



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Applications of the tumor-stroma ratio: Towards clinical implementation**

Pelt, G.W. van

### **Citation**

Pelt, G. W. van. (2020, September 30). *Applications of the tumor-stroma ratio: Towards clinical implementation*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/136913>

Version: 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/1887/136913>

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

Cover Page



Universiteit Leiden

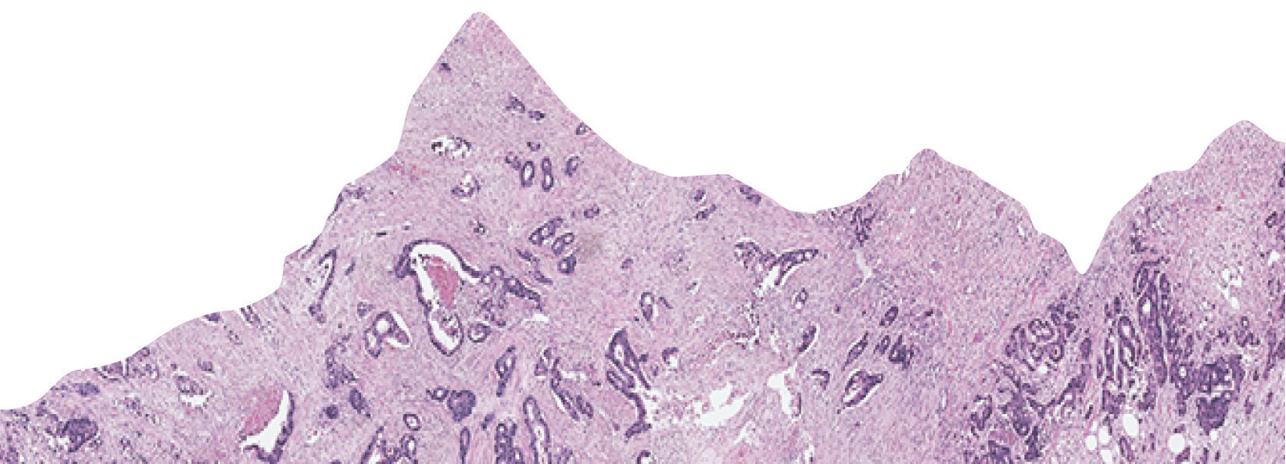


The handle <http://hdl.handle.net/1887/136913> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Pelt, G.W. van

