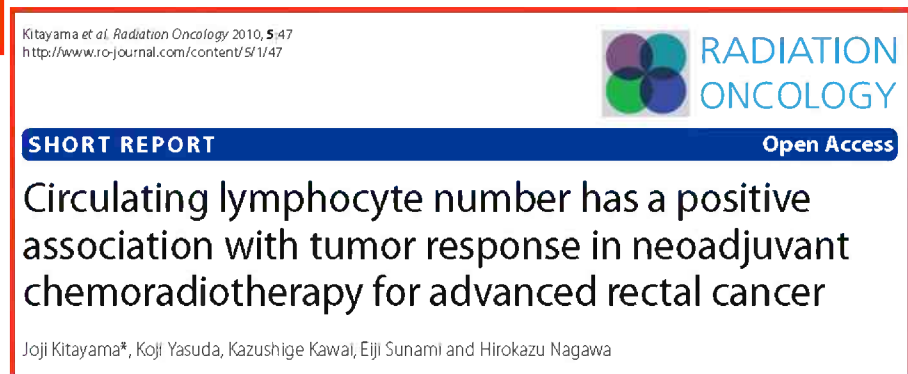


L'immunomodulazione indotta da Radioterapia Stereotassica Ablativa in pazienti affetti da carcinoma della mammella oligometastatico come fonte di biomarcatori predittivi



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

Immunomodulazione da radiazioni ionizzanti

Razionale biologico

- la morte cellulare indotta da radioterapia comporta un'inflammatione 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)

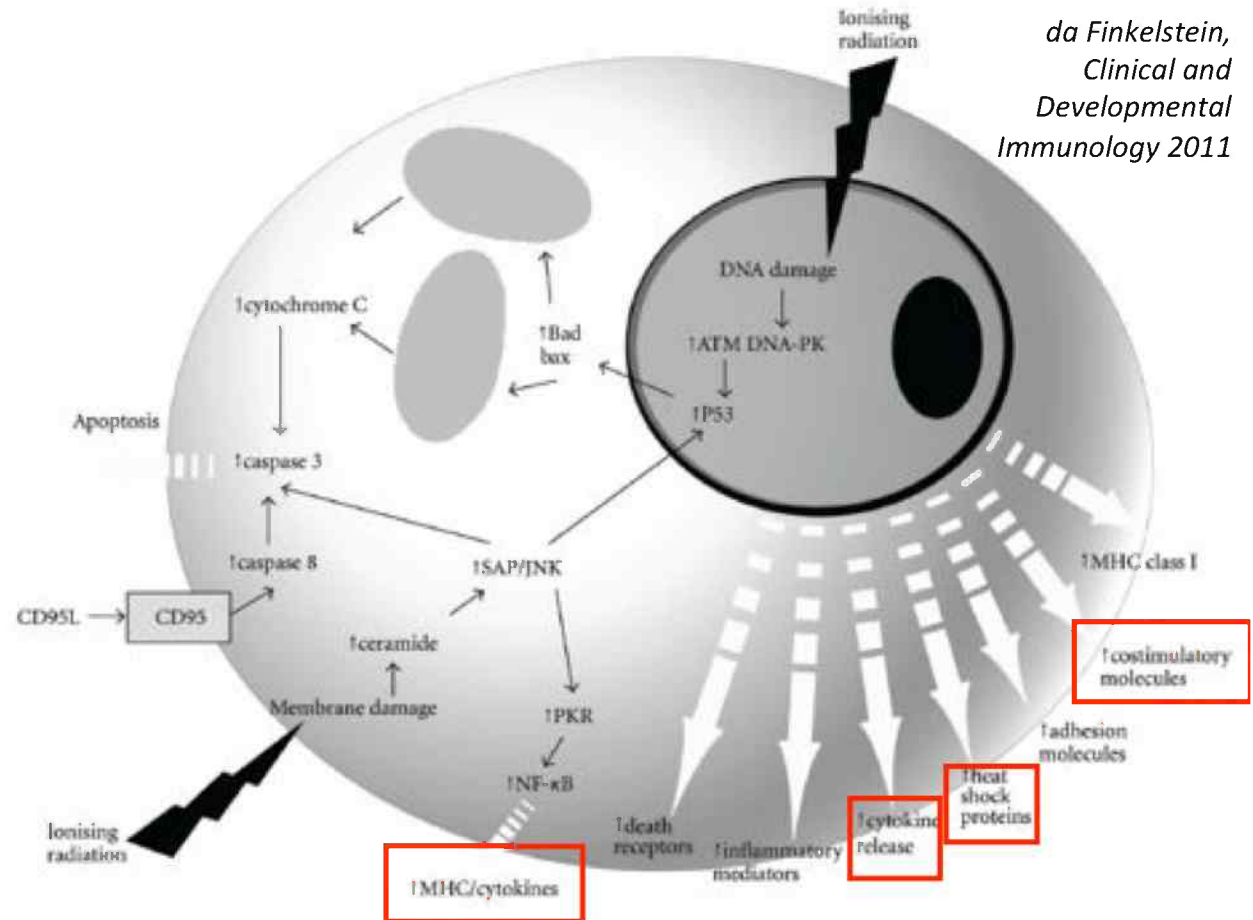
Stimolo di una risposta specifica anti-tumore

