

A sugárterápia hatása a daganatellenes immunválaszra

A sugárterápia és az immunterápia optimális kombinálásának lehetőségei

LUMNICZKY KATALIN, SÁFRÁNY GÉZA

Országos Közegészségügyi Központ – Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Igazgatóság, Budapest

FINANSZÍROZÁS: A MUNKÁT AZ EU-FP7 DOREMI (SZERZŐDÉSSZÁM: 249689) KUTATÁSI PÁLYÁZATBÓL FINANSZÍROZTUK.

Levelezési cím:

Dr. Lumniczky Katalin, Országos Közegészségügyi Központ
– Országos Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató
Igazgatóság, 1221 Budapest, Anna u. 5. Tel.: +36-1-482-2010,
e-mail: lumniczky.katalin@osski.hu

Közlésre érkezett:

2016. január 5.

Elfogadva:

2016. január 22.

Az elmúlt három évtized a daganatimmunológia és az ezzel párhuzamosan kifejlesztett immunterápiás eljárások robanásszerű fejlődését hozta, aminek eredményeképpen az immunterápia minden bizonnyal a korszerű daganatellenes kezelés egyik nélkülözhetetlen elemévé fog válni. Nyilvánvaló ugyanakkor, hogy az immunterápia és a hagyományos daganatterápiás modalitások kombinációjának csakis akkor van létjogosultsága, ha minimum additív, de inkább szinergista hatást fejt ki. Az ugyancsak dinamikusan fejlődő sugárbiológia bebizonyította, hogy egyrészt a közhiedelemmel ellentétben a sugárzás nem okoz általános immunsuppressziót, hanem a daganatellenes immunválaszt stimuláló hatással is rendelkezhet, másrészt kimutatta, hogy a sugárzás immunrendszert befolyásoló hatásai nemcsak lokálisan, hanem szisztémásan is érvényesülnek. Mindezen ismeretek fényében felvetődik annak a reális lehetősége, hogy a lokális sugárterápiát hatékonyan kombinálhassuk immunterápiával. Jelen összefoglalónkban először áttekintést adunk a daganatellenes immunválasz azon mechanizmusairól, amelyeket az ionizáló sugárzás befolyásolni képes, majd ezt követően összefoglaljuk azokat a fontosabb immunterápiás eljárásokat, amelyeket preklinikai és/vagy klinikai vizsgálatokban hatékonyan kombinálnak sugárterápiával. Magyar Onkológia 60:46-54, 2016

Kulcsszavak: rosszindulatú daganatok, kombinált kezelés, immunterápia, sugárterápia, daganatellenes immunitás

The past three decades of immunology research led to a drastic increase in the knowledge of antitumor immune response mechanisms and in parallel to a rapid development in various antitumor immune therapy strategies. This will most probably result in the implementation of immunotherapeutic protocols within the standard anticancer regimens in a very near future. Though, it is obvious that combination of immunotherapy with traditional anticancer treatment modalities will only be legitimate if the combination has at least an additive, or perhaps a synergistic effect. The similarly dynamic progress in the radiobiological knowledge proved that ionizing radiation does not have a general immune suppressing effect, as it has been thought for decades, but might possess certain immune stimulatory effects, as well. It is also known by now that local irradiation due to its out-of-field effects has systemic immune modulatory capacity, too. In the light of all these novel findings the optimal combination between antitumor immunotherapy and radiotherapy has become an increasing option. The first part of the present review summarizes the main antitumor mechanisms that can be influenced by ionizing radiation, and the second part attempts to provide a comprehensive overview of those antitumor immunotherapeutic modalities that are currently being used in combination with radiotherapy in preclinical and/or clinical trials for the treatment of various tumors.

Lumniczky K, Sáfrány G. The effect of radiotherapy on the antitumor immune response. Possibilities to combine radiotherapy with immunotherapy. Hungarian Oncology 60:46-54, 2016

Keywords: malignant tumors, combined therapy, radiotherapy, immunotherapy, antitumor immunity

BEVEZETÉS

Az onkológiában a daganatterápia egyik leghatékonyabb módja a lokális sugárterápia. A sugárterápiának közvetlen sejtpusztító (citotoxikus) hatása van, amely elsődlegesen felelős a terápiás hatásáért. A daganatok sugárzással szembeni érzékenységét számos tényező befolyásolja, ebből adódóan igen eltérő módon reagálnak a sugárterápiára. Ilyen tényezők a daganatot felépítő egyes sejtek sugárérzékenysége, a daganatban levő hipoxia jelenléte és annak mértéke, a sugárterápia utáni reoxigenizáció foka, valamint a tumorsejtek osztódási kinetikája, amely egyben megszabja repopulációjuk gyorsaságát is.

Az elmúlt évek sugárbiológiai kutatásai egyértelműen igazolták, hogy a mikrokörnyezet jelentős mértékben befolyásolja a daganatok sugárterápiára adott válaszát. A mikrokörnyezet összetevői közül az egyik legnagyobb jelentősége az immunrendszer különböző sejtjeinek van, amelyek meghatározzák a helyi gyulladás és a daganatellenes immunválasz típusát és mértékét. Szintén ide kapcsolódik az a viszonylag új sugárbiológiai jelenség, amelyet a sugárzás szomszédsági vagy bystander hatásaként ismer a szakirodalom. Ez a hatás a sugárzás sejtszintű/molekuláris hatásainak a megnyilvánulását jelenti azokban a sejtekben, amelyeket közvetlenül nem ért sugárzás. A bystander hatás megnyilvánulhat lokálisan, a besugarazott sejtekkel közvetlenül kapcsolatban álló daganatos vagy nem daganatos sejtekben, de a besugárzás helyétől távol eső sejtekben, szövetekben is. Habár a sugárzás indukálta bystander hatás mediátorai még nem ismertek pontosan, az egyértelmű, hogy a hatást számos immunológiai természetű molekula (citokin, kemokin, növekedési faktor, stresszmolekula) képes közvetíteni, így legalábbis részben egy immunrendszer közvetítette folyamat. Nagy valószínűséggel a sugárzás indukálta abszokopális hatás is tulajdonképpen egy távoli bystander hatás. Arról van szó, hogy egy bizonyos elhelyezkedésű daganat lokális besugárzása azt eredményezi, hogy nemcsak a besugarazott, de a sugármezőn kívül eső daganat vagy disztális metasztázis is reagál a kezelésre. Abszokopális hatást állatkísérletes rendszerekben gyakran kimutattak, és egyre nagyobb számú klinikai esettanulmány is elérhető a nemzetközi irodalomban [1].

A tumorelles immunterápia célja, hogy a szervezet immunrendszerét aktiválja a daganatsejtek ellen, illetve hogy megszüntesse/visszafojtassa/tompítsa azokat a folyamatokat, amelyek a daganatokkal szembeni immunuszuppresszióért felelősek. A tumorelles immunterápia napjainkra a daganatterápia legdinamikusabban fejlődő és talán legnagyobb lehetőségeket magában hordozó terápiás eljárásává nőtte ki magát. Habár számos klinikai vizsgálat folyik világszerte és Magyarországon is a különböző kísérleti fázisban lévő immunmoduláló eljárások tesztelésére, egyre nyilvánvalóbbá válik, hogy az immunterápia egy kombinációs kezelés részeként lehet igazán hatásos, a sugár- és/vagy kemoterápiával együtt alkalmazva. Ezért szükség van olyan klinikai vizsgálatokra,

ahol az immunterápia és a sugár/kemoterápia közötti kölcsönhatásokat is vizsgálják.