**Title:** Applications of the tumor-stroma ratio: Towards clinical implementation

**Issue date:** 2020-09-30



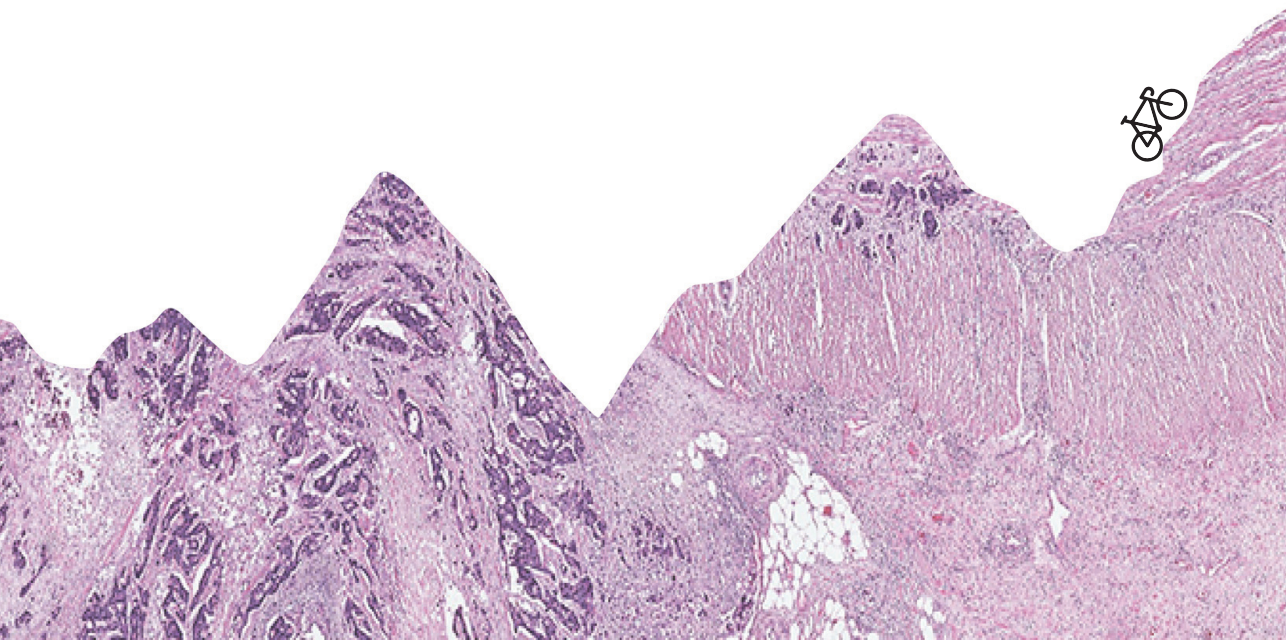
# CHAPTER 10

Nederlandse samenvatting

List of Publications

Curriculum Vitae

Dankwoord



## Nederlandse samenvatting

De kans op het overleven van kanker is de laatste jaren toegenomen, enerzijds door screeningsonderzoeken voor verschillende typen kanker (zoals bijvoorbeeld het bevolkingsonderzoek voor borst- en darmkanker), anderzijds door verbeterde behandelingen. Om deze trend in de toegenomen overleving door te zetten is het van belang het risico op terugkeer van de ziekte of de kans dat de patiënt zal overlijden aan de gevolgen van kanker te kunnen inschatten. Door een betere risicoschatting kunnen patiënten op maat behandeld worden, waardoor onder- en overbehandeling zoveel mogelijk kan worden voorkomen.

Het inschatten van de agressiviteit van een tumor gebeurt in de praktijk momenteel met behulp van het T (tumor), N (nodes; lymfeklieren), M (metastasen; uitzaaiingen) (TNM) classificatie systeem. Dit is voornamelijk gebaseerd op anatomische uitbreiding van de tumor.

De afgelopen jaren is duidelijk geworden dat de omgeving waarin de tumorcellen zich bevinden, ook wel tumor stroma genoemd, van belangrijke invloed is op de groei van de tumor en de ontwikkeling van metastasen. Tumor stroma bestaat uit verschillende componenten, zoals bindweefsel, fibroblasten, bloedvaten en cellen van het afweersysteem. Kankercellen en stromale cellen hebben een complexe interactie met elkaar die de ontwikkeling van kanker op verschillende manieren kan beïnvloeden. Ondanks deze vernieuwde inzichten zijn er tot op heden nog geen markers beschikbaar in de klinische praktijk voor de inschatting van de prognose die gericht zijn op het tumor stroma.

Dit proefschrift beschrijft de verschillende toepassingen van de tumor-stroma ratio (TSR). De TSR is de hoeveelheid stroma aanwezig in de tumor ten opzichte van de hoeveelheid tumor, uitgedrukt in een percentage. In **hoofdstuk 2** wordt een literatuuroverzicht gegeven over de samenstelling van het tumor stroma en de biologische rol die tumor stroma speelt in de ontwikkeling en progressie van dikke darmkanker. Doordat tumor stroma uit veel verschillende celtypen bestaat, biedt dit mogelijkheden voor het ontwikkelen van therapie gericht op specifiek celtypen (zgn. targeted therapie).

**Hoofdstuk 3** beschrijft een gedetailleerd protocol voor het bepalen van de TSR in dikke darmkanker. De overvloed aan artikelen in de literatuur laat zien dat deze methode echter ook gebruikt kan worden voor andere typen kanker, zoals slokdarm-, borst- en longkanker. De TSR wordt microscopisch bepaald op een stukje tumorweefsel, dat in de diagnostiek al gebruikt wordt door de patholoog om het stadium en type van de tumor te bepalen. Het grote voordeel

van deze methode is dan ook dat het vrijwel geen aanvullende kosten met zich mee brengt en dat het een snelle en makkelijke methode is. Patiënten met veel stroma in het tumorweefsel (>50%, stroma-hoog) hebben een hogere kans op overlijden aan de ziekte, terugkeer van de ziekte of de ontwikkeling van metastasen in vergelijking met patiënten die weinig stroma in de tumor hebben (≤50%, stroma-laag).

