

Statusartikel

Ugeskr Læger 2023;185:V03230178

Intratumoral induktion af type I-interferonrespons i solide tumorer

Lea Löffler¹, Ismail Gögenur^{1, 2, 3}, Susanne Brix⁴ & Mikail Gögenur¹

1) Center for Surgical Science, Kirurgisk Afdeling, Sjællands Universitetshospital, Køge, 2) Institut for Klinisk Medicin, Københavns Universitet, 3) Danish Colorectal Cancer Group, 4) Institut for Bioteknologi og Biomedicin, DTU

Ugeskr Læger 2023;185:V03230178

HOVEDBUDSKABER

- Immunterapi har medført betydelige onkologiske fremskridt, dog har kun få patienter med solide kræfttumorer haft gavn af dette.
- Interferon (IFN)-I inducerer et betydeligt »cluster of differentiation 8«-positivt, T-cellebaseret immunrespons.
- Intratumoral IFN-I øger modtageligheden for immunterapeutika.

Cancerregisteret viser en stigning i incidens af solide tumorer i Danmark på 21% for mænd og 14% for kvinder i perioden 2009-2019. I 2019 blev 45.453 patienter diagnosticeret med og 16.525 døde af solide tumorer [1]. Kirurgisk resektion er livreddende og udgør grundlaget i behandlingen af flere solide kræftformer. Til trods for dette får flere patienter tilbagefald, som er den væsentligste årsag til kræftrelaterede dødsfald [2].

Årsagen til dette er tilstedeværelsen af mikrometastatiske tumorer, der undviger immunsystemet ved den primære operation. Immunsystemet har en særlig rolle i at genkende og bekæmpe tumorceller, hvorfor der i senere år er tilkommet nye terapier, der retter sig mod immunsystemet. Immuncheckpointterapi (ICT) har til formål at aktivere immunsystemet mod tumoren og er en revolution inden for onkologien. Tumorderiverede antigener, genomisk instabilitet og tumormutationsbyrde påvirker dog tumorens immunogenicitet og er derfor klinisk relevante for behandlingsvalg som ICT, da det kun er et fåtal af patienterne, der udviser varigt klinisk respons ved udbredt sygdom [3].

I denne artikel diskuteres det, hvordan tumormikromiljøet (TME) kan påvirke behandlingseffekten for patienter med solide tumorer, og hvordan intratumorale (IT) behandlingsinterventioner, der fremkalder en såkaldt type I-interferonrespons, kan modulere TME og således gøre disse patienter mere modtagelige for ICT.

TUMORMIKROMILJØET

De seneste årtiers onkologiske fremskridt skyldes især en bedre forståelse af de gensidige påvirkninger i TME. Her mødes tumor-, immunceller og heterogene strukturer fra det omgivende væv, hvis interaktioner er komplekse og varierer betydeligt mellem patienter [4]. Cancerimmunitetscyklussen indledes med registreringen af tumorantigener, dvs. sensing, efterfølgende aktivering af T-celler, dvs. priming, og deres infiltration af TME, dvs. homing, for til sidst at eliminere tumorcellerne, dvs. killing [5].

T-celler og natural killer (NK)-celler er de mest effektive til at skanne kroppen for uønskede celler og molekyler

og er dermed centrale i overvågningen af kræft [6]. Grundet deres antigenspecificitet og cytotoxiske aktivitet er T-celler, der er positive over for overfladeproteinene »cluster of differentiation 8« (CD8⁺-T-celler), i fokus her. CD8⁺-T-celler, nogle T-hjælperceller (CD4⁺-) samt de cytokiner, de producerer, er stærkt forbundet med et godt klinisk outcome i en lang række kræfttyper [4].