A nagy dózisú sugárzásról korábban egyértelműen úgy gondoltuk, hogy az immunrendszert gátló hatása van, ez a dogma azonban újabban megdőlni látszik. A legújabb kutatások egyértelműen igazolták, hogy az ionizáló sugárzás és az immunrendszer között egy dinamikus kapcsolat áll fenn, a sugárzás hatására bizonyos immunfolyamatok felerősödnek, mások gátlás alá kerülnek. Így a daganatellenes immunválasz akár pozitív, akár negatív irányban módosulhat ionizáló sugárzás hatására.

A jelen összefoglaló célja, hogy áttekintse a sugárzás hatását a daganatellenes immunválasz különböző összetevőire, és ismertesse a fontosabb kombinált sugár- és immunterápiás eljárásokat és azok tapasztalatait.

AZ IONIZÁLÓ SUGÁRZÁS HATÁSA A DAGANATSEJTEKRE

A daganatok kialakulása során a tumorsejtekben különböző mutációk halmozódnak fel; ezek módosult peptidszerkezetű fehérjék termeléséhez vezetnek, amelyek a sejtfelületen levő fő hisztokompatibilitási (MHC vagy HLA) molekulákhoz kapcsolódva képesek lehetnek a daganatellenes immunrendszer aktiválására. A daganat progressziója során azonban a tumorsejtek számos olyan mechanizmust fejlesztenek ki, amelyek arra irányulnak, hogy az immunrendszer sejtjei ne ismerjék fel őket, és így egy fokozódó mértékű általános immunuszuppresszió alakul ki. Az immunuszuppresszióhoz vezető folyamatok között meg kell említeni a daganatsejtek gyors osztódását, a felszínükön levő MHC-molekulák számának a csökkenését, a felszíni antigének árnyékolását, immunuszuppresszív hatású citokinek termelését.

Az ionizáló sugárzás tumorelles immunválaszt befolyásoló hatása nagyban függ attól, hogy milyen mértékben, illetve irányban képes befolyásolni a daganatsejtek fent említett immunfelismerést elkerülő taktikáit. Sugárzás hatására a daganatsejtek a legtöbbször nem pusztulnak el azonnal, hanem több sejtosztódást követően késői, úgynevezett mitotikus sejthalál alakul ki. Ennek során a leggyakoribb sejtpusztulási mechanizmus a nekrozis, valamint az osztódási képesség elvesztése, a szenescencia (korai öregedés). A lassan pusztuló sejtek metabolikusan még sokáig aktívak maradnak és képesek tovább termelni számos, az immunrendszer működését befolyásoló molekulát is, amelyek egyrészt lokálisan a tumor környezetében fejtik ki hatásukat, másrészt a keringésbe kerülve szisztémásan befolyásolják az immunrendszert. Részben ez a mechanizmus a felelős a lokális sugárterápia szisztémás hatásaiért. Ritkábban ugyan, de sugárzás hatására a daganatsejtekben korai sejthalál (leggyakrabban apoptózis) is kialakulhat [2].

Immunológiai szempontból megkülönböztetünk immunogén és tolerogén sejtpusztulási mechanizmusokat. Az immunogén sejtpusztulás során olyan molekulák kerülnek a tumorsejtek felszínére és/vagy az extracelluláris térbe, amelyek képesek a daganatellenes immunválaszt aktiválni. Jellemzően

a daganatsejtekből úgynevezett „veszélyjelzések” („danger signals”) kerülnek ki a környezetbe; ezek kis molekulású, stressz hatására felszabaduló anyagok, amelyek képesek az immunrendszer készülségi fokát emelni elsősorban a dendritikus sejteken (DC) keresztül. Ilyen veszélymolekulák például a különböző hősokkfehérjék, elsősorban a Hsp70 és 90, amelyek, ha megjelennek a daganatsejtek felszínén, fokozzák a DC-k tumorantigén-felismerő képességét és érését, valamint a CD8⁺ T-sejtek és a természetes ölősejtek (NK) aktivációját [3]. Az immunogén sejthalál egyik első és legfontosabb jele, ha a sejtek belső felszínén levő kalretikulinmolekula a sejtfelszínre kerül. Ugyancsak immunogén sejthalált okoz, ha a sejtekben levő ATP-molekula, illetve a DNS-hez kötődő HMGB1 („high mobility group protein B1”) fehérje az extracelluláris térbe kerül. A HMGB1 a DC-ket közvetlenül stimulálja a TLR4 receptorokon keresztül. Az extracelluláris szabad ATP szintén a DC-ken keresztül hat [4]. A tolerogén sejthalál során a pusztuló tumorsejtek az immunrendszer aktivációját gátló molekulákat fejeznek ki. Egyik jellemzője, hogy a daganatsejtek felszínén megnövekszik a CD47 fehérje szintje. A CD47 egy immunglobulinhoz hasonló molekula, amelyik a makrofágok felszínén levő SIRPα („signal regulatory protein alpha”) receptorhoz kapcsolódik és gátolja azok fagocitáló aktivitását. Megnövekedett CD47-szintet mutattak ki egy sor daganatban, úgymint ovárium-, emlő-, vastagbél-, hólyag-, prosztatarák, hepatocellularis carcinoma, glioma és myeloid leukaemia [5]. Tolerogén hatása van a CD39-molekulának is, amely elsősorban a regulátor T- (Treg) sejtek felszínén van jelen, de daganatsejtek (pl. hasnyálmirigy, melanoma) felszínén is megjelenhet [6, 7]. A CD39 képes a szabad ATP elbontására, ezáltal megakadályozva annak stresszindukáló hatását.

A sugárzás mind az immunogén, mind a tolerogén sejtpusztulást képes befolyásolni. Sugárzás hatására megnövekedett sejtfelszíni kalretikulinszintet mutattak ki egér vastagbélrákban, fibrosarcomában és különböző melanoma-sejtvonalakon [8]. Humán papillómavírus-pozitív fej-nyaki daganatok esetében sugárterápia hatására csökkent a daganatsejtek felszínén a CD47-expresszió [9]. A CD47 antigén blokkolása akár a daganatsejteken, akár a tumor mikro környezetében javította a daganatok sugárérzékenységét és fokozta azok CD8⁺ T-sejtekkel való infiltrációját [10].

Mint említettük, sugárzás hatására a daganatsejtek nekrozissal is elpusztulhatnak. A nekrozis jellemzően egy immunogén sejthalál, de csak akkor, ha a sejtpusztulást valamilyen stresszfaktor váltja ki. Ebben az esetben ugyanis a sejtől rövid időn belül kiszabadul számos veszélymolekula és gyulladásos citokin, amelyek a DC-ken keresztül képesek az immunrendszert aktiválni [11].

A szenescencia során az öregedő vagy károsodott sejtek osztódása stresszválaszként végleg leáll. Sugárzás hatására mind a tumorsejtek, mind a daganat mikro környezetében lévő nem daganatos sejtek (fibroblasztok, endotélsejtek) szenescenciába mehetnek át. A szenescencia sejtekben igen

gyakran egy úgynevezett szenescencia által aktivált szekretorikus fenotípus (SASP, „senescence-activated secretory phenotype”) alakul ki, aminek következtében a szenescencia sejtek egy sor olyan citokint és kemokint termelnek, amelyek gyulladásos reakciót váltanak ki. A SASP megjelenését a DNS-károsodásra reagáló molekuláris útvonalak stimulálják. Mivel a sugárzás hatására kialakuló DNS-károsodások törvényszerűen vezetnek a DNS-károsodásra reagáló molekuláris útvonalak aktivációjához, érthető, hogy a sugárzás miért fokozza a SASP megjelenését daganatos környezetben. Az, hogy a SASP immunstimuláló vagy -gátló hatású, nem egyértelmű. Úgy tűnik, ha a SASP a daganatsejtekben alakul ki közvetlenül a besugárzás után (és viszonylag hamar lecseng), akkor a felszabaduló gyulladásos mediátorok immunaktivációt okoznak. Ha viszont a tumor környezetének egyéb sejtjeiben alakul ki és tartósan fennmarad, akkor ez egy krónikus gyulladásos folyamat elindítója és egyik fenntartója lesz, aminek egyértelműen az immunrendszert gátló hatása van, sőt mi több, fokozza a tumor agresszivitását [12]. A fent leírt folyamatokat több tumortípusban és rákmegelőző állapotban is kimutatták [13, 14].

