



HAL
open science

Clinical research in radiation oncology: how to move from the laboratory to the patient?

V. Potiron, G. Delpon, L. Ollivier, L. Vaugier, M. Doré, V. Guimas, E. Rio, F. Thillays, C. Llagostera, A. Moignier, et al.

► **To cite this version:**

V. Potiron, G. Delpon, L. Ollivier, L. Vaugier, M. Doré, et al.. Clinical research in radiation oncology: how to move from the laboratory to the patient?. *Cancer/Radiothérapie*, 2022, 26 (6-7), pp.808-813. 10.1016/j.canrad.2022.07.009 . hal-03777900

HAL Id: hal-03777900

<https://hal.science/hal-03777900>

Submitted on 15 May 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Recherche clinique en oncologie radiothérapie : Comment passer du laboratoire au patient ?

Vincent Potiron ^{1,2}, Gregory Delpon ^{1,3}, Luc Ollivier ¹, Loig Vaugier ¹, Mélanie Doré ¹, Valentine Guimas ¹, Emmanuel Rio ¹, François Thillays ¹, Alexandra Moignier ¹, Stéphanie Josset ¹, Sophie Chiavassa ^{1,3}, Tanguy Perennec ¹, Stéphane Supiot ^{1,2}

1 – Institut de Cancérologie de l’Ouest, Bld Jacques Monod, 44800 St Herblain

2 –Unité en Sciences Biologiques et Biotechnologies, UMR CNRS 6286, 2 rue de la Houssinière 44322 Nantes

3 - Subatech (Laboratoire de physique subatomique et des technologies associées) (UMR CNRS 6457)

Pour correspondance : Stéphane Supiot, Département d’Oncologie Radiothérapie, Institut de Cancérologie de l’Ouest, Bld Monod, 44800 St Herblain

stephane.supiot@ico.unicancer.fr

Résumé en Français

English Abstract

Introduction

Jamais il n'y aura eu autant de recherche clinique en radiothérapie. Un transfert de plus en plus rapide se fait depuis le laboratoire jusqu'aux patients, tant dans la sélection des patients pouvant bénéficier de la radiothérapie que dans le développement de stratégies d'irradiation innovante ou le développement de combinaison avec des médicaments. Sur la route de ce transfert, de multiples obstacles peuvent se présenter aux chercheurs désireux de mettre en application chez l'homme des concepts ou des résultats expérimentaux obtenus sur la paillasse. Cette revue a pour objectif de lister ces obstacles pour en faciliter le contournement et arriver au but recherché : un traitement de radiothérapie moins toxique et plus efficace.

Comprendre les mécanismes d'action de la radiothérapie pour anticiper les mécanismes de sensibilité ou résistance à l'irradiation

Comprendre comment agit l'irradiation est une étape primordiale visant ensuite à prédire, majorer ou diminuer ses effets. L'ensemble de la littérature de radiobiologie décrit l'influence majeure des dommages de l'ADN induit par les radicaux libres engendrés par l'irradiation, principalement des cassures double-brins de l'ADN. La très grande majorité de ces dommages est réparée par des mécanismes protéiques impliquant la détection des cassures/anomalies de l'ADN, puis la signalisation de ces dommages, la protection des sites endommagés, la préparation de la machinerie de réparation, le tout aboutissant ensuite à l'excision du dommage et la réparation du dommage, le plus souvent fidèle, permettant ainsi une reprise du cycle cellulaire. A chaque étape, correspondent des protéines des voies de réparation de l'ADN dont le décryptage représente des voies majeures de recherche. Comprendre comment ces voies de réparation influencent la sensibilité globale des tissus sains à l'irradiation pourrait permettre de prédire la toxicité de la radiothérapie, à travers des tests génétiques ou fonctionnels (pour revue [1]). De manière opposée, il pourrait être possible de prédire la sensibilité de n'importe quelle tumeur à l'irradiation à partir d'une signature transcriptomique tumorale comme la signature radiosensitivity index (RSI) impliquant 10 gènes, intégrée dans le score genomic-adjusted radiation dose (GARD) [2]. Après avoir été validée dans plusieurs études rétrospectives, seule une étude de phase 3 randomisant une radiothérapie adaptée à ce score pourrait permettre de valider définitivement son utilité clinique. Les biopsies liquides permettant l'analyse de l'ADN tumoral circulant (ctDNA), de protéines, les exosomes, les miARN [3], les longs ARN non codants (lncRNA), la méthylation de l'ADN et les transcrits est apparue comme un nouvel outil non invasif permettant d'évaluer la maladie résiduelle. Cette surveillance en temps réel de la réponse sur biopsie liquide pourrait être utilisée pour affiner la stratification pronostique, et potentiellement mettre en place des stratégies de désintensification/intensification du traitement adaptées à la réponse [4].