Widenmeyer et al, 2011

- rimozione delle cellule tumorali dopo SABR

Riduzione dell'immunosoppressione indotta dal tumore

Fietta et al, 2009



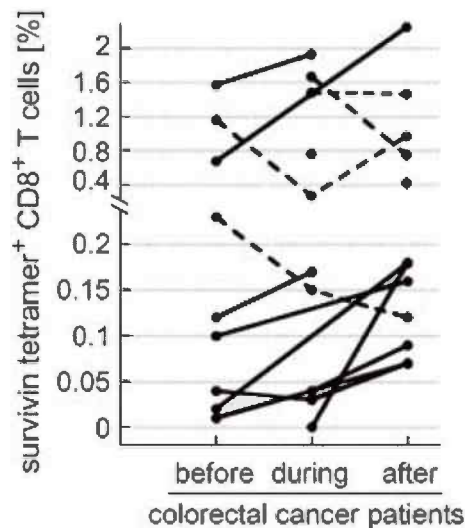
Immunomodulazione da radiazioni ionizzanti

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 Development of nodal and brain metastases	First RT: 24 Gy in 3 fx to primary tumor. Second RT: intracranial stereotactic radiosurgery	All metastases had resolved (forehead, scalp, and neck) Complete remission, including node metastasis	Ipilimumab	Increase of MAGEA3