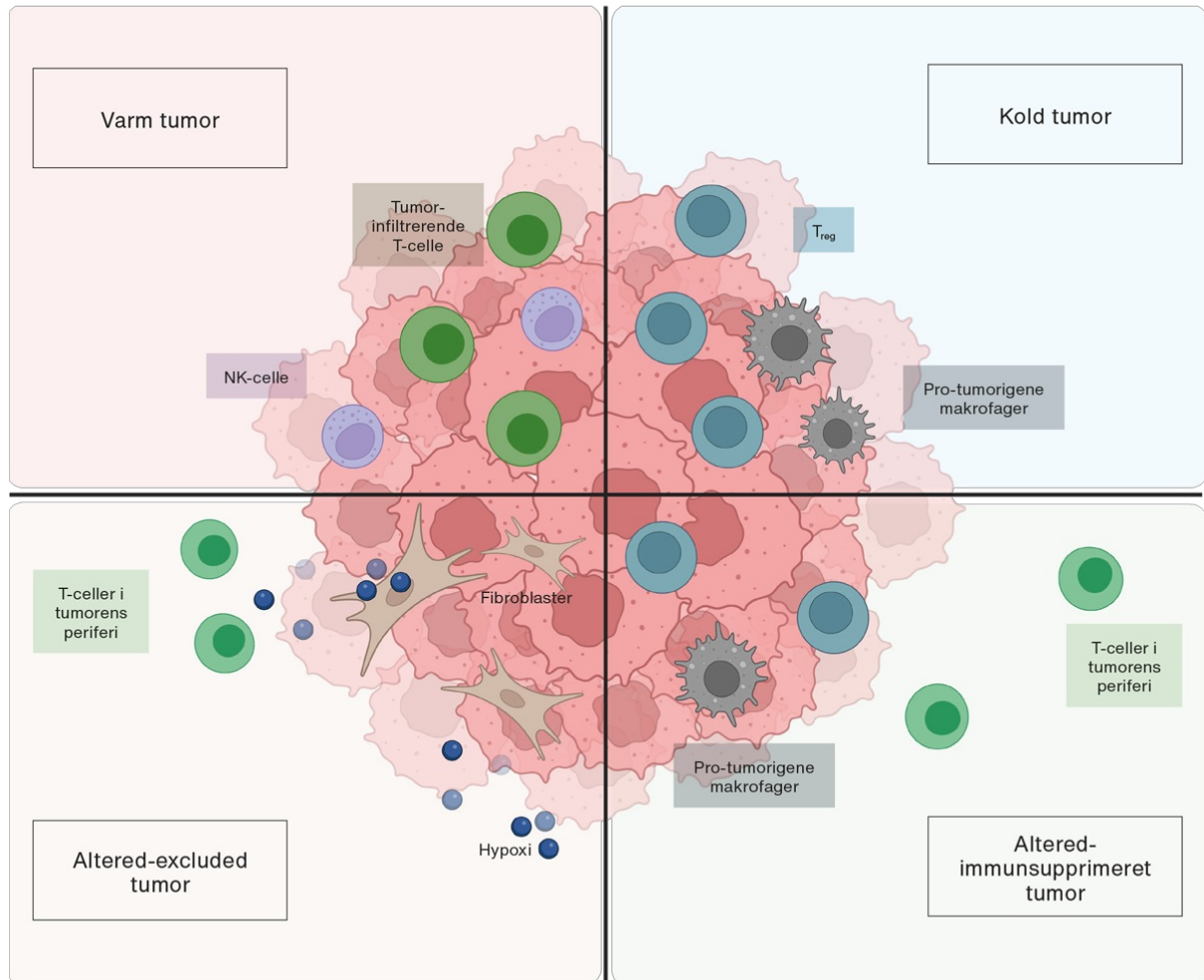
Tumorcellerne kan dog påvirke CD8⁺-T-cellerne til at blive dysfunktionelle og udmattede [7]. TME påvirker immunsystemet på en måde, hvor immunsuppressive celler som regulatoriske T-celler (T_{reg}) og pro-tumorogene makrofager oftest er dominerende i TME. T_{reg} er en subpopulation af CD4⁺-T-celler, som er ansvarlige for opretholdelsen af selvtolerance gennem hæmning af andre immunceller [4].

Makrofager påvirkes af det miljø, de befinder sig i, og kan uddifferentieres mod enten en pro- eller en antitumorigen fænotype. I TME rekrutteres pro-tumorogene makrofager til at medvirke i angiogenese og immunosuppression. Disse uddifferentieres bl.a. fra systemiske myeloidderiverede suppressorceller (MDSC), som er kendetegnet ved protumoral differentiering og undertrykker både det adaptive og medfødte immunforsvar [8].

Mangel på respons mod ICT i solide tumorer kan forklares via balancen mellem førnævnte celletyper, der tilsammen er med til at bestemme tumorens fænotype [6]. Solide tumorer kan klassificeres som værende varme, kolde, altered-immunsupprimerede eller altered-excluded baseret på graden af CD8⁺-T-celleinfiltration og sammensætningen af TME. Varme tumorer er karakteriseret ved høj infiltration af tumorinfiltrerende CD8⁺-T-celler (TIL) og korrelerer positivt med ICT-respons [9, 10] modsat kolde tumorer. Altered-immunsupprimerede tumorer har et sparsomt antal TIL i tumorens periferi samt øget antal af T_{reg} og pro-tumorogene makrofager i tumorvævet. Altered-excluded tumorer domineres af ændret kardannelse og deraf følgende hypoxi og et tæt stroma, ligeledes med TIL i periferien [6] (**Figur 1**).