A daganatsejtek immunfelismerést elkerülő egyik mechanizmusa az, hogy felszínükön csökken az MHCI-molekulák mennyisége, és így a CD8⁺ T-sejtek nem vagy csak csökkent hatékonysággal képesek az idegen antigénszerkezetű sejteket felismerni. Több humán daganat esetében kimutatták, hogy a sugárzás képes fokozni a tumorsejtek felszínén az MHCI-molekulák mennyiségét, javítva az antigénprezentációt [15, 16]. A sugárhatásra bekövetkező MHCI-aktiváció egyik lehetséges magyarázata az, hogy a daganatok mikro környezetében megnövekszik a tumort infiltráló citotoxikus T-sejtek és NK-sejtek által termelt interferon-gamma (IFN-γ) mennyisége [17].

Az MHCI-molekulákon kívül a sugárzás több más, az immunaktivációban szerepet játszó sejtfelszíni molekula koncentrációját is képes növelni. Ilyen például az ICAM-1 (1-es típusú intercelluláris adhéziós molekula) vagy CD54, aminek fontos szerepe van a daganatok leukociták általi infiltrációjában. CD54-indukciót sugárzás hatására leírtak gyomor-, petefészek- és vastagbeldaganatokban [15, 18]. Sugárzás hatására módosulhat a tumorsejtek felszínén a CD95 receptor mennyisége, és ennek eredményeképpen a CD8⁺ T-sejteket aktiváló hatása erősödhet [19]. Az NKG2D-ligandum egy olyan sejtfelszínhez kötött vagy szolubilis molekula, amelyet számos sejt, többek között daganatsejtek is képesek termelni. Az NKG2D-ligandum receptora az NKG2D, amely elsősorban az NK-sejtek (kisebb mértékben a T-sejtek) felszínén van jelen, és az NK-sejtek aktivált állapotára utal. Az NKG2D-ligandum termelődését különböző stresszfaktorok, így az ionizáló sugárzás is képes fokozni. Újabb kísérleti eredmények arra utalnak, hogy az NKG2D és annak liganduma különösen a DNS-károsodással járó celluláris stresszre reagálnak, márpedig a sugárzás jellegzetesen DNS-károsodást okoz. Így az NKG2D receptornak és ligandumának változása az egyik

első bizonyíték arra, hogy a sugárzás által okozott DNS-károsodás közvetlenül immunválaszt eredményez [20]. Végül, de nem utolsósorban az ionizáló sugárzás képes fokozni a tumorspecifikus antigének (mucin-1, karcinoembrionális antigén vagy CEA) mennyiségét is bizonyos daganatsejtek felszínén [21].

A daganatsejtek és az őket körülvevő mikrokörnyezet szinte valamennyi sejtje (limfociták, monociták, makrofágok, DC-k, endotélsejtek, fibroblasztok) különböző citokineket és kemokineket termelnek. Ezeknek a molekuláknak vagy a T-sejtes immunválaszt aktiváló, vagy azt gátló hatásuk lehet attól függően, hogy milyen sejtek termelik és milyen koncentrációban, illetve, hogy a daganatos mikrokörnyezet melyik elemére fejti ki elsősorban a hatását. A sugárzás jelentős mértékben befolyásolhatja ezt a folyamatot, és ez a hatás nemcsak lokálisan, hanem a daganattól távol is érvényesül. A sugárzás fokozza a melanomasejtek IFN- γ -termelését [17], bizonyos humán tüdőráksejtek IL-1 α -, IL-6- és GM-CSF-termelését [22], illetve bizonyos gliomasejtek IL-6- és IL-8-termelését [23]. Yamamoto és munkatársai szájüregi laphámsejtes carcinoma sejtek és egészséges íny keratinociták citokintermelését hasonlították össze sugárterápia előtt és után. Kimutatták, hogy a daganatsejtek citokintermelése sugárzás előtt nagyobb volt, mint az íny keratinocitáké, a daganatot infiltráló limfociták citokintermelése pedig nagyobb volt, mint a vérben keringő mononukleáris sejteké. Sugárzás után a citokintermelődés profilja megváltozott: a daganatsejtek által termelt citokinek szintje csökkent, a tumort infiltráló limfociták citokintermelése nőtt [24]. Ez egy igen fontos bizonyíték arra, hogy a sugárzás a tumoron belül képes befolyásolni a daganatellenes immunitást meghatározó citokinek profilját és azok koncentrációját. A sugárzás nemcsak a tumorelles immunrendszert stimuláló citokinek termelődését képes serkenteni a daganaton belül, hanem az immunrendszert gátlókat is (pl. IL-10, TGF β és TNF α), így közvetlenül is hozzájárulhat a daganatok progressziója során kialakuló általános immunszuppresszióhoz. Míg az IL-10 egyértelműen a T-sejtes immunválaszt gátolja, addig a TGF β és a TNF α hatása kettős: a termelődés mértéke és a daganatos mikrokörnyezet határozza meg, hogy immunrendszert aktiváló vagy gátló hatásuk van-e. A sugárzás az egyik legfontosabb tényező, amelyik fokozza a TGF β hatását a daganaton belül: serkenti annak közvetlen termelődését és aktív TGF β -vá alakulását. Ezzel hozzájárul a daganaton belül egy krónikus gyulladásos folyamat kialakulásához és fenntartásához, gátolja a DC-k működését és stimulálja a CD4 $^{+}$ T-limfociták Treg-sejtekké való konverzióját [25]. IL-10-et számos daganatsejt képes termelni, fent említettük már a szájüregi carcinomákat [24], de ide sorolhatóak bizonyos bőrtumorkok, gyomorráksejtek, illetve nem-kissejtes tüdődaganatok is [26–28]. Fentiekén kívül a daganatot infiltráló immunsejtek, elsősorban a monociták és az apoptotikus T-sejtek az IL-10-termelődés legfőbb forrásai [29]. Mivel besugárzásra nemcsak a daganatsejtek, hanem a daga-

tot beszűrő limfociták is elpusztulnak, ez utóbbiak döntően apoptózissal, érthető, hogy miért emelkedik meg a tumoron belüli IL-10-termelődés.

A SUGÁRZÁS HATÁSA AZ IMMUNRENDSZER SEJTJEIRE

Mint a fentiekből már kiderült, a sugárzás közvetlenül és közvetve is hat az immunrendszer sejtjeire. A közvetlen hatás a daganatot beszűrő limfocitákon, makrofágokon és DC-ken keresztül lokálisan érvényesül. A közvetett hatás a daganatsejtek, valamint a daganatos mikrokörnyezet egyéb sejtselemei által termelt immunmediátorokon keresztül hat mind lokálisan, mind szisztémásan.

