

L'immunomodulazione indotta da Radioterapia Stereotassica Ablativa in pazienti affetti da carcinoma della mammella oligometastatico come fonte di biomarcatori predittivi

frontiers in
IMMUNOLOGY

REVIEW ARTICLE
published: 14 March 2014
doi: 10.3389/fimmu.2014.00102



Radiation for awakening the dormant immune system, a promising challenge to be explored

Luis de la Cruz-Merino¹, Ana Illescas-Vacas^{2*}, Ana Grueso-López¹, Antonio Barco-Sánchez³, Carlos Míguez-Sánchez² and Cancer Immunotherapies Spanish Group (GETICA)

frontiers in
ONCOLOGY

REVIEW ARTICLE
published: 25 July 2012
doi: 10.3389/fonc.2012.00079



How does ionizing irradiation contribute to the induction of anti-tumor immunity?

Yvonne Rubner¹, Roland Wunderlich^{2†}, Paul-Friedrich Rühle³, Lorenz Kulzer¹, Nina Werthmüller¹, Benjamin Frey¹, Eva-Maria Weiss¹, Ludwig Keilholz², Rainer Fietkau¹ and Udo S. Gaipf^{1,2*}

Elena Muraro, PhD
Biolimmunoterapie dei tumori Umani
Departimento di Ricerca Traslazionale
Centro di Riferimento Oncologico di Aviano

Kitayama et al. *Radiation Oncology* 2010, **5**:47
<http://www.ro-journal.com/content/5/1/47>

RADIATION ONCOLOGY

SHORT REPORT **Open Access**

Circulating lymphocyte number has a positive association with tumor response in neoadjuvant chemoradiotherapy for advanced rectal cancer

Joji Kitayama*, Koji Yasuda, Kazushige Kawai, Eiji Sunami and Hirokazu Nagawa

Immunomodulazione da radiazioni ionizzanti

Razionale biologico

- la morte cellulare indotta da radioterapia comporta un'infiammazione locale ed il rilascio di *danger signals*

Reclutamento di diversi effettori immuni

Haen et al, 2011

- cellule apoptotiche e/o danneggiate dopo SABR sono sorgente di antigeni associati al tumore (TAA)

