II-3-1a ^3H -tymidin-inkorporeringsassay



Figur II-3-1b MTT-assay

I Figur II-3-1 visas medelvärdena av data som erhöles från tre GBM-cellkulturer anpassade till en exponentiell modell. Resultaten i Figur 3-1a visar att en viss andel celler i våra experiment fortsätter att proliferera efter att ha fått absorberade doser på mer än 30 Gy. De flesta modeller för cellöverlevnad tar inte hänsyn till denna andel celler, som fortfarande prolifererar även vid mycket höga värden (120 Gy) på den absorberade dosen. I vår modell lägger vi till en term δS till den traditionella ekvationen för cellöverlevnadsfraktionen S enligt följande:

$$S = ne^{-D/D_0} + \delta S$$

Där

S är överlevnadsfraktionen,

D_0 är den genomsnittliga absorberade dosen för vilken överlevnadsfraktionen $S=1/e=0,37$,

D är den administrerade absorberade dosen,

n är extrapoleringstalet vid $D=0$ som i vår modell kan tolkas som fraktionen subletala händelser och

δS är extrapoleringstalet vid oändlig absorberad dos som kan tolkas som antingen ett metodologiskt osäkerhetstal eller en fraktion av högggradigt strålningsresistenta celler (stamceller?).

Medelvärdena för MTT-assyens experimentella parametrar var:

$$N = 0,86 \pm 0,10$$

$$D_0 = 12,4 \pm 3,2 \text{ Gy}$$

$$\delta S = 0,14 \pm 0,03$$

Proliferations hastigheten studerades genom inkorporering av ^3H -Tymidin. Medelvärdet av proliferationsdata erhållna från tre GBM-cellkulturer anpassades till den exponentiella modellen gav

$$n = 0,943 \pm 0,005$$

$$D_0 = 5,8 \pm 0,5 \text{ Gy}$$

$$\delta S = 0,057 \pm 0,005$$

Ingen utväxt av plätterade celler observerades efter 4 veckor vid en absorberad dos på 100 Gy. Denna absorberade dos rekommenderas för bestrålning av 2×10^6 gliomceller för användning vid klinisk immunisering.

Vid konventionell strålbehandling med upp emot 80 Gy i tumören kan ca 5% vitala stamceller av tumören återstå, som inom ca 12 månader skulle kunna utveckla recidiv.

För att uppnå komplett remission krävs tydligen en alternativ behandlingsstrategi, som t.ex. intermittent strålterapi i kombination med immunoterapi (BRRP anm).

Weathers, och medarbetare rapporterade 2025 resultaten från en prospektiv fas I/II-studie med en enda behandlingsarm avseende förbättrad total överlevnad i en anti-PD-L1-behandlad kohort av nydiagnostiserade glioblastom patienter, och är associerad med distinkta immun-, mutations- och tarm-mikrobiom egenskaper (Weathers et al., 2025).

Deras fas I/II-studie (studienummer: NCT03174197) syftade till att utvärdera effekten av samtidig behandling med *Atezolizumab* (anti-PD-L1) och standardstrålbehandling och *Temozolomide* (TMZ) följt av adjuvant *Atezolizumab* och TMZ hos 60 nydiagnostiserade glioblastompatienter (GBM).

Samtidig användning av *Atezolizumab* (anti-PD-L1) med standard strålbehandling och *Temozolomide* TMZ var tolererbar och visade samma totala överlevnad som i tidigare publicerade studier för nydiagnostiserad GBM.

De utnyttjade genomiska, transkriptomiska och multiplexa immuno-fluorescerande metoder på tumörer, såväl som metagenomisk analys av avföringsprover för att identifiera korrelationer av differentiellt kliniskt utfall till standardbehandling plus anti-PD-L1 behandling.

Vid djupare undersökningar, med både oövervakade och övervakade analyser, observerades specifika molekyllära egenskaper som utmärkte patienter som uppnådde en längre överlevnad OS med anti-PD-L1-behandling (Weathers et al., 2025).

Samtidig användning av *Atezolizumab* (anti-PD-L1) med standard strålbehandling och TMZ var tolererbar, men visade total överlevnad i linje med andra publicerade studier för nydiagnostiserad GBM. Men högre totalöverlevnad observerades i en undergrupp med specifika molekyllära egenskaper.

Standardstrålbehandling och TMZ i kombination med enbart anti-PD-L1 verkar inte ge någon större effekt på överlevnaden hos patienter med nydiagnostiserad GBM (Weathers et al., 2025).

Zoi, och medarbetare presenterade 2025 en klinisk granskning av immunterapi för glioblastom med fokus på PD-1/PD-L1-hämmare (Zoi et al., 2025).

Glioblastom är den vanligaste och mest dödliga typen av tumör i centrala nervsystemet, med en genomsnittlig överlevnad på 15 månader efter första diagnos.

Immunkontrollpunktshämmare (ICI) har undersökts i stor utsträckning för sin förmåga att utnyttja immunsystemet för att bekämpa tumörer. Deras effekt varierar dock mycket beroende på tumörtyp. Vid glioblastom har PD-1/PD-L1-immunterapi undersökts i olika studier; den unika immunsuppressiva miljön i hjärnan. Närvaron av blod-hjärnbarriären samt den stora intratumorala heterogeniteten har dock begränsat dess effekt avsevärt. För att förbättra den kliniska effekten av ICI är det viktigt att fördjupa sig i de olika faktorer som påverkar svarsfrekvensen vid GBM.

Zoi, och medarbetare sammanfattar de vanligaste orsakerna till resistens mot anti-PD-1/PD-L1-immunterapi samt möjliga sätt att öka dess effekt, särskilt genom kombination med andra terapeutiska medel i preklinisk och klinisk miljö. Vidare ger de en inblick i de mest lovande metoderna för att modulera blod-hjärnbarriären, samt den växande rollen för molekylär avbildning och radiogenomik inom detta område (Zoi et al., 2025).

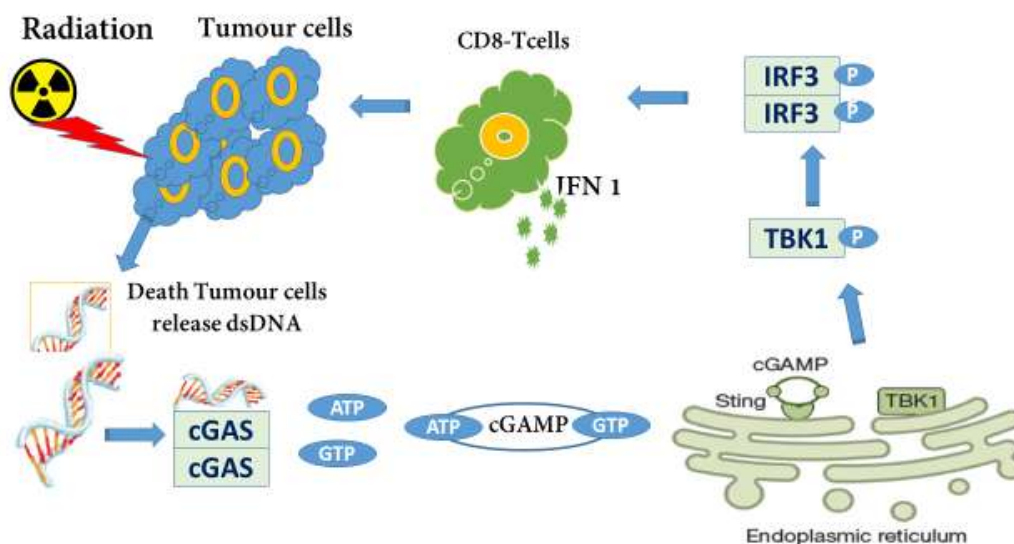
Zoi, och medarbetare betonar också vikten av att bekämpa den immunsuppressiva effekten i GBM's mikromiljö (TME).

Med hypo-fraktionerad strålterapi i kombination med CTLA-4 hämmare uppnås en effektiv dämpning av den immunsuppressiva effekten från MDSC och T_{reg} vilket ökat den immunogena tumör-cellsdöden med PD1-hämmare aktiverade effektor T-celler (CTL). (BRRP anm.)

De Martino, och medarbetare rapporterade 2025 att långvarig immunitet genereras i murina GBM-modeller med bestrålat glioblastom i kombination med dubbel blockad av PD-1 och CTLA-4 (De Martino et al., 2025).

Glioblastom (GBM) återkommer dock ofta, vilket tyder på att konventionell strålbehandling inte fungerar tillfullo vid denna sjukdom. Förutom resterande stamceller kan en möjlig förklaring vara bristen på immunstimulering då standard strålbehandlingsregim används mot GBM. Hypo-Fraktionerad strålbehandling (RT) kan emellertid frigöra pro-inflammatoriska signaler för att sätta igång ett antitumörimmunsvaret (Sharabi et al., 2015, Goffart et al., 2017).

De Martino, och medarbetare testade förmågan hos några alternativa strålfractionerings schema att framkalla typ I-interferon (IFN-I)-svar, och undersökte dess synergi med immunterapi (IT) för att utlösa antitumörimmunitet mot GBM.



Figur II-3-2

Strålbehandling av tumörceller aktiverar cGAMP-syntasvägen via den cytoplasmatiske DNA-sensorn cGAS och stimulerar IFN-gener (STING) vilket effektivt aktiverar CD8⁺T-celler (Cytotoxiska T-Lymfocyter, CTL)

Förkortningar i figuren

- AMP Adenosinmonofosfat;
- GMP Guanosenmonofosfat;
- cGAMP, cykliskt GMP-AMP;
- cGAS, cykliskt GMP-AMP-syntas;
- dsDNA, dubbelsträngat deoxiribonukleinsyra;
- IFN-1, typ I-interferon;
- IRF3, interferonreglerande faktor;
- P, fosfatgrupp;
- TBK1, TANK-bindande kinas 1.

(Gu et al., 2025)

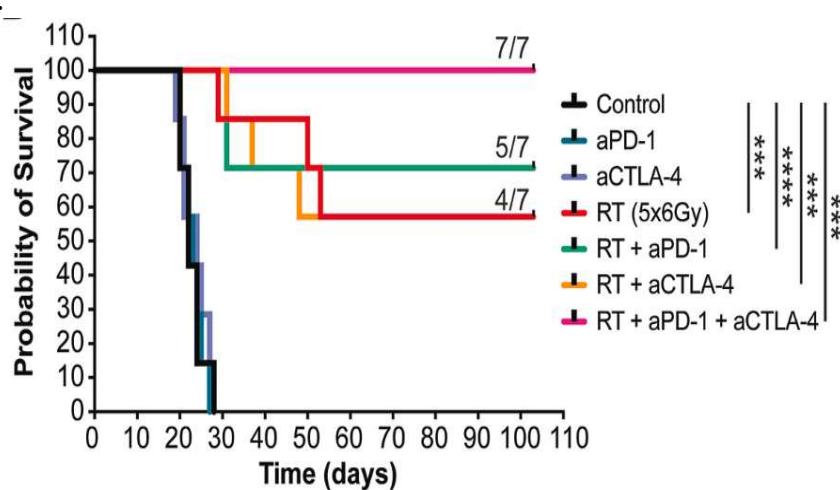
Strålbehandling av tumörceller inducerar DNA-skador i, vilket leder till dubbelsträngsbrott (dsDNA). Under reparation av dsDNA-brott bildas instabila mikrokärnstrukturer, vilket frigör avvikande dsDNA i cytoplasman. Detta främmande dsDNA känns igen av den cytoplasmiska DNA-sensorn cGAS, som katalyserar syntesen av budbäraren cGAMP med hjälp av ATP och GTP. Cykliskt GMP-AMP (cGAMP) translokerar sedan till det endoplasmatiska retikulum och binder där till proteinet STING (*Stimulator of interferon genes*), vilket aktiverar signalvägen kärnfaktor-kB (TBK1) till IFN-1 regulatorisk faktor-3 (IRF3). Denna aktivering inducerar produktion av typ-1 Interferon (IFN-1) och andra inflammatoriska faktorer, vilket effektivt aktiverar CD8⁺T-celler (Cytotoxiska T-Lymfocyter, CTL) och förstärker deras cytotoxicitet mot tumörceller. De Martino, och medarbetare bestrålade *in vitro* tre murina GBM-modeller

- dels med en enda fraktions bestrålning av 20 Gy
- dels med 3 dagliga strålfractioner av 3×8 Gy (totalt 24 Gy)
- dels med 5 dagliga fraktioner av 5×6 Gy (totalt 30 Gy).

Scheman med fraktionerad strålning visade sig vara de mest effektiva i att generera dubbelsträngsbrott i DNA, som i sin tur frisätter IFN-I-relaterade cytokiner som aktiverar aktiverar CD8⁺T-celler (Cytotoxisk T-Lymfocyt, CTL) och förstärker deras cytotoxicitet mot tumörceller.

Jämförelse av olika strålningsregimer *in vivo* visade att 5 × 6 Gy ger bäst kontroll av GBM i de tre testade GBM-modellerna. Tillägg av anti-PD1 eller anti-CTLA4 var för sig som ett immunogent tillägg till bestrålning förlängde dock inte överlevnaden hos mössen.

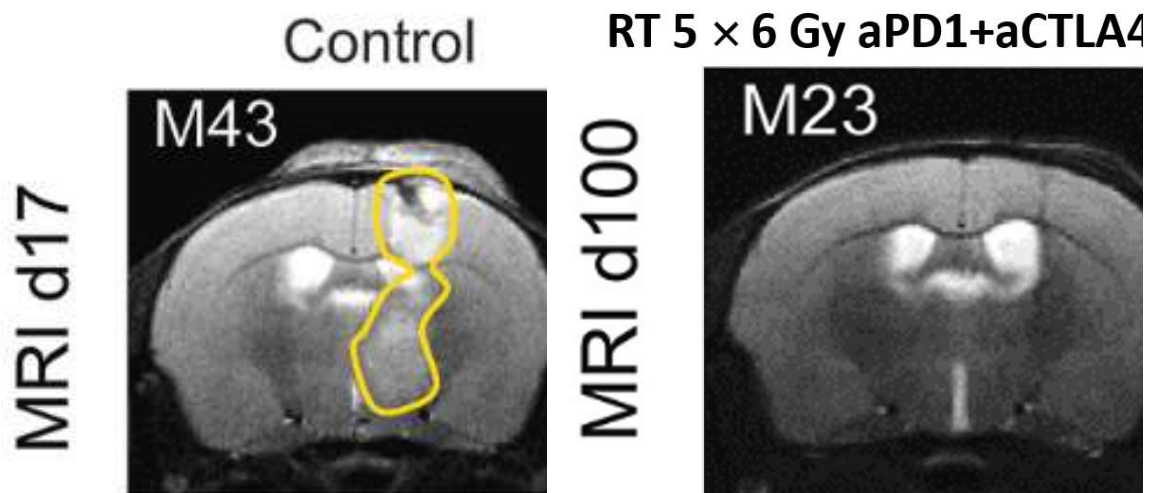
Däremot främjades expansionen av CD8⁺T-celler hos bestrålade möss av immunogent tillägg med gemensam blockad med PD-1 plus CTLA4 vilket förmedlade immunologiskt minne mot GBM (De Martino et al., 2025).



Figur II-3-3

Överlevnads diagram för kontroller och de tre olika bestrålnings scheman i murina GBM-modeller (De Martino et al., 2025) (med tillåtelse)

Sammantaget visar deras studie att hypo-fraktionerad strålbehandling kombinerad med endast en immunogen substans inte är tillräcklig för att utveckla ett tillräckligt starkt antitumörimmunsvar i GBM-möss. Däremot lyckas hypo-fraktionerad strålbehandling (5x6 Gy) i kombination med två immunogena substanser (anti-CTLA4 + anti-PD1) att övervinna immunsuppression av GBM och ge 100% kompletta remissioner (De Martino et al., 2025).



Figur II-3-4

MRI image on day 17

MRI image day 100

Post-tumör cell implantation

(De Martino et al., 2025)

De Martino, och medarbetare visade att det hos bestrålad GBM krävs blockad av både PD-1 för expansionen av proliferativa T-celler och CTLA4 för en effektiv dämpning av den immunsuppressiva effekten från MDSC och Treg. De rapporterar om komplett remission hos GBM bestrålad med 5 fraktioner med 6 Gy per daglig fraktion i kombination med PD-1 och CTLA-4, vilket motiverar för planering av kliniska försök.

