



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Prognostication in young and elderly breast cancer patients**

Kruijff, E.M. de

### **Citation**

Kruijff, E. M. de. (2015, January 15). *Prognostication in young and elderly breast cancer patients*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/31497>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/31497>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/31497> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Kruijff, Esther Michelle de

**Title:** Prognostication in young and elderly breast cancer patients

**Issue Date:** 2015-01-15

# Chapter 10

Nederlandse samenvatting



## SAMENVATTING

### Introductie

Borstkanker is een van de meest gediagnostiseerde type kanker en de hoofddoodsoorzaak door kanker in vrouwen in de Westerse Wereld <sup>1</sup>. De behandeling bestaat uit locoregionale behandeling door middel van chirurgie al dan niet gevolgd door radiotherapie en systemische therapie zoals chemotherapie, endocriene therapie en immunotherapie. Systemische therapie wordt gegeven ter voorkoming van afstandmetastasen. Prognostische en predictieve factoren identificeren patiënten op respectievelijk hun voorspelde prognose en reactie op therapie en helpen hiermee bij klinische beslissingen omtrent systemische behandeling van borstkankerpatiënten.

Huidige prognostische factoren zoals leeftijd, menopausale status, tumorgrootte, lymfeklierstatus, histologische graad, hormoonreceptorstatus en HER2-overexpressie resulteren nog niet in optimale behandeling van borstkankerpatiënten <sup>2</sup>. Om over- en onder-behandeling te beperken zijn er daarom nieuwe en meer accurate prognostische factoren vereist.

Er is bewijs dat het adaptieve immuunsysteem tumorprogressie kan controleren <sup>3</sup>. Echter, tumoren kunnen, door hun intrinsieke genetische instabiele karakter, eigenschappen ontwikkelen om te ontsnappen aan dergelijke immuunherkenning en eliminatie <sup>4</sup>. Helaas is er weinig bekend over deze tumor-immuun-interacties in borstkanker. Daarbij kunnen deze interacties invloed hebben op tumorprogressie en zijn daarmee potentiële prognostische biomarkers.

Door de vergrijzing wordt borstkanker steeds meer een ziekte die oudere vrouwen aangrijpt <sup>5</sup>. Deze patiëntenpopulatie verschilt van de jongere borstkankerpatiëntenpopulatie in meerdere aspecten, waaronder co-morbiditeit en hiermee de balans van toxiciteit versus effectiviteit van behandeling, kortere levensverwachting en patiënt voorkeuren voor behandeling <sup>6, 7</sup>. Daarbij zijn er aanwijzingen dat tumoren van oudere borstkankerpatiënten biologisch anders zijn: meer indolent, minder agressief en minder progressief <sup>8</sup>. Momenteel zijn behandelingsrichtlijnen voor borstkanker over het algemeen gebaseerd op onderzoek op een relatieve jongere patiëntenpopulatie en mist translationeel onderzoek geheel binnen deze populatie. Behandeling van oudere borstkankerpatiënten is daarom nu niet evidence-based en translationeel onderzoek in deze patiëntenpopulatie is nodig.

### Doel van het proefschrift

Dit proefschrift is in twee delen opgesplitst. **Deel I** beschrijft biomarkers gebaseerd op immuun-anti-tumorbescherming en tumor-immuun-ontsnapping in borstkanker en hun prognostische effect. **Deel II** beschrijft de distributie en prognostische effecten van essentiële prognostische biomarkers in oudere borstkankerpatiënten.

Het onderzoek in dit proefschrift heeft gebruik gemaakt van een groot goed omschreven retrospectief borstkankercohort waarin alle vrouwen werden geselecteerd met niet-gemetastaseerde borstkanker die primair in het Leidsch Universitair Medisch Centrum werden geopereerd tussen 1985 en 1996. Dit cohort is voor alle studies gebruikt waardoor vergelijkingen en combinaties van markers mogelijk werd. Oudere borstkankerpatiënten werden gedefinieerd als patiënten, die de leeftijd van 65 jaar of ouder bereikt hebben, volgens de definities van de World Health Organisation ([www.who.int](http://www.who.int)).