Az immunrendszer sejtjeinek a sugárérzékenysége igen széles skálán mozog. A limfociták, ezen belül is a B-sejtek és a CD8 $^{+}$ T-sejtek rendkívül sugárérzékenyek, és sugárzás hatására igen gyorsan elpusztulnak. Más limfocitacsoportok, mint például a Treg- és az NK-sejtek viszont lényegesen sugárrezisztensebbek. A DC-k és a makrofágok a limfocitáknál sokkal sugárrezisztensebbek. Látható tehát, hogy a sugárterápia során a daganatot infiltráló immunsejtek pusztulásának mértéke igen eltérő [30]. Ez már önmagában döntően módosíthatja a tumorelles immunitást. Másrészt a besugárzás a túlélő immunsejtek fenotípusára és működésére is jelentős hatással van. A továbbiakban röviden összefoglaljuk a sugárzás hatását néhány fontosabb, a daganatellenes immunválasz szempontjából különösen jelentős immunsejt fenotípusára és működésére.

Dendritikus sejtek (DC-k)

A DC-k a daganatellenes immunitás egyik legfontosabb szereplői, úgynevezett professzionális antigénprezentáló sejtek, amelyek felveszik és a T-sejtek felé prezentálják a pusztuló tumorsejtek felszínén megjelenő vagy az azokból kiszabaduló különböző antigéneket. Általában stimulálják az immunrendszert, de bizonyos esetekben immungátlást is okozhatnak. A daganatos szövetek rendszerint csak kis mennyiségben tartalmaznak DC-keket, és gyakran ezek olyan DC-alcsoportok, amelyek a tumorantigénnel való találkozás után immungátlást okoznak [31].

Sugárzást követően az elpusztuló daganatsejtekből egy sor veszélymolekula szabadul ki, amelyek elsődleges célpontjai a DC-ke. Ezek a molekulák képesek hatékonyan aktiválni a DC-keket a TLR4 és a P2RX7 receptorokon keresztül. Az előbbihez a pusztuló sejtekből kiszabaduló HMGB1 kötődik, míg az utóbbihoz a szabad ATP [4]. A TLR4 receptor aktivációja nyomán a DC-k IL-1 β -t termelnek, amely a CD8 $^{+}$ T-sejtekben IFN γ -termelődést indít el. A funkcionális TLR4 receptorok jelentőségét a daganatellenes immunválasz kialakításában az is bizonyítja, hogy azok az emlőtumoros betegek, akiknek funkcióvesztést okozó mutáció volt a TLR4-génjükben, rövidebb ideig voltak remisszióban, mint a funkcionális TLR4-gyel rendelkező betegek [32].

Az, hogy a DC-k milyen módon dolgozzák fel a tumorantigéneket és milyen módon mutatják be azokat a CD4 $^{+}$ és CD8 $^{+}$

T-sejteknek, szintén meghatározza, hogy immunstimuláció vagy -gátlás alakuljon ki. Megfigyelték, hogy besugárzás hatására a DC-k hatékonyabban képesek mind az antigének feldolgozására, mind azok prezentációjára a T-sejtek felé. Érdekes módon, habár a fent leírt hatást több független kutatás is megfigyelte, egyik sem tudta igazolni, hogy a sugárzás növelte a DC-k felszínén az aktivációs markerek koncentrációját, de kimutatták, hogy sugárzás hatására nőtt a felszínükön a CD70 mennyisége, ami fokozott T-sejt-stimulációhoz és megnövekedett IFN γ -termeléshez vezetett [33, 34]. Ide kapcsolódik az az érdekes megfigyelés is, hogy a megnövekedett IFN γ -termelés közvetlenül javította a sugárterápia daganatpusztító hatását is [34], ami azt bizonyítja, hogy nemcsak a sugárzás képes a tumorelles immunválaszt befolyásolni, hanem ez a kapcsolat fordítva is működik.

Tumort infiltráló makrofágok (falósejtek)

A DC-kel ellentétben a daganatok makrofágokkal való infiltrációja viszonylag magas, de jelentős eltérések vannak a különböző tumortípusok között. A makrofáginfiltráció 10% és 65% között változik. Általában a daganatok széli részein és a nekrotikus gócek körül figyelhetőek meg nagyobb számban. A makrofágoknak két alapvető fenotípusa van: az M1 és M2 makrofágok; az előbbiek immunstimulálóak, az utóbbiak immungátlást okoznak [35]. A tumorimmunitás szempontjából alapvető fontosságú, hogy melyik fenotípus a domináns. Az M1 makrofágok képesek közvetlenül elpusztítani a daganatsejteket, immunstimuláló citokineket termelnek és antigénprezentáló tulajdonsággal is rendelkeznek. Citotoxikus hatásukat vagy a daganatsejtekkel közvetlenül érintkezve, vagy nitrogén-oxid- (NO), illetve TNF α -termelés útján fejtik ki. A TNF α -termelés, mivel az oxidatív szabadgyökök serkentik, a hipoxiás régiókban kevésbé aktív [36]. A makrofágok által termelt TNF α hatása valószínűleg a besugárzást követően felerősödik, mert a sugárzás csökkenti a hipoxiát a daganatokban és általában növeli az oxidatív szabadgyökök mennyiségét. Ezzel szemben az NO inkább a hipoxiás régiókban aktív. Mind a TNF α -ra, mind az NO-ra igaz, hogy a koncentráció változásával a hatásuk is változik: nagy koncentrációban mindkettő inkább daganatpusztító hatással rendelkezik, kis koncentrációban a tumornövekedés fenntartása irányába hatnak, mert gátolják a daganatsejtek apoptózissal való pusztulását, stimulálják az új erek képződését és gátolják a daganatellenes immunitást [37].

Az M2 makrofágok, azon kívül, hogy gátolják a T-sejtes immunválaszt, stimulálják a daganatokban az új erek képződését, a tumorsejtek osztódását és migrációját. Az M2 fenotípus kialakulását elsősorban a daganatsejtek által termelt különböző anyagok segítik elő, mint például TGF β , IL-10, IL-4. Ha viszont a fenotípus kialakult, onnan kezdve önfenntartóvá válik, mivel az M2 makrofágok maguk is ugyanezeket az anyagokat kezdik el termelni. Ezenkívül argináz is termelnek, amelynek elsődleges hatása az M1 makrofágokon érvényesül, gátolva azok immunstimuláló hatását [38].

Mivel a makrofágok igen sugárrezisztens sejtek, ezért nem jellemző, hogy sugárzás hatására jelentősen pusztulnának. A sugárzás viszont képes befolyásolni a fenotípusukat. A jelenlegi ismereteink szerint nem egyértelmű, hogy a sugárzás az M1 vagy az M2 fenotípus irányába tolja-e el a differenciálódásukat, mindkét jelenséget megfigyelték különböző tumormodellekben. Mégis, a közlemények többsége szerint úgy tűnik, hogy sugárzás hatására elsősorban az immungátló M2 fenotípus alakul ki gyakrabban. Egér prosztatatumor-modellel megfigyelték, hogy sugárzás hatására a daganatot infiltráló makrofágok argináz- és NO-termelése megnövekedett, és ha ezeket a besugározott makrofágokat *in vitro* prosztataráksejtekkel együtt tenyésztették, akkor a daganatsejtek gyorsabban osztódtak, mint amikor nem besugározott makrofágokkal tenyésztették [39]. Kimutatták továbbá, hogy a daganatok jelentős makrofáginfiltrációja összefüggésbe hozható a daganatok fokozott sugárrezisztenciájával, illetve ha a makrofágokat szelektíven eltávolították a B16 egér melanomákból, a daganatok sugárérzékenysége javult [40]. Xu és munkatársai mind egér prosztatatumor-modellel, mind prosztatarákos betegekben kimutatták, hogy a daganatokat infiltráló makrofágok jelentős mennyiségű kolóniasztimuláló faktor-1-et (CSF-1) termeltek, és ha a CSF-1-termelést szelektív gátlóanyagokkal blokkolták, akkor a daganatok sugárérzékenysége javult [41].