Preoperativ iRT med 8 Gy + kirurgi i kombination med anti-CTLA4 + AntiPD1-immunterapi följt av intermittent strålbehandling med en veckovis 6 Gy-fraktion mellan fem veckovisa strålfractioner och immunterapi i tidsintervallen, eller med det antal fraktioner och strålfractionsdos som förväntas ge komplett remission.

Detta verkar vara en intressant studie även för behandling av immunresistenta sk. "kalla" tumörer (BRRP anm.)

II-3.5 Referenser

- Asher, A. L., Burri, S. H., Wiggins, W. F., Kelly, R. P., Boltes, M. O., Mehrlich, M., Norton, H. J. & Fraser, R. W. 2014. "A New Treatment Paradigm: Neoadjuvant Radiosurgery Before Surgical Resection of Brain Metastases With Analysis of Local Tumor Recurrence." *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 88 (4):899-906. doi: 10.1016/j.ijrobp.2013.12.013.
- Baureus-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.
- Borst, G., Roncaroli, F., Parikh, S., Waqar, M., Akkari, L., Bailey, M., Colaco, R., Cooper, R., Djoukhar, I., Forte, G., Golby, c., Jackson, R., Karabatsou, K., Maye, h., McBain, C., O'leary, C., Patel, K., Wesseling, P., Whitehurst, P., Wood, j., Coope, D. & D'Urso, P. 2025. "Ctni-20. Neoadjuvant Radiotherapy In Glioblastoma Idh-Wildtype: Interim Results From The Pobig (Preoperative Brain Irradiation In Glioblastoma) Study." *Neuro-Oncology* 27 (Supplement_5):v129-v130. doi: 10.1093/neuonc/noaf201.0517.
- De Martino, M., Daviaud, C., Lira, M. C., Hernandez-Zirofsky, K. & Vanpouille-Box, C. 2025. "Dual blockade of PD-1 and CTLA-4 generates long-lasting immunity against irradiated glioblastoma." *Cancer Letters* 628:217856. doi: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2025.217856>.
- Diehl, C. D., Shiban, E., Straube, C., Gempt, J., Wilkens, J. J., Oechsner, M., Kessel, C., Zimmer, C., Wiestler, B., Meyer, B. & Combs, S. E. 2019. "Neoadjuvant stereotactic radiosurgery for intracerebral metastases of solid tumors (NepoMUC): a phase I dose escalation trial." *Cancer Commun (Lond)* 39 (1):73. doi: 10.1186/s40880-019-0416-2.

- Fernandez-Gil, B. I., Schiapparelli, P., Navarro-Garcia de Llano, J. P., Otamendi-Lopez, A., Ulloa-Navas, M. J., Michaelides, L., Vazquez-Ramos, C. A., Herchko, S. M., Murray, M. E., Cherukuri, Y., Asmann, Y. W., Trifiletti, D. M. & Quiñones-Hinojosa, A. 2024. "Effects of PreOperative radiotherapy in a preclinical glioblastoma model: a paradigm-shift approach." *J Neurooncol* 169 (3):633-646. doi: 10.1007/s11060-024-04765-5.
- Goffart, N., Lombard, A., Lallemand, F., Kroonen, J., Nassen, J., Di Valentin, E., Berendsen, S., Dedobbeleer, M., Willems, E., Robe, P., Bours, V., Martin, D., Martinive, P., Maquet, P. & Rogister, B. 2017. "CXCL12 mediates glioblastoma resistance to radiotherapy in the subventricular zone." *Neuro-Oncology* 19 (1):66-77. doi: 10.1093/neuonc/now136.
- Gu, Y. Q., Peng, Y. J. & Li, X. F. 2025. "Radiation therapy in the era of precision medicine: a narrative review." *Chinese Clinical Oncology*. doi: 10.21037/cco-25-59.
- Hoyle, J. M., Markert, J. M., Riley, K. O., Willey, C. D., Marcrom, S. R., Popple, R. A., Bredel, M. & Fiveash, J. B. 2025. "Preoperative Stereotactic Radiosurgery for Brain Metastases: A Phase 1 Dose Escalation Study Demonstrating Reduced Leptomeningeal Disease." *Adv Radiat Oncol* 10 (11):101882. doi: 10.1016/j.adro.2025.101882.
- Mansour, M. A., Kamer-Eldawla, A. M., Malaeb, R. W., Aboelhassan, R., Nabawi, D. H., Aziz, M. M. & Mostafa, H. N. 2024. "Unlocking the code: The role of molecular and genetic profiling in revolutionizing glioblastoma treatment." *Cancer Treatment and Research Communications* 43. doi: 10.1016/j.ctarc.2025.100881.
- Patel, K. R., Burri, S. H., Asher, A. L., Crocker, I. R., Fraser, R. W., Zhang, C., Chen, Z., Kandula, S., Zhong, J., Press, R. H., Olson, J. J., Oyesiku, N. M., Wait, S. D., Curran, W. J., Shu, H. K. & Prabhu, R. S. 2016. "Comparing Preoperative With Postoperative Stereotactic Radiosurgery for Resectable Brain Metastases: A Multi-institutional Analysis." *Neurosurgery* 79 (2):279-85. doi: 10.1227/neu.0000000000001096.
- Prabhu, R. S., Dhakal, R., Vaslow, Z. K., Dan, T., Mishra, M. V., Murphy, E. S., Patel, T. R., Asher, A. L., Yang, K., Manning, M. A., Stern, J. D., Patel, A. R., Wardak, Z., Woodworth, G. F., Chao, S. T., Mohammadi, A. & Burri, S. H. 2021. "Preoperative Radiosurgery for Resected Brain Metastases: The PROPS-BM Multicenter Cohort Study." *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 111 (3):764-772. doi: 10.1016/j.ijrobp.2021.05.124.
- Salford, L., G., Peter, S., Gunnar, S., Anna, R., Catharina, B., Åsa, L., Bertil Rolf Ragnar, P., Susanne, S., Edward, V. & Bengt, W. 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*. Rijeka: IntechOpen.
- Sharabi, A. B., Nirschl, C. J., Kochel, C. M., Nirschl, T. R., Francica, B. J., Velarde, E., Deweese, T. L. & Drake, C. G. 2015. "Stereotactic Radiation Therapy Augments Antigen-Specific PD-1-Mediated Antitumor Immune Responses via Cross-Presentation of Tumor Antigen." *Cancer Immunol Res* 3 (4):345-55. doi: 10.1158/2326-6066.Cir-14-0196.

- Waqar, M., Roncaroli, F., Djoukhadar, I., Akkari, L., O'Leary, C., Hewitt, L., Forte, G., Jackson, R., Hessen, E., Withington, L., Beasley, W., Richardson, J., Golby, C., Whitehurst, P., Colaco, R., Bailey, M., Karabatsou, K., D'Urso, P. I., McBain, C., Coope, D. J. & Borst, G. R. 2023. "Study protocol: PreOperative Brain Irradiation in Glioblastoma (POBIG) – A phase I trial." *Clinical and Translational Radiation Oncology* 39:100585. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ctro.2023.100585>.
- Weathers, S. P., Li, X., Zhu, H., Damania, A. V., Knafl, M., McKinley, B., Lin, H., Harrison, R. A., Majd, N. K., O'Brien, B. J. & al., e. 2025. "Improved overall survival in an anti-PD-L1 treated cohort of newly diagnosed glioblastoma patients is associated with distinct immune, mutation, and gut microbiome features: A single arm prospective phase I/II trial. ." *Nat. Commun.* 16.
- Vetlova, E., Golbin, D. A., Golanov, A. V., Potapov, A. A., Banov, S. M., Antipina, N., Kostjuchenko, V. V., Usachev, D. Y., Belyaev, A. Y. & Goryaynov, S. 2017. "Preoperative Stereotactic Radiosurgery of Brain Metastases: Preliminary Results." *Cureus* 9 (12):e1987. doi: 10.7759/cureus.1987.
- Xu, L., Osei, B. & Osei, E. 2019. "A review of radiation genomics: integrating patient radiation response with genomics for personalised and targeted radiation therapy." *Journal of Radiotherapy in Practice* 18 (2):198-209. doi: 10.1017/s1460396918000547.
- Zhang, Z., Liu, X., Chen, D. & Yu, J. 2022. "Radiotherapy combined with immunotherapy: the dawn of cancer treatment." *Signal Transduct Target Ther* 7 (1):258. doi: 10.1038/s41392-022-01102-y.
- Zoi, V., Galani, V., Sioka, C., Alexiou, G. A. & Kyritsis, A. P. 2025. "Immunotherapy for Glioblastoma: A Focus on PD-1/PD-L1 Inhibitors." *Cancers (Basel)* 17 (23). doi: 10.3390/cancers17233777.

Sammanfattning Kapitel II-3

Flera kliniska studier av Pre-operativ strålbehandling vid hjärnmetastaser visar positiva resultat med pre-operativ stereotaktisk radiokirurgi (SRS) som kan ges säkert före tumör-resektion.

Pre-operativ strålbehandling ger lika eller bättre tumörkontroll jämfört med postoperativ strålbehandling.

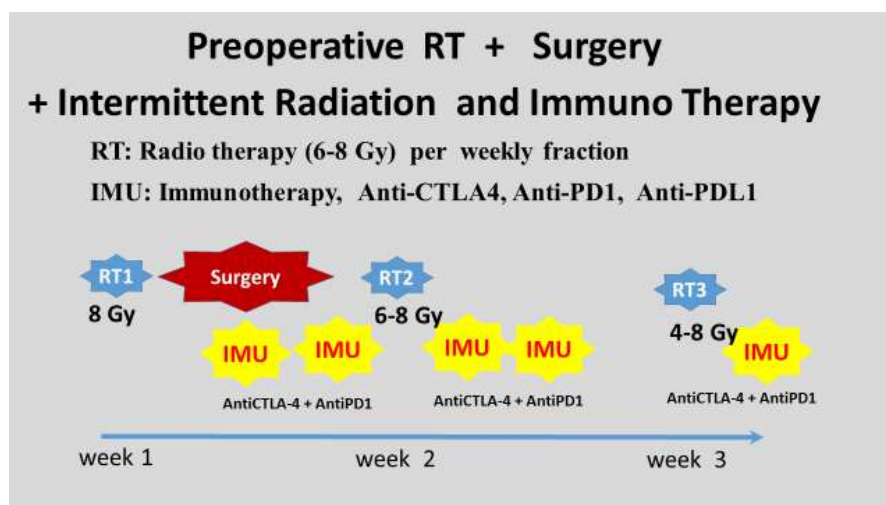
Pre-operativ strålbehandling vid glioblastom i kombination med immunterapi

Strålbehandling kan stimulera immunförsvaret genom att frigöra tumörantigen som aktiverar T-celler(CTL) och skapar ett systemiskt antitumörsvär.

Prekliniska studier i kombination med immunterapier som PD-1-hämmare och CTLA-4-hämmare skulle kunna förstärka denna effekt och ge kompletta remissioner.

Sammanfattningsvis kan strålbehandling av hjärntumörer med 5×6 Gy före kirurgi, särskilt när den kombineras med molekylär diagnostik och immunterapi, vara säkrare och effektivare än dagens standard där konventionell strålbehandling ges efter operationen,

Forskningen tyder på att denna strategi kan bli ett nytt behandlingsparadigm, men randomiserade kliniska studier behövs för att stadfästa metoden.



Figur II-3-5

Förslag till intermittent strål-behandling i kombination med immuno-terapi för behandling av immuno-resistenta s.k. ”kalla” tumörer (BRRP anm.).

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Kapitel II-4

Pre-kirurgisk Strålbehandling och Immunoadjuvant Hypertermi

II-4.1 Kombinations strålbehandling med Hypertermi

Klinisk erfarenhet av hypertermi i Lund

Hittills har kombinerad behandling med lågdos (30Gy) konventionell strål-behandling och hypertermi tillämpats på cirka 100 patienter i Malmö och Lund. Vid behandlingstillfället hade dessa patienter ytliga, lokala återfall av tumörer eller metastaser, trots tidigare etablerad behandling.

Den totala absorberade stråldosen på 30 Gy (10 fraktioner à 3 Gy per dag) och mikrovågs-hypertermibehandling med 41–44 °C under 45 minuter, har varit densamma för varje behandling.

I de fall där patienterna har haft mer än en yttlig tumör behandlades vanligtvis den minsta tumören endast med strålbehandling, enligt samma fraktionerings-scheman som vid den kombinerade behandlingen (Lindholm et al., 1982a)

Från augusti 1980 till november 1984 behandlades 85 utvärderbara ytliga recidiv av maligna tumörer, främst adenokarcinom (78 %), hos 38 patienter. Behandlingen gavs i två veckor, med antingen kombinerad lokal hypertermi, 41–45 °C i fyra sessioner, och lågdosstrålbehandling, 30,0 Gy (CRE = 13,1), eller enbart samma lågdos-strålbehandling. Hypertermi inducerades alltid strax efter strålbehandlingen externt med mikrovågor på 2450 MHz eller 915 MHz.

Totalt 57 tumörer fick kombinerad behandling med ett komplett svar (CR) på 46 % respektive ett partiellt svar (PR) på 30 % (duration 1–38 månader).

Hos 18 patienter med 2–10 ytliga tumörer vardera användes 56 tumörer i en jämförande studie som jämförde effekten av kombinerad hypertermi och

lågdos strålbehandling jämfört med enbart samma lågdos strålbehandling. Patienterna var deras egna kontrollpersoner. Den totala svarsfrekvensen var 89 respektive 50 % i de två behandlingsgrupperna. Skillnaden i svarsfrekvens är signifikant ($p = 0,0039$) till fördel för den kombinerade behandlingen, och detta observeras även när man jämför endast fullständiga remissioner ($p = 0,0027$). Multipel logistisk regression visade att följande faktorer hade prognostisk betydelse

- tidsintervallet mellan den tidigare givna standard strålbehandlingen och den aktuella RT+HT-behandlingen ($p=0,0002$)
- medelvärdet av minimitemperaturen för den "bästa" hypertermibehandlingen ($p=0,0078$)
- CRE-värdet för den aktuella RT-behandlingen ($p=0,0090$)

Våra data indikerar således att den genomsnittliga minimitemperaturen för den "bästa" hypertermibehandlingen är den viktigaste termiska faktorn för fullständigt tumorsvar vid hypertermibehandling i kombination strålbehandling (Lindholm et al., 1982a, Lindholm et al., 1985, Lindholm et al., 1982b, Lindholm et al., 1995).

Klinisk erfarenhet av hypertermi med strålbehandling

Huilgol, rapporterade 2010 resultaten från en randomiserad studie av hypertermi med strålbehandling vid behandling av lokalt avancerad huvud- och halscancer (Huilgol et al., 2010).

Huvud- och halscancer är den vanligaste orsaken till cancerdödlighet hos män i Indien. Kirurgi, strålbehandling ensamt eller i kombination har varit grunden för behandlingsstrategier. Kemoterapi och strålbehandling har blivit standardbehandling för de flesta typer av huvud- och halscancer. Denna strategi har fördelen att den bibehåller både struktur och funktioner, om än med ökade akuta och fördröjda biverkningar.

Strålbehandling (RT) med hypertermi (HT) kan emellertid uppnå samma mål utan ytterligare toxicitet. HT levererades med en modifierad *Thermatron*, en radiofrekvens-maskin (RF) som arbetar på 8,2 MHz.

Huilgol, et al randomiserade 56 patienter till enbart strålbehandling (RT) eller RT-hypertermi (RT+HT)-armen. Tjugosex patienter inkluderades i RT-armen och 28 patienter i RT-HT-armen. Båda grupperna var jämnt matchade vad gäller ålder, kön och stadium. Patienter i båda armarna fick

strålbehandling med en total dos på 66–70 Gy under 6,5–7 veckor. Patienterna i studiegruppen (RT+HT) fick veckovis HT som varade i 30 minuter.

Fullständigt svar observerades hos 42,4 % i gruppen som fick enbart RT, jämfört med 78,6 % i (RT+HT)-gruppen. Skillnaden var statistiskt signifikant ($< 0,05$). Kaplan-Meier-analys av överlevnad visade också en signifikant förbättring till förmån för RT+HT. Inga dosbegränsande termiska brännskador och överdriven slemhinne- eller termisk toxicitet registrerades.