- 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**

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

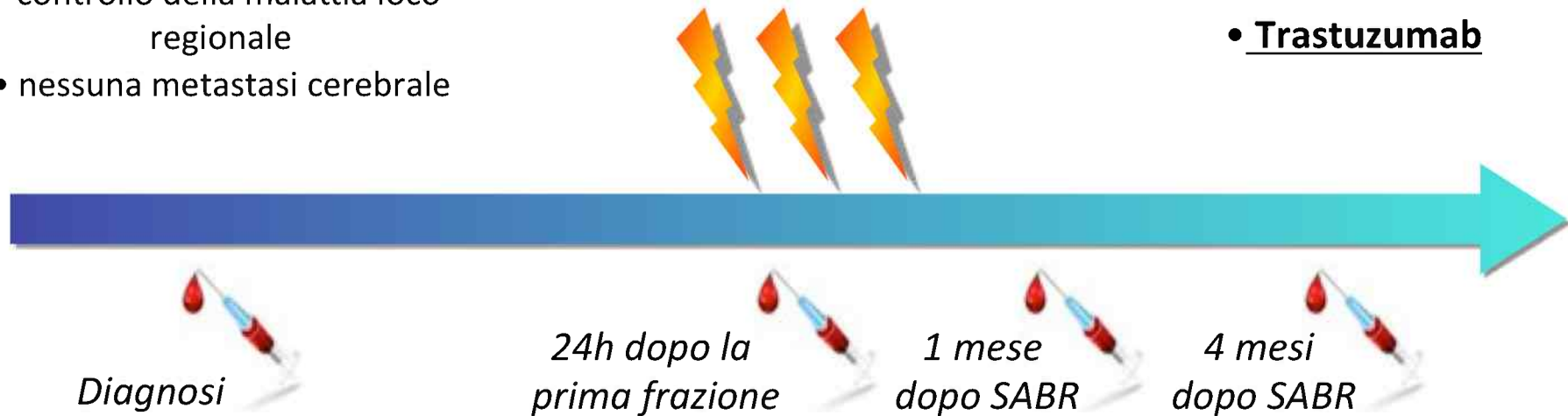
Trattamento SABR

- 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 axcilla 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

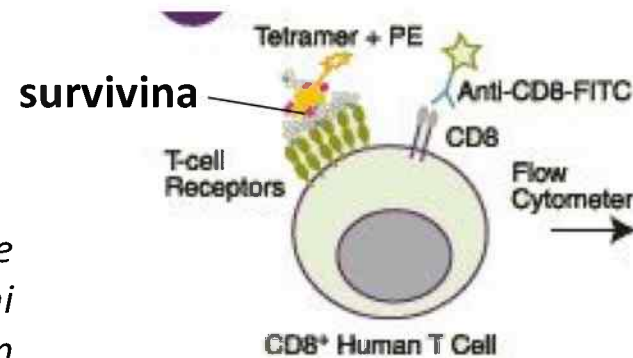
Aumento di risposte T CD8⁺ specifiche per survivina dopo 1 mese dalla SABR