### Resultaten beschreven in dit proefschrift

Deel I van dit proefschrift beschrijft de interacties die er plaats vinden tussen borstkanker en het immuun systeem en de potentiële prognostische markers hierin. Er is veel bewijs dat het adaptieve immuun systeem tumorprogressie kan controleren<sup>3</sup>. Daarentegen is ook beschreven dat tumoren, door hun intrinsieke genetische instabiele karakter, eigenschappen kunnen ontwikkelen om te ontsnappen aan dergelijke immuunherkenning en eliminatie<sup>4</sup>.

Humaan-leukocyt-antigen (HLA) klasse I kan tumor-geassocieerde-antigenen presenteren op de celmembraan van maligne cellen aan cytotoxische-T-lymfocyten (CTL). Om aan deze immuunherkenning te ontsnappen kunnen maligne cellen hun HLA klasse I expressie verliezen<sup>9</sup>. Daarnaast kunnen regulatoire-T-cellen (Treg) in de tumoromgeving een immuunsuppressief effect uitvoeren op CTL, waardoor aan de immuun-anti-tumorbescherming ontsnapt kan worden<sup>10</sup>. **Hoofdstuk 2** beschrijft dat verlies van HLA klasse I-expressie en aanwezigheid van Treg beide zeer frequent zijn in borstkankertumoren, wat suggereert dat immuun ontsnappingsmechanismen hierbij vaak voorkomen. Tevens werd een specifieke associatie gevonden voor HLA klasse I-expressieverlies en de aanwezigheid van Treg met een slechtere prognose in met chemotherapie behandelde patiënten. Dit kan verklaard worden door de gerichte eliminatie van Treg door cyclophosphamide-bevattende-chemotherapie danwel door een sneller herstel van de CTL-functie na deze behandeling. Hierdoor valt het immunosuppressieve effect op CTL, die voor de adjuvante therapie overheerste, weg waardoor deze CTL tumorcellen met HLA klasse I-expressie weer kunnen herkennen en elimineren.

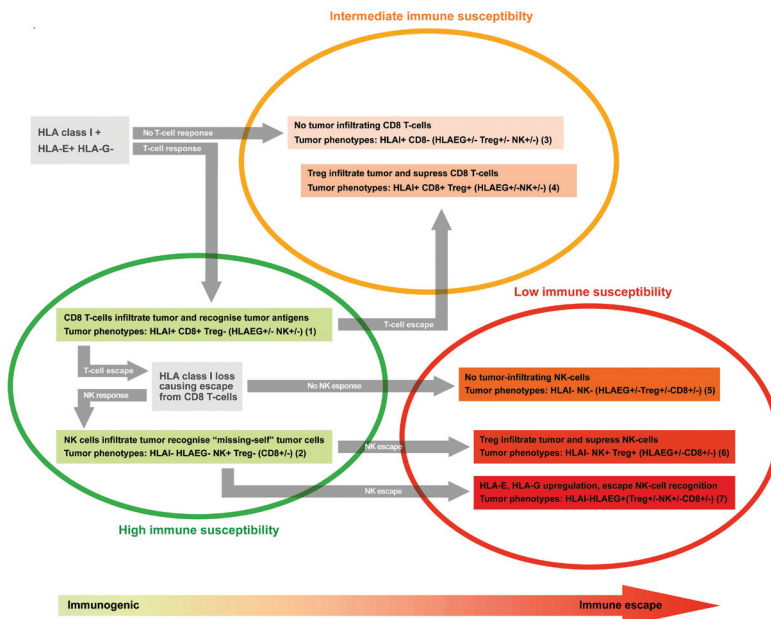
Als gevolg van HLA klasse I-expressieverlies kunnen maligne cellen door Natural Killer (NK-)cellen worden herkend, waardoor volgende stappen in tumorimmuun ontsnapping gefocust zijn op ontwijking van NK-cel-aanval.

De niet-klassieke HLA-G moleculen komen specifiek tot expressie op trofoblast cellen waar het betrokken is bij immunotolerantie tegen de foetus gedurende de zwangerschap<sup>11</sup>. HLA-E komt tot expressie in bijna alle gezonde cellen, waar het eiwit fragmenten van klassiek HLA klasse I of HLA-G tot expressie brengt<sup>12</sup>. Beide niet-klassieke HLA-moleculen binden aan inhibitoire receptoren op NK-cellen, waarmee ze een belangrijk “zelf-sigitaal” geven. Maligne cellen kunnen HLA-G en HLA-E expressie verkrijgen of upreguleren. In **hoofdstuk 3** wordt beschreven dat expressie van deze moleculen in

borstkankertumoren resulteert in een slechtere prognose van patiënten, maar dan wel specifiek binnen patiënten wiens tumoren al HLA klasse I-expressie hadden verloren. Dit onderbouwt de hypothese van hun rol binnen “zelf-signalen” en NK-cel-inhibitie.