Radiofrekvensbaserad uppvärmning (rfHT) kombinerad med strålbehandling av huvud- och halscancer är bättre än enbart RT. **Resultaten av deras studie indikerar att hypertermi kan användas som en adjuvant behandling med strålterapi.**

Overgaard, och medarbetare publicerade 2024 en randomiserad multicenter studie av European Society for Hyperthermic Oncology ESHO-1–85: *"Hypertermi som adjuvans till strålbehandling vid behandling av lokalt avancerad bröstcancer"* (Overgaard et al., 2024).

ESHO-1–85 är en icke tidigare publicerad 30 år gammal randomiserad klinisk studie av effekten från adjuvant hypertermi-strålbehandling av lokalt avancerad bröstcancer. Studien med över 150 patienter visade att adjuvant hypertermi signifikant förbättrade lokal kontroll och cancerfri överlevnad. Resultatet var relaterat till uppvärmningens kvalitet. Behandlingen tolererades väl.

ESHO-protokollet 1–85 är en randomiserad multicenterstudie initierad av *European Society for Hyperthermic Oncology* med syftet att undersöka värdet av hypertermi (HT) som adjuvans till strålbehandling (RT) vid behandling av lokalt avancerad bröstcancer. Studien är en av de största studierna av hypertermi vid strålbehandling men har inte tidigare publicerats.

Mellan februari 1987 och november 1993 inkluderades 151 patienter. Tumörerna stratifierades efter institution och storlek (T2-3/T4) och randomiserades till att få enbart strålbehandling (2 Gy/fx, 5 fx/vecka) till en total absorberad dos på 65–70 Gy, inklusive, eller samma strålbehandling följt en gång i veckan av hypertermi med 43°C i 60 minuter.

Strålning gavs med fotoner eller elektroner av hög energi. Det primära effektmåttet var ihållande fullständigt svar (lokal kontroll) i det behandlade området.

Totalt 146 tumörer hos 142 patienter var utvärderbara, med en median observationstid på 19 månader. Sjuttio tumörer randomiserades till enbart strålbehandling och 76 till strålbehandling i kombination med hypertermibehandling. Storleken var T4 i 92 respektive T2-3 i 54 tumörer. Följsamheten till strålbehandling var god, där alla utom 4 patienter fullfyllede den planerade strålbehandlingen. Toleransen mot värmebehandling var hyfsad, men associerad med måttlig till svår smärta och obehag i 15 % av behandlingarna. Hos 84 % av de uppvärmda patienterna uppnådde minst en värmebehandling måltemperaturen, men temperaturvariationen var stor. Tillsats av värme ökade inte signifikant de akuta eller sena strålreaktionerna.

Sammantaget var den 5-åriga aktuariella lokala felfrekvensen av

- enbart strålbehandling 68 % jämfört med
- strålbehandling + HT 50 %, $p = 0,04$.

Femårs-överlevnaden hos patienter utan sjukdom (DFS) var

- 36% hos de som fick strålbehandling i kombination med + HT
- 19% hos de som enbart fick strålbehandling, $p = 0,021$).

Denna randomiserade multicenterstudie som undersökte tillägg av en veckovis hypertermibehandling till strålbehandling av patienter med lokalt avancerad bröstcancer visade signifikant förbättrad överlevnad vid 5-års tumörkontrollen och gav fler patienter som överlevde fria från cancer.

Resultaten bekräftar således den potentiella kliniska nyttan av strålbehandling i kombination med hypertermi.

Notter och kollegor presenterade 2020 en utvärdering av terapeutiska resultat av kombinerad infrarödinducerad hypertermi (wIRA) och hypofraktionerad åter-bestrålning vid behandling av lokalt bröstcanceråterfall (Notter et al., 2020).

Höga totala svarsfrekvenser med fullständiga remissioner uppnåddes även i stora tumörer efter applicering av kontaktlös, termografikontrollerad vattenfiltrerad infraröd ytlig hypertermi (wIRA), omedelbart följt av hypofraktionerad lågdos-återbestrålning, bestående av 4 Gy en gång i veckan upp till en total dos på 20 Gy (dvs intermittent RT).

Effektiv tumörkontroll hos patienter som lider av inoperabel lokalt återkommande bröstcancer (LRBC) i tidigare bestrålade områden med totala doser på 60–66 Gy kan således framgångsrikt återbehandlas med hypofraktionerad lågdos-bestrålning (4 Gy) i kombination med ytlig hypertermi.

Jämförbarheten av kliniska data mellan olika kombinerade behandlingsregimer för hypertermi (HT) i kombination med strålbehandling (RT) hämmas dock av de mycket individuella egenskaperna hos återkommande bröstcancer (LRBC).

Tumörstorlek, som varierar från mikroskopiskt små lesioner till storskalig cancer *en cuirasse*, beskrivs som en av de viktigaste prognostiska faktorerna. I kliniska studier och analyser av LRBC har tumörstorlek hittills rapporterats på ett mycket heterogent sätt. Därför utvecklade Notter en egen storleksklassificering för utvärderingen av de 201 patienterna som inkluderades i studien.

Storleksklassificeringen visar sig vara väl genomförbar och möjliggör bedömning av fördelarna och begränsningarna med kombinationen HT+RT vid behandling av olika tumörstorlekar. Den förbättrar också jämförbarheten av data och stratifieringen av prognosgrupper, vilket hjälper till att vägleda beslutet mellan behandlingens kurativa och palliativa syfte.

Med hjälp av denna klassificering resulterar den retrospektiva analysen av 201 patienter behandlade med icke-kontakt, termografistyrd wIRA-HT, omedelbart följt av *Intermittent strålbehandling* i 5 veckor med 4 Gy, en gång i veckan, i en hög klinisk total responsfrekvens och en tillfredsställande lokal kontrollfrekvens även i stora tumörer av LRBC. Låg toxicitet möjliggör upprepade återbestrålning vid nya skov.

Tumör-responsfrekvensen för fullständiga remissioner (CR-frekvens) minskade med ökande tumörutbredning:

76 % i rKlass I, tumörutbredning $< 100 \text{ cm}^2$

61 % i rKlass II, tumörutbredning $> 100 \text{ cm}^2$

36 % i rKlass III&II + tumör på kontralateral bröstvägg eller bukvägg

1 CR i rKlass IV&III + tumör på ryggen.

På liknande sätt korrelerade den partiella tumörresponsfrekvensen (PR-frekvens) med tumörstorlek.

Den objektiva tumör-responsfrekvensen OR (CR + PR) var

100 % i rKlass I och

97 % i rKlass II,

97 % i rKlass III,

85 % i rKlass IV

(Notter et al., 2020).

Tabell II-4-1 Sammanfattning av resultaten av olika behandlings regimer

Target	X	D	Y	Z	CR%	Ref
Bröst Ca Rec <100 cm ²	5	4	7	wIRA	76	1
Bröst Ca Rec >100 cm ²	5	4	7	wIRA	50	1
Huvud hals SCC recidiv	3	8	7	PD-1	50	2
Lunga NSLC	2	8	7	PD-1	27	3
Prostata primär UHFRT	7	6	1,4	HFRT	65	4
Prostata primär Conv.RT	39	2	0,3	CF	72	4
Bröst Ca Recidiv RT+HT	15	2	0,3	mwHT	71	5
Huvud hals	35	2	0,3	RT	43	6
Huvud hals	35	2	0.3	RT+HT	79	6

X: Antal RT fraktioner

D: Absorberad dos (Gy) per RT fraktion

Y: Tidsintervall mellan RT fraktionerna (dagar)

Z: Typ av extra behandling

wIRA : Vattenfiltrerad infraröd ytlig hypertermi ()

PD-1 : Immunoterapi Anti-PD1

mwHT : Mikrovågs inducerad hypertermi

CR%: Behandlingsresultat:

CR%: Procent kompletta remissioner, Symptomfri överlevnad

Ref, : Referenser

1. (Notter et al., 2020)

2. {Koukourakis, 2023 #3}

3. {Filippatos, 2023 #6}

4. (Persson et al., 2024)

5 (Lindholm et al., 1995)

6 (Huilgol et al., 2010)

Sammanfattningsvis indikerar resultaten i Tabell II-4-1 att hypertermi kombinerad med strålbehandling ger behandlingsresultat som överträffar kombinationen strålning och ICI immun-kontrollpunkts terapi.

Detta motiverar kliniska studier av prostatacancer behandling med veckovis Intermittent strålbehandling med 6 Gy per fraktion och hypertermi mellan strålfractionerna, Kanske räcker 3 veckors behandling för hög andel kompletta remissioner. Det finns redan klinisk utrustning för trans-uretral

mikrovågs inducerad hypertermi som används för behandling av benign prostatahyperplasi.

Det finns även omfattande klinisk erfarenhet av djup hypertermi i kombination med strålbehandling i Schweiz (Stutz et al., 2022).

Kanske kan kombinationen hypertermi med intermitterande fraktionerad strålterapi erbjuda en renässans för 1980-talets hypertermi-era?? Med en sådan behandling skulle man undvika höga kostnader och biverkningar av kontrollpunkts ICI-Immunoterapi.

Dessutom frigörs ytterligare strålbehandling kapacitet. (BRRP anm.)

Goda behandlingsresultat av ytlig återkommande bröstcancer har rapporterats med kombinerad konventionell lågdosstrålbehandling och mikrovågsinducerad hypertermi. En jämförelse av den terapeutiska effekten mellan kombination av strålbehandling med antiPD1 och Hypertermi visar sig Hypertermi vara bättre. Därför skulle adjuvant hypertermi också kunna övervägas i kombination med ultra-hypo-fraktionerad strålbehandling (UHFRT) (Persson, 2025).

II-4.2 Immunoadjuvant Hypertermi

Kusmartsev, och Gabrilovich sammanfattade 2006 omogna myeloidcellers (iMC) roll i mekanismer för immunosuppression vid cancer (Kusmartsev and Gabrilovich, 2006).

Tumörer påverkar myelopoiesen genom att hämma processen för differentiering och mognad av antigenpresenterande celler från deras myeloidprekursorer. Dessa omogna myeloidceller kan bidra starkt till tumörprogression och främja tumörens förmåga att undvika immunattacker:

- genom att hämma utvecklingen av adaptiva immunsvaret mot tumörer i lymfoida organ;
- genom att migrera till tumörstället och differentiera där till starkt immunsuppressiva tumörassocierade makrofager.

Omogna myeloidceller och tumörassocierade makrofager använder olika JAK/STAT-signalvägar och olika mekanismer för att kontrollera T-

cellsresponser. Detta bidrar till ökad produktion av TGF-beta, reaktiva syreradikaler (ROS), peroxynitriter, samt ökad L-argininmetabolism.

Förståelse av vilka mekanismer som tumörer använder för att påverka differentieringen av antigen-presenterande celler (APC) från myeloidcells prekursorer och hämma T-cellsresponser, kan bidra till att utveckla nya metoder för cancerbehandling och avsevärt förbättra effektiviteten hos befintliga cancer vaccinations-strategier.

Vitamin A eller Retinsyra kan till exempel stimulera differentiering av myeloidprogenitorer till myeloida dendritiska celler .

Fysiologiska koncentrationer av *All-trans Retinsyra* (ATRA) inducerade *in vitro*-differentiering av iMC från tumörbärande möss till myeloida dendritiska celler (Kusmartsev and Gabrilovich, 2006).

In vivo-administrering av ATRA minskade signifikant närvaron av iMC i två olika testade tumörmodeller. Detta orsakades inte av direkt antitumöreffekt av ATRA eller minskad produktion av tillväxtfaktorer av tumörceller. Experiment med adoptiv överföring visade att ATRA differentierade iMC *in vivo* till mogna dendritiska celler, makrofager och granulocyter.

Minskad förekomst av iMC hos tumörbärande möss förbättrade märkbart CD4⁺- och CD8⁺-medierat tumörspecifikt T-cellimmunsvar. Kombinationen av ATRA med två olika typer av cancervacciner i två olika tumörmodeller förlängde signifikant den antitumörmässiga effekten av behandlingen (Kusmartsev and Gabrilovich, 2006).

Kusmartsev, och Gabrilovich's data tyder på att eliminering av omogna myeloidcellers (iMC) med *All-trans Retinsyra* (ATRA) kan öppna en möjlighet att förbättra effekten av cancervacciner oav annan immunterapi (Kusmartsev and Gabrilovich, 2006)..

Skitzki, och medarbetare diskuterade 2009 hypertermi som en immunterapistrategi för cancer (Skitzki et al., 2009)

Användningen av hypertermi som ett komplement till cancerimmunterapi stöds av ett ökande antal forskningsdata. Både prekliniska och kliniska dataresultat har visat förbättrade antitumörimmunsvar med tillägg av mild hypertermi. De molekylära mekanismerna som är ansvariga för den förbättrade immunreaktiviteten som observeras i närvaro av hypertermi inkluderar generering av *Heat Shock Protein* (Hsp), aktivering av

antigenpresenterande celler och förbättrad lymfocyt transport. Att förstå dessa hypertermi inducerade processer kan tjäna som grund för att analysera nuvarande kliniska prövningar, samt utforma framtida prövningar inom cancerimmunoterapi.

Hurwitz, diskuterade 2019 kliniska möjligheter med hypertermi och immunoterapi (Hurwitz, 2019).

Hypertermi har ett stort löfte om att främja immunoterapi vid behandling av cancer. Flera studier har visat fördelar med att tillägga hypertermi till strålbehandling eller kemoterapi vid behandling av vitt skilda maligniteter.

På liknande sätt har prekliniska studier visat hypertermiens förmåga att förbättra cancer-immunoterapicykeln, inklusive stimulering av tumorspecifik immunitet. Även om det nyligen har funnits ett omfattande fokus på att förstärka immunoterapi med strålbehandling, har det förvånansvärt nog hittills inte funnits några kliniska studier som utvärderar kombinationen av hypertermi och immunoterapi. Studien av hypertermi med immunoterapi är särskilt övertygande när den betraktas i samband med ett nytt behandlingsparadigm för denna anti-neoplastiska modalitet. Nya koncept inkluderar immunoterapi och möjligheten att applicera värme upprepade gånger med immunoterapier.

MacDonald, och medarbetare jämförde 2021 olika strategier för reduktion av termisk stress som påverkar MDSC-ackumulering hos tumörbärande möss (MacDonald et al., 2021).

Myeloida suppressorceller (MDSC) är en samling immunceller som undertrycker antitumörimmunsvaret. Minskad MDSC-ackumulering i tumör-mikromiljön kan förbättra antitumörimmunsvaret och förbättra immunoterapin. Effekten av fysiologiskt relevanta termiska behandlingar på ackumuleringen av MDSC undersöktes i tumörer hos möss. ”

MacDonald et al. fann att olika temperaturbaserade protokoll, inklusive

- 1) veckovis hypertermi behandling av hela kroppen,
- 2) att hålla möss vid deras termoneutrala temperatur (TT, ~30 °C), och
- 3) att hålla kontrollmöss vid en subtermoneutral temperatur (ST, ~22 °C)

Samtidigt som de tillhandahåller en lokal värmekälla, resulterade vart och ett i en minskning av MDSC-ackumulering och förbättrad tumörtillväxtkontroll jämfört med kontrollmöss som hölls vid ST, vilket är den standardmässiga, obligatoriska hållningstemperaturen för laboratoriemöss.

Dessutom fann de att lågdosbehandling med β -adrenerga receptorblockerare (propranolol) minskade MDSC-ackumulering och förbättrade kontrollen av tumörtillväxt i liknande grad som modellerna som lindrade köldstress.

Deras resultat visar att värmebehandlingar kan minska MDSC-ackumulering och tumörtillväxt jämförbart med propranolol behandling.

Van Dieren och kollegor presenterade samma år 2024 en systematisk granskning av immunologiska synergier för att förstärka strålningsinducerade abscopala effekter med kombinationen strålbehandling och hypertermi (Van Dieren et al., 2024).

Den abscopala effekten är ett systemiskt immunsvär som kännetecknas av metastasregression på platser långt ifrån den bestrålade lesionen. Deras systematiska granskning syftar till att utforska de immunologiska mekanismer som ligger bakom den abscopala effekten och att undersöka hur hypertermi (HT) kan öka risken för att strålbehandling (RT) utlöser systemiska antitumörimmunsvär.

Deras granskning indikerar att HT och RT har både komplementära och synergistiska immunologiska effekter. Båda metoderna utlöser frisättningen av farosignaler (DAMP), som främjar cytokin- och kemokinsekretion, vilket leder till ökad T-cellsinfiltration i tumören och underlättar immunogen celledöd.