Behalve het bepalen van de TSR in de primaire tumor hebben we ook onderzocht of de TSR in lymfeklieren met metastasen een aanvulling kan zijn op de prognose van patiënten met stadium III dikke darmkanker. Het onderzoeken van lymfeklieren op de aanwezigheid van metastasen is van groot belang voor de bepaling van de behandeling. Hoewel het aantal onderzochte lymfeklieren per patiënt is toegenomen, heeft dit niet geleid tot een toename van tumoren met een hoger stadium<sup>1</sup>. Hierdoor rijst de vraag of er meer informatie te halen is uit de weefselsamenstelling van de lymfekliermetastasen.

**Hoofdstuk 4** beschrijft het onderzoek naar de TSR in de primaire tumor en de lymfeklieren van 102 patiënten met stadium III dikke darmkanker. Behalve dat de resultaten lieten zien dat het bepalen van de TSR in de lymfeklieren van toegevoegde waarde is voor het vaststellen van de prognose van de patiënt, viel vooral het verschil tussen de TSR van de primaire tumor en de TSR van de lymfeklieren op. Bijna de helft van de patiënten had een stroma-hoog tumor en stroma-laag lymfeklieren of andersom. Dit komt overeen met eerdere moleculaire studies naar de expressie van prognostische markers. Deze studies lieten zien dat er een verschil is in expressie tussen de primaire tumor en de lymfeklieren, wat belangrijk kan zijn voor de behandeling van de patiënt<sup>2-4</sup>. Behalve voor dikke darmkanker spelen metastasen in lymfeklieren ook een belangrijke rol voor het bepalen van de prognose van borstkankerpatiënten. Het onderzoek beschreven in hoofdstuk 4 is ook uitgevoerd in borstkankerpatiënten door Vangangelt et al. met vergelijkbare resultaten<sup>5</sup>, en beide studies zijn samengevat in **hoofdstuk 5**.

De aanwezigheid van een specifieke mutatie in het *BRAF* gen (*BRAF V600E*) is één van de biomarkers die momenteel gebruikt wordt in de kliniek, al is dat nu vooral bij patiënten met gemetastaseerde dikke darmkanker. Er is echter steeds meer bewijs dat de aanwezigheid van deze mutatie ook voor een slechtere prognose zorgt bij patiënten met stadium II en III dikke darmkanker<sup>6-8</sup>. De resultaten van onze studie zoals beschreven in **hoofdstuk 6** onderbouwen dit. In deze studie vonden we dat vooral patiënten met een stroma-hoog tumor in combinatie met de *BRAF* mutatie een zeer slechte 5-jaars ziektevrije overleving hadden, slechter dan wanneer slechts één van beide markers ongunstig was, of elke andere combinatie van deze

markers. Opmerkelijk genoeg maakte de aan- of afwezigheid van de *BRAF* mutatie voor de patiënten met een stroma-laag tumor geen verschil. Dit wijst erop dat voor de patiënten met een stroma-hoog tumor het testen op een *BRAF* mutatie van belang kan zijn, zodat de behandelstrategie daarop aangepast kan worden.

De prognostische waarde van de TSR is inmiddels erkend en bewezen, ook door andere (inter)nationale studies. Echter, doordat pre-operatieve radio- en/of chemotherapie de samenstelling van het tumorweefsel verandert en de TSR daardoor niet goed te bepalen is, kunnen patiënten die voorbehandeld worden niet geïnccludeerd worden in TSR studies. Deze behandeling wordt vooral gegeven bij rectum-, slokdarm- en maagkanker. Als alternatief zou voor deze patiënten het diagnostische biopst gebruikt kunnen worden om de TSR te bepalen, ook al is het biopst soms niet representatief voor de gehele tumor<sup>9</sup>.

Een andere optie om de TSR van het biopst te gebruiken is om de reactie op pre-operatieve behandeling te voorspellen. In **hoofdstuk 7** en **hoofdstuk 8** hebben we deze optie onderzocht in respectievelijk rectum- en slokdarmkankerpatiënten die voorbehandeld werden met chemoradiatie. Beide studies lieten zien dat patiënten met een stroma-hoog tumor vaker niet reageerden op de voorbehandeling in vergelijking met patiënten met een stroma-laag tumor. Hoewel beide studies een relatief klein aantal patiënten bevatten, en er nog validatie in grotere patiëntgroepen nodig is, laten ze wel zien dat het stroma een belangrijke rol kan spelen in het ontwikkelen van voorspellingsmodellen voor de reactie op pre-operatieve behandeling, als aanvulling op de huidige gebruikte beeldvorming. Als patiënten met een stroma-hoog tumor slecht reageren op de voorbehandeling, dan zou overwogen kunnen worden deze patiënten niet voor te behandelen, maar meteen door te gaan met het operatief verwijderen van de tumor. Op die manier worden ze ook niet blootgesteld aan de bijwerkingen van radio- en/of chemotherapie.