Les effets de l'irradiation ne se limitent pas à la cellule tumorale, et de plus en plus de travaux insistent sur l'implication du microenvironnement tumoral, principalement vasculaire et immunitaire, dans la réponse globale à l'irradiation. Ainsi, des souris invalidées pour des gènes de la réponse apoptotique des cellules endothéliales sont moins sensibles aux effets toxiques digestifs de l'irradiation [5]. De même, l'effet anti-tumoral de l'irradiation est nettement moindre sur une souris immunodéprimée par rapport à une souris immunocompétente [6]. L'un des effets directs d'un microenvironnement vasculaire déficient implique une moins bonne distribution tissulaire de l'oxygène à l'origine d'hypoxie [7]. La quantification de cette hypoxie par des mesure directes invasives [8], des marqueurs immuno-histochimiques, des techniques d'imagerie [9] ou des signatures génomiques peut être utilisée non seulement pour prédire la résistance tumorale [10] mais aussi pour sélectionner des patients vers des traitements majorant la dose de radiothérapie sur la cible hypoxique ou réduisant cette radioresistance hypoxique, comme dans le protocole RTEP 7 recrutant actuellement des patients avec cancer du poumon en France.

Modéliser les effets de l'irradiation

Les laboratoires d'analyse d'image et de mathématiques appliquées cherchent à prédire l'efficacité et la toxicité de la radiothérapie à travers la modélisation des effets de l'irradiation à partir d'un aller-retour permanent entre

données précliniques et cliniques. Ces modèles reposent sur des données de croissance cellulaire, de mortalité, d'analyse des effets vasculaires /immunitaires de l'irradiation et ont pour ambition de définir des schémas d'irradiation amener à personnaliser le schéma d'irradiation en fonction des caractéristiques de croissance tumorale et du patient [11]. A l'inverse, des modèles de prédiction du risque toxique ou de prédiction de l'efficacité anti-tumorale reposent sur l'analyse de larges cohortes de données cliniques dans le but de prédire ces événements à partir de données d'imagerie [12]. C'est dans ce domaine que l'intelligence artificielle trouve une application majeure en radiothérapie, en cherchant à proposer des plans de radiothérapie les plus personnalisés à chaque cancer et chaque patient [13].

Choisir et décrire le bon modèle préclinique pour mesurer l'efficacité et la toxicité de l'irradiation

La question du choix du modèle préclinique ne concerne pas que la radiothérapie expérimentale mais, bien entendu, toute la cancérologie. Néanmoins, alors que les questions concernant la mesure de l'efficacité sur modèles cellulaires ou animaux sont communes à l'ensemble de la cancérologie, la radiothérapie expérimentale pose la question spécifique de l'appareil de radiothérapie utilisé pour ces expérimentations. Trop souvent, les articles scientifiques ne décrivaient au mieux que la dose délivrée et le type de machine utilisée pour ces expérimentations en oubliant de préciser l'énergie, le débit et la distribution de la dose ainsi que le contrôle de la précision de ces machines et leur pertinence. Avec la commercialisation d'appareils de radiothérapie dédiés à la recherche préclinique, il a été mis en évidence, par exemple, que la dose délivrée par ces rayons de faible énergie était très sensible à la proximité des tissus osseux [14]. Les dispositifs de radiothérapie pour petits animaux permettent d'effectuer des recherches thérapeutiques guidées par l'image en combinant l'imagerie embarquée haute résolution avec des systèmes d'irradiation isocentrique qui reproduisent beaucoup mieux les modalités de radiothérapie modernes utilisées chez les patients. L'irradiation préclinique peut donc intégrer les contraintes de dose-volume des organes à risque pour mieux examiner les interactions entre les médicaments radiosensibilisant et la radiothérapie en termes de probabilité de complication sur les tissus sains [15] et faciliter la mise au point de techniques innovantes de radiothérapie (mini-faisceaux, irradiation en grille...) [16]. Étonnamment, ce type d'étude reste rare et néglige fréquemment les schémas de délivrance de dose fractionnés, qui s'apparentent pourtant le mieux à la très grande majorité des protocoles cliniques.