Båda behandlingarna uppreglerar det extracellulära värmechockproteinet HSP70, vilket kan förbättra DAMP-igenkänning av makrofager och dendritiska celler DC, vilket leder till starkare tumörantigenpresentation och CTL-medierade immunsvär.

Dessutom kan den kombinerade ökningen av celladhesionsmolekyler (VCAM-1, ICAM-1, E-selektin, L-selektin) förbättra leukocytadhesion till

tumörer, förbättra lymfocyttransporten och öka de systemiska antitumöreffekterna.

Hypertermi orsakar dessutom vasodilatation och förbättrar blodflödet, vilket kan förstärka den abscopala effekten. De föreslår kombinationen av lokal strålbehandling med omfattande helkroppshypertermi för att optimalt förbättra chanserna att utlösa den abscopala effekten medierad av immunsystemet (Van Dieren et al., 2024).

Även om tumören och dess mikromiljö (TME) är starkt immunsuppressiva på grund av utsöndringen av TGF- β och närvaron av MDSC, M2-typ makrofager och Tregs, indikerar den kombinerade metoden en minskning av immunsuppressionen (Van Dieren et al., 2024).

Därför bör möjligheten att göra den immunsuppressiva tumör mikromiljön TME mer immunstimulerande undersökas ytterligare. Studier är motiverade för att bekräfta att den immunologiska potentialen hos kombinerad strålbehandling och hypertermi ger hopp för nya innovativa cancerbehandlingar (Van Dieren et al., 2024).

Abreu, diskuterade 2025 mekanismer för hypertermi vid modulering av tumörimmunologi för förbättrad immunterapi (Abreu et al., 2025).

Framväxten av immunterapier har revolutionerat cancerbehandlingen genom att utnyttja immunsystemet för att rikta in sig på maligniteter, vilket ger nytt hopp där traditionella terapier ofta misslyckas. I detta sammanhang har hypertermi (HT) återuppstått som en lovande tilläggsbehandling som kan öka effektiviteten av strålbehandling i kombination med immunterapi.

HT påverkar både det medfödda och adaptiva immunsystemet och ökar aktiviteten hos immunceller såsom neutrofiler, NK-celler och dendritiska celler, samtidigt som det modulerar tumörmikromiljön (TME) för att främja immunogen celldöd (ICD) och minska immunsuppressiva tillstånd. Dessa effekter bidrar till omvandlingen av immunologiskt "kalla" tumörer till "heta" tumörer, vilket gör dem mer mottagliga för immunmedierad destruktions.

Dessutom kan HT förstärka effekten av immunkontrollpunktshämmare (ICI) genom att förbättra immuncellsinfiltration, inducera frisättning av skadeassocierat molekyllärt mönster (DAMP) och förbättra antigenpresentationen.

Prekliniska och kliniska studier stöder fördelar med kombinationen av HT med ICI, vilket visar förbättrade resultat i annars resistenta tumörer.

Emellertid återstår den fulla terapeutiska potentialen hos de olika teknikerna som möjliggör tillämpning av HT att vara helt förstådd, och ytterligare forskning behövs för att optimera behandlingsprotokoll, utforska de olika effekterna av lokal kontra helkroppshypertermi och identifiera biomarkörer för patientstratifiering.

Hypertermi (HT) verkar ha återuppstått som en lovande immunoadjutant tilläggsbehandling som även kan öka den terapeutiska effektiviteten av strålbehandlingen.

HT påverkar både det medfödda och adaptiva immunsystemet och ökar aktiviteten hos immunceller såsom neutrofiler, NK-celler och dendritiska celler, samtidigt som det modulerar tumörmikromiljön (TME) för att främja immunogen celldöd (ICD) och minska immunsuppressiva tillstånd.

Dessa effekter bidrar till omvandlingen av immunologiskt "kalla" tumörer till "heta" tumörer, vilket gör dem mer mottagliga för immunmedierad destruktion.

Dessutom kan HT förstärka effekten av immunkontrollpunktshämmare (ICI) genom att förbättra immuncellers infiltration, inducera frisättning av skadeassocierat molekyllärt mönster (DAMP) och förbättra antigenpresentationen (Abreu et al., 2025).

II-4.3 Synergistiska effekten av hypertermi och strålbehandling

Strålbehandling (RT) med joniserande strålning som effektivt dödar tumörceller och krymper tumörer är fortfarande en hörnsten i cancerbehandling. Under lång tid ansågs emellertid strålbehandling (RT) inte vara kompatibel med immunterapi på grund att strålningen i sig kunde vara immunsuppressiv.

Duval, och medarbetare rapporterade 2020 att mNP-hypertermi (dvs magnetiska nanopartiklar-mNP) och hypo-fraktionerad strålning aktiverar liknande immuno-genetiska och cytotoxiska processer (Duval et al., 2020).

Studien avser att bättre förstå det immunogenetiska uttrycket och relaterade cytotoxiska svaren av måttliga men kliniskt relevanta doser av hypo-fraktionerad strålning (1×15Gy och 3×8Gy) och hypertermi inducerad med magnetiska nanopartiklar.

Genetiska, protein-, immunopatologiska och bedömningar av tumörens tillväxt fördröjning användes för att bestämma immun- och cytotoxiska svar efter strålning och mNPH ensamt och i kombination. Även om den använda termiska exponeringen med 43°C under 30 min, vanligtvis resulterar i måttlig oberoende cytotoxicitet, har det visat sig att behandlingen även stimulerar ett immunsvaret och förbättrar cancer-behandlingen. De studerade stråldoserna (15 Gy och 3x8 Gy) används vanligtvis i preklinisk forskning och är effektiva i utvalda stereotaktiska och palliativa kliniska behandlingsmiljöer, men de används inte vanligtvis som första linjens behandling av primära tumörer.

Duratin et al's RNA-baserade genetiska resultat tyder på att även om många av de cytotoxiska och immunologiska gen- och proteinvägarna för strålning och hypertermi är likartade, resulterar strålning, vid de doser som används, i en mer konsekvent och expansiv immun-/cytotoxisk uttrycksprofil mot cancer.

Vid kombinationsbehandling ledde emellertid strålning i kombination med hypertermi till större immun- och cytotoxisk aktivitet än endera modaliteten för sig. Immunhistokemiska studier visar på ökad tumörinfiltration av cytotoxiska T-celler (CTL) och minskad tumörtillväxt.

Duval et al's studie visar tydligt att blygsamma men vanligt förekommande hypo-fraktionerade strålnings- och hypertermidoser inducerar många viktiga immun- och cytotoxiska processer och att en kombination av strål- och hypertermi, jämfört med endera behandlingen för sig, resulterar i genetiska och biologiska fördelar i kampen mot cancer.

Deras studie identifierade också specifika förändringar i genuttryck som visar att mNPH inducerar meningsfulla immunstimulerande signaler, mest signifikant i naturliga mördarceller, T-cellsaktivering och apoptotiska signalvägar. På liknande sätt visade hypo-fraktionerad strålning och kombinationen med hypertermi ökad immunsignalering i stort sett i samma signalvägar (Duval et al., 2020).

Zheng, och medarbetare diskuterade 2023 mekanismer och tillämpningar av strålningsinducerad oxidativ stress vid reglering av cancerimmunterapi (Zheng et al., 2023).

Strålbehandling (RT) är ett effektivt behandlingsalternativ för cancerpatienter. Genom att RT inducerar produktion av reaktiva syreradikaler (ROS) och orsakar oxidativ stress (OS) och tumörcellernas död. Dessutom orsakar oxidativ stress inte bara apoptos, autofagi och ferroptos, utan påverkar även tumörernas immunsvär.

Rätt kombination av strålterapi och immunterapi kan revolutionera behandlingen av olika cancerformer. Genom strålningens induktion av ROS främjas frisättningen av tumörassocierade antigener (TAA), infiltrationen och differentieringen av immunceller. Dessutom manipuleras uttrycket av immunkontrollpunkter och tumörernas immunmikromiljö (TME) påverkas.

Zheng, et al. sammanfattar kortfattat sambandet mellan RT-inducerad OS och antitumörimmunitet. De sammanfattar också de potentiella mekanismer genom vilka ROS reglerar immunkontrollpunktsuttryck, immuncellsaktivitet och differentiering. Slutsatsen blir att det finns en terapeutisk möjlighet att förbättra strålbehandling i kombination med immunterapi som fördelaktigt för klinisk behandling.

I Del II redogörs för hur intermittent strålterapi iRT leder till bildning av neo-anigener frisättning av tumörantigener och DAMP, vilket stimulerar immunsvär. Frisättning av viktiga DAMP:er såsom:

Calreticulin (CRT), vilket underlättar fagocytos av dendritiska celler (DC),

ATP, som rekryterar och aktiverar immunceller, och

HMGB1, som interagerar med TLR4 för att aktivera antigenpresentation

HSP70, ett kritiskt DAMP som ökar igenkänningen av makrofager och dendritiska celler (DC) och förbättrar presentationen av tumörantigen i lymfkörtlar, vilket leder till mer robust cytotoxisk T-ccll-aktivering.

Xi, och medarbetare diskuterade 2024 hur cancerimmunterapi kan förstärkas av "*ät mig-signalen*" DAMP (Xi et al., 2024).

Immunogen celldöd (ICD) är ett unikt sätt att döda celler, vilket kan frigöra immunogena skadeassocierade molekylära mönster (DAMP) och tumörassocierade antigener för att utlösa långsiktiga skyddande antitumörimmunsvär. Därför är förstärkning av "*ät mig-signalen*" under

immunogen tumörcelldöd avgörande för framgång med cancerimmunoterapi som behandlingsstrategi (Xi et al., 2024).

DAMP signaler polariserar dendritceller DC och makrofager, vilket ökar upptaget och presentationen av tumörassocierade antigener (TAA) till CD8⁺T-celler i lymfkörtlar.

Liu, och medarbetare redovisade ingående 2023 hur strålbehandling kan omforma tumörmikromiljön för att öka immunterapeutisk känslighet (Liu et al., 2023).

Cancerimmunoterapi har förändrat traditionella behandlingar, där immun-kontrollpunktsblockad (ICI) är särskilt framträdande. Enbart immunoterapi har dock minimal nytta vid flera typer av tumörer. Strålbehandling (RT) dödar inte bara tumörceller utan utlöser också frisättningen av proinflammatoriska molekyler och immuncellsinfiltration, vilket omformar tumörmikromiljön (TME). Därför förväntas kombinationen av RT och immunoterapi uppnå förbättrad effekt.

Liu et al sammanfattar effekterna av RT på cellulära komponenter i TME, inklusive T-cellsreceptorer, olika T-cellsundergrupper, metabolism, tumörassocierade makro-fager och andra myeloidceller (dendritiska celler, omogna myeloid-suppressorceller iMC, neutrofiler och eosinofiler). Samtidigt utarbetas även icke-cellulära komponenter såsom laktat och extracellulära vesiklar.

Righini, och medarbetare beskrev 2024 grunderna för den synergistiska effekten av hypertermi och strålbehandling (Righini et al., 2024).

Inom cancerbehandling representerar mild hypertermi (HT) en gammal, men nyligen återupplivad möjlighet att öka effekten av strålbehandling (RT) utan att öka biverkningarna, och därigenom bredda det terapeutiska fönstret.

HT stör cellulär homeostas genom att verka på flera mål, och dess kombination med RT producerar synergistiska antitumorala effekter på specifika patofysiologiska mekanismer, associerade med:

- DNA-skada och reparation,
- hypoxi,
- stamcellsnedläggning och

- immunstimulering.

HT är dessutom associerat med direkt tumörcellsödande, särskilt vid högre temperaturnivåer. Ett fenomen av tillfällig resistens mot värme, känt som termotolerans, följer varje HT-session. HT är dessutom associerat med direkt tumördödning på grund av toxisk chock men även termotolerans. Cancerbehandling kräver att innovativa koncept och kombinationer testas, men för en meningsfull utveckling av kliniska prövningar är förståelsen av de underliggande mekanismerna för de testade modaliteterna avgörande.

Både HT och RT behandlingarna uppvisar komplementära och synergistiska effekter på immunförsvaret, vilket förstärker anti-tumörresponser genom delade signalvägar. Tillsammans stimulerar de frisättningen av DAMP, vilka aktiverar CD8⁺ T-celler och främjar leukocytransport genom att uppreglera celladhesionsmolekyler.

RT i kombination med HT uppreglerar tillsammans leukocyt- adhesion och förbättrar lymfocyt infiltration i tumörer. HT kompletterar RT genom att orsaka subletal skada, förbättra blodflödet och skapa en gynnsam TME som stöder immuncellsrekrytering även på avlägsna metastatiska platser.

Både HT och RT modaliteterna uppreglerar också extracellulärt HSP70, ett kritiskt DAMP som ökar igenkänningen av makrofager och dendritiska celler (DC) och förbättrar tumörantigenpresentationen i lymfkörtlar, vilket leder till mer robust cytotoxisk T-cell-aktivering. Dessutom förstärker DAMP-frisättningen den ökade tumörcelldöden som observerats med kombinerad HT och RT, vilket ytterligare stimulerar immunsvaret. Kombinationen av HT och RT har betydande potential att generera starkare systemisk antitumörimmunitet jämfört med endera behandlingen ensam, på grund av deras komplementära mekanismer och synergistiska effekter på immunaktivering, celldöd och lymfocyttransport.

Sammanfattningsvis indikerar resultaten i Tabell II-4-1 att effekten av HT alternativt ICI immunterapi i kombination med RT visar att HT ger bättre terapeutisk effekt än kombination med ICI .

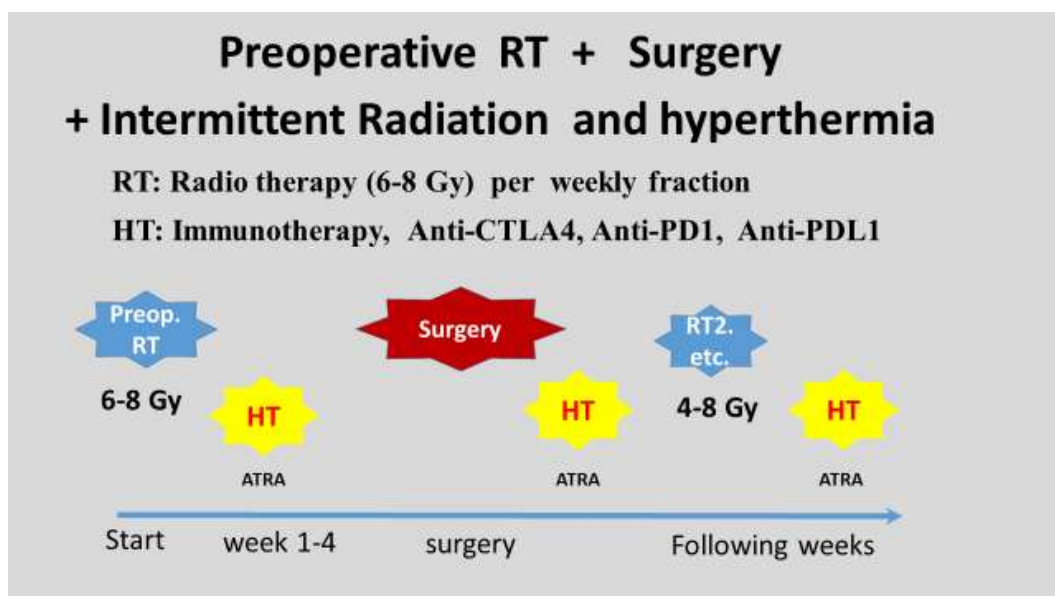
Detta innebär att Hypertermi skulle kunna ersätta ICI som immunterapi vid Pre-krurgisk intermittent strålbehandling (Kapitel IV.2)

II-4.4 Preoperativ Strålbehandling med hypertermi som adjuvant immunoterapi.

Den gängse hypertemibehandlingen syftar till att med temperaturer upp till 44 °C döda tumörcellerna. Dessa höga temperaturer är emellertid associerade med måttlig till svår smärta och obehag av behandlingarna. Med moderna Hypertermi behandlings metoder (typ Laser, IR eller magnetiska nanopartiklar-mNP) skulle Preoperativ Strålbehandling med hypertermi som adjuvant immunoterapi kunna utvecklas till en kostnads effektiv tumörbehandlings metod.

Kusmartsev's, data tyder på att eliminering av immunsuppressiva iMC med ATRA kan öppna en möjlighet att förbättra effekten av cancervacciner och annan immunterapi (Kusmartsev and Gabrilovich, 2006).