FIGUR 1 Tumorfænotyper. Solide kræfttumorer kan klassificeres som varme, kolde, altered-immunsupprimerede eller altered-excluded baseret på »cluster of differentiation 8«-positiv (CD8⁺) T-celleinfiltration i tumoren og sammensætningen af tumormikromiljøet. Varme tumorer er kendetegnet ved en høj infiltration af CD8⁺-T-celler og reagerer bedre på immun-checkpointhæmmere, mens kolde tumorer har mindre sandsynlighed for at drage fordel af sådanne behandlinger grundet fraværet af CD8⁺-T-celler. Altered-immunsupprimerede tumorer har sparsom CD8⁺-T-celleinfiltration lokaliseret til tumorens periferi og tilstedeværelse af immunsupprimerende celler såsom regulatoriske T-celler og pro-tumorigene makrofager, mens altered-excluded tumorer domineres af ændret kardannelse og deraf følgende hypoxi og et tæt stroma, mens CD8⁺-T-celler ligeledes er lokaliseret i tumorens periferi.

Figuren er udarbejdet med biorender.com.



NK = natural killer; T_{reg} = regulatoriske T-celler.

Modulering af TME i retningen af en varm tumorfænotype vil øge responset ved ICT og deraf fremme eliminering af tumorceller. Immuncellerne, der er med til at bestemme tumorfænotypen, igangsætter en række signaleringsveje, som ligeledes modulerer TME. Interferoner, der tilhører en særdeles potent cytokinfamilie, stimulerer immunforsvaret til at bekæmpe intracellulære patogener [11], bl.a. via aktivering af cytotoxiske CD8⁺-T-celler.

TYPE I-INTERFERON

Interferon (IFN) opdeles i type I-III afhængigt af deres proteinstruktur og er en vigtig klasse af endogene signalmolekyler, der udskilles som led i et inflammatorisk respons. Næsten alle celletyper kan producere IFN-I som følge af eksponering for nukleotider fra bakterier eller virus, herunder enkeltstrengede RNA-virus [12] eller

dobbeltstrengede RNA-virus [13]. Nukleotider fra fremmede virus eller bakterier har specifikke patogenassocierede molekulære mønstre (PAMPs), som genkendes af mønstergenkendelsesreceptorer (PRR) såsom toll-like receptorer (TLR), hvorpå produktionen af IFN-I igangsættes [14].

IFN-I er kendt for at supprimere tumorcellers vækst og migration [15]. IFN-I kan ligeledes hæmme immunsupprimerende celler som T_{reg} eller MDSC og samtidig øge det medfødte og adaptive immunrespons mod solide tumorer [14].

Eksogen, systemisk administreret IFN-I er blevet anvendt i flere årtier med varierende klinisk effektivitet. IFN- α -2 α blev det første godkendte immunterapeutiske middel til kræft i 1986. Sidenhen er flere forskellige rekombinante typer af IFN- α blevet godkendt til behandlingen af forskellige neoplasmer. Andre terapeutika har dog imidlertid overgået brugen af IFN-I til solide tumorer grundet alvorlige systemiske bivirkninger [11].

Lokale behandlingsmetoder med modificerede IFN-I-typer eller lægemidler, der fremkalder et IFN-I-respons, er dog blevet anvendt i en række prækliniske og kliniske studier med gode responsrater samt med en reduktion af systemiske bivirkninger. Lægemidler, der indeholder førnævnte PAMPs til aktivering af PRR, er f.eks. TLR-agonister som imiquimod, der allerede anvendes lokalt i basalcellekarcinomer [16]. Desuden kan lokal stråleterapi udløse IFN-I-produktion og bliver da undersøgt i kombination med ICT ved flere studier [17, 18].

Rationalet bag lokale behandlinger er således at målrette leveringen af IFN-I direkte ind i TME eller at stimulere den lokale produktion i TME [14].