Activerende NK-cel-lectin-like-receptor-gen-2D (NKG2D) liganden hebben naast niet-klasseke HLA-moleculen ook invloed op NK-cel-herkenning en -eliminatie van pathologische cellen. Expressie van NKG2D-liganden wordt geïnduceerd in cellen onder stress, zoals infectie of maligne transformatie, waarop ze binden aan NKG2D-receptoren op onder andere NK-cellen en een activerende stimulerende respons wordt opgewekt, waardoor deze cellen onder stress geëlimineerd kunnen worden door het immuun systeem <sup>13</sup>. **Hoofdstuk 4** beschrijft dat voornamelijk de combinatie van expressie van twee NKG2D-liganden, MIC-AB en ULBP-2, resulteerde in een beter prognose van borstkankerpatiënten.

Gezien eerdere resultaten het belang hebben aangetoond van de complexiteit en interacties van het immuunsysteem met borstkanker (hoofdstuk 2-4), werd in **hoofdstuk 5** een biomarker gecreëerd op basis van de essentiële markers van immuun-antitumorbescherming en immuun ontsnapping hieraan (Figuur 1). Deze prognostische



Figuur 1: Deze figuur toont een schematisch overzicht van de verschillende fases van tumor-immuun ontsnapping. De tumorimmuun subtypes die dit weergeven zijn opgedeeld in 7 groepen, waarbij oplopend de gradaties van (1) tot (7) een hoge immuun vatbaarheid (groen) tot hogere immuun ontsnapping fases tonen (rood). Door middel van combinaties van gegevens van CTL infiltratie, NK-cel infiltratie, Treg infiltratie, klassieke HLA klasse I-expressie en HLA-EG-expressie werden de groepen gedefinieerd. Tumorimmuun subtypes werden geclusterd door groepen te combineren van de 7 afzonderlijke klassen; weergegeven door de omcirkelingen in de figuur: cluster (1) en (2) (groene cirkel), cluster (3) en (4) (oranje cirkel) en cluster (5), (6) en (7) (rode cirkel).

biomarker is zeer statistisch significant, waarbij patiënten met tumoren die werden beschouwd als laag immuun-vatbaar een slechtere prognose hadden dan patiënten met tumoren die als hoog immuun-vatbaar werden beschouwd. Dit prognostische effect was onafhankelijk van bekende prognostische factoren en werd afzonderlijk gevalideerd in een onafhankelijk validatie cohort. Hierbij werd het hoog discriminatieve vermogen nogmaals bevestigd. Tevens werd hierdoor het belang van de interacties binnen en tussen het immuunsysteem en borstkanker weer benadrukt.

Het tweede deel van het proefschrift beschrijft de verschillen in de verdeling en het prognostisch effect van verschillende biomarkers in oudere borstkankerpatiënten.

Kanker-stamcellen zijn gedefinieerd als een kleine subset van de tumor met specifieke stamcel-karakteristieken zoals epitheliale-naar-mesenchymale transitie, de capaciteit tot zelfvernieuwing en -differentiatie <sup>14</sup>. In **hoofdstuk 6** hebben we aangetoond dat de expressie van ALDH-1, een representatieve marker voor stamcellen, significant hoger is in jongere borstkankerpatiënten vergeleken met oudere borstkankerpatiënten. Daarbij was ALDH-1-expressie een onafhankelijke risicofactor voor een slechtere prognose in jongere borstkankerpatiënten, maar niet in ouderen. Een verklaring voor de specifieke leeftijd-interactie van het prognostische effect van ALDH-1 kan de verandering van de tumor-micro-omgeving in oudere borstkankerpatiënten zijn, waarbij signalen tussen stamcellen en deze omgeving of metabole processen niet optimaal verlopen en de tumor-stamcellen gelimiteerd functioneren <sup>15</sup>.