Med Pre-operativ neo-adjuvant strålbehandling i kombination med immunoadjuvant hypertermi vid lägre temperaturer boostad med ATRA eller Propranolol skulle behandlingen kunna bli än mer effektiv och komfortabel för patienten (BRRP anm.).



Figur II-4-1

Pre-operativ neo-adjuvant strålbehandling i kombination med immunoadjuvant hypertermi boostad med ATRA (BRRP anm.).

II-4.5 Referencer

- Abreu, M. M., Chocron, A. F. & Smadja, D. M. 2025. "From cold to hot: mechanisms of hyperthermia in modulating tumor immunology for enhanced immunotherapy." *Frontiers in Immunology* Volume 16 - 2025. doi: 10.3389/fimmu.2025.1487296.
- Duval, K. E. A., Petryk, J. D., Crary-Burney, M. A., Demidenko, E., Wagner, R. J. & Hoopes, P. J. 2020. "mNP hyperthermia and hypofractionated radiation activate similar immunogenetic and cytotoxic pathways, ." *International Journal of Hyperthermia*, 37 (1):929-937, . doi: DOI: 10.1080/02656736.2020.1802070.
- Huilgol, N. G., Gupta, S. & Sridhar, C. R. 2010. "Hyperthermia with radiation in the treatment of locally advanced head and neck cancer: A report of randomized trial." *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 6 (4):492-496. doi: 10.4103/0973-1482.77101.
- Hurwitz, M. D. 2019. "Hyperthermia and immunotherapy: clinical opportunities." *International Journal of Hyperthermia* 36 (sup1):4-9. doi: 10.1080/02656736.2019.1653499.
- Kusmartsev, S. & Gabrilovich, D. I. 2006. "Role Of Immature Myeloid Cells in Mechanisms of Immune Evasion In Cancer." *Cancer Immunology, Immunotherapy* 55 (3):237-245. doi: 10.1007/s00262-005-0048-z.
- Lindholm, C. E., Kjellen, E., Landberg, T., Mercke, C., Nilsson, P. & Persson, B. 1982a. "Local ionizing-radiation with and without microwave induced hyperthermia in superficial malignant-tumors in brain." *Advances in Experimental Medicine and Biology* 157:145-146.
- Lindholm, C. E., Kjellen, 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., Kjellen, E., Landberg, T., Nilsson, P. & Persson, B. 1982b. "Microwave-induced hyperthermia and ionizing-radiation - preliminary clinical-results." *Acta Radiologica Oncology* 21 (4):241-254. doi: 10.3109/02841868209134013.
- Lindholm, C. E., Kjellen, 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.
- Liu, S., Wang, W., Hu, S., Jia, B., Tuo, B., Sun, H., Wang, Q., Liu, Y. & Sun, Z. 2023. "Radiotherapy remodels the tumor microenvironment for enhancing immunotherapeutic sensitivity." *Cell Death Dis* 14 (10):679. doi: 10.1038/s41419-023-06211-2.
- MacDonald, C., Ministero, S., Pandey, M., Robinson, D., Forti Hong, E., Hylander, B., McCarthy, P., Gordon, C., Repasky, E. & Mohammadpour, H. 2021. "Comparing thermal stress reduction strategies that influence MDSC accumulation in tumor bearing mice." *Cell Immunol* 361:104285. doi: 10.1016/j.cellimm.2021.104285.

- Notter, M., Thomsen, A. R., Nitsche, M., Hermann, R. M., Wolff, H. A., Habl, G., Münch, K., Grosu, A.-L. & Vaupel, P. 2020. "Combined wIRA-Hyperthermia and Hypofractionated Re-Irradiation in the Treatment of Locally Recurrent Breast Cancer: Evaluation of Therapeutic Outcome Based on a Novel Size Classification." *Cancers* 12 (3):606. doi: 10.3390/cancers12030606.
- Overgaard, J., Ccm Hulshof, M., Dahl, O. & Arcangeli, G. 2024. "ESHO 1–85. Hyperthermia as an adjuvant to radiation therapy in the treatment of locally advanced breast carcinoma. A randomized multicenter study by the European Society for Hyperthermic Oncology." *Radiotherapy and Oncology* 196. doi: 10.1016/j.radonc.2024.110313.
- Persson, A. E., Kjellen, E., Garmo, H., Adrian, G., Stattin, P., Widmark, A., Nilsson, P. & Gunnlaugsson, A. 2024. "Register data on long-term morbidity after prostate ultra-hypofractionation in the HYPO-RT-PC trial." *Radiotherapy and Oncology* 194:S2288-S2291.
- Persson, B. 2025. "A story about combining Hyperthermia with radiotherapy." *Acta Scientiarum Lundensia*, ISSN 1651-5013 2025- (003,):1-22. doi: ORCID <http://orcid.org/0000-0002-5502-5972>.
- Righini, M. F., Durham, A. & Tsoutsou, P. G. 2024. "Hyperthermia and radiotherapy: physiological basis for a synergistic effect." *Frontiers in Oncology* Volume 14 - 2024. doi: 10.3389/fonc.2024.1428065.
- Skitzki, J. J., Repasky, E. A. & Evans, S. S. 2009. "Hyperthermia as an immunotherapy strategy for cancer." *Curr Opin Investig Drugs* 10 (6):550-8.
- Stutz, E., Puric, E., Ademaj, A., Kuenzi, A., Kreck, R., Timm, O., Marder, D., Notter, M., Rogers, S., Bodis, S. & Riesterer, O. 2022. "Present Practice of Radiative Deep Hyperthermia in Combination with Radiotherapy in Switzerland." *Cancers* 14 (5). doi: 10.3390/cancers14051175.
- Van Dieren, L., Quisenberts, T., Licata, M., Beddok, A., Lellouch, A. G., Ysebaert, D., Saldien, V., Peeters, M. & Gorbasslieva, I. 2024. "Combined Radiotherapy and Hyperthermia: A Systematic Review of Immunological Synergies for Amplifying Radiation-Induced Abscopal Effects." *Cancers* 16 (21). doi: 10.3390/cancers16213656.
- Xi, Y., Chen, L., Tang, J., Yu, B., Shen, W. & Niu, X. 2024. "Amplifying "eat me signal" by immunogenic cell death for potentiating cancer immunotherapy." *Immunol Rev* 321 (1):94-114. doi: 10.1111/imr.13251.
- Zheng, Z., Su, J., Bao, X., Wang, H., Bian, C., Zhao, Q. & Jiang, X. 2023. "Mechanisms and applications of radiation-induced oxidative stress in regulating cancer immunotherapy." *Front Immunol* 14:1247268. doi: 10.3389/fimmu.2023.1247268.

Sammanfattning av Kapitel II-4:

Detta kapitel handlar om att kombinera Pre-kirurgisk strålbehandling och hypertermi (värmebehandling) med fokus på immunologiska effekter. Hypertermi (HT ca 41–44 °C) gör tumörceller mer känsliga för strålning (RT). Kliniska studier visar bättre respons och fler kompletta remissioner med kombinationen RT+HT jämfört med enbart strålning (RT) utan att öka allvarliga biverkningar.

Hypertermi i kombination med strålterapi fungerar som immunförstärkare (immunoadjuvant) med ökad aktivitet hos immunceller (Cytotoxiska T-celler, NK-celler och Dendrit celler). Dessutom stimuleras tumörens antigena presentation och frisättning av DAMP-signaler vilket medför att “kalla” tumörer blir “heta” (mer immunoreaktiva). Vidare minskar immunhämningen i tumörmiljön.

Kombinationen Strålning + hypertermi ger en starkare effekt än var för sig. Deras samverkan bidrar till:

- Ökad tumörcelldöd
- Förbättrat blodflöde och syresättning
- Minskad tumör immunsuppression
- Aktivering av immunsystemet
- Ökar T-cellsinfiltration i tumören

I jämförelse med ICI immunterapi kan strålning + Hypertermi vara lika effektivt eller bättre än strålning + ICI immunterapi (t.ex. PD-1) vilket medför att HT kan ersätta eller komplettera ICI immunterapi vilket kan minska behandlings kostnader och ge färre biverkningar av ICI

**Sammanfattnings föreslås en Ny behandlingsstrategi med:
Pre-operativ intermittent strålbehandling + hypertermi som skulle kunna:**

- Förbättra tumörkontroll före operation
- Aktiviera immunförsvaret
- Minska behov av dyr immunterapi

Möjliga tillägg för att minska tumör suppressionen av omogna MDSC:

- ATRA (vitamin A-derivat)

Kombinationen av intermittent strålbehandling med hypertermi förbättrar både immunogen tumörcellsöd och immunrespons och skulle kunna bli en central del i nästa generations tumörbehandling (se Figur II-4-1):

”Pre-Surgical Intermittent Radiation Immune Therapy” (PSiRIT)

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Kapitel II-5

Pre-kirurgisk Strål- och El-puls behandling

II-5 Behandling av Tumörsjukdomar med en kombination av Strålbehandling och Elektriska pulser.

II-5.1 Inledande experiment

Syftet är att undersöka möjligheten till behandling av tumörsjukdomar (cancer) med en kombination av joniserande strålning och pulserande elektriska strömmar. Metoden avser att genomföra strålbehandling med korta intensiva fraktioner med hög stråldos i kombination med pulserande elektriska fält.

I en pre-klinisk studie administrerades suboptimal strålbehandling ($4 \times 5\text{Gy}$) separat eller i kombination med elektriska pulser med maximal fältstyrka på 1200 V/cm till subkutant implanterade rått-hjärntumörer på båda bakbenen av råttor. Behandlingen upprepades fyra dagar i följd och utvärderades genom att registrera tumörtillväxthastigheten och undersöka tumörerna mikroskopiskt.

Tumörerna färgades för faktor VIII/von Willebrand-faktor för att undersöka effekterna på tumörkärnen. Även infiltrationen av T-lymfocyterna CD4^+ och CD8^+ studerades i de behandlade tumörerna studerades.

Strålning och pulserade elektriska fält som applicerades samtidigt resulterade i snabb tumörregression med signifikant ($P < 0,01$ vs.kontroll) förlängd överlevnad (tumörfri överlevnad > 80 dagar efter behandling) och en genomsnittlig frekvens av kompletta remissioner på 67 %.

Djur som behandlades med antingen enbart strålning (RAD) eller enbart pulserade elektriska fält (PEF) visade ingen signifikant förbättrad överlevnad.

Däremot visade histologisk och immunhistokemisk undersökning av tumörer behandlade med en kombination av RAD + PEF omedelbara och allvarliga försämrande effekter på tumörkärl och ökad infiltration av T-lymfocyter i tumören.

Djuren avlivades när tumören hade nått en storlek på cirka 5 cm³. Den genomsnittliga tiden till denna händelse definierades som "överlevnadstid" och anges i tabell II-5-1 som genomsnitt för de olika grupperna. Det fanns en signifikant skillnad ($p < 0,05$) i "överlevnadstid" mellan den kombinerade behandlingen och kontrolldjuren. Fishers exakta sannolikhetstest av 2×2 kontingenstabeller användes för att beräkna p-värden för signifikanta skillnader. Antalet botade fall med kompletta remissioner, var signifikant större för PEF+RAD-gruppen jämfört med Ctrl- kontrollgruppen ($p = 0,009$) som inte fick någon behandling och gruppen RAD ($p = 0,03$) med enbart strålbehandling (Persson, 2011).

Tabell II-5-1 Resultat av Strålbehandling 4x5Gy (RAD) och El-Puls terapi med 4x8 pulser på 1400 V/cm (PEF), var för sig och i kombination (Persson, 2011).

Behandling	Överlevnadstid d Exclusive CR	Antal Djur	CR Efter 80 d	Signifikans	
Kontroll djur	41,3 ± 1,3	8	0	Ingen	Behandling
RAD	80 ± 1,2	5	0	NS	
PEF	50 ± 14,6	4	1	NS	
RAD+PEF alla	98,3 ± 0,7	9	6	P<0,01	vs. Kontroll
				P<0,05	vs. RAD

Effekten av strålbehandling (RAD) i kombination med pulserande elektriska fält (PEF) visade sig vara en effektiv behandling, särskilt för högresistenta tumörer (gliom). En tydligt effektiv antitumöreffekt av den kombinerade behandlingen med elektriska pulser och strålbehandling observerades även i andra prekliniska studier (Engström et al., 2001, Engström et al., 1999, Persson, 2011, Persson et al., 2004).

II-5.2 Kliniska försök med Strålbehandling och Elektroporation

Irreversibel elektroporation, känd som IRE, är en minimalinvasiv kirurgisk procedur för behandling av svåråtkomliga mjukvävnadstumörer. IRE-systemet *NanoKnife*[®], som har varit kommersiellt tillgängligt sedan 2009, är FDA-godkänt för behandling av mjukvävnadstumörer.

IRE fungerar genom att destruera tumörer på cellnivå med hjälp av intensiva elektriska strömpulser som perforerar tumörcellernas membran varvid cellerna inte överlever.

El-pulserna appliceras genom elektrod sonder som förs in genom huden. Ultraljud eller datortomografi hjälper till att styra placeringen av sonda exakt till tumörplatsen.

IRE kan användas för att behandla många typer av annars inoperabla mjukvävnadstumörer såsom primär och metastatisk levercancer samt vävnadstumörer i Lunga, Prostata, Huvud /Hals. Njure och Bukspottkörtel.

IRE använder monopolära pulser med korta (70–100 µs) högspänningspulser (1–3 kV) som appliceras mellan ledande elektroder placerade i eller runt tumör vävnaden. I klinisk praxis, synkroniseras pulserna med hjärtats refraktärperiod, för att motverka muskel spasmer.

Hög-Frekvent IRE (H-FIRE) använder en serie korta (0,5–10 µs) bipolära pulser för att minska muskelspasmer.

Behandlingen upprepas under flera cykler med samma puls-sekvens för att uppnå tillräcklig ablationseffekt.

Kliniska försök och forskning kring kombinationen av strålbehandling och irreversibel elektroporation (IRE/NanoKnife) pågår eller planeras, särskilt inom behandling av solida tumörer i prostata, lever och bukspottkörtel.

Prostatacancer

Yilmaz, M., och medarbetare rapporterade 2025 resultaten av IRE för behandling av patienter med lokaliserad återkommande prostatacancer efter full strålbehandling (Yilmaz et al., 2025).

En systematisk sökning genomfördes i de elektroniska databaserna PubMed-MEDLINE och Web of Science. Följande söktermer användes: "*irreversible electroporation AND recurrent prostate cancer*", "*salvage irreversible electroporation AND prostate cancer AND radiation*", "*nanoknife AND recurrent prostate cancer*", och "*salvage irreversible*

electroporation AND prostate cancer" genom att kombinera PICO-termer (population, intervention, comparison, and outcome).

Yilmaz et al. identifierade 5 lämpliga studier. Efter IRE behandlingen varierade den lokala onkologiska kontrollen från 67 till 78 %. Återfall av lesioner *in-field* och *out-field* efter IRE varierade från 3 till 10 % respektive 8 till 14 %. Endast en studie rapporterade en total metastasfri överlevnad på 91 % och en 5-årig progressionsfri överlevnad på 60 %.

Kontinens statusen efter IRE varierade mellan 73–100 %. Två studier rapporterade en minskning av andelen patienter som bibehöll tillräckliga erektioner för samlag och två studier rapporterade 50 % bevarande av erektionen. Majoriteten av komplikationerna var av låg till mild natur, klassificerade som Clavien-Dindo grad I-II, med undantag för utvecklingen av en rektal fistel i ett enskilt fall.

IRE representerar ett alternativt behandlingsalternativ för patienter med lokaliserad återkommande prostatacancer efter strålbehandling. Ingreppet erbjuder en gynnsam säkerhetsprofil och effektivt bevarande av urinfunktionen. De onkologiska resultaten är lovande, men ytterligare undersökningar krävs.

Diven, och medarbetare rapporterade 2024 om en studie av Strålbehandling i kombination med irreversibel elektroporation för prostatacancer (RTIRE) (Diven et al., 2024).

Strålbehandling och irreversibel elektroporation för prostatacancer (RTIRE) är en klinisk fas II-studie (NCT05345444.) som avser att testa en kombination av strålbehandling och irreversibel elektroporation för prostatacancer.

Prostatacancer är den vanligaste icke-kutana cancer hos män och den näst vanligaste orsaken till cancerdöd hos män.