T-limfociták

A daganatokat infiltráló limfociták mennyisége nagymértékben hozzájárulhat a tumorelles immunitás kialakulásához, és bizonyos daganatféleségek esetében független prognosztikai tényezőnek tekinthető. Mindazonáltal úgy tűnik, hogy nem elsősorban az infiltráló limfociták száma, mint inkább azok típusa határozza meg a daganatellenes immunválasz kimenetelét. Így például a CD8 $^{+}$ T-sejtek fokozott infiltrációja általában jó prognosztikai tényező [42].

A limfociták daganatokba való áramlását a tumorsejtek és azok mikrokönyezete által termelt különböző szolubilis molekulák (nagyobbrészt kemokinek) segítik elő. Több közlemény arról számolt be, hogy a sugárzás a daganatokat infiltráló limfociták fenotípusát befolyásolta, de, akárcsak a makrofágok esetében, nem egyértelmű, hogy ez a hatás a daganatellenes immunitás szempontjából kedvező vagy kedvezőtlen volt-e. Lugade és munkatársai egér B16 melanomamodellel azt mutatták ki, hogy egyszeri és frakcionált besugárzás egyaránt képes volt előidézni a daganatsejt-specifikus T-sejtek számának a növekedését a tumoron belül, és ugyancsak fokozódott a limfocitáknak a daganatos szövetekbe való vándorlása is [43]. Yasuda és munkatársai kimutatták, hogy végbéldaganatos betegeknél a daganatok fokozott CD4 $^{+}$ és CD8 $^{+}$ T-sejtes infiltrációja arra utalt, hogy a betegek a sugár- és kemoterápiára kedvezően fognak reagálni [44]. Ezzel szemben Quinfeng és munkatársai méhnyakrákos betegekben vizsgálták a daganatok CD4 $^{+}$, CD8 $^{+}$ T-sejtes és Foxp3 $^{+}$ Treg-sejtes infiltrációját sugárkezelés előtt és után,

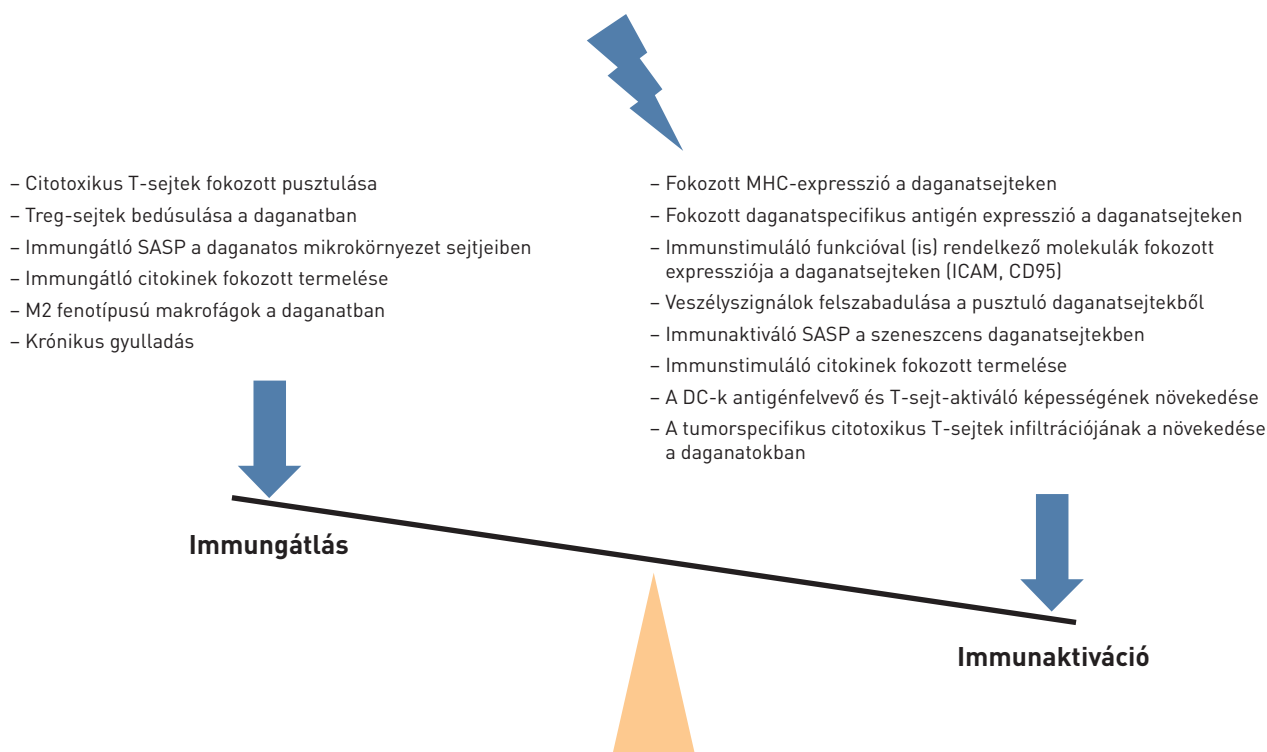
és azt figyelték meg, hogy míg a CD4⁺ és CD8⁺ T-limfociták szintje csökkent, addig a Treg-sejtek szintje nem változott [45]. Ezek az ellentmondásos eredmények arra utalnak, hogy a különböző daganattípusok immunológiai jellemzőit nagymértékben meghatározza a szöveti mikrokörnyezet. A szöveti hipoxia mértéke, a daganaton belüli pH, a daganat szerkezeti felépítése vagy a daganaton belüli citokinmilió mind olyan tényező, ami alapvetően befolyásolja a sugárterápiának a tumorelles immunításra gyakorolt lokális és/vagy szisztémás hatását.

A SUGÁRTERÁPIA ÉS IMMUNTERÁPIA HATÁSOS KOMBINÁCIÓJÁNAK LEHETŐSÉGEI

Látható tehát, hogy a tumorsejtek potenciálisan immunogének, de a daganatprogresszió során számos olyan tulajdonságra tesznek szert, amelyek a természetes immunválasz kikapcsolását, sőt aktív immungátlás kialakítását eredményezik. Az immunterápia célja ezeknek a folyamatoknak a visszafordítása, a szervezet természetes tumorelles védekező rendszerének az újbóli „helyzetbe hozása”. Őriási előnye a hagyományos, citotoxikus terápiákkal szemben, hogy a mikrometasztázisok, a keringő daganatsejtek, vala-

mint a megbúvó, alvó állapotban lévő túlélő daganatsejtek ellen is hatásos.

Az eddig elmondottak felvetik azt a kérdést, hogy végső soron a sugárterápia pozitívan vagy negatívan befolyásolja-e a daganatellenes immunválaszt (1. ábra). Habár erre egyértelműen nem tudunk válaszolni, úgy tűnik, hogy a sugárzás alapján véve a daganat immunológiai profilját képes felerősíteni, azaz képes javítani egy daganat már meglévő immunogén fenotípusát, vagy tovább rontani egy már eleve nem immunogén tumor elleni immunválaszt. Kevésbé valószínű, hogy önmagában csak a sugárterápia képes lenne egy nem immunogén tumort immunogénné tenni, ehhez aktív daganatellenes immunterápia alkalmazása is szükséges. A sugárterápia igen alkalmas eszköz lehet arra, hogy fokozza a különböző támadáspontú immunterápiák hatásfokát, és hogy a két terápiás eljárás együttesen szinergista hatást fejtsen ki. A következőkben szeretnénk bemutatni néhány olyan immunterápiás eljárást, amit hatékonyan lehet sugárterápiával kombinálni, és ismertetni néhány fontosabb, kísérleti fázisban lévő, vagy már a gyakorlatban is alkalmazott terápiás protokollt, amelyek kombinált sugár- és immunterápián alapulnak.