Stimolo di una risposta specifica anti-tumore

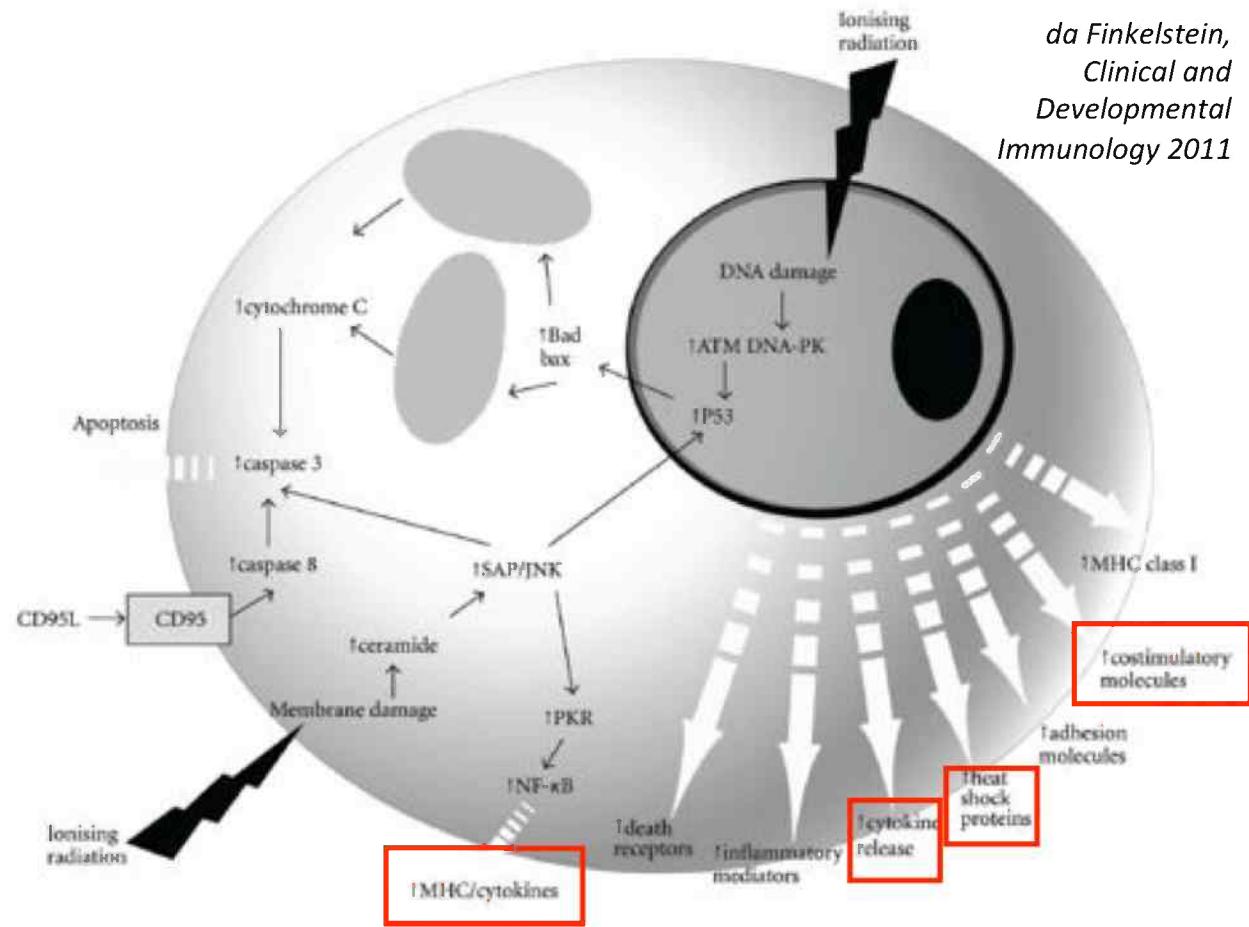
Widenmeyer et al, 2011

- rimozione delle cellule tumorali dopo SABR

Riduzione dell'immunosoppressione indotta dal tumore

Fietta et al, 2009

da Finkelstein,
Clinical and
Developmental
Immunology 2011



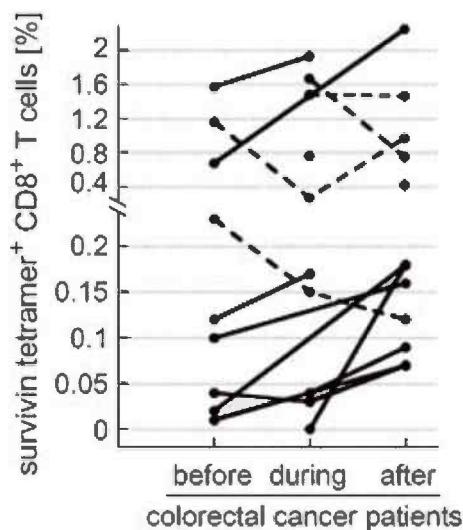
Immunomodulazione da radiazioni ionizzanti

Evidenze cliniche

Table 1 | Recompilation of case reports on abscopal effect.

da de la Cruz-Merino, Frontiers in Immunology 2014

Case reports	Diagnosis	Dose RT/irradiated site	Response to RT	Associated treatments	Specific immune response markers
Postow et al. (57)	Metastatic melanoma with pleural-based paraspinal mass, hilar lymphadenopathy, and splenic lesions	28.5 Gy in 3 fx to pleural-based paraspinal mass	All the metastases regressed significantly	Ipilimumab	Increase of NY-ESO-1-specific antibodies, CD4 ⁺ ICOS high, NY-ESO-1-specific interferon-gamma-producing CD4 ⁺ cells and HLA-DR-expressing CD14 ⁺ monocytes Decrease of myeloid-derived-suppressor cells
Stamell et al. (58)	Metastatic melanoma	First RT: 24 Gy in 3 fx to primary tumor.	All metastases had resolved (forehead, scalp, and neck)	Ipilimumab	Increase of MAGEA3
	Development of nodal and brain metastases	Second RT: intracranial stereotactic radiosurgery	Complete remission, including node metastasis		



- aumentate risposte T CD4⁺ specifiche per NY-ESO-1 in pazienti affetti da melanoma metastatico dopo RT
+Ipilimumab: **Effetto Abscopal**
- aumentate risposte T CD8⁺ specifiche per survivina in pazienti con carcinoma del colon-retto trattati con RT +chemioterapia: **Downstaging tumore**

da Schaeue, Clinical Cancer Research 2008

Scopo dello studio

VALUTARE GLI EFFETTI DELLA SABR SULLA RISPOSTA IMMUNE ANTI-TUMORE

in pazienti affette da carcinoma della mammella oligometastatico

PER STABILIRE IL POTENZIALE RUOLO PREDITTIVO DEI BIOMARCATORI IMMUNOLOGICI

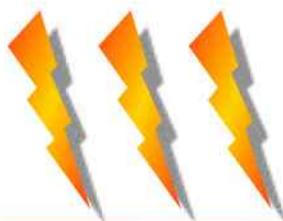
Disegno dello studio

Arruolamento delle pazienti

- ≤ 6 lesioni metastatiche (diagnosticate con FDG-PET/CT)
- controllo della malattia loco-regionale
- nessuna metastasi cerebrale