Borstkanker wordt onderverdeeld in verschillende biologische/moleculaire typen op basis van genexpressie studies<sup>16</sup>, deze zijn: Luminal-A, Luminal-B, Basal-like, ERBB2 en unclassified. Deze groepen hebben allen een verschillende prognose. In **hoofdstuk 7** werden de moleculaire subtypes gevalideerd in oudere borstkankerpatiënten. Aangetoond werd dat de subtypes Luminal-A en Luminal-B vaker werden gezien in oudere borstkankerpatiënten. In tegenstelling tot de jongere borstkankerpatiënten, werd geen associatie gezien tussen deze subtypes en prognose. Dit zou verklaard kunnen worden door het competitieve risico op overlijden in ouderen patiënten, waarbij patiënten vaker overlijden met borstkanker in plaats van aan borstkanker. Gezien 60% van deze oudere borstkankerpatiënten overlijdt aan borstkanker is hierdoor het prognostische effect van alle biomarkers gelimiteerd en verzwakt.

In het eerste deel van dit proefschrift werd het belang van het immuunsysteem in de ontwikkeling en progressie van een maligniteit aangetoond. Ouder worden resulteert in een verminderd functioneren van het adaptieve immuunsysteem en daarom is er de suggestie dat deze processen van “immunosenescence” mogelijk bijdragen aan het ontstaan en de progressie van kanker <sup>17</sup>. **Hoofdstuk 8** laat zien dat er geen verschillen zijn in infiltrerende CTL, NK-cellen of Tregs in de oudere populatie vergeleken met de jongere populatie. Er werd een trend gezien naar minder klassieke HLA klasse



I-afschakeling en daarbij statistisch significant minder HLA-E en HLA-G-expressie in deze oudere populatie. Ook werden er minder laag immuun-vatbare-tumoren gezien in deze patiënten. Deze resultaten suggereren een verzwakte immuun-selectieve-druk op borstkankertumoren op hogere leeftijd, waardoor deze minder immuun-ontsnappingsmechanismen nodig hebben. Tevens werd geen statistisch significante associatie met prognose gevonden voor tumorimmuun subtypes in oudere borstkankerpatiënten, in tegenstelling tot de jongere populatie. De vergelijkbare prognoses in oudere borstkankerpatiënten van de verschillende tumorimmuun subtypes suggereert dat het immuunsysteem minder goed functioneert in deze patiënten en ondersteunt verder de immunosenescence hypothese en de rol hiervan in tumor ontwikkeling en progressie.

## Conclusies en toekomstperspectieven

### Immunoediting en immunosenescence hypothesen:

Het concept dat het immuunsysteem tumoren kan herkennen en elimineren bestaat al meer dan 100 jaar <sup>18</sup>. In het begin van de 21<sup>ste</sup> eeuw werd inzicht in de interacties van het immuunsysteem met maligne tumoren duidelijker toen de drie fasen van interactie: “eliminatie”, “equilibrium” en “escape” onder de “kanker immunoediting” hypothese werden beschreven <sup>4</sup>. Tumorcellen kunnen succesvol geëlimineerd worden door het immuunsysteem gedurende de eliminatie-fase. Als tumorcellen weten te ontsnappen aan deze eerste immuunaanval, begint de volgende fase: equilibrium. Gedurende deze fase is er een constante interactie tussen het immuunsysteem en de tumor, die uit snel muterende en genetisch instabiele cellen bestaat. Tumorcellen die vatbaar zijn voor immuunherkenning en -aanval worden in deze fase geëlimineerd, maar tevens ontstaan er nieuwe tumorvarianten die eigenschappen hebben ontwikkeld om hieraan te ontsnappen. Deze constante interacties leiden ertoe dat de tumoropmaak constant gevormd wordt door het immuunsysteem. Indien tumorcellen genoeg immuun-ontsnappingsmechanismen hebben ontwikkeld, kunnen zij uiteindelijk de finale “escape”-fase bereiken. Deze laatste fase is gekarakteriseerd door de winst van de maligne tumor in de balans met het immuunsysteem, waar de groei van tumoren door kan zetten en zij klinisch detecteerbaar worden. Verdere ontwikkeling van significante immuun-ontsnappingsmechanismen die hierop volgen bevorderen de verdere progressie van de tumoren. Deze ontsnappingsmechanismen zijn complex en bestaan in het kort uit: klassieke HLA klasse I-afschakeling, HLA-E en HLA-G-upregulatie, downregulatie van stressmoleculen NKG2D-liganden en aantrekking van immunosuppressieve Treg <sup>4</sup>. Meerdere muismodellen hebben veel bewijs en onderbouwing aangeleverd voor de immunoediting-theorie, maar data van humane studies ontbreekt <sup>19</sup>. Hoewel onze resultaten geen absoluut bewijs zijn voor een immunoediting-hypothese, suggereren onze data wel sterk dat een dergelijk fenomeen zich afspeelt in borstkanker.