Cancer Therapy: Clinical

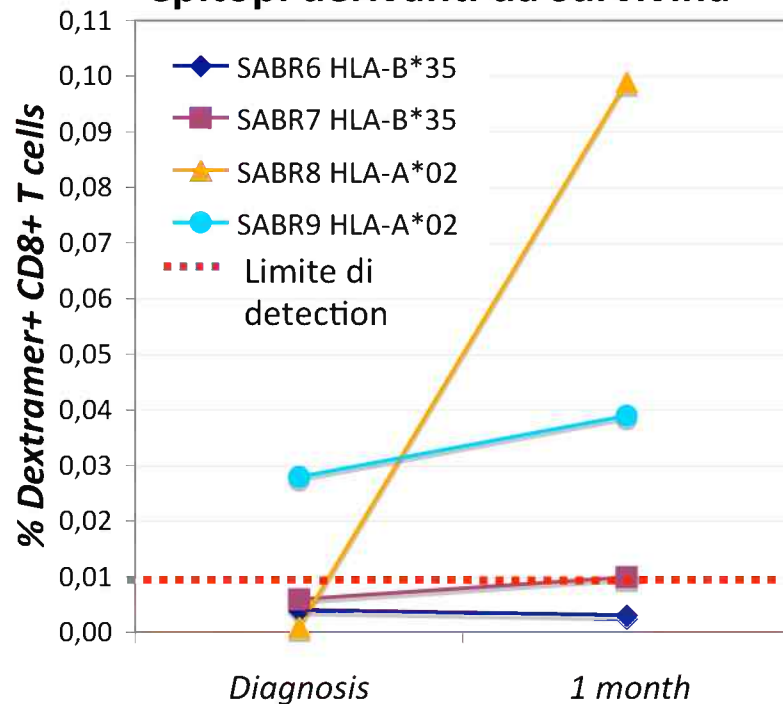
Clin Cancer Res 2008

T-Cell Responses to Survivin in Cancer Patients Undergoing Radiation Therapy

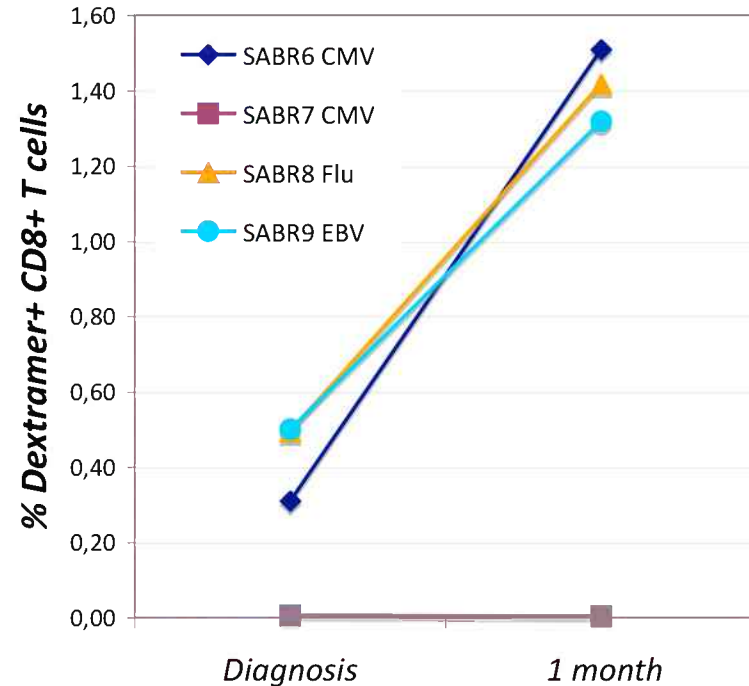
Metodo: Prestimolazione in vitro dei linfociti della paziente tramite peptidi derivanti da **survivina**. Dopo 12 giorni quantificazione dei linfociti CD8⁺ specifici in citofluorimetria.