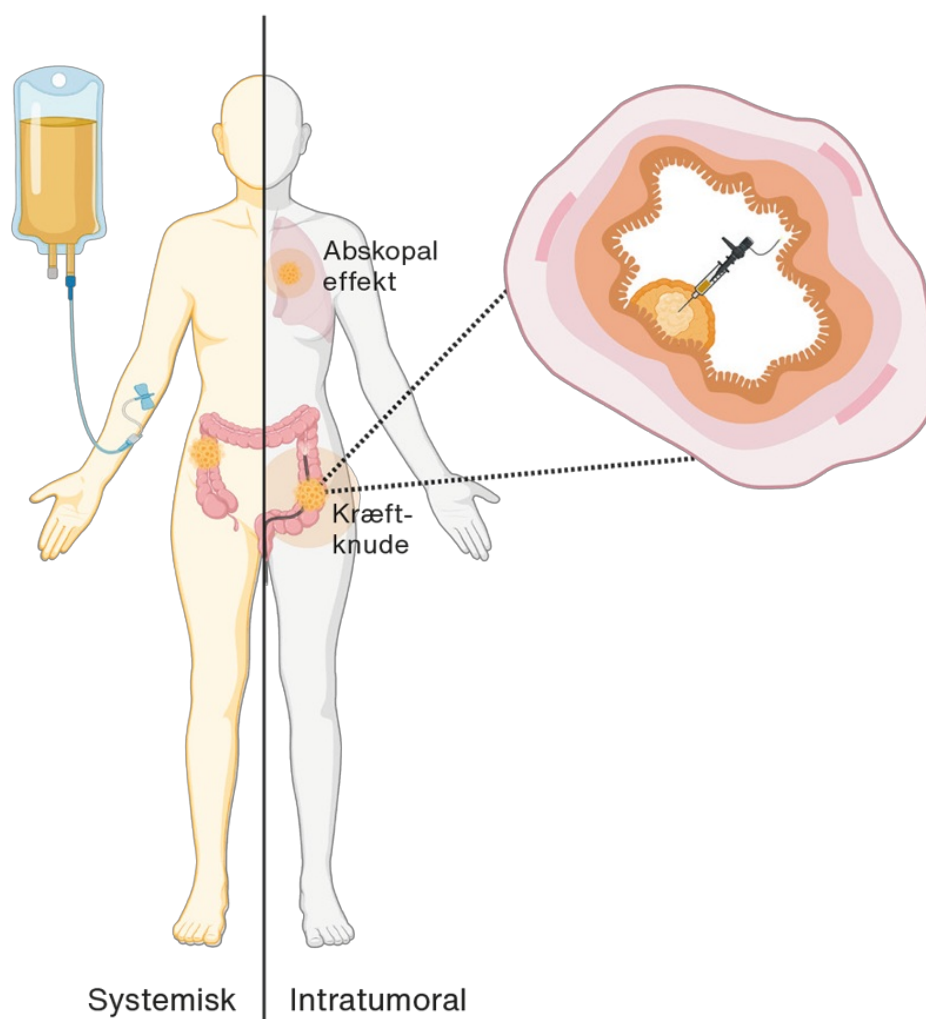
Et stigende antal studier tyder desuden på, at samtidig administrering af IFN-I og ICT har en synergetisk virkning på antitumorimmuniteten, hvorfor et stigende antal kliniske forsøg med kombinationsterapier er i gang [11].

INTRATUMORAL BEHANDLING

IT injektioner er en af de lokale behandlingsmetoder, der har vist sig at kunne omdanne tumorer i retningen af en varm tumor-fænotype [19]. Princippet er at levere immunstimulerende midler direkte ind i tumoren for at starte eller øge det lokale såvel som det systemiske immunrespons. Således skabes der et polyklonalt adaptivt respons, der medieres af B- og T-celler mod tumorantigener eller tumorassocierede antigener [19]. En anden mulig effekt af lokale terapier er den såkaldte abskopale effekt, der beskriver, hvordan lokal behandling kan føre til regression af metastatisk sygdom andre steder i kroppen [20]. Derudover minimerer IT injektion bivirkninger, der opstår ved lav systemisk eksponering, og der kræves lavere doser [21] (**Figur 2**).

FIGUR 2 Systemisk modsat intratumoral behandling. Mens systemisk behandling er nemt anvendeligt og praktisk, kræves der højere doser ift. den direkte injektion i målvævet, hvor den systemiske eksponering er meget lavere, og en abskopal effekt er mulig. Den intratumorale behandling kan f.eks. injiceres i forbindelse med en endoskopi.

Figuren er udarbejdet med biorender.com.



En af de største aktuelle udfordringer ifm. den praktiske gennemførelse af IT terapi er tilgængeligheden af den solide tumor. Potentielt er de fleste solide tumorer tilgængelige gennem f.eks. endoskopi eller UL-vejledt injektion, mens andre kan fremstå mere komplicerede. Injektioner i tæt relation til tumorer anvendes allerede hyppigt i klinisk praksis ved blækmarkeringer af polyper ifm. endoskopi og anses som en sikker procedure [22].

Antallet af kliniske forsøg, der har til formål at afprøve IT behandlingsstrategier, er således i kraftig vækst – især dem, som fremkalder et IFN-I-respons [19] (Tabel 1 og Tabel 2).

TABEL 1 Prækliniske in vivo-forsøg med interferon type I-inducerende intratumoral behandling i solide tumorer.