Wij hebben aangetoond dat hoog immuun-vatbare-tumoren geassocieerd zijn met een goede prognose van patiënten, terwijl immuun-ontsnappingsvarianten resulteerden in een slechte prognose. Daarbij is het belangrijk dat onze resultaten aantonen dat de verschillende factoren, die betrokken zijn in het samenspel van de tumor met het immuunsysteem, interacties met elkaar vertonen, waarmee het belang van pathway-analyse wordt benadrukt.

Met toenemende leeftijd neemt de effectiviteit van het immuunsysteem af, waardoor minder goed gereageerd kan worden op infecties en vaccinaties<sup>17</sup>. Er wordt gesuggereerd dat deze immunosenescence-mechanismen mogelijk samenhangen met kanker-ontwikkeling en -progressie. Een dergelijk fenomeen is puur hypothetisch, maar de lagere frequentie in immuunontsnappingsvarianten in ouderen en het verdwenen prognostische effect van immuun subtypes in deze populatie, zoals gevonden in onze studie, zijn in overeenstemming hiermee.

Uit onze resultaten blijkt dat het ontrafelen van de complexe interacties van het immuunsysteem in tumorontwikkeling en -progressie tot waardevolle nieuwe inzichten in tumorbiologie brengt. Deze nieuwe inzichten hebben een hoog potentieel om te leiden tot prognostische en predictieve biomarkers en kunnen mogelijk de basis vormen van toekomstige immunotherapeutische behandelingen. Toekomstig onderzoek zal immunoediting en immunosenescence hypothesen in humane modellen moeten bewijzen.

**Tumorimmuun subtypes als prognostische biomarker in borstkanker:**

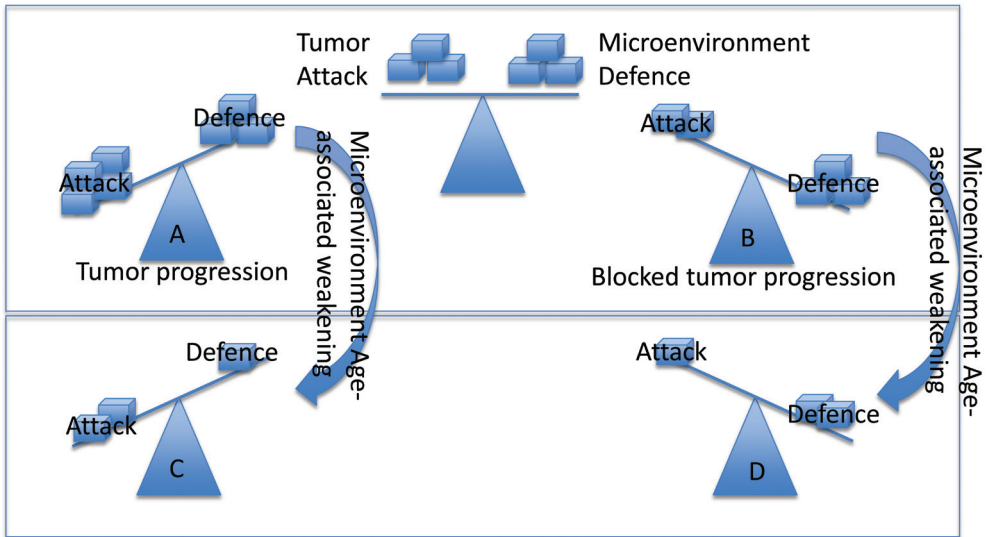
Momenteel zijn er veel prognostische biomarkers in borstkanker. De ASCO richtlijnen hebben het gebruik voor in de klinische praktijk geadviseerd voor urokinases plasminogen activator (uPA), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) en gen-expressieprofielen gedetecteerd met multiparameter gen-expressie-arrays<sup>20</sup>. De klinische waarde van microarray-gebaseerde prognostische methoden, zoals de MammaPrint, een 70-genen expressieprofiel, en Oncotype DX, een 21-genen expressieprofiel wordt momenteel nog onderzocht in fase drie studies<sup>21, 22</sup>. Een belangrijk punt van kritiek is dat deze genenprints zijn geconstrueerd door top-down-analyses, waardoor het onduidelijk is wat voor tumortypes worden gerepresenteerd door de verschillende patiënt-risicogroepen en het zeer lastig is genprofielen biologisch te onderbouwen<sup>23</sup>. Daarnaast bevat deze methode veel “ruis” door de grote kans op toeval in de statistische constructie en optimalisatie van dergelijke parameters. Hierdoor is er een zeer hoge kans op een verlies aan discriminatief vermogen bij de validatie. Bij bottom-up-analyses wordt een biologische factor gecorreleerd aan patiënt prognose waarvoor er een veel hogere kans is op het vinden van lagere discriminatieve vermogens of het niet vinden van prognostische associaties. Als een prognostische biomarker wordt gevonden met deze laatste methode geeft dit een bepaalde mate van betrouwbaarheid en controleerbaarheid