1. ÁBRA. Az ionizáló sugárzás kettős hatása a daganatellenes immunválaszra. A sugárzás a tumorsejtek fokozott pusztítása mellett a daganatok és mikrokörnyezetük fenotípusát is jelentősen befolyásolja, ami a tumorelles immunválasz kimenetelére alapvető hatással van. Mind immunstimuláló, mind immungátló folyamatok aktiválódhatnak, és ezek gyakorlatilag egyszerre vannak jelen a daganatban. Az immunválasz kimenetelét az dönti el, hogy melyik folyamat kerül túlsúlyba

Az egyik legrégebbi immunterápiás eljárás a tumorsejt-vakcinák kifejlesztése. Ennek az a lényege, hogy a daganatok műtéti eltávolítása után a daganatsejteket laboratóriumi körülmények között megpróbálják immunogénné tenni, majd visszaoltják a betegekbe. Az egyik lehetőség, hogy teljes tumorsejteket használnak vakcinaként, a sejtekbe különböző vektorok segítségével (általában vírusvektorok vagy liposzómák) az immunrendszert stimuláló fehérjék (leggyakrabban különböző citokinek) génjét juttatják be, és azokat túltermeltetik a daganatsejtekkel. Ezt követően a tumorsejtek osztódási képességét leállítják, általában úgy, hogy besugarazzák őket. A sugárzás csak a sejtek osztódását állítja le (így az oltás helyén nem alakul ki új daganat), de a sejtek fehérjetermelő képessége még napokig fennmarad. Az elv az, hogy a folyamatosan nagy mennyiségben termelődő immunstimuláló molekulák specifikus immunválaszt váltanak ki a daganattal szemben. Egy másik lehetőség, amikor a tumorsejtet roncsolják és tumorsejtlizátumot használnak vakcinaként, mivel a roncsolódott daganatsejtből potenciálisan sokkal több antigén válik elérhetővé az immunrendszer sejtjei számára, ami egyébként, a teljessejt-vakcina alkalmazásával rejtve maradna.

A daganatellenes immunterápiában az egyik leghatásosabb citokinnek a granulocita-makrofág kolóniasztimuláló faktor (GM-CSF) bizonyult. Kutatócsoportunk GL261 egér gliomasejtekből állított elő autológ daganatsejt-vakcinát úgy, hogy a gliomasejtekbe adenovírus-vektorokkal bejuttatta különböző citokinek génjét, majd az így módosított és besugározott tumorsejteket a daganatos egerek bőre alá oltotta. A vakcinációt lokális besugárzással is kombináltuk, és ez a kombináció GM-CSF-et termelő vakcinák esetében 80%-nál magasabb túlélési rátát eredményezett agydaganatos egerekben [46]. A GM-CSF-et termelő daganatsejt-vakcina lett az első olyan teljessejt-vakcina (GVAX néven), amelyik nagy eséllyel pályázik az FDA (Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerellenőrző Hatóság) engedélyére metasztatikus hasnyálmirigyrákos betegek kezelésére [47]. Folyamatban vannak sugárzással és kemoterápiával kombinált egyéb GVAX-vizsgálatok is áttétes hasnyálmirigy-daganatos betegeken (forrás: www.clinicaltrials.gov, vizsgálatazonosítók: NCT02648282, NCT01595321), valamint metasztatikus, hormonrezisztens prosztatarákos betegeken, akik standard kemoterápiára nem reagáltak [48].

A daganatellenes immunterápiák egy másik nagy csoportját a DC-alapú vakcinák képezik. Az eljárás célja az, hogy a DC-ke a daganatsejtek ellen specifikusan aktiválják. A betegből begyűjtött perifériás vérmintából standard protokollok alapján DC-ke differenciáltatnak, majd azokat különböző tumorsejtantigénnel inkubálják. A közelmúltban engedélyezte az FDA az első DC-alapú vakcinát, a sipuleucel T-t (APC8015 vagy Provenge), amely egy prosztataspecifikus antigénnel és GM-CSF-fel aktivált autológ DC-kból álló vakcina metasztatikus, hormonrezisztens prosztatarákos betegek kezelésére, akik standard kemoterápiára nem reagáltak. Itt egy

több lábon álló immunterápiás eljárást alkalmaznak kemo- és/vagy sugárterápiával kombinációban, amelynek egyik eleme a GVAX, egy másik a CTLA-4-et blokkoló ipilimumab, harmadik eleme pedig a sipuleucel T [48]. Ezenkívül kísérleti fázisban lévő DC-vakcinákkal számos klinikai vizsgálat folyik, a legtöbb esetben melanomás, prosztatatumoros, gliomás és vesetumoros betegeket kezelnek [49]. Sugárterápiával kombinált DC-alapú immunterápiát Van Gool és munkatársai évek óta alkalmaznak mind primer, mind recidivált glioblastomás betegeken. A primer glioblastomás betegek esetében a műtét során eltávolított daganatot használják tumorantigén-forrásként, és a DC-izolálás a műtéti kezelés utáni, de a sugár- és kemoterápia előtti vérből történik. A DC-kkel való vakcinálást a fenntartó temozolomid- (TMZ) kezelés előtt kezdik el és folyamatosan alkalmazzák a TMZ-kezelés alatt. Az immunterápia beiktatása a standard terápiás protokollba a glioblastomás betegek kezelésében a leuveni csoport tapasztalatai szerint szignifikánsan javította a betegek túlélését [50]. Egy 2014-ben közzét metaanalízis eredményei szerint is a DC-alapú immunterápia szignifikánsan javította a glioblastomás betegek rövid és hosszú távú teljes és betegségmentes túlélési esélyeit egyaránt [51]. A sipuleucel T-hez hasonló, glioblastomás betegekre kifejlesztett DC-vakcinát állított elő a Northwest Biotherapeutics DCVaxL néven, és jelenleg III-as fázisú klinikai vizsgálatokban tesztelik azt [52].

Egy másik immunterápiás eljárás az adoptív T-sejt-terápia. Ennek során a betegből izolált citotoxikus T-limfocitákból megpróbálnak olyan klónt felszaporítani, amelyik specifikusan felismeri a beteg daganatsejtjeit. Takeshima és munkatársai az elsők között igazolták, hogy a daganatok lokális besugárzása fokozza a daganatspecifikus T-limfociták kialakulását, és így a T-sejt-terápia optimális kombinációs partnere lehet a sugárterápiának [53].

Végezetül feltétlenül meg kell említenünk a jelenleg talán legreménykeltőbb immunterápiás eljárások közé tartozó úgynevezett immunológiai ellenőrzőpontokat gátló terápiákat. Két eljárást sorolunk ebbe a csoportba: a CTLA-4- és a PD-1-útvonalat gátló terápiákat. Mindkét eljárásról és az eljárások alapját képező immunológiai mechanizmusokról egy kiváló összefoglaló jelent meg a Magyar Onkológia egy korábbi számában [54], így ezeket jelen összefoglalónkban nem részletezzük. Ez alkalommal csak a CTLA-4-gátló terápiának a sugárterápiával való kombinált alkalmazását kívánjuk röviden bemutatni.