Linfociti T CD8⁺ specifici per epitopi derivanti da survivina



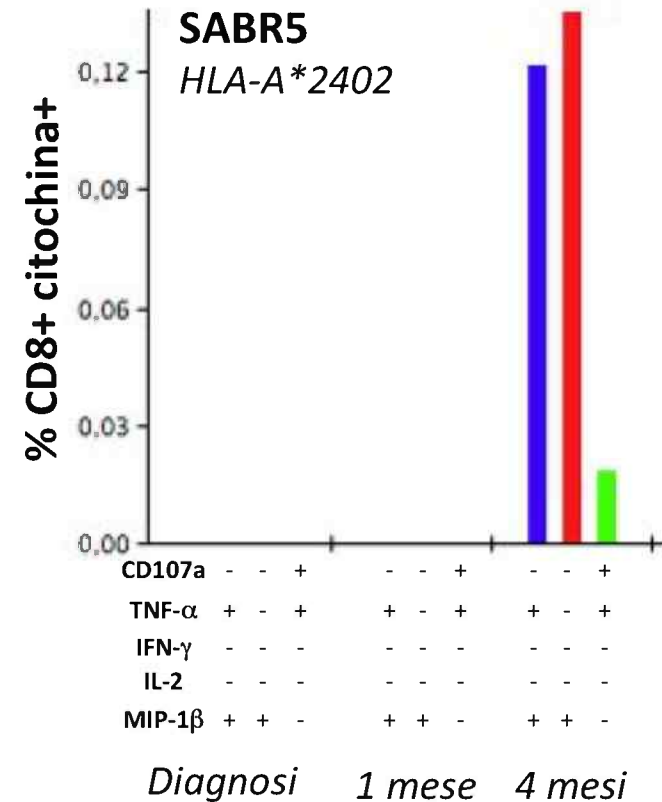
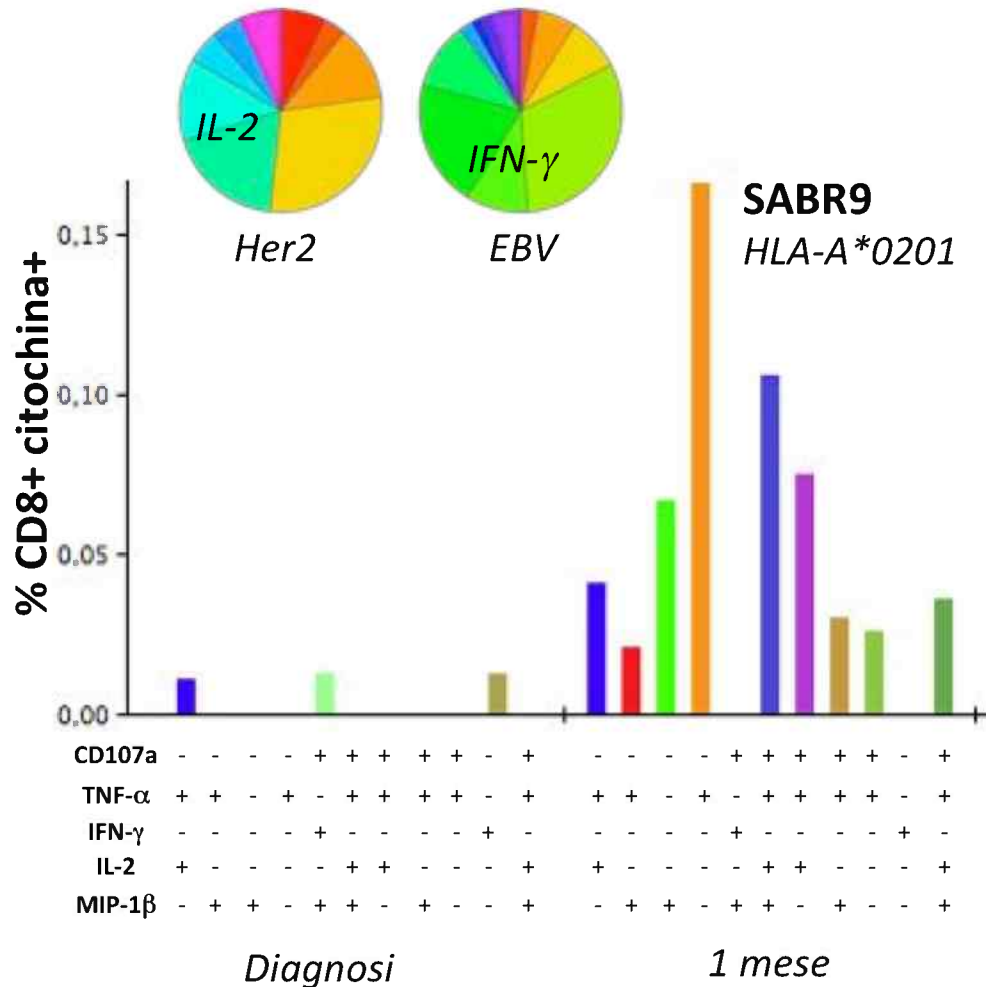
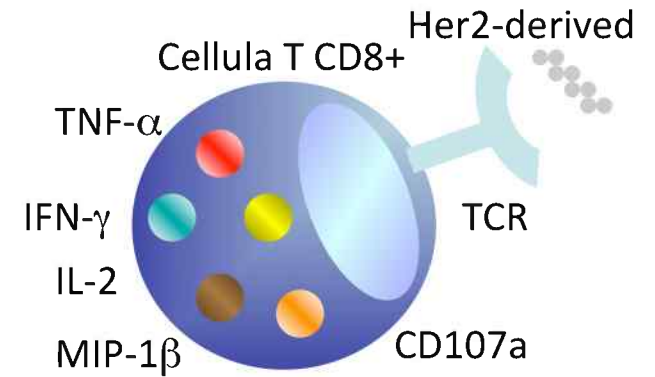
Linfociti T CD8⁺ specifici per epitopi derivanti da antigeni virali