Studie	Forsøgslægemiddel	Studiedesign	Translationelle endepunkter	Kliniske endepunkter
Zhang et al (2022) [23]	MFR-vaccine, lavdosis	IT injektioner af vaccine i mus samt i cellelinjer med CRC og HCK	Øget infiltration af CD8 ⁺ -T-celler og nedsat pro-tumorigene makrofager Robust adaptivt immunrespons ved øgning af antistoffer mod mæslinger og fåresyge Nedregulering af signalveje, der inducerer hypoxi og ROS	Øget overlevelse i mus og betydelig nedsat tumorvækst i mus
Aznar et al (2020) [24]	Gul feber-vaccinen stamaril	IT injektion af inaktiveret gul feber-virus, stamme 17D, i mus samt i cellelinjer med colonkræft, RCK, brystkræft og MM	Øget antal CD8 ⁺ -T-celler, mens T _{reg} er nedsat i tumor Øget CTLA-4 på CD4 ⁺ - og CD8 ⁺ -T-celler Ingen øgning af PD-1-ekspression	Behandlingen viste sig ikke at være kurativ, dog klar forskelse i tumorprogression IT injektion ved tidl. stadier af tumorudvikling udoøver mere udtalt antitumoreffekt Øget effekt ved subkutan præimmunisering efterfulgt af IT injektioner Synergetisk effekt med ICT
Newman et al (2020) [12]	Inflenzavaccine	IT injektion af vaccine i mus med MM og TNBC	Systemisk CD8 ⁺ -T-cellemediert antitumorimmunitet samt øget følsomhed af resistente tumorer over for ICT Yderligere beskyttelse mod efterfølgende aktiv lungeinfektion med influenzavirus	Reduceret tumorvækst, især ved kombinationsterapi med PD-L1-antagonist samt ved multiple administrationer af influenzavaccinen Abskopal effekt i MM modeller
Shekarian et al (2019) [13]	Rotavirusvaccinerne rotarix & rotateq	IT injektion af vaccine i mus med neuroblastom og forskellige andre kræftmodeller i murine cellelinjer, dvs. CRC, brystkræft, lymfom	Aktivering af NF-κB i alle cellelinjer ved middelkoncentrationer Opregulering af CTLA-4 og CD86 på T-celler og myeloidceller	Signifikant antitumoreffekt i 50% af musene, 50-70% regression Synergetisk effekt med anti-CTLA4 og anti-PD-L1 med 100% regression, IT effekt bedre respons end systemisk Abskopal effekt i både neuroblastom- og lymfommodeller
Chicoine et al (2007) [25]	TLR4-agonisten LPS	IT injektioner af LPS i murine glioblastommodeller (wild type & TLR4-KO)	Begge modeller viste tidligt neutrofil og senere makrofagrigt inflammatorisk infiltrat	Injektion af LPS viste næsten fuldstændig tumorudryddelse i subkutane tumorer i wild type, 50% reduktion i KO mus Beskeden øget overlevelse hos intrakranielle glioblastomer
Zanker et al (2020) [26]	TLR7/8-agonist	IT injektioner af TLR7/8-agonist i murine metastatiske TNBC-modeller	Øget DC-aktivering, produktion af type IFN-I samt andre proinflammatoriske cytokiner – øget T-celleinfiltration i TME	Enkel IT administration Viser reduceret vækst af mammatumor og reduceret metastatisk spredning til lunge, dvs. abskopal effekt

CD8⁺ = »cluster of differentiation 8«-positiv; CRC = kolorektal cancer; CTLA-4 = cytotoxisk T-lymfocyt-associeret antigen 4; DC = dendritcelle; HCK = hepatocellulært karcinom; ICT = immuncheckpointterapi; IFN = interferon; IT = intratumoral; KO = knockout; LPS = lipopolysakkarid; MFR = mæslinger, fåresyge, røde hunde; MM: malignt melanom; NF-κB = nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; PD-L1 = programmeret celledød 1 ligand 1; PD-1 = celledødsprotein 1; RCK = renalcellekarcinom; ROS = reaktive oxygenforbindelser; TLR = toll-like receptor; TME = tumormikromiljø; TNBC = triplenegativ brystcancer; T_{reg} = regulatorisk T-celle.

TABEL 2 Igangværende og afsluttede kliniske forsøg med interferon type I-inducerende intratumoral behandling i solide tumorer.