## **Toekomstperspectieven**

Het voornaamste doel van het onderzoek naar de TSR bepaling is het implementeren van de methode in de dagelijkse praktijk bij de internationale richtlijnen, naast het huidige TNM classificatie systeem. Hiermee kunnen hoog-risico patiënten geselecteerd worden die aanvullende, of aangepaste, therapie nodig hebben of laag-risico patiënten die misschien geen aanvullende therapie nodig hebben. Om dit te bereiken is er een internationale multicenter studie opgezet, waarin pathologen geïnstrueerd worden middels een e-learning hoe de TSR

te scoren en daarnaast worden stadium II en III dikke darmkankerpatiënten geïncludeerd om de prognostische waarde van de TSR te valideren in een prospectief cohort <sup>10</sup>.

Behalve de al beschreven toepassingen van de TSR in biopten, zijn er nog andere klinische toepassingen voor de TSR van het biopt. Zo is het gebleken dat de TSR in biopten voorspellend is voor de aanwezigheid van lymfekliermetastasen <sup>11</sup>. Verder is aangetoond dat de TSR en expressie van andere factoren, zoals bijvoorbeeld immuuncellen, in het tumor stroma in biopten vergelijkbaar zijn met die in de primaire tumor. Dit zou betekenen dat de bepaling van de TSR en deze andere factoren in het biopt gebruikt kunnen worden voor het bepalen van de juiste behandeling <sup>12</sup>.

Dat de juiste, gepersonaliseerde behandeling van groot belang is, blijkt uit de resultaten dat patiënten met een stroma-hoog tumor, zeker in combinatie met een *BRAF* mutatie een zeer slechte prognose hebben. Stroma-hoog tumoren lijken een omgeving te creëren waar (chemo)therapeutica niet of nauwelijks tot door kunnen dringen, waardoor er nauwelijks reactie op de therapie is of deze tumoren zelfs resistent kunnen worden <sup>13-14</sup>. Voor deze patiënten zouden huidige therapieën moeten worden aangepast of nieuwe therapieën ontwikkeld. Hierbij wordt steeds vaker ingezet op het "targetten" van zowel specifieke tumorcellen als stromale cellen voor het beste effect <sup>15</sup>.

De aanwezigheid van tumor stroma kan behalve voor diagnostiek en prognose ook een functie hebben in monitoring van de ziekte, zowel pre-operatief als na chirurgie. Door middel van *PET-CT scan imaging, image guided surgery of theranostics* kunnen tumoren gevisualiseerd worden voor, tijdens en na de behandeling. Met deze methoden worden cellen zichtbaar gemaakt door er een label/target aan te hangen. Dit kan niet alleen met tumorcellen, maar ook met stromale cellen, waarmee tegelijkertijd de agressiviteit van de tumor bepaald kan worden. In het geval van theranostics worden de gelabelde cellen zelfs direct behandeld door middel van radiotherapie. Het combineren van deze technieken levert de unieke situatie op dat het in kaart brengen van de tumor direct gecombineerd kan worden met therapie <sup>16-19</sup>.

Tot slot is er momenteel een trend in de digitalisering van de diagnostische workflow van de pathologie. Dit leidt haast onvermijdelijk tot de automatisering van de bepaling van de TSR, zodat dit ook in de toekomst blijft passen binnen de dagelijkse routine. En hoewel het al mogelijk is om digitale beelden van tumorweefsel te analyseren voor TSR door gebruik te maken van circulaire annotaties, blijft het vooralsnog een uitdaging om dit volledig geautomatiseerd te



kunnen. Dit wordt voornamelijk veroorzaakt door variaties in de bewerking van het weefsel en de kleuring, wat betekent dat men ook hierbij niet ontkomt aan automatisering en standaardisering.