Les cultures *in vitro* sont rapides et peu coûteuses. Elles sont idéales pour les analyses mécanistiques. De nombreux travaux ont montré des effets différents de l'irradiation entre une culture 2D et une culture 3D [17]. Des techniques de microfluidiques ou de bioimpression 3D cherchent à présent à reproduire le microenvironnement tumoral et la culture de sphères tumorales, organoïdes ou explants tumoraux est de plus en plus utilisée comme plate-forme de criblage d'agents médicamenteux en combinaison avec la radiothérapie ou pour l'évaluation de la toxicité (organoïdes de tissu pulmonaire ou intestinal par exemple) [18]. Pour évaluer l'efficacité antitumorale de la radiothérapie, le recours à des xénogreffes ectopiques, sous-cutanées par exemple, sont pratiques pour les mesures de tumeurs, mais ne représentent pas les véritables interactions entre la tumeur et l'organe dont elle est issue. Les modèles orthotopiques et immunocompétents sont plus compliqués à mettre en œuvre, mais ils représentent une étape plus avancée pour prédire l'effet des rayonnements chez les patients, en tenant compte du microenvironnement immunitaire [19]. Le recours à des modèles animaux de tumeurs spontanées survenant par exemple chez le chat ou le chien permet de se rapprocher de la physiopathologie et des conditions d'irradiation chez l'homme. Ces modèles ont été utilisés avec succès pour montrer la moindre toxicité de la radiothérapie à ultra haut débit de dose (FLASH) [20] et notamment mettre en évidence les effets tardifs de nécrose osseuse tardive de l'irradiation FLASH sur des analyses à plus long terme que chez la souris [21].

Quel que soit le modèle, les nouvelles combinaisons doivent être testées selon des schémas cliniquement pertinents en termes de dose totale et de fractionnement de radiothérapie. Malgré toutes leurs limites, la quantification de la destruction des cellules clonogéniques à l'aide d'essais clonogéniques *in vitro* et de mesure de retard de croissance tumorale *in vivo* se sont révélées être des prédicteurs robustes de l'efficacité clinique des médicaments radiosensibilisants, tels que le cisplatine et les taxanes [22]. Un criblage large et systématique de molécules pouvant moduler l'action de l'irradiation accélère le passage à des travaux cliniques ultérieurs. Le premier point de départ de la recherche translationnelle est l'identification d'une cible et la sélection d'un médicament d'intérêt à

tester chez les patients. Dans le passé, il y a eu une tendance à tester en combinaison avec des agents systémiques de radiothérapie qui avaient montré une activité prometteuse en tant qu'agents uniques ou dans des approches systémiques uniquement. Cette approche a malheureusement été la source d'échecs retentissants. Par exemple, il était tentant de combiner la radiothérapie à l'oxaliplatine utilisé avec succès dans le traitement du cancer colorectal en complément à la radiochimiothérapie préopératoire des cancers du rectum. Malheureusement, les essais randomisés n'ont pas montré de supériorité d'une stratégie à base d'oxaliplatine [23] par rapport à la radiochimiothérapie standard. A posteriori, il est apparu que la valeur ajoutée de ce médicament à la réponse aux rayonnements n'était pas aussi claire dans les modèles précliniques [24]. Ces données soulignent que l'ajout d'un médicament à la radiothérapie sous prétexte que le médicament est très efficace dans le traitement de la tumeur peut ne pas être suffisant dans le cadre d'une association avec la radiothérapie. Il est donc indispensable de disposer d'études précliniques décrivant finement l'association radiothérapie-médicament, et de tester chez l'animal différents schémas combinatoires en termes de séquençage (concurrent vs séquentiel) et de doses (pleine dose vs faible dose).