Trattamento SABR

- 30 Gy per ogni lesione
- 3 frazioni giornaliere consecutive (10 Gy/frazione)



Follow up

Possibili terapie concomitanti:

- terapia ormonale e/o
- chemioterapia
 - steroidi
- Trastuzumab



Immunomonitoraggio

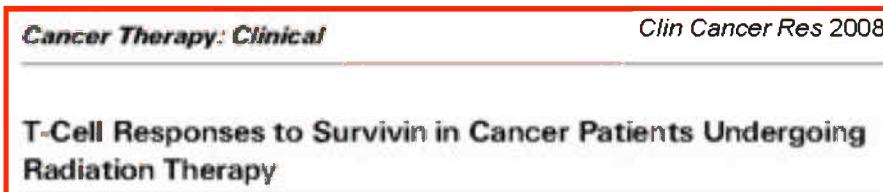
SABR per pazienti con carcinoma della mammella oligometastatico: dati clinici
Caratteristiche delle pazienti

Febbraio 2013-febbraio 2014

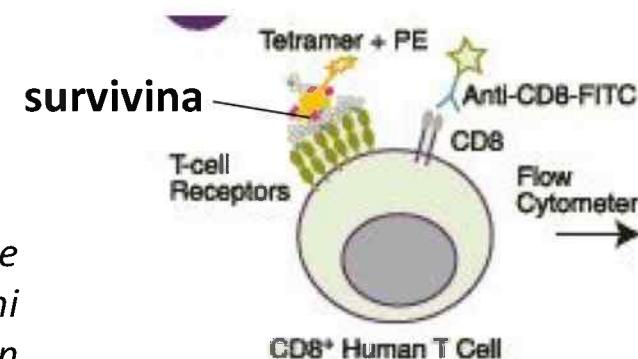
N°	Tumor hystotype	N° meta	Site meta	Concomitant therapy	Tumor control (6 months)
SABR1	Luminal B	6	Bone	Hormonal	yes
SABR3	Luminal A	2	Bone and axilla lymph node	Chemotherapy	yes
SABR4	Luminal A	2	Bone	Hormonal	yes
SABR5	Luminal B (HER2+)	4	Bone	Herceptin and steroids	yes
SABR6	Luminal A	1	Bone	Hormonal	yes
SABR7	HER2+	1	Bone	Herceptin	yes
SABR8	Luminal B	3	Bone	Hormonal	yes
SABR9	Luminal A	1	Lung	Hormonal	yes
SABR10	Luminal A	2	Bone	Hormonal	yes
SABR11	Luminal A	2	Bone	Hormonal	yes

Immunomonitoraggio: risposte T cellulari anti-tumore

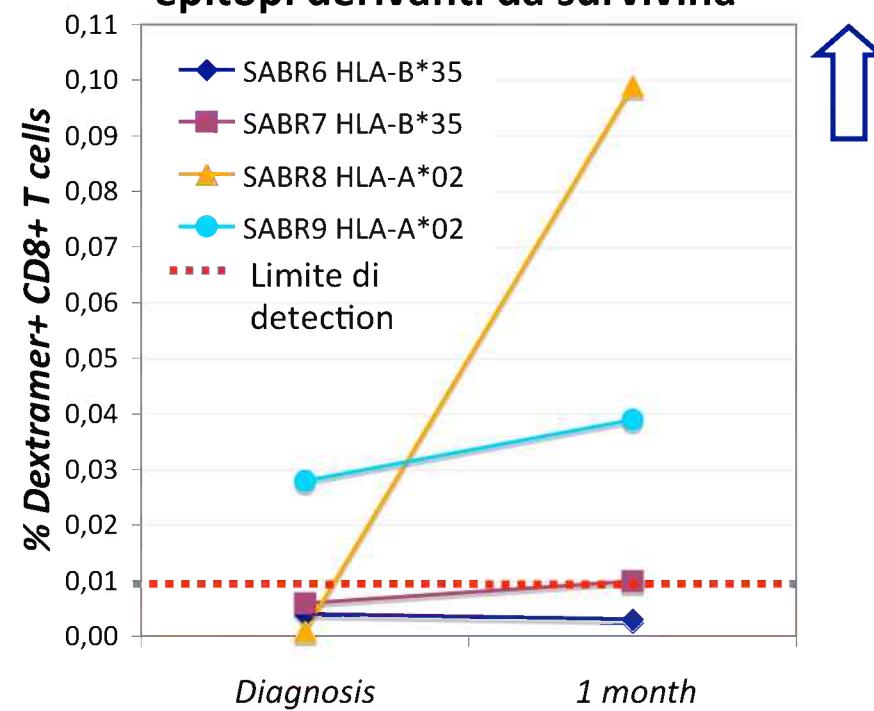
Aumento di risposte T CD8⁺ specifiche per survivina dopo 1 mese dalla SABR