Forsøgsnummer el. studie/status	Kræfttype	Forsøgslægemiddel/ mekanisme	Translationelle endepunkter	Kliniske endepunkter og bivirkninger
NCT04591379/gennemført	Stadie I-III CRC, pMMR	IT influenzavaccine/ssRNA	Øget CD8 ⁺ -T-celleinfiltration, nedregulering af genekspression i neutrofile signalveje. Signifikant opregulering af PD-L1 og nedregulering af FOXP3	Der opstod ingen endoskopiske sikkerhedshændelser hos nogen af de 10 patienter Grad 1 behandlingsrelateret AE opstod hos 1 patient Ingen patologisk respons Studie går videre til fase II med immuncheckpoint-kombinationsterapi
NCT05909423/planlagt	Stadie I-III CRC, pMMR	IT influenzavaccine/ ssRNA, systemisk pembrolizumab 10-12 dage senere Kirurgi udskydes til 5-6 uger efter IT behandling og 3 uger efter ICT-behandling	I.o.	I.o.
Kyi <i>et al</i> (2018) [27]	Behandlings-refraktær metastatisk sygdom, melanom, HNSCC	IT poly ICLC/TLR3 agonist, dsRNA-kompleks	Hos 1 patient målt stigning i CD4 ⁺ - og CD8 ⁺ -T-celler samt udtryk af PD1 og PD-L1 sammenlignet med andre patienter Opregulering af gener, der er forbundet med kemokinaktivitet, T-celleaktivering og antigenpræsentation	Ud af 8 patienter opnåede 1 patient stabil sygdom, dvs. progressionfri overlevelse i 6 måneder, resten havde progressiv sygdom Grad 1-2 behandlingsrelateret AE forekom Studie går videre til fase II med ICT-kombinationsterapi (NCT02423863)
NCT01491893/gennemført <i>Desjardins et al</i> (2018) [28]	Stadie IV maligne gliomer/ glioblastom	IT PVSRIPO/ssRNA	I.o.	Ud af 61 patienter havde 19% AE grad 3 eller højere. 21% af patienterne var i live efter 24-36 måneder sammenlignet med 4% i kontrolgruppen.
NCT03564782/igangværende	Invasiv brystkræft	IT PVSRIPO/ssRNA)	I.o.	I.o.
NCT01628640/ igangværende	Behandlings-refraktær metastatisk sygdom, HCK m.m.	IT rekombinant IFN-β	I.o.	I.o.
NCT03989895/igangværende	Avanceret MM	IT rekombinant denguevirus/ ssRNA	I.o.	I.o.

AE = adverse events; CRC = kolorektal cancer; dsRNA = double-stranded RNA; FOXP3 = forkhead box protein 3; HCK = hepatocellulært karcinom; HNSCC = head and neck squamous cell carcinoma; ICT = immuncheckpointterapi; IFN = interferon; IFN-β = interferon beta; IFN-I = interferon type I; i.o. = ikke oplyst; IT = intratumoral; MM = malignt melanom; poly ICLC = polyinosinic-polycytidylic acid stabilized with polylysine and carboxymethylcellulose; PD-L1 = programmeret celledød 1 ligand 1; PD-1 = celledødsprotein 1; pMMR = proficient mismatch repair; PVSRIPO = rekombinant polio- og rhinovirus; ssRNA = single-stranded RNA.

Ved de første fire prækliniske studier i Tabel 1 blev vacciner mod RNA-virus anvendt [12, 13, 21, 24], hvorimod de sidste to brugte TLR-agonister [22, 23]. Ud fra resultaterne af studierne viser brugen af enkeltstrenget RNA (ssRNA) eller dobbeltstrenget RNA (dsRNA) sig at være effektiv i at aktivere PRR og dermed føre til aktivering og øget infiltrering af CD4⁺- og CD8⁺-T-celler i TME. I disse prækliniske studier sås desuden øget forekomst af cytotoxisk T-lymfocytassocieret antigen 4 (CTLA-4) eller programmeret celledødsprotein 1 (PD-1), hvorfor kombinationen med ICT, der blokerer virkningsmekanismen af disse to receptorer, havde en betydelig synergetisk effekt. Brugen af TLR-agonister synes at være effektiv til at målrette leveringen af IFN-I direkte ind i TME. Dette ses gennem opreguleringen af immunceller som antitumorigene makrofager og CD8⁺-T-celler, mens der ses færre immunsupprimerende celler som T_{reg}. Et spændende fund er desuden en øget klinisk effekt ved multipel vaccineinjektion [12, 24] samt tilstedeværelsen af en abskopal effekt, både ved brug af RNA-virus og TLR-agonist [12, 13, 23].

De kliniske studier anført i Tabel 2 er fase I-sikkerhedsstudier med en meget lille studiepopulation og anvender dsRNA, ssRNA eller TLR-agonister. Patienterne har ud over det første studie (NCT04591379) fremskreden type solid kræft, hvorfor disse må antages at være meget heterogene. Dette skyldes ikke kun (epi)genetiske interindividuelle forskelle, men i høj grad også den individuelle sammensætning af TME [29].