Il n'est pas suffisant de démontrer qu'un médicament renforce l'action antitumorale de l'irradiation, il est aussi indispensable de démontrer l'absence de potentialisation de la toxicité sur les tissus sains. L'exemple du bevacizumab a montré les difficultés à évaluer la toxicité des traitements antiangiogéniques combinés à l'irradiation lors des phases précliniques. Dans un modèle de souris, un traitement anti-angiogénique combiné à l'irradiation était associé à une diminution de l'hypoxie tumorale, qui était corrélée à une meilleure réponse tumorale au rayonnement ionisant pendant une durée limitée appelée « fenêtre de normalisation vasculaire » [25]. Un premier essai de phase I dans le cancer rectal localement avancé a suggéré que la combinaison du bevacizumab et de la chimioradiothérapie préopératoire dans le cancer rectal localement avancé était bien tolérée et corrélée avec les caractéristiques de la normalisation vasculaire, fournissant une validation clinique de la justification préclinique [26]. Contrairement au profil de toxicité de l'association, un essai de phase II évaluant l'association du bevacizumab avec la radiothérapie thoracique dans les cancers bronchiques a été interrompu prématurément car une toxicité pulmonaire de grade ≥ 2 est survenue chez 4 des 6 patients [27]. Au moment de la mise en place de l'étude, aucun risque de survenue de toxicité accrue n'avait émergé des études précliniques chez la souris. En revanche, ces données ont été réévaluées lorsque des expériences précliniques utilisant un anticorps dirigé contre le VEGF murin ont montré une fibrose massive et des saignements dans le poumon irradié [28]. De manière similaire, l'exemple de la gemcitabine nous rappelle qu'un médicament bien toléré lorsqu'il est utilisé seul et ayant démontré des capacités de radiosensibilisation impressionnantes *in vitro*, peut se révéler très fortement toxique chez des patients quand il est associé à l'irradiation [29]. Cet exemple met en évidence la nécessité d'améliorer les modèles *in vivo* pour évaluer l'impact de l'association sur les tissus normaux et le fait que les essais de phase I et de phase II testant des doses croissantes d'agents systémiques doivent être encouragés, même dans le cas où un médicament présente un profil de tolérance satisfaisant en monothérapie.

Optimiser les études précoces de radiothérapie chez l'homme

Malgré une multitude de données précliniques démontrant les propriétés radio-sensibilisantes de plusieurs molécules, seule une minorité a eu un impact clinique significatif [30]. Cet échec apparent est sans aucun doute lié à un certain nombre de facteurs comme les délais longs nécessaires à valider l'absence de toxicité à long terme de l'irradiation, l'adoption relativement lente de nouvelles méthodologies par les régulateurs, le manque d'investissement de l'industrie pharmaceutique dans le développement d'études d'association radiothérapie/nouveaux agents radiosensibilisants, les comités d'éthique parfois réticents à des approches combinées de radiothérapie, les bailleurs de fonds et les cliniciens qui sont susceptibles d'être prudents dans leur approche de l'adoption de conceptions qui n'ont pas été rigoureusement évaluées. A l'inverse, une collaboration précoce et efficace entre les sociétés pharmaceutiques et le monde universitaire est primordiale pour faire avancer ce domaine de recherche [31] (Tableau 1).

Le but ultime des essais cliniques est de générer les meilleures preuves du bénéfice d'une nouvelle stratégie, généralement basée sur plusieurs essais randomisés positifs [32]. Avant qu'une nouvelle combinaison n'entre en clinique, elle doit d'abord être évaluée pour sa sécurité dans un essai de phase I, puis pour détecter des signes d'activité dans un essai de phase II. C'est le rôle d'un essai de phase I d'explorer de nouvelles modalités d'irradiation