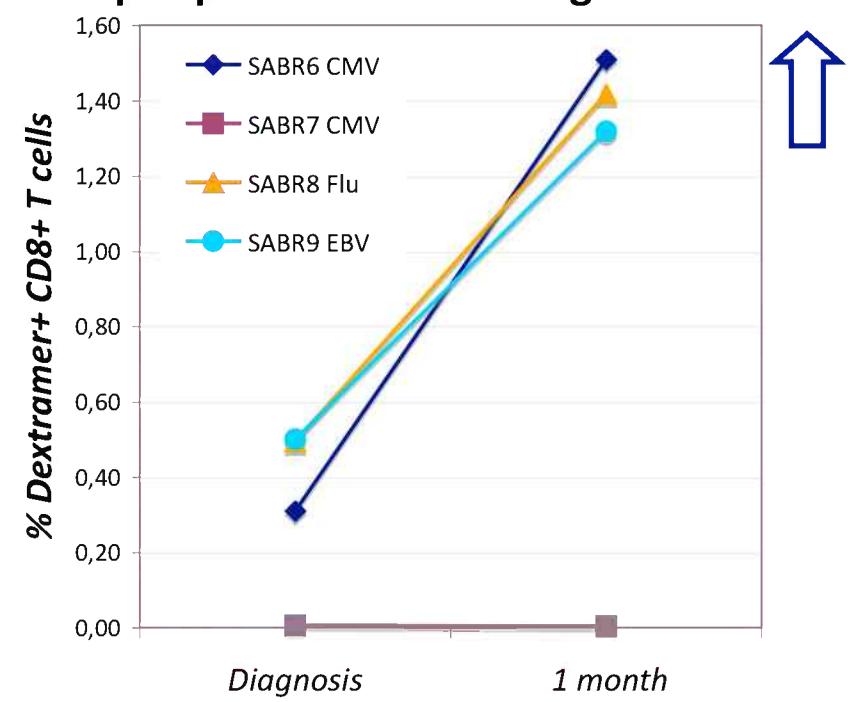
Metodo: Prestimolazione *in vitro* dei linfociti della paziente tramite peptidi derivanti da **survivina**. Dopo 12 giorni quantificazione dei linfociti CD8+ specifici in citofluorimetria.