Første og tredje kliniske studie, der anvender hhv. influenzavaccinen og polyinosinic-polycytidylic acid stabilized with polylysine and carboxymethylcellulose viser dog interessante translationelle endepunkter (NCT04591379, [27]). Ud over øget immuncelleinfiltration ses der en opregulering af CTLA-4 og/eller programmeret celledød ligand 1 (PD-L1). Opreguleringen af checkpoints, som i en tumorsetting vil medføre fornyet vækst af tumoren, er en normal reaktion på øget CD8⁺-celleaktivitet i vævet, da det medfører en blokering af aktiviteten af de infiltrerende CD8⁺-celler. Her kan ICT som PD-1- eller CTLA-4-hæmmere dog anvendes til at ophæve denne blokering af immunceller, hvorfor fase II-forsøg med kombinationsterapier

potentielt vil kunne føre til øget klinisk respons. Her vil optimal timing af IT behandling før ICT kunne maksimere det synergetiske potentiale og skabe et gunstigt immunologisk miljø som planlagt i fase II-studiet (NCT05909423), der er forudgået af fase I-studiet, der anvender IT influenzavaccine (NCT04591379).

DISKUSSION

De cellulære samspil i TME er komplekse, og en manglende forståelse af disse er p.t. en hæmsko for udviklingen af effektive onkologiske behandlingsmetoder. Ikke desto mindre har ICT ført til betydelige fremskridt ift. overlevelse. IFN-I har bidraget til en række gavnlige effekter hos patienter med kræft, især ved IT injektion, hvorfor antallet af interventionsforsøg, der har til formål at modulere tumorfænotypen mod en varm/altered-excluded tumorfænotype, er støt stigende. De fleste kliniske studier i fase I har sikkerhed som det primære endepunkt. Målgruppen er oftest enten patienter med fremskreden, behandlingsrefraktær sygdom eller lokaliseret sygdom i tidligt stadie, hvor interventionen er neoadjuverende, såkaldte window of opportunity-studier [30]. Sidstnævnte patientgruppe har et mere intakt immunsystem, der potentielt kunne lede til et mere robust klinisk respons end hos patienter med fremskreden sygdom [21].

Meget tyder på, at der er behov for flere og mere fokuserede studier for at karakterisere mekanismer i omdannelsen af og vekselvirkningerne i TME. Dette kan gøres med translationelle analyser, der gør det muligt at opnå en omfattende forståelse af vævsbaserede processer vha. spatiale transkriptom- og proteinalyser samt analyse af udbredelsen og aktiviteten af bestemte celletyper. Derved kan der opnås indsigt i, hvilke lægemidler der er sikre at anvende, belyse, hvilke tumortyper der er mest følsomme over for lokal terapi, samt hvilke primære resistensmekanismer der kunne gøre sig gældende.

Det kan konkluderes, at kortlægningen af effekter af IFN-I-inducerende IT behandling samt øget forståelse af de indbyrdes forbundne mekanismer er afgørende for udvikling af nye og mere effektive behandlinger til patienter med solide kræfttyper.

Korrespondance *Lea Löffler*. E-mail: llof@regionsjaelland.dk

Antaget 19. juli 2023

Publiceret på ugeskriftet.dk 21. august 2023

Interessekonflikter ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på ugeskriftet.dk

Referencer findes i artiklen publiceret på ugeskriftet.dk

Artikelreference Ugeskr Læger 2023;185:V03230178

SUMMARY

Intratumoural induction of type I interferon response in solid tumours

Lea Löffler, Ismail Gögenur, Susanne Brix & Mikail Gögenur

Ugeskr Læger 2023;185:V03230178

Interactions in the tumour microenvironment (TME) are complex and pose a major oncological challenge. Immunotherapy has led to significant progress in recent years, however, not all patients benefit from this. An increasing number of trials try to modulate the TME. Interferon type I (IFN-I) proteins play an important role in the immune response, having many beneficial effects in patients with cancer, particularly when administered locally. This review finds that targeted intratumoural delivery of IFN-I to the TME may mediate optimal therapeutic effects in solid cancers, having extensive implications for clinical oncology. However, an increased

understanding of the mechanisms is imperative to develop new and better treatments for solid cancers.