ou les interactions entre la radiothérapie et les thérapies médicamenteuses de manière sûre et efficace. Une considération importante concerne les spécificités de la radiothérapie explorant de nouvelles modalités comme l'irradiation à ultra haut débit de dose (FLASH) ou en mini- faisceaux par grille qui nécessitent des équipements techniques spécifiques et peu répandus. Lors d'études de combinaison avec médicaments, l'évaluation des effets secondaires potentiels est essentielle à la conception de l'essai de phase I. Il est important de tenir compte des effets de la radiothérapie et de la thérapie systémique qui se chevauchent, et de la possibilité que l'un ou l'autre des traitements module les effets de l'autre, pour définir les DLT, définir les périodes de DLT et définir les niveaux de toxicité cibles. En ce sens, il reste primordial de s'appuyer sur de solides connaissances fondamentales: un mauvais design peut parfaitement compromettre une bonne combinaison. La conception conventionnelle d'une étude de phase I est un schéma 3 x 3 dans lequel les patients sont exposés à des concentrations progressivement croissantes d'un médicament dans une première série de 3 patients. Si plus de 2 patients sur 6 à un niveau de dose donné présentent une toxicité limitant la dose (DLT), 3 patients supplémentaires sont traités à la dose précédente et la DMT est considérée comme la dose précédente. Il convient de noter qu'une telle approche, largement validée dans le domaine du développement de médicaments, présente plusieurs limites concernant l'évaluation des combinaisons médicaments/radiothérapie en raison de sa capacité insuffisante à détecter des toxicités inacceptables pour la pratique de la radio-oncologie survenant chez moins de 16,5% des patients et du manque de flexibilité lié à l'attente entre deux paliers de dose puisque la durée d'évaluation des DLT est généralement de plusieurs mois en raison de la toxicité souvent tardive de la radiothérapie. Des études de phase I aux schémas innovants (TITE-CRM, TITE-BOIN...) pourraient réduire le temps nécessaire à valider le schéma optimal d'utilisation d'une nouvelle stratégie de radiothérapie [33]. La mise au point clinique de modalité innovante de radiothérapie comme la radiothérapie en grille ou l'irradiation Flash peut tirer profit de ce genre de schéma comme dans l'étude de faisabilité de la radiothérapie FLASH pour le traitement des métastases osseuses symptomatiques (FAST-01) actuellement en cours aux Etats-Unis.

Standardiser la qualité de la radiothérapie

L'augmentation de la précision de la radiothérapie renforce les besoins de contrôle de la qualité et de la précision technique. Les contraintes dose-volume utilisés en routine doivent faire partie des protocoles d'essais cliniques de radiothérapie/médicaments, afin d'éviter de compromettre le développement du médicament par une toxicité inacceptable liée à la radiothérapie. Les protocoles de radiothérapie doivent également décrire avec précision tant en termes de définition des volumes cibles qu'en termes d'objectifs de doses. Sinon, une radiothérapie de mauvaise qualité peut avoir un impact sur le résultat de l'essai, soit en générant des bras de traitement non comparables, soit en surestimant l'effet de l'agent systémique testé. Un exemple célèbre concerne l'échec de la tirapazamine, médicament ciblant spécifiquement les cellules tumorales hypoxiques, dans une étude de phase 3 en association avec la radiothérapie, où il a été démontré que la radiothérapie ne suivait pas les recommandations dans un grand nombre de patients du bras expérimental [34]. Si on ne prenait en compte que les patients traités selon les recommandations de radiothérapie, l'étude devenait positive.

Développer des approches radicalement innovantes

L'enthousiasme croissant actuel concernant la combinaison de thérapies ciblant les points de contrôle immunologiques à la radiothérapie est basé sur l'intérêt de déclencher une réponse immunitaire systémique, au-delà du champ d'irradiation, définie comme « abscopale ». Dans une étude de preuve de concept, des patients atteints de tumeurs solides métastatiques stables ou en progression avec au moins trois sites mesurables distincts de la maladie ont été traités par radiothérapie sur un site métastatique et des facteur de stimulation des colonies de macrophages (GM-CSF) injecté quotidiennement, à partir de la deuxième semaine de radiothérapie. Des réponses abscopales objectives sont survenues chez 27 % des patients recrutés, cet effet étant associé à une amélioration de la survie [35]. Les développements cliniques de l'immunothérapie en association avec la radiothérapie posent des questions sur la bonne séquence de combinaison, la dose par fraction et le fractionnement idéaux [36]. L'échec d'un grand essai clinique randomisé ayant comparé un médicament anti-CTLA4 à un placebo après une radiothérapie palliative à fraction unique de 8 Gy sur une métastase osseuse chez des patients atteints d'un cancer de la prostate métastatique résistant à la castration a souligné la nécessité d'une sélection optimale de patient et le choix d'un schéma d'irradiation adapté [37]. La combinaison avec l'irradiation de médicaments

immunomodulateurs pose de nouvelles questions concernant les volumes ganglionnaires puisque l'irradiation des ganglions lymphatiques (y compris les vaisseaux environnants) pourrait éventuellement compromettre le nombre et la migration des leucocytes. Des essais cliniques de combinaison immunothérapie/radiothérapie comparant l'irradiation des aires ganglionnaires devrait être comparée à des techniques épargnant ces zones sont en cours en mise en place.