A CTLA-4 molekula a Treg-sejteken konstitutíven expresszálódik, míg az aktivált T-sejteken az immunaktiváció bizonyos fázisaiban jelenik meg, és a DC-k kostimulátor molekuláin (B7-1, B7-2) keresztül hat a CD28 receptorral kompetícióban, gátolva vagy leállítva az immunaktivációt. Számos preklínikai tumormodellel igazolták, hogy a CTLA-4 antigén blokkolása a T-sejtek felszínén hatékonyan javította a daganatellenes immunitást, de igazán jelentős hatást elsősorban az immunogén tumoroknál érttek el. A kevésbé vagy egyáltalán nem immunogén daganatok esetén ez az

eljárás kevés volt ahhoz, hogy jelentős tumornövekedést gátló hatást érjenek el, és más módszerekkel kellett ezt kombinálni. Demaria és munkatársai nem immunogén 4T1 egér emlőcarcinoma modellen kimutatták, hogy a daganat lokális besugárzása anti-CTLA-4 kezeléssel kiegészítve jelentős CD8⁺ T-sejtes immunitáshoz vezetett, ami nem csak a primer daganat méretének csökkenését eredményezte, hanem egy jelentős abszokopális hatással is járt, és a tüdőmetasztázisok kialakulását is meggátolta [55]. A CTLA-4-blokkoló antitest ipilimumab néven (Yervoy; Bristol-Myers Squibb) egy engedélyezett daganatellenes szer előrehaladott melanoma kezelésére. Sugár- és kemoterápiával kombinációban történő alkalmazásával intenzív vizsgálatok folynak. A vizsgálatok döntő többsége agyi metasztázisos melanomás vagy nem-kissejtes tüdőcarcinomás betegekre koncentrál [56–58], és a preklinikai vizsgálatokhoz hasonlóan több esetben a klinikai vizsgálatok is igazolták a sugárterápia abszokopális hatását [59]. Ugyancsak klinikai vizsgálatok folynak a CTLA-4-blokkolás sugárterápiával való kombinált alkalmazásáról metasztatikus, hormonrezisztens prosztatarákos betegeken, fej-nyak tumoros, méhnyakrákos, metasztatikus vastagbél tumoros, illetve gliomás betegeken [60].

Összefoglalásképpen elmondható, hogy az immunterápia (a sugárterápiától és a kemoterápiás eljárások jelentős részétől eltérően) sokkal célzottabb és specifikusabb daganatellenes hatással rendelkezik, de csak akkor, ha a daganat immunológiai profilját és a szervezet immunológiai státuszát ismerve a megfelelő immunterápiás eljárást alkalmazzuk.

Ehhez az eddigiekhez képest sokkal több információval kell rendelkezniünk a daganatról, a tumorsejtek és az őket körülvevő mikrokörnyezet immunológiai jellemzőiről, valamint az egész szervezet immunológiai státuszáról. Míg eddig azonos szövettani jellemzőkkel rendelkező daganattípust általában azonos séma szerint kezeltek, ez nem feltétlenül lesz igaz az immunterápiára, ahol azonos szövettani csoportba sorolt daganatok immunológiai státusza és/vagy az egyes egyének szisztémás immunológiai státusza alapvetően különbözhet egymástól, ami meghatározó tényező lehet a helyes immunterápia kiválasztásakor. Az, hogy a sugárterápia képes pozitív irányban befolyásolni a daganatok immunológiai paramétereit, és mint ilyen, az immunterápia hatékonyságát, csak nemrég vált ismertté. Jelenleg mind az alap kutatásban dolgozók, mind az onkológus szakemberek számára kezdenek egyre nyilvánvalóbbá válni az immun- és sugárterápia optimális kombinálásában rejlő lehetőségek. Ahhoz, hogy ez a kombinált terápia napi rutinná váljon, még néhány területen jelentős előrelépés szükséges. Többek között jobban meg kell ismerni azokat a molekuláris és celluláris folyamatokat, amelyeken keresztül a sugárzás a daganatok elleni immunválaszt befolyásolni képes. Jelen-tősen növelni kell azoknak a klinikai vizsgálatoknak a számát, amelyek az immunterápia hatékonyságát a sugár- és/vagy kemoterápiával kombináltan alkalmazva vizsgálják. Végül, de nem utolsósorban olyan, lehetőleg szisztémás prediktív markereket kell találni, amelyek segítségével az optimális terápiás kombinációk az egyénre szabhatóak.

IRODALOM

1. Prise KM, O'Sullivan JM. Radiation-induced bystander signalling in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 9:351–360, 2009
2. Lumnitzky K, Sáfrány G. The impact of radiation therapy on the antitumor immunity: Local effects and systemic consequences. *Cancer Lett* 356:114–125, 2010
3. Ma Y, Conforti R, Aymeric L, et al. How to improve the immunogenicity of chemotherapy and radiotherapy. *Cancer Metastasis Rev* 30:71–82, 2011
4. Ma Y, Kepp O, Ghiringhelli F, et al. Chemotherapy and radiotherapy: cryptic anticancer vaccines. *Semin Immunol* 22:113–124, 2010
5. Willingham SB, Volkmer JP, Gentles AJ, et al. The CD47-signal regulatory protein alpha (SIRPα) interaction is a therapeutic target for human solid tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 109:6662–6667, 2012
6. Dzhandzhugazyan KN, Kirkin AF, Thor Straten P, et al. Ecto-ATP diphosphohydrolase / CD39 is overexpressed in differentiated human melanomas. *FEBS Lett* 430:227–230, 1998
7. Künzli BM, Berberat PO, Giese T, et al. Upregulation of CD39/NTPDases and P2 receptors in human pancreatic disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 292:223–230, 2007
8. Perez CA, Fu A, Onishko H, et al. Radiation induces an antitumor immune response to mouse melanoma. *Int J Radiat Biol* 85:1126–1136, 2009
9. Vermeer DW, Spanos WC, Vermeer PD, et al. Radiation-induced loss of cell surface CD47 enhances immune-mediated clearance of human papillomavirus-positive cancer. *Int J Cancer* 133:120–129, 2013
10. Soto-Pantoja DR, Terabe M, Ghosh A, et al. CD47 in the tumor microenvironment limits cooperation between antitumor T-cell immunity and radiotherapy. *Cancer Res* 74:6771–6783, 2014
11. Schildkopf P, Frey B, Ott OJ, et al. Radiation combined with hyperthermia induces HSP70-dependent maturation of dendritic cells and release of

- pro-inflammatory cytokines by dendritic cells and macrophages. *Radiother Oncol* 101:109–115, 2011
12. Davalos AR, Coppe JP, Campisi J, et al. Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 29:273–283, 2010
13. Dhawan P, Richmond A. Role of CXCL1 in tumorigenesis of melanoma. *J Leukoc Biol* 72:9–18, 2002
14. Coppe JP, Boisen M, Sun CH, et al. A role for fibroblasts in mediating the effects of tobacco-induced epithelial cell growth and invasion. *Mol Cancer Res* 6:1085–1098, 2008
15. Santin AD, Hermonat PL, Hiserodt JC, et al. Effects of irradiation on the expression of major histocompatibility complex class I antigen and adhesion costimulation molecules ICAM-1 in human cervical cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 39:737–742, 1997
16. Santin AD, Rose GS, Hiserodt JC, et al. Effects of cytokines combined with high-dose gamma irradiation on the expression of major histocompatibility complex molecules and intercellular adhesion molecule-1 in human ovarian cancers. *Int J Cancer* 65:688–694, 1996
17. Lugade AA, Sorensen EW, Gerber SA, et al. Radiation-induced IFN-γ production within the tumor microenvironment influences antitumor immunity. *J Immunol* 180:3132–3139, 2008
18. Hareyama M, Imai K, Oouchi A, et al. The effect of radiation on the expression of intercellular adhesion molecule-1 of human adenocarcinoma cells. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 40:691–696, 1998
19. Abdulkarim B, Sabri S, Deutsch E, et al. Radiation-induced expression of functional Fas ligand in EBV-positive human nasopharyngeal carcinoma cells. *Int J Cancer* 86:229–237, 2002
20. Gasser S, Orsulic S, Brown EJ, et al. The DNA damage pathway regulates innate immune system ligands of the NKG2D receptor. *Nature* 436:1186–1190, 2005