Det finns ett ökande intresse för nya behandlingsstrategier av prostatacancer, såsom fokal terapi, för att minimera behandlingsrelaterad sjuklighet. Enbart fokal terapi med IRE har ännu inte inkluderats i vanliga riktlinjer, med tanke på fortsatt oro för potentiellt högre risk för återfall.

Divan et al. avser att undersöka om kombinationen av IRE terapi kombinerad med strålbehandling med reducerad dos till hela körteln, kommer att ge acceptabel onkologisk effekt med minimal behandlingsrelaterad

sjuklighet. RTIRE är en fas II-studie som kombinerar en lokal ablativ teknik med lokal irreversibel elektroporation (IRE) med MR-guidad strålbehandling för att behandla hela prostatan. Målet är att ge goda onkologiska resultat och minimera behandlingsrelaterade biverkningar genom att utnyttja fördelarna med lokalt ablativ terapi med etablerade strålbehandlingstekniker.

Totalt 42 män med prostatacancer med intermediär risk enligt NCCN-riktlinjer och fokal gradgrupp (GG) 2 eller 3, *Gleason Score* (GS) 3 + 4 eller GS 4 + 3, cancer i ett MR-mål kommer att inkluderas. Patienter med MR-synliga foci av GG2/GG3 kommer att genomgå fokal behandling med IRE av denna lesion. Efter framgångsrik fokal behandling kommer patienterna sedan att genomgå en kur med reducerad dos av hel körtel- MR-guidad strålbehandling med antingen 32,5 Gy i 5 fraktioner eller 22 Gy i 2 fraktioner.

Studiens primära mål är att fastställa säkerheten och minska risken för återkommande prostatacancer. Sekundära utfall inkluderar utvärdering av onkologisk effekt (mätt som andelen patienter fria från kliniskt signifikant cancer vid 1-års uppföljningsbiopsi), avbildningsegenskaper hos patienter före och efter RTIRE, påverkan på livskvalitet (QoL) och PSA-kinetik.

Att kombinera IRE med reducerad dos strålbehandling kan erbjuda ett behandlingsparadigm i likhet med det som beskrivits ovan (5.1) (Persson, 2011).

Pankreatisk duktal adenokarcinom

Gajjar, och medarbetare presenterade 2016 resultat associerade med en kombination av strålbehandling och irreversibel elektroporation för pankreascancer (Gajjar et al., 2016).

Lokal sjukdomskontroll är avgörande för hanteringen av patienter som diagnostiserats med pankreascancer (PC). Irreversibel elektroporation (IRE) är en framväxande lokal behandlingsmetod. Det finns inga tidigare publicerade data som beskriver sjukdomskontroll och toxicitet när denna metod används i kombination med strålbehandling (RT) för att behandla pankreascancer PC.

Gajjar et al. undersökte i godkända databaser över pankreascancer för att identifiera patienter med PC som behandlades med RT och IRE mellan 2010

och 2015. Behandlingsparametrar, lokal kontroll och akut toxicitet efter IRE granskades.

Tolv patienter med pankreascancer som fick IRE och RT identifierades. Två patienter hade stadium II-sjukdom, 9 patienter hade stadium III och 1 patient hade stadium IV. Alla patienter fick antingen *FOLFIRINOX* eller *Gemcitabink*-baserad kemoterapi. Alla fick IRE utförd med datortomografivägledning. Nio patienter fick standardbehandling (50,4–54 Gy i 28–30 fraktioner) och 2 patienter fick stereotaktisk strålbehandling (SBRT) med 35 Gy i 5 fraktioner. En patient fick två strålbehandlingskuror, med 50,4 Gy i 28 fraktioner vid diagnos och SBRT (24 Gy i 3 fraktioner) vid tidpunkten för lokalt recidiv. Tio patienter hade strålbehandling före IRE och 2 hade strålbehandling efter IRE. Totalt gavs 15 IRE-behandlingar. Nio patienter behandlades med en enda IRE-kur medan 3 patienter fick 2 IRE-kuror. IRE efter strålbehandling gavs antingen för ihållande sjukdom (7 patienter) eller för sjukdomsprogression (6 patienter). Två patienter genomgick IRE som första lokala behandlingsmetod. Medianuppföljningstiden var 36,0 månader (intervall 7,1–71,7). Mediantidsintervallet mellan strålbehandling och IRE var 6,6 månader (intervall 1,7–28,8). Två patienter (16 %) som fick IRE efter strålbehandling konverterade till resektabel sjukdom efter IRE. Median lokal kontroll var 26,0 månader (intervall 7,1–71,7). Följande toxicitet observerades: Akut behandlingstoxicitet efter IRE (CTCAE, version 4) n = 12.

Sammanfattningsvis kan kombinationen av IRE och strålbehandling förbättra lokal kontroll av pankreascancer och påverka konvertering till resektabilitet. Prospektiva kliniska prövningar behövs för att bättre definiera urvalskriterier för att maximera nyttan och minimera toxiciteten hos denna behandlingsmetod.

Lambin, och medarbetare summerade 2022 erfarenheterna av Lokoregionala terapier och deras effekter på tumörmikromiljön hos pankreatisk duktal adenokarcinom (Lambin et al., 2022).

Pankreatisk duktal adenokarcinom (PDAC) förväntas bli den näst vanligaste dödsorsaken i cancer år 2030. Trots intensiv forskning inom behandlingsområdet är den totala 5-åriga överlevnaden cirka 8 %, med endast 20 % av patienterna lämpliga för operation vid diagnostillfället.

Tumörmikromiljön (TME) hos PDAC är en av de främsta orsakerna till resistens mot antitumorala behandlingar på grund av förekomsten av

tumörvaskulatur, stroma och ett modifierat immunsvar. TME hos PDAC kännetecknas av hög stelhet på grund av fibros, med hypomikrovaskulär perfusion, tillsammans med en immunsuppressiv miljö som utgör ett hinder för effektiv antitumoral behandling.

Medan systemiska behandlingar ofta ger allvarliga biverkningar som kan förändra patienters livskvalitet, har lokoregionala behandlingar fått ökad uppmärksamhet eftersom deras verkan är lokaliserad till bukspottkörteln och därmed kan lindra några av hindren för effektiv antitumoral behandling på grund av deras fysiska effekter.

Lokal hypertermi med radiofrekvensablation och strålbehandling – oftast med en hög lokal engångsdos – är de två huvudmodaliteterna som har lovande klinisk effekt.

Nyligen har irreversibel elektroporation IRE och fokuserad ultraljudsderiverad kavitation fått ökad uppmärksamhet.

Hittills är de flesta data begränsade till prekliniska studier, men pågående kliniska prövningar kan bidra till att bättre definiera rollen för dessa lokoregionala behandlingar i behandlingen av PDAC-patienter.

Kliniska försök med Strålbehandling i kombination med Elektroporation har i huvudsak genomförts med irreversibel elektroporation IRE.

Dock utan att primärt fokusera Pre-kirurgisk strålbehandling med låg dos (6-8Gy). Inte heller har några immunologiska aspekter involverats.

Dåremot verkar kombinationen av Prekirurgisk strålbehandling (6-8 Gy) kombinerad med Hypertermi ha lovande utsikter.

II-5.3 Pre-kirurgisk strålbehandling i kombination med Dynamisk Elpuls-behandling

Dynamisk elektroporationsteknik

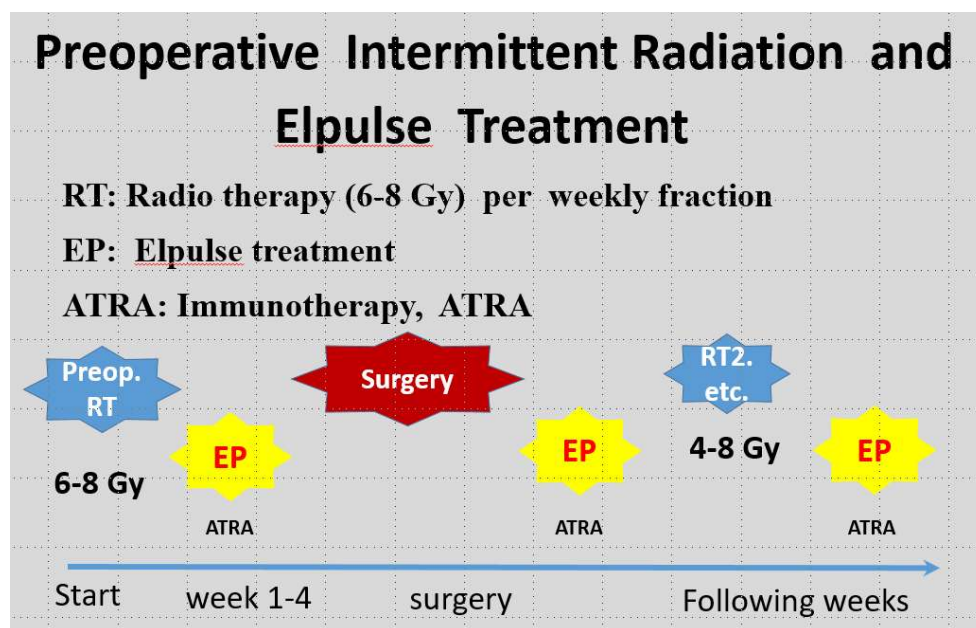
Genom att anpassa pulsamplituden mellan varje elektrisk puls till förändringen i vävnadens ledningsförmåga begränsas den irreversibla elektroporationen så att en del celler erhåller reversibel elektroporation och bibehåller sina immunologiska egenskaper, vidare begränsas uppkomsten av skador på frisk vävnad (Persson, 2019).

Denna dynamiska elektroporations teknik har ChemoTech i Lund varit först med att utveckla. Med anordningen IQwave™ behandlades framgångsrikt 23 patienter med bröstcancer, huvud- och halscancer och sällsynta sarkom, som alla svarade positivt. Jämfört med tekniker som använder pulssekvenser med konstant pulsamplitud befrämjar IQwave™ immunogen tumörcellsdöd och immun-modulering (Kalavathy et al., 2018).

En klinisk fallstudie med dynamisk elektroporation för bukspottkörtelcancer pågår också vid Uls Medical Centre (Uls MC) i Zaporizjzja, Ukraina, med lovande kliniska resultat i preliminära bedömningar (Esienhauer, 2009).

Det finns således tillgång till certifierad klinisk utrustning för dynamisk elpulsbehandling (IQwave™) som skulle kunna användas i den kliniska utvecklingen av pre-kirurgisk strålbehandling i kombination med elpulsbehandling (Persson, 2020).

Pre-kirurgisk strålbehandling kombinerad med Dynamisk El-puls behandling skapar ett *in situ-vaccin* vars immuneffekt kan boostas med Hypertermi och ATRA (se kap IV) eller annan immunstimulerande behandling. Om efterföljande operation kräver ytterligare behandling kan intermittent strålbehandling med elpuls-behandling upprepas efter behov som beskrivs i nedanstående Figur II-5-1.



Figur II-5-1

Behandlings schema för Prekirurgisk strålbehandling med Dynamisk Elpuls-behandling

Referenser

- Diven, M., Ballman, K., Marciscano, A., Barbieri, C., Piscopo, J., Wang, S., Nagar, H. & McClure, T. 2024. "Radiation therapy and IRreversible electroporation for intermediate risk prostate cancer (RTIRE)." *Bmc Urology* 24 (1). doi: 10.1186/s12894-024-01506-8.
- Engström, P. E., Persson, B. R. R., Brun, A. & Salford, L. G. 2001. "A new antitumour treatment combining radiation and electric pulses." *Anticancer Research* 21 (3B):1809-1815.
- Engström, P. E., Persson, R. B. R., Brun, A., Salford, L. G. & Engström, P. E. 1999. A new antitumor treatment combining radiation and electric pulses. *PhD Thesis*. Lund: Lund University, Radiation Physics Dept, S-221 85 LUND, Sweden.
- Esienhauer. 2009. "New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1), ." *European Journal of Cancer*, 45:228-247.
- Gajjar, S., Yechieli, R., Wolfson, A. H., Narayanan, G., Merchan, J. & Portelance, L. 2016. "Outcomes Associated With a Combination of Radiation Therapy and Irreversible Electroporation for Pancreatic Cancer." *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics* 96 (2):E206. doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.06.1109.
- Kalavathy, G., Gurusurthy, G., Rajesh, K., Saravanan, Asoke , M. & Persson, B. R. R. 2018. "Dynamic-ElectroEnhanced Chemotherapy brings relief to palliative patients with large tumour burden." *Trends in Cancer Research* 13:29-41.
- Lambin, T., Lafon, C., Drainville, R. A., Pioche, M. & Prat, F. 2022. "Locoregional therapies and their effects on the tumoral microenvironment of pancreatic ductal adenocarcinoma." *World Journal of Gastroenterology* 28 (13):1288-1303. doi: 10.3748/wjg.v28.i13.1288.
- Persson, B.,R.,R. 2020. *Electro-Pulse-Enhanced Cancer Therapy*(book). Cambridge Scholars Publishing; Cambridge, 2020. 206 p.
- Persson, B. R. R. 2011. "Review article: Treating tumoral diseases (cancer) with a combination of ionizing radiation and pulsed electric fields." *Acta Scientiarum Lundensia* 2011-001 (001):1-20.
- Persson, B. R. R. 2019. "QF Modelling of Electro-Pulse-Enhanced-Cancer-Therapy." *Acta Scientiarum Lundensia* 2019 (001):1-16.
- Persson, B. R. R., Bauréus-Koch, C., Grafstöm, G., Ceberg, C. & Salford, L. G. 2004. "Abscopal regression of subcutaneously implanted N29 rat glioma after treatment of the contra-lateral tumours with pulsed electric fields (PEF) or radiation therapy (RT) and their combinations (PEF+RT)." *Cancer Therapy* 2:533-548.
- Yilmaz, M., Karaaslan, M., Sirin, M. E., Aybal, H., Polat, M. E., Tonyali, S. & Hatiboglu, G. 2025. "Salvage irreversible electroporation for locally recurrent prostate cancer after definitive radiotherapy: a systematic review." *Prostate Cancer and Prostatic Diseases* 28 (3):707-717. doi: 10.1038/s41391-024-00926-9.

Sammanfattning kapitel II-5

Kapitel II-5 behandlar en ny cancerbehandlings strategi som kombinerar: Joniserande strålning med Elektrisk pulsterapi (elektroporation).

Målet är att förbättra naturförstörelsen, samtidigt som immunförsvaret stimuleras.

Initiala Prekliniska fynd (djurstudier)

Experiment på råttor med gliomtumör testade effekten av enbart strålning(RAD), enbart elektriska pulser(PEF) och en kombination av båda (RAD + PEF).

Resultaten visar att kombinationsbehandlingen(RAD + PEF) var klart överlägsen, med snabb tumörregression ~67 % fullständig remission, signifikant förlängd överlevnad (>80 dagar tumörfri).

Klinisk användning av Elektroporation (IRE/NanoKnife) och strålterapi

IRE är en minimal invasiv teknik som använder elektriska högspänningspulser som levereras via elektroder som sätts in i tumören och som skapar porer i tumörcellsmembranen vilket orsakar celledöd.

IRE används för återkommande prostatacancer efter strålbehandling, med lokal kontroll av 67–78 %, och en 5-års progressionsfri överlevnad på ~60 %

Kombinerad behandling (RT + IRE) är fortfarande under utredning i en pågående fas II-studie (RTIRE).

IRE-behandlingar av bukspottkörtelcancer (strålning, IRE, hypertermi) är lovande

Dynamisk elektroporation

Dynamisk elektroporation Justerar pulsstyrkan under behandlingen som orsakar revesibel elektroporation och tillåter celler att överleva vilket orsakar bevarad immunaktivering.

Med ChemoTech enheten IQwave™ erhöles vid kliniska försök positiva svar i flera cancertyper och befrämjande av immunogen tumörcellsdöd.

Genom att kombinera: Prekirurgisk lågdosstrålning med Dynamisk elektrisk pulsterapi skapas ett "*in situ-vaccin*" som stimulerar immunsystemet till en immunogen tumörförstörelse som ytterligare kan förstärkas med: Hypertermi och annan immunterapi.

Att kombinera strålning med elektriskpulsterapi, särskilt i en prekirurgisk, immunstimulerande metod, visar stark potential som en framtida cancerbehandlingsstrategi, men kräver ytterligare klinisk validering

Kapitel II-6

EFTERORD

Efter upptäckten av röntgenstrålningen började den ganska snart att användas för behandling av cancertumörer. Röntgenstrålningen visade sig effektivt kunna döda tumörceller men även frisk vävnad skadades.