door de onderliggende biologische rationale. In het eerste deel van dit proefschrift worden verschillende prognostische biomarkers beschreven die met de bottom-up-analyses gevonden zijn en gebaseerd zijn op biologische hypothesen en theorieën van borstkanker-immunoediting. De uiteindelijke tumorimmuun subtypes hebben geleid tot een onafhankelijke statistisch significante prognostische variabele met een hoog onderscheidend vermogen, vergelijkbaar met die van genexpressie-profielen. Daarbij gaf onafhankelijke validatie van de tumorimmuun subtypes vergelijkbare resultaten. Het predictieve effect van HLA klasse I en Treg op chemotherapie respons, zoals eerder beschreven en bewezen in ons onderzoek, geeft een indicatie van het belang en het effect van het immuunsysteem op therapierespons. Hiermee zijn de tumorimmuun subtypes potentiële predictieve biomarkers voor bestaande systemische therapie als ook natuurlijk potentiële immunotherapieën <sup>24</sup>. Dergelijke effecten op therapierespons zijn nog niet onderzocht en blijven daarom speculatief. Een huidig nadeel aan de tumorimmuun subtypes, waardoor zij nog niet geïmplementeerd kunnen worden in klinische praktijk, is de bewerkelijkheid van de bepaling waarin meerdere immunohistochemische kleuringen en handmatige kwantificaties plaats moeten vinden. Daarbij zijn de tumorimmuun subtypes niet prognostisch in oudere borstkanker patiënten. Dit kan gedeeltelijk worden verklaard, zoals eerder omschreven, door immunosenescence of door de competitieve risico's op overlijden in oudere borstkanker patiënten.

### **Biologische verschillen in borstkanker in ouderen in vergelijking met jongeren:**

Er zijn verschillen beschreven in patiënt, tumor en behandelingskarakteristieken tussen oudere en jongere borstkanker patiënten <sup>8, 25</sup>. Dit kan komen door verschillen in onderliggende tumorbiologie. Het is daarom vaak gesuggereerd dat borstkanker in ouderen patiënten een biologisch verschillend tumortype is met een meer indolent en minder agressief en progressief karakter vergeleken met jongere patiënten. Deze hypothese spreekt recente resultaten echter tegen waarin bij toenemende leeftijd een slechtere borstkanker specifieke overleving werd gevonden <sup>26</sup>; oudere borstkankerpatiënten overleden vaker aan borstkanker ongeacht het hogere risico op mortaliteit door andere oorzaken en onafhankelijk van bekende tumor- en patiëntkarakteristieken. Onze studies toonden verschillen in distributie van essentiële biomarkers, waar minder agressieve fenotypes (minder ALDH-1 positiviteit, luminal moleculaire subtypes en minder tumorimmuun ontsappingsvarianten) werden gevonden in oudere in vergelijking met jongere borstkankerpatiënten. Een verklaring in de tegenstrijdige resultaten kan worden gevonden in de interacties tussen tumoren en hun micro-omgeving (Figuur 2).