Linfociti T CD8+ specifici per epitopi derivanti da survivina



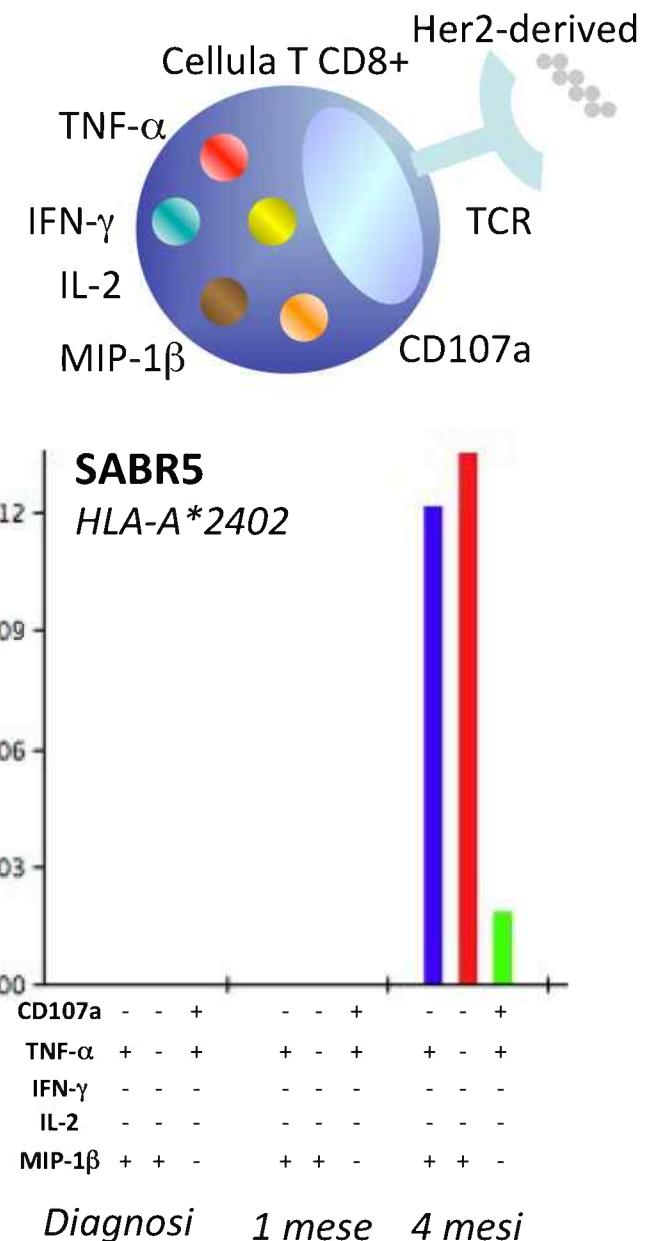
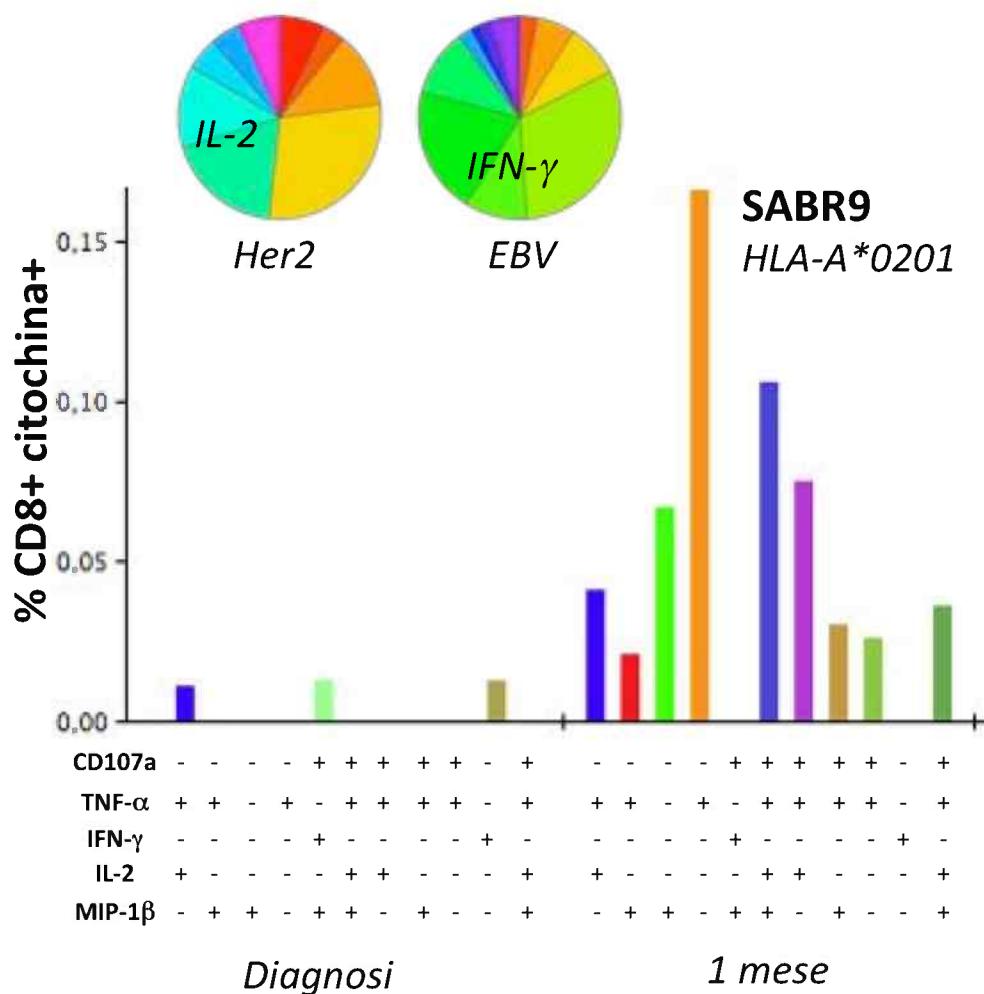
Linfociti T CD8+ specifici per epitopi derivanti da antigeni virali