Conclusion

Accélérer le passage des découvertes de laboratoire vers la clinique représente l'idéal de tout programme de recherche translationnelle mais nécessite une prise en compte des multiples obstacles pouvant ralentir ce cheminement. Les équipes de radiothérapie par nature multidisciplinaires avec des experts en biologie, médecine, physique médicale, mathématique et sciences de l'ingénieur sont à même de relever ces nouveaux défis qui permettront de transférer aux patients au plus vite ces avancées d'aujourd'hui.

Tableau 1 : Recommandations de l'ASTRO concernant le développement de stratégies combinant radiothérapie de haute précision et nouveaux agents médicamenteux (d'après [31])

- Promouvoir une augmentation systématique du nombre et de la qualité des essais cliniques qui évaluent la radiothérapie de haute technicité combinée avec des médicaments innovants.
- Faire progresser l'étude de la radiothérapie de précision pour parvenir à l'individualisation des prescriptions de dose de rayonnement sur la base des caractéristiques génétiques et biologiques de chaque tumeur et des tissus normaux environnants
- Accroître le dialogue avec l'industrie pharmaceutique pour prioriser l'étude de nouveaux agents moléculaires en combinaison avec la radiothérapie dès le début de la phase de développement d'une molécule
- Établir des paramètres cliniques clairs et pertinents pour les études précliniques et cliniques des combinaisons radiothérapie-médicament
- Développer des modèles précliniques *in vitro* et *in vivo* rigoureux qui reflètent au mieux les approches de radiothérapie et de traitement médicamenteux en clinique
- Améliorer les collaborations entre les laboratoires de radiobiologie pour corroborer les modèles précliniques dans lesquels les combinaisons radiothérapie-médicament peuvent être évaluées à l'aide de méthodologies similaires pour augmenter la reproductibilité des données précliniques.
- Intégrer de façon systématique l'assurance qualité de la radiothérapie dans les études précliniques et cliniques

- Promouvoir la recherche utilisant des modèles biomathématiques pour optimiser les calendriers d'administration de la radiothérapie et de traitement médicamenteux
- Intégrer l'imagerie et les biomarqueurs systémiques dans l'évaluation en temps réel de la réponse/résistance tumorale à la radiothérapie