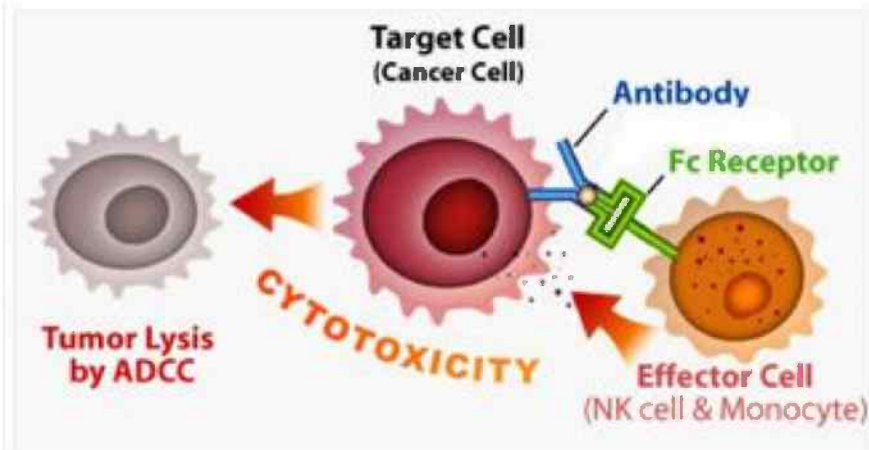
Immunomonitoraggio: risposte T cellulari anti-tumore