De uitkomst van de balans tussen tumoren en hun micro-omgeving, zoals weergegeven in Figuur 2, resulteert in de prognose van patiënten: meer tumor agressiviteit resulteert in meer tumor progressie en daardoor in een verwachte slechtere prognose voor patiënten (A), lage tumor agressiviteit zou moeten resulteren in een geblokkeerde tumor progressie door een goed functionerende beschermende micro-omgeving waardoor een



**Figuur 2:** Deze figuur geeft schematisch de balans tussen de agressiviteit van de aanval van de tumor ten opzichte van de mate van verdediging van de tumor micro-omgeving hiertegen. Het aantal kubussen in de figuur geeft de “zwaarte” of sterkte weer van de aanval, en daarmee de progressie en invasie, van de tumor (links in de balans) en de verdediging van de micro-omgeving hiertegen (rechts in de balans). De uiteindelijke balans geeft het eindproduct hiervan weer waarbij: (1) de winst aan de aanval van de tumor kan vallen (weergegeven in (A) en (C)), resulterend in tumor progressie of (2) de winst aan de verdediging van de micro-omgeving kan vallen (weergegeven in (B) en (D)), resulterend in een geblokkeerde tumor progressie. (C) en (D) geven hypothetische situaties in oudere patiënten weer, waar de tumor micro-omgeving duidelijk verzwakt is ten opzichte van de micro-omgeving in jongere patiënten zoals weergegeven in (A) en (B).

betere prognose van patiënten verwacht is (B). Echter, hoewel dit vaak niet het geval is in jongere patiënten, speelt in oudere patiënten het minder goed functioneren van de verdedigingsmechanismen tegen tumoren een belangrijke rol. De situatie waarin gesuggereerd wordt dat tumoren in oudere borstkankerpatiënten een meer indolent karakter hebben en daardoor zouden moeten lijden tot een betere prognose vergeleken met jongere patiënten wordt weergegeven door situatie B of D in Figuur 2, waarbij respectievelijk de micro-omgeving en verdedigingsmechanismen even sterk worden geacht als in jongere patiënten (B) en waarin de verdedigingsmechanismen door de leeftijd minder goed functionerend zijn, maar de tumor agressiviteit vanwege de leeftijdstoename nog meer is afgenomen (D). De combinatie van een minder agressieve tumor met een sterk verminderde verdediging van de micro-omgeving resulteert in tumorprogressie en daardoor in een verwachte slechtere patiënt-prognose (C). Deze laatste situatie, waarin de micro-omgeving een sterkere achteruitgang vertoont dan de tumoragressiviteit, kan verklaren waarom minder agressieve tumoren gecombineerd met een verslechterde patiënt-prognose gevonden worden in oudere borstkankerpatiënten. Veranderingen in de omgeving van de tumor, de tumor-micro-omgeving, lijkt de brug te vormen tussen de tegenstrijdige resultaten van een minder agressieve tumor met een slechtere patiënt prognose in oudere borstkankerpatiënten. In dit scenario is het niet zo zeer de toegenomen

maligniteit van tumoren, maar de verzwakking in verdedigingsmechanismen die de tumor progressie en daarmee de prognose van de patiënten bepalen. Veranderingen in de micro-omgeving kan leiden tot een verslechtering van signalering met tumorstemcellen, waardoor een verminderde functie van deze cellen gezien kan worden en verschillen in prognostische effecten van ALDH-1 verklaard kunnen worden in oudere borstkankerpatiënten vergeleken met jongeren. Daarbij zijn de verschillen in distributie en prognostisch effect van de tumorimmuun subtypes suggestief voor onderliggende verandering in de micro-omgeving door processen als immunosenescence.

#### Prognostische biomarkers in oudere borstkanker patiënten:

Geen van de biomarkers die onderzocht zijn in dit proefschrift hebben een statistisch significant prognostisch effect in oudere borstkankerpatiënten. Dit zou verklaard kunnen worden door een combinatie van onderliggende verschillen in tumorbiologie en -gedrag, verzwakking van statistische power door verschillen in distributie van biomarkers in subcategorieën en competitieve risico's op overlijden. Geen van deze verklaringen kan door de resultaten van dit proefschrift worden uitgesloten danwel worden bevestigd. Het feit blijft dat de klinische waarde van prognostische biomarkers, gelimiteerd is in de oudere borstkankerpopulatie. We concluderen daarom ook dat validatie van biomarkers in ouderen een vereiste is, gezien de mogelijke verschillen in micro-omgeving en daarbij competitieve overlijdensrisico's invloed kunnen hebben op prognostische effecten; wat uiteindelijk significant interfereert met patiënt behandelingsmodaliteiten. Het is echter belangrijk dat prognostische biomarkers alleen een prognostisch effect kunnen hebben in patiënten wiens levensverwachting lang genoeg is en wiens competitieve overlijdensrisico daarom laag is. . Het is alleen in deze "fite" oudere borstkankerpatiënten dat biomarkers verschillen in prognose kunnen weergeven en hiermee kunnen helpen in klinische beslissingen omtrent systemische therapie. Het identificeren van deze patiënten zou daarom een eerste stap zijn in de creatie van evidence-based behandeling op maat van oudere borstkankerpatiënten.