Bibliographie

1. Chargari C, Supiot S, Hennequin C, Chapel A, Simon JM. [Treatment of radiation-induced late effects: What's new?]. *Cancer Radiother.* 2020 Oct;24(6-7):602-11.
2. Scott JG, Sedor G, Ellsworth P, Scarborough JA, Ahmed KA, Oliver DE, et al. Pan-cancer prediction of radiotherapy benefit using genomic-adjusted radiation dose (GARD): a cohort-based pooled analysis. *Lancet Oncol.* 2021 Sep;22(9):1221-9.
3. Labbé M, Hoey C, Ray J, Potiron V, Supiot S, Liu SK, et al. microRNAs identified in prostate cancer: Correlative studies on response to ionizing radiation. *Mol Cancer.* 2020 Mar 23;19(1):63.
4. Lv J, Chen Y, Zhou G, Qi Z, Tan KRL. Liquid biopsy tracking during sequential chemo-radiotherapy identifies distinct prognostic phenotypes in nasopharyngeal carcinoma. 2019 Sep 2;10(1):3941.
5. Supiot S, Paris F. [Radiobiology dedicated to endothelium]. *Cancer Radiother.* 2012 Feb;16(1):11-5.
6. Lee Y, Auh SL, Wang Y, Burnette B, Wang Y, Meng Y, et al. Therapeutic effects of ablative radiation on local tumor require CD8+ T cells: changing strategies for cancer treatment. *Blood.* 2009 Jul 16;114(3):589-95.
7. Clément-Colmou K, Potiron V, Pietri M, Guillonneau M, Jouglar E, Chiavassa S, et al. Influence of Radiotherapy Fractionation Schedule on the Tumor Vascular Microenvironment in Prostate and Lung Cancer Models. *Cancers.* 2020;12(1):121.
8. Milosevic M, Warde P, Menard C, Chung P, Toi A, Ishkanian A, et al. Tumor hypoxia predicts biochemical failure following radiotherapy for clinically localized prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2012 Apr 1;18(7):2108-14.
9. Supiot S, Rousseau C, Dore M, Cheze-Le-Rest C, Kandel-Aznar C, Potiron V, et al. Evaluation of tumor hypoxia prior to radiotherapy in intermediate-risk prostate cancer using (18)F-fluoromisonidazole PET/CT: a pilot study. *Oncotarget.* 2018 Feb 9;9(11):10005-15.
10. Lalonde E, Ishkanian AS, Sykes J, Fraser M, Ross-Adams H, Erho N, et al. Tumour genomic and microenvironmental heterogeneity for integrated prediction of 5-year biochemical recurrence of prostate cancer: a retrospective cohort study. *The Lancet Oncology.* 2014;15(13):1521-32.
11. Paul-Gilloteaux P, Potiron V, Delpon G, Supiot S, Chiavassa S, Paris F, et al. Optimizing radiotherapy protocols using computer automata to model tumour cell death as a function of oxygen diffusion processes. *Scientific reports.* 2017 2017/05/23;7(1):2280.
12. Mylona E, Ebert M, Kennedy A, Joseph D, Denham J, Steigler A, et al. Rectal and Urethro-Vesical Subregions for Toxicity Prediction After Prostate Cancer Radiation Therapy: Validation of Voxel-Based Models in an Independent Population. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2020 Dec 1;108(5):1189-95.
13. McIntosh C, Conroy L, Tjong MC, Craig T, Bayley A, Catton C, et al. Clinical integration of machine learning for curative-intent radiation treatment of patients with prostate cancer. *Nature Medicine.* 2021 2021/06/01;27(6):999-1005.
14. Noblet C, Delpon G, Supiot S, Potiron V, Paris F, Chiavassa S. A new tissue segmentation method to calculate 3D dose in small animal radiation therapy. *Radiation Oncology.* 2018 2018/02/26;13(1):32.