När högenergetisk strålning började användas utvecklades strålbehandlings-tekniken till att med stor precision döda tumörcellerna medan skador på den friska vävnaden kunde undvikas. Detta har blivit dagens standard för strålbehandling som administrerar strålning i dagliga fraktioner med en absorberad dos av 2 Gy, tills absorberade doser i storleken 60-80 Gy uppnås i tumören i strävan att destruera alla levande tumörceller. Dock visar det sig att i vissa tumörer en del celler överlever och står emot mer än 100 Gy.

I början av 2000 talet blev man varse att en enstaka stråldos på mer än 4 Gy genererade Neo-antigen som gör tumörerna mer mottagliga för kroppens immunförsvar och de cytolytiska T-lymfocyterna, (CD8⁺T-celler, även kallade mördare celler), kunde attackera tumörerna mer effektivt.

Men i tumörens mikromiljö finns också Myeloid-härledda suppressorceller (MDSC) som är en heterogen population av omogna myeloidceller som ackumuleras vid patologiska tillstånd som cancer, kronisk infektion och trauma.

För att de omogna myeloidcellerna skall kunna utvecklas till Makrofager och Dendritceller är de starkt immunsuppressiva och blockerar de cytolytiska T-lymfocyterna,

Vid testningen av ett tumörvaccin mot glioblastom i början av 2000-talet upptäcktes att en enstaka stråldos på 5 Gy resulterade i en dramatisk ökning av tumörvaccinets immunologiska effekt.

Detta blev upphovet till utvecklingen av *en ny generation av tumörbehandling*, som utnyttjar strålningens läkande krafter istället för endast destruktiv celldöd. Med en primär stråldos på 6 till 8 Gy initierar strålningen en immunologisk aktivitet som kan boostas med Tumörvaccin eller

med de nya immun-kontrollpunkts hämmande läkemedel Anti-PD-1 och Anti-CTLA-4 som började lanseras år 2011.

Det visade sig att även Hypertermi-behandling i kombination strålbehandling också har gynnsam effekt på immunförsvarets aktivitet och skulle kunna boostas med A-vitamin som påskyndar de immunsuppressiva omogna Myeloid cellernas transformation till Dendritceller och Makrofager.

Den första versionen 1.0 av *En ny generation av tumörbehandling* var "En berättelse om att kombinera ultra-hypo-fraktionerad strålterapi" med immunoterapi. Det var mitt testamente till *John och Augusta Perssons stiftelse för Vetenskaplig Medicinsk forskning särskilt rörande cancerforskning främst vid Lunds Universitet*, dedicerad till minnet av min 60 åriga medverkan i stiftelsen. Alltsedan Stiftelsens bildande 1964 deltog jag i stiftelsens aktiviteter tillsammans med min mentor, laborator och senare professor Kurt Lidén.

Denna andra version 2.0 av *En ny generation av tumörbehandling* fokuserar på strålningens läkande krafter som med en enda fraktion på 6 till 8 Gy Pre-kirurgisk strålbehandling kan göra tumörer mer mottagliga för immunförsvaret. Den riktar sig till kirurger med vilka jag haft ett gott samarbete i utvecklingen av tumörbehandling med Hypertermi och med tumörvaccin.

Huvudtemat är dock detsamma som i version 1.0, vilket innebär att kombinera ultra-hypo-fraktionerad strålterapi (som även kallas intermittenta strålterapi) med immunoterapi och passar väl att appliceras på Pre-kirurgisk strålbehandling

Den mest realistiska kliniska utvecklingen för Pre-kirurgisk strålbehandling är kanske att börja med behandling av metastaser och de fall där återväxt av tumören visar sig efter avslutad standardbehandling som redovisas i följande publikationer:

Notter, M., et al. (2020). "Combined wIRA-Hyperthermia and Hypofractionated Re-Irradiation in the Treatment of Locally Recurrent Breast Cancer: Evaluation of Therapeutic Outcome Based on a Novel Size Classification." *Cancers* **12**(3): 606.

Koukourakis, I. M., et al. (2023). "Anti-PD-1 immunotherapy with dose-adjusted ultra-hypofractionated re-irradiation in patients with locoregionally recurrent head and neck cancer." *Clinical & Translational Oncology* **25**(10): 3032-3041.

Filippatos, K., et al. (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).

Sammanfattning av del 2:

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Pre-kirurgisk intermittent strålbehandling kombinerad med immunterapi (PSiRIT).

Grundtanken är att använda strålningens läkande krafter genom att med en låg dos strålning på 6 till 8 Gy före operation, kombinerad med immunstimulerande behandling aktivera kroppens immunförsvar mot tumören, förbättra behandlingsresultat och potentiellt uppnå fler kompletta remissioner.

Kapitel I – Bakgrund

Tidiga experimentella studier (1980–2000) visade att kombinationen: **Strålning + Hypertermi** kraftigt förstärker behandlingseffekten.

Utvecklingen av Tumörvaccin från glioblastom-patienters egna bortopererade tumörer visade sig i kliniska studier förlänga överlevnaden men kunde inte helt bota patienterna.

En preklinisk studie visade emellertid att en enda strålfraction med låg stråldos (5 Gy) + syngenisk vaccinterapi gav 75% överlevnad.

Joniserande strålning kan tydligen göra tumörer mer synliga för immunförsvaret vilket bekräftats i kliniska studier under 2020–2023.

Kapitel II – Pre-kirurgisk strålterapi's 3-dimensioner

1. Stråldos: Först en strålfraction på 6 till 8 Gy per behandling som genererar neo-antigen som gör tumören mer immunogen (Stråldoser >10 Gy kan däremot hämma immunförsvaret).

2. Tidsintervall för att de bildade neo-antigenerna skall hinna utvecklas till aktiva peptidantigen och tumörens frigjorda "DAMP" signaler skall hinna generera CD8+ T-lymfocyter fullt ut. kan man vänta med Kirurgin upp till 1 vecka. Detta ger också tid för immunterapi.

3. Immunterapi med T.ex. anti-PD1- och anti-CTLA4-hämmare kan ges efter strålterapi och fortsätta efter kirurgin.

4. Skulle fortsatt tumörväxt konstateras kan proceduren 1-2-3 upprepas tills komplett remission uppnås.

Kapitel III – Pre-operativ strålbehandling av Hjärntumörer

Pre-operativ strålbehandling av metastaser i hjärnan har i flera kliniska studier visat sig vara lika säker och lika bra eller bättre än postoperativ strålbehandling.

Kombination med pre-operativ strålterapi och immunterapi av maligna gliom och andra primära hjärntumörer torde kunna ge goda kliniska resultat men kräver smarta kliniska studier.

Kapitel IV – Kombination av pre-operativ strålbehandling med Hypertermi

Hypertermi behandling (41–44°C) gör tumörer känsligare för strålning med påföljande ökad tumörcellldöd, och ökat blodflöde. Dessutom bidrar Hypertermi med starkare immunaktivering som gör tumörer mer immunaktiva vilket skulle kunna minska behovet av dyr ICI- immunterapi.

Kapitel V – Strålning + Elektrisk pulsterapi (Elektroporation)

Prekliniska studier med en kombination av **Strålning + elektriska pulser** visar sig generera hög tumörregression med kompletta remissioner av gliom i djurstudier.

Irreversibel Elektroporation IRE (NanoKnife) som destruerar tumörceller med elektriska högspännings pulser, används kliniskt och kombination med strålbehandling är på väg att testas.

Dynamisk Elektroporation som justerar pulsstyrkan under behandlingen orsakar reversibel Elektroporation som tillåter celler att överleva med bevarad immunitet.

Kliniska försök med ChemoTech enheten IQwave™ visar positiva svar i flera cancertyper och befrämjande av immunogen tumörcellsöd.

Kombination av strålning med elektro-pulsterapi, särskilt som en Pre-kirurgisk, immunstimulerande metod, visar stark potential som en framtida cancerbehandlingsstrategi.

Kapitel VI– Efterord

Grundtanken med *”en ny generation av tumörbehandling”* är att använda strålningens läkande krafter genom att med en låg dos strålning före operation på 6 till 8 Gy, kombinerad med immunstimulerande behandling för att:

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

aktivera kroppens immunförsvar mot tumören, förbättra behandlingsresultat och potentiellt uppnå fler kompletta remissioner.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?

Del III

Intermittent Brachy kombinerad med immunoterapi

III-1 Brachyterapi

Brachyterapi är en typ av riktad intern strålbehandling där radioaktiva källor (frön, band eller kapslar) placeras direkt inuti eller bredvid en tumör, vilket begränsar strålningen till frisk omgivande vävnad. Det används ofta för att behandla prostata-, gynekologisk, bröst- och hudcancer.

Interstitiell: Radioaktiva källor placeras direkt i kroppsvävnad (t.ex. prostata, bröst).

Intrakavitativ: Källor placeras i kroppshåligheter, såsom luftstrupen eller vaginan.

Doseringshastigheter:

Hög doshastighet (HDR): Radioaktivt material sätts tillfälligt in i några minuter per session, vanligtvis över 3 till 8 sessioner.

Låg doshastighet (LDR): Källor (t.ex. frön) lämnas på plats i 1 till 7 dagar, eller permanent för vissa prostatafall.

Vanliga tillämpningar inkluderar behandling av prostatacancer, livmoderhals-/livmodercancer och hud- eller bröstcancer.

III-2 Brachytherapy i cancer behandling

Stewart, och mearbetare redovisade 2025 en översikt av Brachytherapy i cancer behandling inspirerad av ESTRO:s förberedande kurs om brachyterapiens radiobiologi och modellering (Stewart et al., 2025).

Brachyterapi (BT) spelar en nyckelroll i cancerbehandling genom att leverera en hög stråldos till en begränsad volym under en kort tid. Användningen av BT är för närvarande validerad för ett brett spektrum av cancerformer, såsom livmoderhals-, prostata- och bröstcancer, samtidigt som

den är ett gynnsamt val för organbevarande, såsom vid penis- eller ändtarmscancer, eller i samband med återbestrålning av recidiv.

Hänsyn till BT:s radiobiologi är en integrerad del av de val som görs kring dos och fraktionering och kombination med andra tekniker, såsom extern strålbehandling (EBRT). Mycket av brachyterapins radiobiologi är baserad på historiska data, men lyckligtvis finns det en drivkraft att integrera translationell forskning, inklusive radiobiologiska parametrar, i modern BT-forskning. I ett föränderligt terapeutiskt landskap som går mot en hög doshastighet (HDR) baserad på hög dos per fraktion är det viktigt att säkerställa att införandet av ny radiobiologisk kunskap bidrar till att driva klinisk praxis.

LQ-modellen (Linear-Quadratic model) är en grundläggande modell inom radiobiologi och strålningsfysik som beskriver sambandet mellan stråldos och cellulär överlevnad (Stewart et al., 2025). LQ-modellen används av **Stewart** för att förutsäga biologisk verkan av fraktionerad strålbehandling, där överlevnadsfraktionen (SF) beräknas med formeln

$$SF = e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$$

Kliniska radiobiologiska metoder (optimalt antal BT-fraktioner, radiobiologi i BT för livmoderhals-, prostata-, bröst-, hud-/H&N- och mag-tarmcancer).

En analys av radiobiologi och modellering med LQ-modellen inom BT bidrar till integrationen av vetenskapliga prekliniska och kliniska data och möjliggör en bättre förståelse av användningen av radioaktiva källor för cancerbehandling.

III-3.1 Brachyterapi; livmoderhalscancer

LDR-terapi har använts i årtionden för livmoderhalscancer. Utvecklingen av efterladdningstekniken möjliggjorde terapi med HDR. PDR introducerades för att radiobiologiskt emulera LDR-behandling, men utnyttja fördelen med en efterladdningsteknik. Idag används både PDR- och HDR-terapi för livmoderhalscancer över hela världen och i EMBRAj E-I-studien behandlades 57 % av patienterna med HDR-terapi. Utöver de olika doshastigheterna observerades en stor variation i fraktioneringsscheman.

År 2006 rekommenderade GEC-ESTRO-kommittén att använda LQ-modellen (EQD2) för förskrivning och rapportering. **EQD2** (Equivalent Dose

in 2 Gy fractions) är ett mått inom strålbehandling som används för att jämföra den biologiska effekten av olika dosplaner genom att räkna om dem till en standardskala där dosen ges i fraktioner om 2 Gy som vid konventionell extern strålbehandling.

Detta underlättar jämförelse mellan doshastigheter och fraktionerings scheman för stora patientvolymmer och idag har vi kliniska data på hög nivå för dos-effekt-relationer för både sjukdoms- och morbiditetsändpunkter.

LQ-modellen tar dock inte hänsyn till tumörernas återsyresättning, återpopulation eller immunologistatus. Vid jämförelse av kliniska resultat mellan olika kohorter bör återsyresättning beaktas. Det är troligt att faktorer relaterade till hypoxi bör balanseras i de olika grupperna, men hypoxi och återsyresättning är utmanande att modellera. Funktionell magnetisk resonanstomografi (MRT) har visat sig kunna bedöma dessa effekter med hypoxi före behandling som prediktivt resultat, särskilt i kombination med funktionell och volymregression vid tidpunkten för BT. Återpopulation spelar en roll när den totala behandlingstiden överstiger 50 dagar. Därför måste den totala behandlingstiden och tiden mellan olika fraktioner rapporteras för att kunna utveckla modeller som tar hänsyn till denna effekt.

III-3.2 Brachyterapi vid prostatacancer

Användningen av HDR BT för prostatacancer baseras på att utnyttja förmågan att leverera stora doser per fraktion. Om det förutspådda α/β -förhållandet är så lågt som rapporterats på cirka 1,5–3 Gy, möjliggör användningen av höga stråldoser. Enfraktions HDR BT för ensam behandling av prostatacancer har emellertid inte visat de resultat som förväntades.

Detta kan bero på att nuvarande dosmodeller inte tar hänsyn till andra radiobiologiska och immunologiska faktorer. Med intermittent strålterapi i kombination med adjuvant immunoterapi borde bättre resultat uppnås.

III-3.3 Brachyterapi vid bröstcancer

Brösthypofraktioneringsstudierna START, Pilot-B och de kanadensiska OCOG-studierna möjliggjorde en uppskattning av α/β -förhållandet till 4 Gy. Detta är grunden för accelererad partiell bröstbestrålning (APBI) med BT i 8

fraktioner på 4 Gy eller 7 fraktioner på 4,3 Gy, och för mycket accelererad partiell bestrålning (VAPBI) i 4 fraktioner på 6,2 Gy eller 3 på 7,45 Gy.

Som diskuterats, på grund av begränsningarna med högre doser per fraktion, kan inte enfraktionsschemat på 16 eller 18 Gy beräknas med LQ-modellen och dess resultat är empiriska.

Effekten på tumörmikromiljön är också mycket viktig för bröst-BT. När bröstterapi ges intraoperativt har det visat sig förändra mikromiljön som främjade celltillväxt och invasion till en som inte gjorde det.

Även vid bröst-BT skulle intermittent strålterapi med 3 fraktioner på 8 Gy i kombination med adjuvant immunoterapi kunna ge bättre resultat.

III-3.4 Brachyterapi vid H&N och icke-melanom hudcancer

Huvud- och halscancer (H&N) och icke-melanom hudcancer (NMSC) är vanliga neoplasmer med ökande incidens. Strålbehandling är ett giltigt behandlingsalternativ för både lokaliserade och avancerade fall, med flera fraktioneringsalternativ tillgängliga. Strålbehandling kan betraktas som exklusiv behandling eller som en boost-integrerad behandling med EBRT. Dessutom kan en kombinerad metod med flera terapier såsom kemoterapi, immunterapi och/eller kirurgi i detta scenario vara en mekanism för att förbättra resultaten. ^

Hudneoplasmer och H&N-neoplasmer har många likheter, men olika histologier kräver olika fraktioneringsscheman baserade på radiobiologi. Hypofraktionerade behandlingar har visat sig vara icke-sämre än konventionell fraktionering vad gäller total överlevnad. I detta sammanhang spelar tumörmikromiljön en avgörande roll i tumörimmunosuppression och kan modifieras genom strålbehandling och andra faktorer.