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*

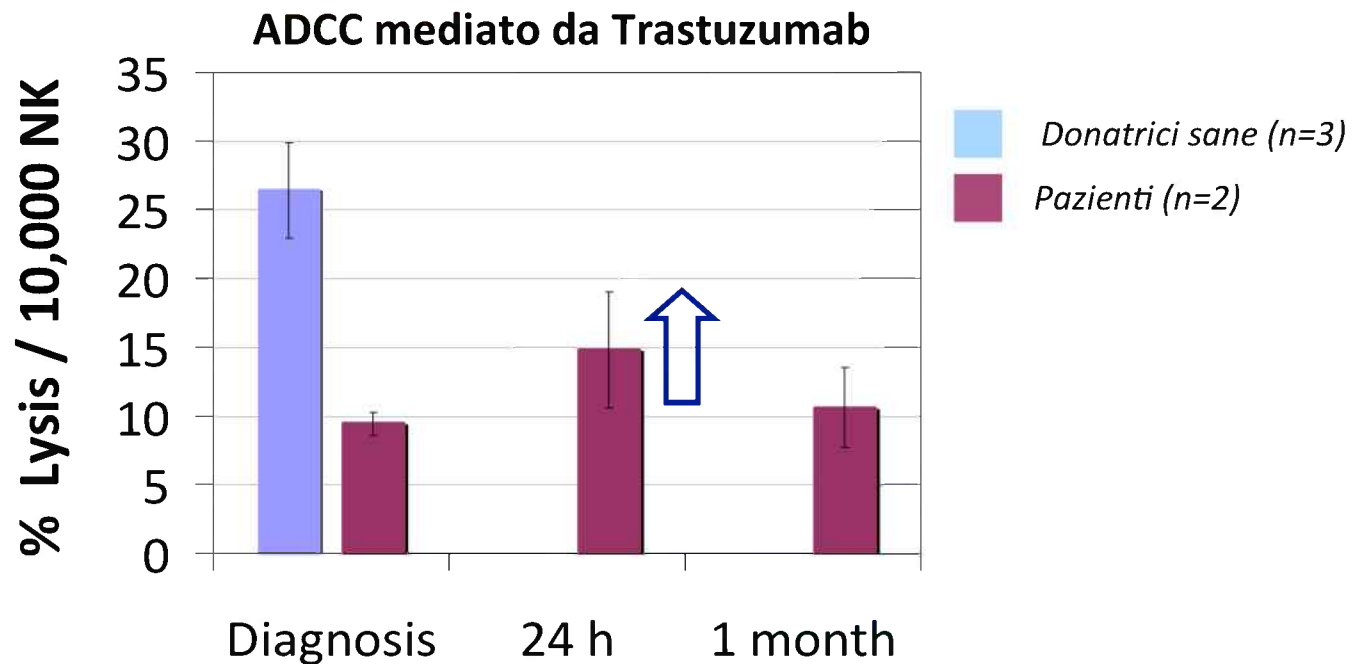


Metodo: in vitro Antibody-Dependent Cell Cytotoxicity (ADCC)

-target: MDA-MB453 (carcinoma della mammella overesprimente Her2)

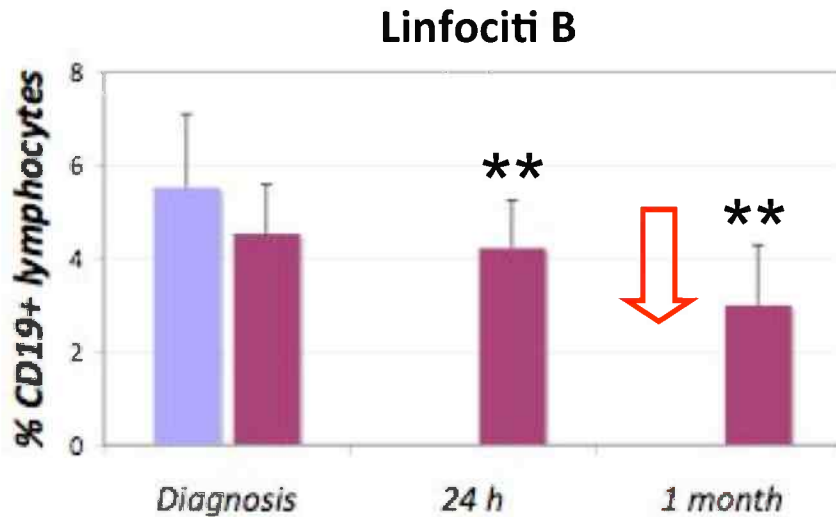
-anticorpo: Trastuzumab (20ug/ml)

-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)

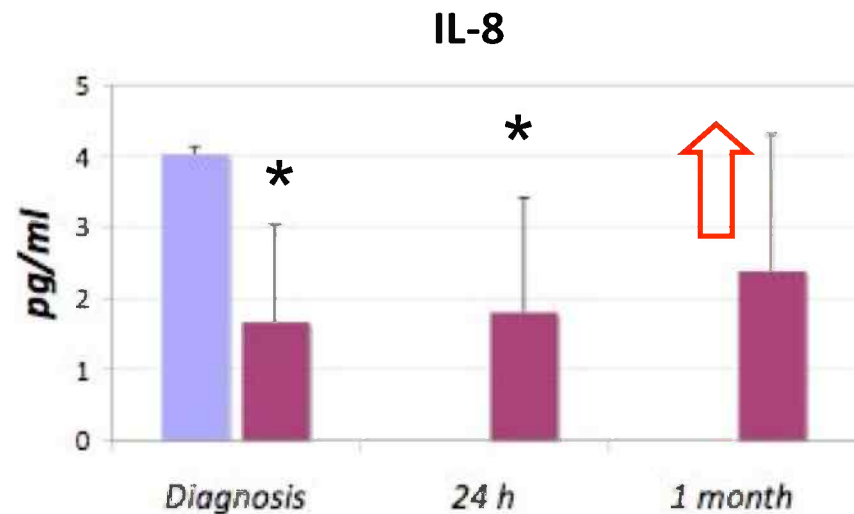
■ Pazienti (n=5)

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?



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!**



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, Cor

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

¹C.R.O. National Ca

²C.R.O. National Ca

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