15. Ghita M, McMahon SJ, Thompson HF, McGarry CK, King R, Osman SOS, et al. Small field dosimetry for the small animal radiotherapy research platform (SARRP). *Radiation Oncology*. 2017 2017/12/28;12(1):204.
16. Butterworth KT, Ghita M, McMahon SJ, McGarry CK, Griffin RJ, Hounsell AR, et al. Modelling responses to spatially fractionated radiation fields using preclinical image-guided radiotherapy. *The British Journal of Radiology*. 2017;90(1069):20160485.
17. Storch K, Eke I, Borgmann K, Krause M, Richter C, Becker K, et al. Three-Dimensional Cell Growth Confers Radioresistance by Chromatin Density Modification. *Cancer Research*. 2010;70(10):3925-34.
18. Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nature Reviews Cancer*. 2018 2018/07/01;18(7):407-18.
19. Kahn J, Tofilon PJ, Camphausen K. Preclinical models in radiation oncology. *Radiation Oncology*. 2012 2012/12/27;7(1):223.
20. Vozenin M-C, De Fornel P, Petersson K, Favaudon V, Jaccard M, Germond J-F, et al. The Advantage of FLASH Radiotherapy Confirmed in Mini-pig and Cat-cancer Patients. *Clinical Cancer Research*. 2019;25(1):35-42.
21. Rohrer Bley C, Wolf F, Gonçalves Jorge P, Grilj V, Petridis I, Petit B, et al. Dose- and Volume-Limiting Late Toxicity of FLASH Radiotherapy in Cats with Squamous Cell Carcinoma of the Nasal Planum and in Mini Pigs. *Clinical Cancer Research*. 2022:OF1-OF10.
22. Krause M, Zips D, Thames HD, Kummermehr J, Baumann M. Preclinical evaluation of molecular-targeted anticancer agents for radiotherapy. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2006 2006/08//;80(2):112-22.
23. Gérard J-P, Azria D, Gourgou-Bourgade S, Martel-Lafay I, Hennequin C, Etienne P-L, et al. Clinical Outcome of the ACCORD 12/0405 PRODIGE 2 Randomized Trial in Rectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30(36):4558-65.
24. Folkvord S, Flatmark K, Seierstad T, Røe K, Rasmussen H, Ree AH. Inhibitory effects of oxaliplatin in experimental radiation treatment of colorectal carcinoma: does oxaliplatin improve 5-fluorouracil-dependent radiosensitivity? *Radiotherapy and Oncology*. 2008 2008/03/01//;86(3):428-34.
25. Mazon R, Anderson B, Supiot S, Paris F, Deutsch E. Current state of knowledge regarding the use of antiangiogenic agents with radiation therapy. *Cancer Treat Rev*. 2011 Oct;37(6):476-86.
26. Willett CG, Boucher Y, di Tomaso E, Duda DG, Munn LL, Tong RT, et al. Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer. *Nat Med*. 2004 Feb;10(2):145-7.
27. Lind JSW, Senan S, Smit EF. Pulmonary Toxicity After Bevacizumab and Concurrent Thoracic Radiotherapy Observed in a Phase I Study for Inoperable Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2012;30(8):e104-e8.
28. Mangoni M, Vozenin MC, Biti G, Deutsch E. Normal tissues toxicities triggered by combined anti-angiogenic and radiation therapies: hurdles might be ahead. *British journal of cancer*. 2012 2012/07//;107(2):308-14.
29. Arrieta O, Gallardo-Rincón D, Villarreal-Garza C, Michel RM, Astorga-Ramos AM, Martínez-Barrera L, et al. High Frequency of Radiation Pneumonitis in Patients with Locally Advanced Non-small Cell Lung Cancer Treated with Concurrent Radiotherapy and Gemcitabine after Induction with Gemcitabine and Carboplatin. *Journal of Thoracic Oncology*. 2009 2009/07/01//;4(7):845-52.

30. Ataman OU, Sambrook SJ, Wilks C, Lloyd A, Taylor AE, Wedge SR. The clinical development of molecularly targeted agents in combination with radiation therapy: a pharmaceutical perspective. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2012 2012/11//;84(4):e447-54.
31. Bristow RG, Alexander B, Baumann M, Bratman SV, Brown JM, Camphausen K, et al. Combining precision radiotherapy with molecular targeting and immunomodulatory agents: a guideline by the American Society for Radiation Oncology. *The Lancet Oncology*. 2018;19(5):e240-e51.
32. Hennequin C, Azria D, Blanchard P, Créhange G, Deutsch É, Lisbona A, et al. Specificities of clinical research in radiotherapy. *Cancer/Radiothérapie*. 2022 2022/02/01//;26(1):104-7.
33. Brown SR, Hinsley S, Hall E, Hurt C, Baird RD, Forster M, et al. A Road Map for Designing Phase I Clinical Trials of Radiotherapy–Novel Agent Combinations. *Clinical Cancer Research*. 2022:OF1-OF13.
34. Peters LJ, O'Sullivan B, Giral J, Fitzgerald TJ, Trotti A, Bernier J, et al. Critical Impact of Radiotherapy Protocol Compliance and Quality in the Treatment of Advanced Head and Neck Cancer: Results From TROG 02.02. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(18):2996-3001.
35. Golden EB, Chhabra A, Chachoua A, Adams S, Donach M, Fenton-Kerimian M, et al. Local radiotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to generate abscopal responses in patients with metastatic solid tumours: a proof-of-principle trial. *The Lancet Oncology*. 2015 2015/07/01//;16(7):795-803.
36. Demaria S, Guha C, Schoenfeld J, Morris Z, Monjazeb A, Sikora A, et al. Radiation dose and fraction in immunotherapy: one-size regimen does not fit all settings, so how does one choose? *Journal for immunotherapy of cancer*. 2021;9(4):e002038.
37. Kwon ED, Drake CG, Scher HI, Fizazi K, Bossi A, van den Eertwegh AJM, et al. Ipilimumab versus placebo after radiotherapy in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer that had progressed after docetaxel chemotherapy (CA184-043): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2014;15(7):700-12.