## Reference List

- Jemal, A. *et al.* Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J. Clin.* **58**, 71-96 (2008).
- Goldhirsch, A. *et al.* Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann. Oncol.* **20**, 1319-1329 (2009).
- Zitvogel, L., Tesniere, A., & Kroemer, G. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat. Rev. Immunol.* **6**, 715-727 (2006).
- Dunn, G.P., Old, L.J., & Schreiber, R.D. The three Es of cancer immunoediting. *Annu. Rev. Immunol.* **22**, 329-360 (2004).
- Petrakis, I.E. & Paraskakis, S. Breast cancer in the elderly. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **50**, 179-184 (2010).
- Albrand, G. & Terret, C. Early breast cancer in the elderly: assessment and management considerations. *Drugs Aging* **25**, 35-45 (2008).
- Wildiers, H. *et al.* Management of breast cancer in elderly individuals: recommendations of the International Society of Geriatric Oncology. *Lancet Oncol.* **8**, 1101-1115 (2007).
- Diab, S.G., Elledge, R.M., & Clark, G.M. Tumor characteristics and clinical outcome of elderly women with breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **92**, 550-556 (2000).
- Algarra, I., Garcia-Lora, A., Cabrera, T., Ruiz-Cabello, F., & Garrido, F. The selection of tumor variants with altered expression of classical and nonclassical MHC class I molecules: implications for tumor immune escape. *Cancer Immunol. Immunother.* **53**, 904-910 (2004).
- Cerwenka, A., Baron, J.L., & Lanier, L.L. Ectopic expression of retinoic acid early inducible-1 gene (RAE-1) permits natural killer cell-mediated rejection of a MHC class I-bearing tumor in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **98**, 11521-11526 (2001).
- Kovats, S. *et al.* A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science* **248**, 220-223 (1990).
- Wei, X.H. & Orr, H.T. Differential expression of HLA-E, HLA-F, and HLA-G transcripts in human tissue. *Hum. Immunol.* **29**, 131-142 (1990).
- Champsaur, M. & Lanier, L.L. Effect of NKG2D ligand expression on host immune responses. *Immunol. Rev.* **235**, 267-285 (2010).
- Al-Hajj, M., Wicha, M.S., Benito-Hernandez, A., Morrison, S.J., & Clarke, M.F. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **100**, 3983-3988 (2003).
- Teschendorff, A.E. *et al.* Age-dependent DNA methylation of genes that are suppressed in stem cells is a hallmark of cancer. *Genome Res.* **20**, 440-446 (2010).
- Perou, C.M. *et al.* Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* **406**, 747-752 (2000).
- Fulop, T. *et al.* Potential role of immunosenescence in cancer development. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1197**, 158-165 (2010).
- Ehrlich P. Ueber den jetzigen Stand der Karzinomforschung. 5, 273-290. 1909. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*
- Dunn, G.P., Old, L.J., & Schreiber, R.D. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. *Immunity.* **21**, 137-148 (2004).
- Harris, L. *et al.* American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* **25**, 5287-5312 (2007).
- Michiels, S., Koscielny, S., & Hill, C. Prediction of cancer outcome with microarrays: a multiple random validation strategy. *Lancet* **365**, 488-492 (2005).
- van de Vijver M.J. *et al.* A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. *N. Engl. J. Med.* **347**, 1999-2009 (2002).
- Sotiriou, C. & Pusztai, L. Gene-expression signatures in breast cancer. *N. Engl. J. Med.* **360**, 790-800 (2009).
- DeNardo, D.G. *et al.* Leukocyte complexity predicts breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy. *Cancer Discov.* **1**, 54-67 (2011).
- Remvikos, Y., Magdelenat, H., & Dutrillaux, B. Genetic evolution of breast cancers. III: Age-dependent variations in the correlations between biological indicators of prognosis. *Breast Cancer Res. Treat.* **34**, 25-33 (1995).
- van de Water W. *et al.* Association between age at diagnosis and disease-specific mortality among postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer. *JAMA* **307**, 590-597 (2012).