21. Garnett CT, Palena C, Chakarborty M, et al. Sublethal irradiation of human tumor cells modulates phenotype resulting in enhanced killing by cytotoxic T lymphocytes. *Cancer Res* 64:7985–7994, 2004
22. Zhang JS, Nakatsugawa S, Niwa O, et al. Ionizing radiation-induced IL-1 α , IL-6 and GM-CSF production by human lung cancer cells. *Chin Med J [Engl]* 107:653–657, 1994
23. Yamanaka R, Tanaka R, Yoshida S. Effects of irradiation on cytokine production in glioma cell lines. *Neurol Med Chir [Tokyo]* 33:744–748, 1993
24. Yamamoto T, Kimura T, Ueta E, et al. Characteristic cytokine generation patterns in cancer cells and infiltrating lymphocytes in oral squamous cell carcinomas and the influence of chemoradiation combined with immunotherapy on these patterns. *Oncology* 64:407–415, 2003
25. Barcellos-Hoff MH, Derynck R, Tsang ML, et al. Transforming growth factor-beta activation in irradiated murine mammary gland. *J Clin Invest* 93:892–899, 1994
26. Morisaki T, Katano M, Ikubo A, et al. Immunosuppressive cytokines (IL-10, TGF- β) genes expression in human gastric carcinoma tissues. *J Surg Oncol* 63:234–239, 1996
27. Huang M, Wang J, Lee P, et al. Human non-small cell lung cancer cells express a type 2 cytokine pattern. *Cancer Res* 55:3847–3853, 1995
28. Kim J, Modlin R, May RL, et al. IL-10 production in cutaneous basal and squamous cell carcinomas. *J Immunol* 155:2240–2247, 1995
29. Gao Y, Herndon JM, Zhang H, et al. Antiinflammatory effects of CD95 ligand (FasL)-induced apoptosis. *J Exp Med* 188:887–896, 1998
30. Bogdándi EN, Balogh A, Felgyinszki N, et al. Effects of low-dose radiation on the immune system of mice after total-body irradiation. *Radiat Res* 174:480–489, 2010
31. Norian LA, Rodriguez PC, O'Mara LA, et al. Tumor-infiltrating regulatory dendritic cells inhibit CD8 $^{+}$ T cell function via L-arginine metabolism. *Cancer Res* 69:3086–3094, 2009
32. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat Med* 13:1050–1059, 2007
33. Huang J, Wang QJ, Yang S, et al. Irradiation enhances human T-cell function by upregulating CD70 expression on antigen-presenting cells in vitro. *J Immunother* 34:327–335, 2011
34. Burnette BC, Liang H, Lee Y, et al. The efficacy of radiotherapy relies upon induction of type I interferon-dependent innate and adaptive immunity. *Cancer Res* 71:2488–2496, 2011
35. Ostuni R, Kratochvill F, Murray PJ, et al. Macrophages and cancer: from mechanisms to therapeutic implications. *Trends Immunol* 36:229–239, 2015
36. Naldini A, Cesari S, Bocci V. Effects of hypoxia on the cytotoxicity mediated by tumor necrosis factor- α . *Lymphokine Cytokine Res* 13:233–237, 1994
37. Liao YP, Schae D, McBride WH. Modification of the tumor microenvironment to enhance immunity. *Front Biosci* 12:3576–3600, 2007
38. Elgert KD, Allea DG, Mullins DW. Tumor-induced immune dysfunction: the macrophage connection. *J Leukoc Biol* 64:275–290, 1998
39. Tsai CS, Chen FH, Wang CC, et al. Macrophages from irradiated tumors express higher levels of iNOS, arginase-I and COX-2, and promote tumor growth. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 68:499–507, 2007
40. Meng Y, Beckett MA, Liang H, et al. Blockade of tumor necrosis factor α signaling in tumor associated macrophages as a radiosensitizing strategy. *Cancer Res* 70:1534–1543, 2010
41. Xu J, Escamilla J, Mok S, et al. CSF1R signaling blockade stanches tumor-infiltrating myeloid cells and improves the efficacy of radiotherapy in prostate cancer. *Cancer Res* 73:2782–2794, 2013
42. Gutkin DW, Shurin MR. Clinical evaluation of systemic and local immune responses in cancer: time for integration. *Cancer Immunol Immunother* 63:45–57, 2014
43. Lugade AA, Moran JP, Gerber SA, et al. Local radiation therapy of B16 melanoma tumors increases the generation of tumor antigen-specific effector cells that traffic to the tumor. *J Immunol* 174:7516–7523, 2005
44. Yasuda K, Nirei T, Sunami E, et al. Density of CD4 $^{+}$ and CD8 $^{+}$ T lymphocytes in biopsy samples can be a predictor of pathological response to chemoradiotherapy (CRT) for rectal cancer. *Radiat Oncol* 6:49, 2011
45. Qinfeng S, Depu W, Xiaofeng Y, et al. In situ observation of the effects of local irradiation on cytotoxic and regulatory T lymphocytes in cervical cancer tissue. *Radiat Res* 179:584–589, 2013
46. Lumniczky K, Désaknai S, Mangel L, et al. Local tumor irradiation augments the anti-tumor effect of cytokine producing autologous cancer cell vaccines in a murine glioma model. *Cancer Gene Ther* 9:44–52, 2002
47. Le DT, Wang-Gillam A, Picozzi V, et al. A phase 2, randomized trial of GVAX pancreas and CRS-207 immunotherapy versus GVAX alone in patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma: Updated results. *J Clin Oncol* 32(Suppl 3):abstr 177, 2014
48. Gerritsen WR. The evolving role of immunotherapy in prostate cancer. *Ann Oncol* 23(Suppl 8):viii22–27, 2012
49. Anguille S, Smits EL, Lion E, et al. Clinical use of dendritic cells for cancer therapy. *Lancet Oncol* 15:e257–267, 2014
50. Van Gool SW. Brain tumor immunotherapy: What have we learned so far? *Front Oncol* 5:98, 2015
51. Cao JX, Zhang XY, Liu JL. Clinical efficacy of tumor antigen-pulsed DC treatment for high-grade glioma patients: evidence from a meta-analysis. *PLoS One* 9: e107173, 2014
52. Polyzoidis S, Ashkan K. DCVax®-L--developed by Northwest Biotherapeutics. *Hum Vaccin Immunother* 10:3139–3145, 2014
53. Takeshima T, Chamoto K, Wakita D, et al. Local radiation therapy inhibits tumor growth through the generation of tumor-specific CTL: its potentiation by combination with Th1 cell therapy. *Cancer Res* 70:2697–7206, 2010
54. Ladányi A, Balatoni T. Az immunválasz „akadálymentesítése”: újabb lehetőségek a melanóma immunterápiájában. *Magy Onkol* 57:100–107, 2013
55. Demaria S, Kawashima N, Yang AM, et al. Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 blockade in a mouse model of breast cancer. *Clin Cancer Res* 11:728–734, 2005
56. Silk AW, Bassetti MF, West BT, et al. Ipilimumab and radiation therapy for melanoma brain metastases. *Cancer Med* 2:899–906, 2013
57. Barker CA, Postow MSA. Combinations of radiation therapy and immunotherapy for melanoma: a review of clinical outcomes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 88:986–997, 2014
58. Golden EB, Demaria S, Schiff PB, et al. An abscopal response to radiation and ipilimumab in a patient with metastatic non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol Res* 1:365–372, 2013
59. Postow MA, Callahan MK, Barker CA, et al. Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma. *New Engl J Med* 366:925–931, 2012
60. Persa E, Balogh A, Sáfrány G, et al. The effect of ionizing radiation on regulatory T cells in health and disease. *Cancer Lett* 368:252–261, 2015