En hög dos per fraktion och minskning av den totala behandlingstiden kan ha större antitumöreffekter och kan även modulera immunsvaret. Dessutom kan stressiga händelser också orsaka nedreglering av immunsystemet, men psykologisk intervention har visat sig öka välbefinnandet och kan modulera immunmikromiljön och därmed modifiera de radiobiologiska effekterna. Detta är viktigt eftersom radioterapi kan uppfattas som en stressig händelse av patienter.

III-3.5 Brachy terapi vid mag-tarmcancer

Esofageal BT administreras vanligtvis med en kateter med ett enda lumen, med varierande kateterdiameter. Heterogeniteten i BT-dosen över en volym ger upphov till en "hyperdoshylla" vars volym varierar kraftigt vid samma ordinationsdjup, beroende på kateterdiameter, vilket i hög grad påverkar den avgivna dosen. Detta är en faktor som en läkare kanske inte beaktar vid förskrivning av dos. Således kan användningen av den radiobiologiska principen för EUD underlätta förståelsen av dos och effekt. Radiobiologin vid dosadministrering kan förklara skillnaden i resultat mellan två randomiserade studier av BT kontra stentning, vilket möjligen förklarar varför en signifikant fördel sågs vid användning av en högre dos enstaka fraktion men inte vid användning av flera fraktioner av en lägre dos.

Hänsyn till grundläggande radiobiologiska principer är mycket viktigt vid val av rektala RT-tekniker för att administrera dos. Individuella tumörer uppvisar olika strålkänslighet men i allmänhet är rektalt adenokarcinom relativt strålresistent, därför är dosökning viktig när man försöker uppnå organbevarande vid rektalcancer. Administrering av radioterapi med kontaktröntgen (CXB) utnyttjar inte bara de fysikaliska egenskaperna hos behandlingen utan även ett antal radiobiologiska effekter för att uppnå denna dosökning: fraktioneringseffekt, doshastighetseffekt, volymeffekt och relativ biologisk effektivitet.

Resultaten varierar mellan serierna, där HERBERT-studien visar markant toxicitet vid användning av doser > 7 Gy per fraktion, men Vuong et al. som rutinmässigt levererade 10 Gy per fraktion med liknande eller lägre toxicitet. Radiobiologiska principer kan användas för att jämföra dosleveransen mellan dessa serier, vilket till exempel visar att gruppen som fick 10 Gy per fraktion levererade en lägre dos till rektal slemhinna än gruppen som fick 7 Gy per fraktion. Att använda radiobiologi vid val av doser och fraktioner kommer att ge en bättre förutsägelse inte bara av resultat utan även behandlingstoxicitet. Framtida standardisering av dosrapportering bör också förbättra jämförelser mellan serier.

Modern teknisk utveckling inom radioterapi har i kombination med nya fraktioneringsscheman och behandlingsindikationer omprövat radiobiologin för radioterapi. Stewart et al. har granskat viktiga aspekter av

grundvetenskap och lyft fram kliniska överväganden vid de vanligaste indikationerna. Radioterapi är fortfarande ett viktigt vapen mot cancer. En bättre förståelse av dess principer för biologisk verkan kommer att göra det möjligt för radioterapi att fortsätta och främja sin forskning och utveckling.

III-4 Brachyterapi med Adjuvant Immunterapi

Wang och medarbetare rapporterade 2026 att livmoderhalscancer's immunmikromiljö omprogrammeras vid synergi mellan strålbehandling och immunterapi (Wang et al., 2026).

Livmoderhalscancer är till stor del driven av ihållande infektion med högrisk-humant papillomvirus. Även om immunbaserade terapier enbart har förändrat resultaten i flera solida tumörer, har deras nytta vid livmoderhalscancer varit blygsam, vilket belyser behovet av att bättre förstå och terapeutiskt utnyttja tumörernas immunmikromiljö.

Deras sammanfattar de syngena effekterna av strålbehandling på systemisk och intratumörimmunitet. De undersöker hur stråldos, fraktionering, behandlingsvolym och tidsmässig sekvensering påverkar antigenfrisättning, medfödd avkänning, CD8⁺T-cellspriming och T-cells-transport.

De visar också på betydelsen av att PDL1-kontrollpunktsinduktion och att även expansion av suppressiva myeloid- och regulatoriska T-cellpopulationer deltar i omprogrammeringen av tumörernas immunmikromiljö.

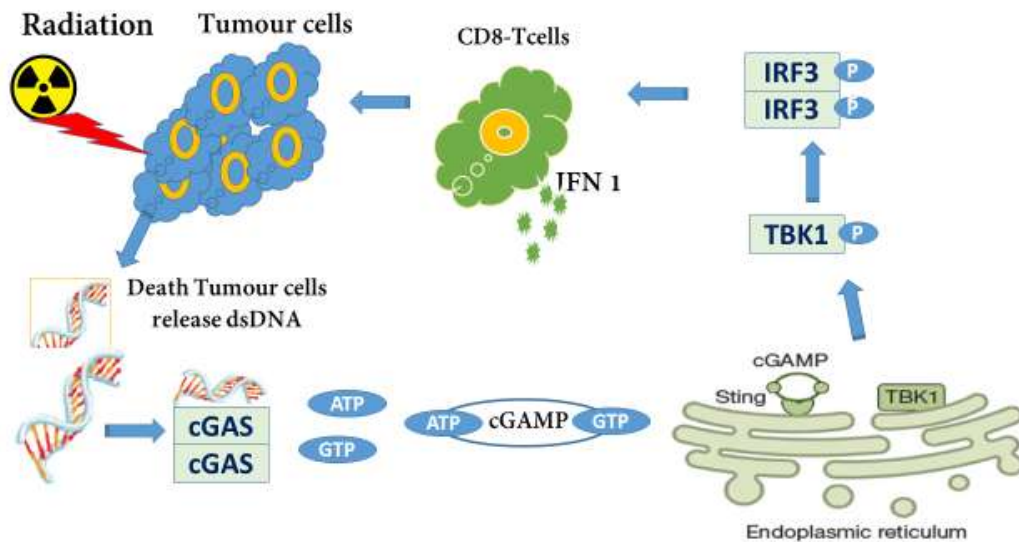
Med utgångspunkt i dessa insikter diskuteras synergistiska strategier för att omprogrammera tumörernas immunmikromiljö, inklusive kombinationer av strålbehandling med immunkontrollpunktshämning.

Wang et al's rankar sammanfaller mycket väl den i Preoperativ intermittent strålbehandling som med en initialt 6-8 Gy fraktion och efterföljande immunterapi med anti-CTLA4 för att dämpa immunosuppressionen av Treg, MDSC och anti-PD1/PDL1 för att gynna CD8⁺ T-lymfocyternas CTL-aktivitet (även HPV vaccin skulle kunna användas)

Efter att den terapeutiska effekten av den första behandlings omgången kontrollerats kan behandlingsparametrarna för påföljande veckas behandling fastställas.

Behandlingsomgångarna fortsätter tills kpmplett remission uppnås.

I Figuren nedan från kapitel 3 i del II visas att strålbehandling av tumörceller genererar dubbelsträng brott i DNA som aktiverar cGAMP-syntasvägen via den cytoplasmatiske DNA-sensorn cGAS och stimulerar IFN-gener (STING) vilket effektivt aktiverar CD8⁺T-celler (Cytotoxiska T-Lymfocyter, CTL)



Figur II-3-2

Strålbehandling av tumörceller genererar dubbelsträngs brott i DNA som aktiverar cGAMP-syntasvägen via den cytoplasmatiske DNA-sensorn cGAS och stimulerar IFN-gener (STING) vilket effektivt aktiverar CD8⁺T-celler (Cytotoxiska T-Lymfocyter, CTL)

Förkortningar i figuren

- AMP Adenosinmonofosfat;
- GMP Guanosenmonofosfat;
- cGAMP, cykliskt GMP-AMP;
- cGAS, cykliskt GMP-AMP-syntas;
- dsDNA, dubbelsträngat deoxiribonukleinsyra;
- IFN-1, typ I-interferon;
- IRF3, interferonreglerande faktor;
- P, fosfatgrupp;
- TBK1, TANK-bindande kinas 1.

(Gu et al., 2025)

Strålbehandling av tumörceller inducerar DNA-skador i, vilket leder till dubbelsträngsbrott (dsDNA). Under reparation av dsDNA-brott bildas instabila mikrokärnstrukturer, vilket frigör avvikande dsDNA i cytoplasman. Detta främmande dsDNA känns igen av den cytoplasmiska DNA-sensorn cGAS, som katalyserar syntesen av budbäraren cGAMP med hjälp av ATP och GTP. Cykliskt GMP-AMP (cGAMP) translokerar sedan till det

endoplasmatiska retikulum och binder där till proteinet STING (*Stimulator of interferon genes*), vilket aktiverar signalvägen kärnfaktor-kB (TBK1) till IFN-1 regulatorisk faktor-3 (IRF3). Denna aktivering inducerar produktion av typ-1 Interferon (IFN-1) och andra inflammatoriska faktorer, vilket effektivt aktiverar CD8⁺T-celler (Cytotoxiska T-Lymfocyter, CTL) och förstärker deras cytotoxicitet mot tumörceller.

Genererade dubbelsträngbrott i DNA, frisätter IFN-I-relaterade cytokiner som aktiverar CD8⁺T-celler (Cytotoxisk T-Lymfocyt, CTL) och förstärker deras cytotoxicitet mot tumörceller.

De Martino et al., visade att 5 × 6 Gy/fr. ger bäst kontroll av GBM i deras tre testade GBM-modeller, och att expansionen av CD8⁺T-celler vid gemensam blockad med antiPD-1 plus antiCTLA4 förmedlade immunologiskt minne mot GBM (De Martino et al., 2025).

BT i kombination med ICI behandling med antiCTLA4 + antiPD-1 skulle kunna tillämpas på svårbehandlad livmodehalscancer.

Synergien mellan Strål- och Immun-terapi vid behandling med Intermittent strålterapi i 3 fraktioner på 8 Gy och kombinat med adjuvant immunoterapi borde kunna ge bättre resultat vid BT.

III-5 Brachy-Hypertermibehandling

Bakgrunden till Adjuvant immunoterapi med hypertermi 40-44°C redovisas utförligt i Del 2, kapitel 4.

Lokal Brachy-Hypertermi innebär uppvärmning av det specifikt BT behandlade, begränsade området (t.ex. med mikrovågor eller radiofrekvens EMF). Kan användas för att öka effekten vid vissa tumörer (t.ex. i Matrupe, GI-ändtarm, Livmoder, Livmoderhals, prostatacancer).

Den enklaste metoden är att använda en EMF-antenn i ändan av en kateter. Med ballong metoden som redovisas nedan skulle en mer kontrollerad behandling kunna genomföras

Olsrud, och medarbetare presenterade 1998 en modell för intrakavitär uppvärmning av livmodern med hjälp av en ballongkateter avsedd för behandling av patologiska menstruationsblödningar (menorragi)

(Olsrud et al., 1998).

Numeriska simuleringar av denna behandling utfördes med hjälp av finita elementmetoden (FEM). Termisk analys utfördes sedan för att uppskatta djupet av vävnadskoagulation (temperatur >55 grader °C) i livmodern. Det uppskattade koagulationsdjupet, efter 30 minuters uppvärmning med en intrakavitär temperatur på 75 grader °C, var cirka 9 mm utan effekten av blodflödet. Med effekten av jämnt normalt blodflöde minskade Koagulations-djupet till 3-4 mm.

Simuleringar med varierande intra-kavitära temperaturer och blodflödes hastigheter visade att båda parametrarna var av stor betydelse för koagulationsdjupet. Blodflödets inverkan var mindre när även trycket från ballongen beaktades (5–6 mm koagulationsdjup med normalt blodflöde).

Denna metod skulle kunna modifieras till temperaturer i ballongen kring 43-44 °C att användas för Brachy-Hypertermi behandling i de kropps kaviteter som behandlas med Intermittent NDTA-BT:

Där

N står för antalet fraktioner

D står för absorberad dos per fraktion

T står för tiden mellan varje fraktion

A står för Adjuvant immunoterapi med ICI eller Hypertermi med 40-44°C i tidsintervallen mellan BT fraktionerna.

Mer generellt skulle Intermittent NDTA BT kunna uttryckas som:

$$\sum_i^l N_i \cdot D_j \cdot T_k \cdot A_i.$$

Där parametrarna för NDTA kan anpassas individuellt (i-l) till varje enskild patient

III Referenser

- Olsrud, J., Friberg, B., Rioseco, J., Ahlgren, M. & Persson, B. R. R. 1998. Modelling intracavitary heating of the uterus by means of a balloon catheter. Conference on Thermal Therapy, Laser Welding, and Tissue Interaction, Sep 09-11 1998. Stockholm, Sweden. pp. 30-35.
- Stewart, A. J., Chargari, C., Chyrek, A., Eckert, F., Guinot, J. L., Hellebust, T. P., Hoskin, P., Kirisits, C., Pieters, B., Siebert, F. A., Tagliaferri, L., Tanderup, K., Todor, D., Wojcieszek, P. & Hannoun-Levi, J. M. 2025. Radiobiology and modelling in Brachytherapy: A review inspired by the ESTRO Brachytherapy pre-meeting course. *Clinical and Translational Radiation Oncology*, 50.
- Wang, Z. Y., Wang, Z. K., Jiang, J. Y., Yang, L., Li, C. X., Deng, X. W., Li, Y., Yuan, J., Jiang, P. & Wang, J. J. 2026. Reprogramming the tumor immune microenvironment in cervical cancer: synergy between radiotherapy and immunotherapy. *Molecular Cancer*, 25.

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?



Rolf Bertil Ragnar PERSSON, PhD, MDh.c.

Född : 12 Oktober, 1938, uppväxt på Hagagatan 9 i Malmö.

1970 Filosofie doktor PhD

2004 Medicine hedersdoktor MD h.c.

1980-2005 professor i medicinsk strålningsfysik

2005 – Professor emeritus vid Lunds Universitet

Publicerat: >400 vetenskapliga arbeten,

>20 omfattande rapporter och böcker

Handledare för 40 disputerade doktorer vid de Matematisk Naturvetenskapliga och Medicinska fakulteterna i Lund

Denna berättelse om *Synerin mellan Strål- och Immun-Terapi* har sitt ursprung i min presentation vid forskningens dag 1983 i Lund av vår utrustning för mikrovågsinducerad hypertermi behandling av bröstcancer recidiv, där HM kung Carl XVI Gustaf sammanförde mig med neurokirurgen professor MDr Leif G Salford.

Strax innan millenniumskiftet initierade Leif Salford en klinisk studie "Brain *Immune Gene Tumour Therapy*" (BRIGTT). Ett specifikt tumörvaccin framställdes baserat på tumörceller som extraherades ur tumörvävnad från de glioblastopatients han tidigare opererat. Min medverkan bidrog till strålstertilsering av vaccinet innan det tillfördes patienterna. Överlevnadstiden hos de med vaccinbehandlade patienterna förlängdes, men inga tillfrisknade helt.

I försöket att förbättra vaccinations effekten, utnyttjades tidigare erfarenheter från kombinationen av strålbehandling med Hypertermi. I försöken användes samma tumörmodell som använts vid den prekliniska tumörimmunologiska forskningen som låg till grund för Salfords kliniska vaccinationsstudie med maligna gliom.

Vaccin-behandlingen av Fischer 344 råttor med N29 gliom tumörer inokulerade i hjärnan kombinerades med strålterapi och resultaten visade att:

- **Enbart strålbehandling en gång med 5 Gy resulterade inte i några överlevare.**
- **Däremot om Immunoterapi med 3 omgångar av vaccin kombinerades med endast en fraktion av 5 Gy strålterapi, så 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 tumörbehandlingsregim med intermittent strålbehandling i endast några lågdosfraktioner i kombination med immunoterapi. Strax efter att resultaten 2003 presenterats vid en neuro-onkologisk kongress i USA, gick jag i pension och projektet fick därefter inga resurser att utvecklas vidare.

Nu efter 20 år har det emellertid rapporterats om kliniska studier som visar att intermittent strålbehandling med 8 Gy boost före kirurgi i kombination med Immunoterapi ger goda resultat vid behandling av icke-immunogena s.k. *kalla* tumörer t.ex. bröstcancer.

Liknande resultat erhöll vi i Lund med mikrovågs inducerad Hypertermi på 1980-90 talet.

<https://www.youtube.com/watch?v=RzDesNluwnI>

Synergien mellan Strål- och Immun-Terapi: Nästa generation av tumörbehandling?