Immunomonitoraggio: risposte T cellulari anti-tumore

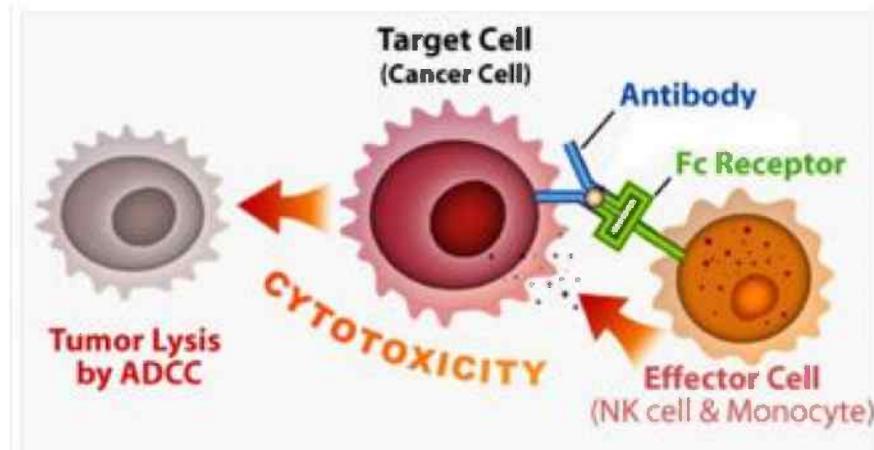
Induzione di risposte T CD8⁺ polifunzionali specifiche per Her2 dopo 1 mese dalla SABR

Metodo: Prestimolazione *in vitro* dei linfociti della paziente tramite peptidi derivanti da **survivina**, **Her2** e **mammaglobina-A**. Dopo 12 giorni caratterizzazione dei linfociti CD8+ specifici in citofluorimetria.