Samengevat laten de onderzoeken beschreven in dit proefschrift zien dat de TSR een sterke prognostische waarde heeft en dat er vele mogelijkheden zijn om de TSR/het tumor stroma te gebruiken in diagnostiek, monitoring en/of behandeling. Gezien het feit dat het bepalen van de TSR een snelle, makkelijke en goedkope methode is, kan het met weinig moeite in de dagelijkse praktijk geïmplementeerd worden!

## Referenties

1. Parsons HM, Tuttle TM, Kuntz KM *et al.* Association between lymph node evaluation for colon cancer and node positivity over the past 20 years. *Jama* 2011; 10: 1089-1097
2. McKay JA, Douglas JJ, Ross VG *et al.* Expression of cell cycle control proteins in primary colorectal tumors does not always predict expression in lymph node metastases. *Clin Cancer Res* 2000; 3: 1113-1118
3. McKay JA, Murray LJ, Curran S *et al.* Evaluation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal tumours and lymph node metastases. *Eur J Cancer* 2002; 17: 2258-2264
4. Zalata KR, Elshal MF, Foda AA, Shoma A. Genetic dissimilarity between primary colorectal carcinomas and their lymph node metastases: ploidy, p53, bcl-2, and c-myc expression--a pilot study. *Tumour Biol* 2015; 8: 6579-6584
5. Vangangelt KMH, Tollenaar LSA, van Pelt GW *et al.* The prognostic value of tumor-stroma ratio in tumor-positive axillary lymph nodes of breast cancer patients. *Int J Cancer* 2018; 12: 3194-3200
6. Domingo E, Camps C, Kaisaki PJ *et al.* Mutation burden and other molecular markers of prognosis in colorectal cancer treated with curative intent: results from the QUASAR 2 clinical trial and an Australian community-based series. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2018; 9: 635-643
7. Taieb J, Le Malicot K, Shi Q *et al.* Prognostic Value of BRAF and KRAS Mutations in MSI and MSS Stage III Colon Cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2016; 5: djw272
8. Roth AD, Delorenzi M, Tejpar S *et al.* Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012; 21: 1635-1646
9. Courrech Staal EF, Smit VT, van Velthuysen ML *et al.* Reproducibility and validation of tumour stroma ratio scoring on oesophageal adenocarcinoma biopsies. *Eur J Cancer* 2011; 3: 375-382
10. Smit M, van Pelt G, Roodvoets A *et al.* Uniform Noting for International Application of the Tumor-Stroma Ratio as an Easy Diagnostic Tool: Protocol for a Multicenter Prospective Cohort Study. *JMIR Res Protoc* 2019; 6: e13464
11. Fu M, Chen D, Luo F *et al.* Association of the tumour stroma percentage in the preoperative biopsies with lymph node metastasis in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2019;
12. Park JH, van Wyk H, McMillan DC *et al.* Preoperative, biopsy-based assessment of the tumour microenvironment in patients with primary operable colorectal cancer. *J Pathol Clin Res* 2019;
13. Lotti F, Jarrar AM, Pai RK *et al.* Chemotherapy activates cancer-associated fibroblasts to maintain colorectal cancer-initiating cells by IL-17A. *J Exp Med* 2013; 13: 2851-2872
14. Lu J, Ye X, Fan F *et al.* Endothelial cells promote the colorectal cancer stem cell phenotype through a soluble form of Jagged-1. *Cancer Cell* 2013; 2: 171-185
15. Valkenburg KC, de Groot AE, Pienta KJ. Targeting the tumour stroma to improve cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2018; 6: 366-381
16. de Geus-Oei LF, Ruers TJ, Punt CJ *et al.* FDG-PET in colorectal cancer. *Cancer Imaging* 2006; S71-81

17. Sibinga Mulder BG, Handgraaf HJ, Vugts DJ *et al.* A dual-labeled cRGD-based PET/optical tracer for pre-operative staging and intraoperative treatment of colorectal cancer. *American Journal of Nuclear Medicine & Molecular Imaging* 2018; 5: 282-291
18. Singh D, Dilnawaz F, Sahoo SK. Challenges of moving theranostic nanomedicine into the clinic. *Nanomedicine (Lond)* 2020;
19. Vahrmeijer AL, Hutteman M, van der Vorst JR, van de Velde CJ, Frangioni JV. Image-guided cancer surgery using near-infrared fluorescence. *Nat Rev Clin Oncol* 2013; 9: 507-518