REFERENCER

1. Sundhedsdatastyrelsen. Nye kræfttilfælde i Danmark 2019. Sundhedsdatastyrelsen, 2021. https://sundhedsdatastyrelsen.dk/-/media/sds/filer/find-tal-og-analyser/sygdomme-og-behandlinger/kraeft/kraeft_nye_tilfaelde_aarsrapporter/kraefttilfaelde-2019.pdf (03. aug 2023).
2. Tohme S, Simmons RL, Tsung A. Surgery for cancer: a trigger for metastases. *Cancer Res.* 2017;77(7):1548-1552.
3. Wilkinson RW, Leishman AJ. Further advances in cancer immunotherapy: going beyond checkpoint blockade. *Front Immunol.* 2018;9:1082.
4. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(4):298-306.
5. Nguyen KB, Spranger S. Modulation of the immune microenvironment by tumor-intrinsic oncogenic signaling. *J Cell Biol.* 2020;219(1):e201908224.
6. Raskov H, Orhan A, Christensen JP, Gögenur I. Cytotoxic CD8+ T cells in cancer and cancer immunotherapy. *Br J Cancer.* 2021;124(2):359-367.
7. Jhunjunwala S, Hammer C, Delamarre L. Antigen presentation in cancer: insights into tumour immunogenicity and immune evasion. *Nat Rev Cancer.* 2021;21(5):298-312.
8. Raskov H, Orhan A, Gaggar S, Gögenur I. Cancer-associated fibroblasts and tumor-associated macrophages in cancer and cancer immunotherapy. *Front Oncol.* 2021;11:668731.
9. Tumei PC, Harview CL, Yearley JH et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature.* 2014;515(7528):568-71.
10. Fabrizio DA, George Jr TJ, Dunne RF et al. Beyond microsatellite testing: Assessment of tumor mutational burden identifies subsets of colorectal cancer who may respond to immune checkpoint inhibition. *J Gastrointest Oncol.* 2018;9(4):610-617.
11. Borden EC. Interferons α and β in cancer: therapeutic opportunities from new insights. *Nat Rev Drug Discov.* 2019;18(3):219-234.
12. Newman JH, Chesson CB, Herzog NL et al. Intratumoral injection of the seasonal flu shot converts immunologically cold tumors to hot and serves as an immunotherapy for cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020;117(2):1119-1128.
13. Shekarian T, Sivado E, Jallas AC et al. Repurposing rotavirus vaccines for intratumoral immunotherapy can overcome resistance to immune checkpoint blockade. *Sci Transl Med.* 2019;11(515):eaat5025.
14. Yu R, Zhu B, Chen D. Type I interferon-mediated tumor immunity and its role in immunotherapy. *Cell Mol Life Sci.* 2022;79(3):191.
15. Zitvogel L, Galluzzi L, Kepp O et al. Type I interferons in anticancer immunity. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(7):405-14.
16. Gnjjatic S, Sawhney NB, Bhardwaj N. Toll-like receptor agonists: are they good adjuvants? *Cancer J.* 2010;16(4):382-91.
17. 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.* 2011;71(7):2488-96.
18. Zaheer J, Kim H, Lee YJ et al. Combination radioimmunotherapy strategies for solid tumors. *Int J Mol Sci.* 2019;20(22):5579.
19. Champiat S, Tselikas L, Farhane S et al. Intratumoral immunotherapy: from trial design to clinical practice. *Clin Cancer Res.* 2021;27(3):665-679.
20. Ngwa W, Irabor OC, Schoenfeld JD et al. Using immunotherapy to boost the abscopal effect. *Nat Rev Cancer.* 2018;18(5):313-322.
21. Marabelle A, Tselikas L, de Baere T, Houot R. Intratumoral immunotherapy: Using the tumor as the remedy. *Ann Oncol.* 2017;28(suppl_12):xii33-xii43.
22. Trakarnsanga A, Akaraviputh T. Endoscopic tattooing of colorectal lesions: Is it a risk-free procedure? *World J Gastrointest Endosc.* 2011;3(12):256-60.
23. Zhang Y, Gabere M, Tylor MA et al. Repurposing live attenuated trivalent MMR vaccine as cost-effective cancer immunotherapy. *Front Oncol.* 2022;12:1042250.
24. Aznar MA, Molina C, Teijeira A et al. Repurposing the yellow fever vaccine for intratumoral immunotherapy. *EMBO Mol*

- Med. 2020;12(1):e10375.
25. Chicoine MR, Zahner M, Won EK et al. The in vivo antitumoral effects of lipopolysaccharide against glioblastoma multiforme are mediated in part by toll-like receptor 4. *Neurosurgery*. 2007;60(2):372-80; discussion 381.
 26. Zanker DJ, Spurling AJ, Brockwell NK et al. Intratumoral administration of the Toll-like receptor 7/8 agonist 3M-052 enhances interferon-driven tumor immunogenicity and suppresses metastatic spread in preclinical triple-negative breast cancer. *Clin Transl Immunol*. 2020;9(9):e1177.
 27. Kyi C, Roudko V, Sabado R et al. Therapeutic immune modulation against solid cancers with intratumoral poly-ICLC: a pilot trial. *Clin Cancer Res*. 2018;24(20):4937-4948.
 28. Desjardins A, Gromeier M, Herndon JE 2nd et al. Recurrent glioblastoma treated with recombinant poliovirus. *N Engl J Med*. 2018;379(2):150-161.
 29. Wu P, Gao W, Su M et al. Adaptive Mechanisms of Tumor Therapy Resistance Driven by Tumor Microenvironment. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:641469.
 30. Marron TU, Galsky MD, Taouli B et al. Neoadjuvant clinical trials provide a window of opportunity for cancer drug discovery. *Nat Med*. 2022;28(4):626-629.