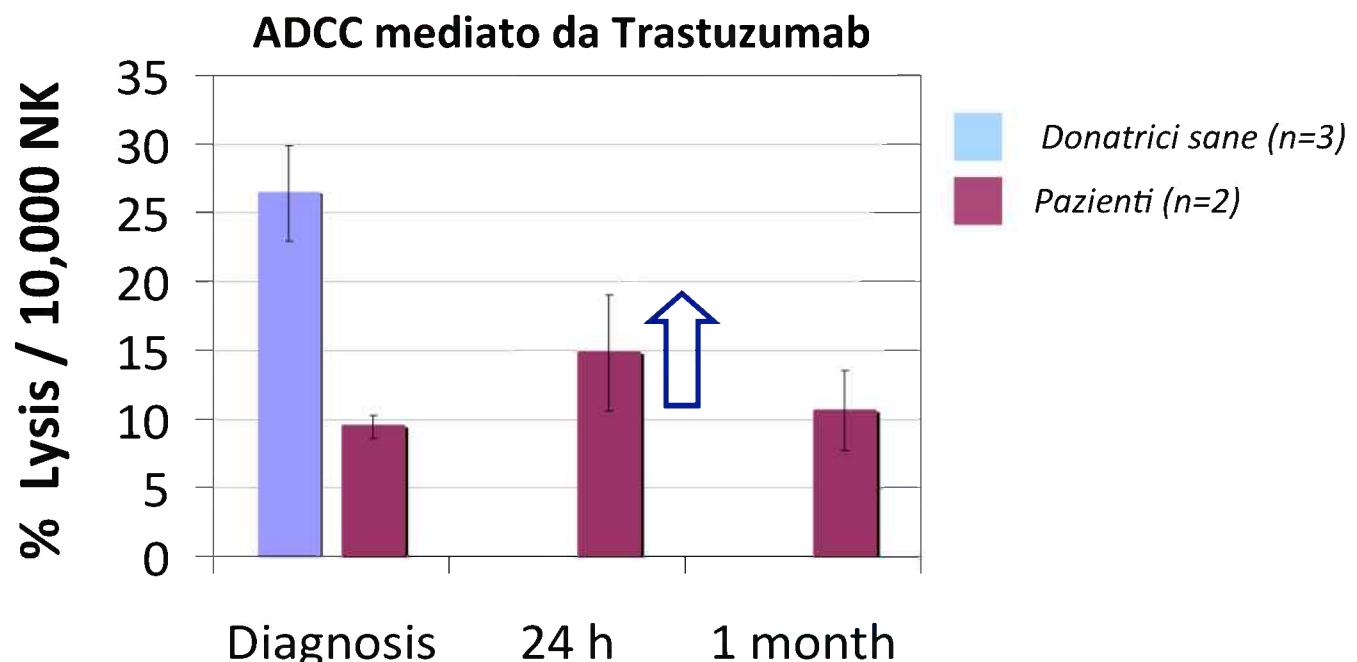


Immunomonitoraggio: attività immuno-mediata del Trastuzumab

SABR modula l'attività ADCC dipendente da Trastuzumab

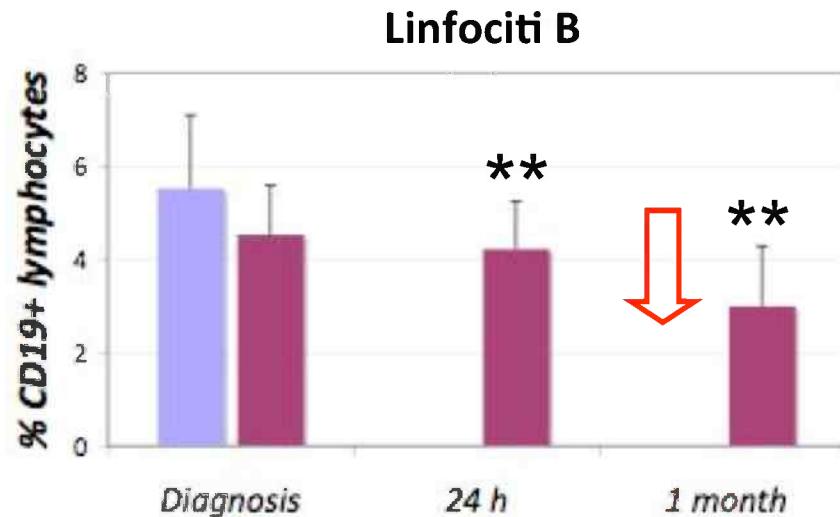


Metodo: *in vitro* Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity (ADCC)
-target: MDA-MB453 (carcinoma della mammella overesprimente Her2)
-anticorpo: Trastuzumab (20ug/ml)
-effettori: PBMCs paziente



Immunomonitoraggio: popolazioni immuni circolanti e livelli serici di citochine

Modulazione indotta da SABR su linfociti B e interleuchina-8



Metodo: Caratterizzazione immunofenotipica in citofluorimetria di:

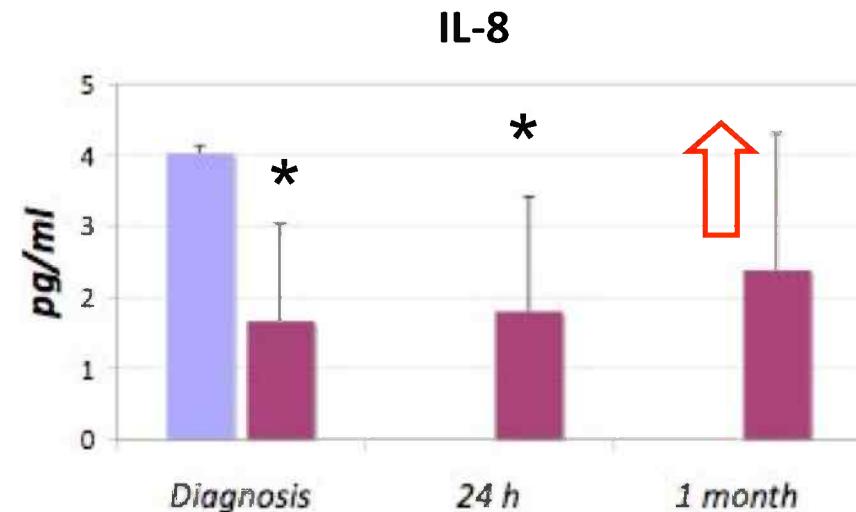
- linfociti T (CD4+ e CD8+) e B
- cellule Natural Killer
- cellule T CD4+ regolatorie
- linfociti T infiammatori (Th17)
- Myeloid-derived suppressor cells (MDSC)

Donatrici sane (n=4)
Pazienti (n=5)

Metodo: Quantificazione in ELISA Multiplex dei livelli serici di IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , HSP70.

Donatrici sane (n=4)
Pazienti (n=10)

- livelli di IL-6 > rispetto alle donatrici sane prima e dopo SABR



Effetto immunosoppressivo?

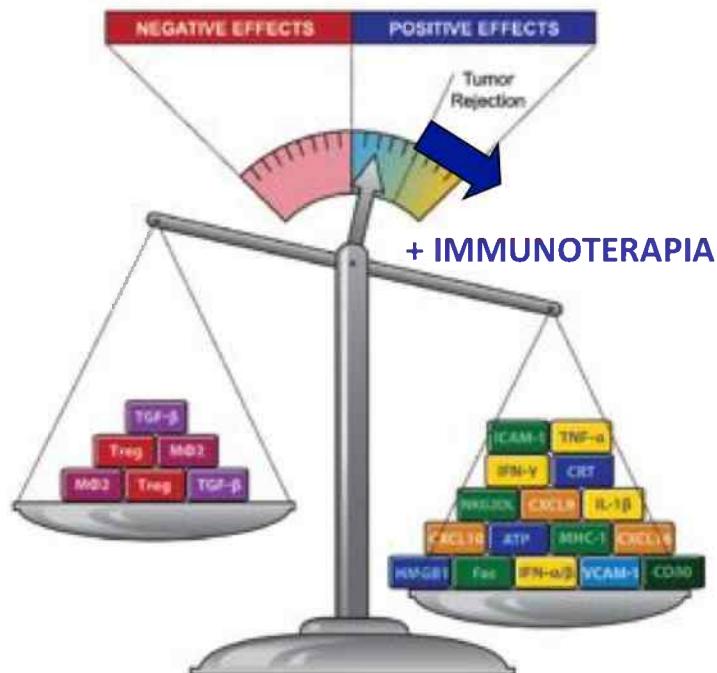
Conclusioni

Il trattamento con SABR induce diversi effetti immuno-modulanti in pazienti affetti da carcinoma della mammella oligometastatico:

- ↑ numero di cellule T CD8+ specifiche per survivina
- ↑ cellule T CD8+ polifunzionali specifiche per Her2
- ↑ attività ADCC mediata da Trastuzumab e % cellule NK CD56bright
- ↓ linfociti B e ↑ livelli serici di IL-8

SABR MODULA LA RISPOSTA IMMUNE ANTI-TUMORE

Radioterapia: Effetti **immunogenici**
versus effetti **immunosoppressivi**



da Formenti, JNCI 2012

Prospettive future

Completamento dello studio

**VALUTARE IL RUOLO PREDITTIVO DEI MARCATORI
IMMUNOLOGICI**

**PROPORRE UNA STRATEGIA COMBINATA RADIO
+IMMUNO TERAPIA**



Ringraziamenti

Debora Martorelli

Elisa Comaro

Aurora Rizzo

Katy Mastorci

Damiana Antonia Faè

Chiara Furlan

Jessica Dal Col

Barbara Montico

Elisabetta Fratta

Luca Sigalotti

Francesca Colizzi

Riccardo Dolcetti

*Bioimmunoterapie dei
tumori umani*

Dip. di Ricerca

Traslazionale

C.R.O. Aviano

Marco Trovò

Carlo Furlan

Oncologia Radioterapica

Dip. di Oncologia

Radioterapica e di Diagnostica

per Immagini

C.R.O. Aviano



Massimiliano Berretta

Loredana Militello

Simon Spazzapan

Oncologia Medica C

Dip. di Oncologia Medica

C.R.O. Aviano



Alessandro Del Conte

Dip. di Oncologia Medica

Azienda Ospedaliera

Santa Maria degli Angeli

Pordenone



**GRAZIE A VOI PER
L'ATTENZIONE!**

12th CIMT Annual Meeting
May 6 – 8, 2014
Mainz, Germany

Abstract 2014



*Europe's largest meeting focused
on cancer immunotherapy
research and development*

199 | Immunomonitoring

Immunomodulation induced by Stereotactic Ablative Radiotherapy (SABR) in oligometastatic breast cancer patients as a source of predictive biomarkers

153 | Tumor Biology & Interaction with the Immune System

Muraro E.¹, Furlan
Spazzapan S.³, Con

¹C.R.O. National Ca

²C.R.O. National Ca

Enhanced immunogenic cell death and immune activation by synergism between therapeutic irradiation and RIG-I activation in murine melanoma cells

207 | Immunomonitoring

Immune status of patients with localized prostate carcinoma during primary radiotherapy

292 | Improving Immunity

Effect of local tumor irradiation on migration of antigen-specific CTLs and tumor growth