



Universiteit
Leiden
The Netherlands

The tumor-stroma ratio in epithelial cancer types: towards implementation in diagnostic pathology

Smit, M.A.

Citation

Smit, M. A. (2022, June 30). *The tumor-stroma ratio in epithelial cancer types: towards implementation in diagnostic pathology*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3421285>

Version: Publisher's Version

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

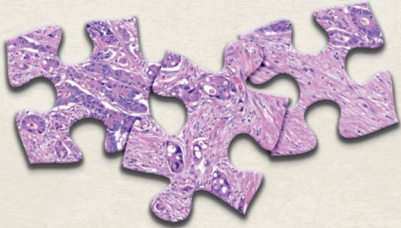
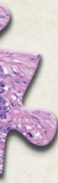
Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3421285>

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



CHAPTER 11

Appendices



Nederlandse Samenvatting

In dit proefschrift is beschreven welke stappen nodig zijn voor de implementatie van de tumor-stroma ratio (TSR) in de klinische diagnostiek van de pathologie. De tumor-stroma ratio (TSR) is een nieuwe factor (biomarker) voor het voorspellen van het ziektebeloop van een patiënt met kanker en mede hierdoor voor het zo optimaal mogelijk te kiezen voor al dan geen (chemo)therapie.

Voor de invoering van de TSR in de diagnostiek is een route bewandeld van de ontwikkeling van deze biomarker in het laboratorium tot de noodzakelijke stappen voor implementatie. Tijdens dit proces is tevens gekeken naar de relatie van de TSR tot andere beschikbare prognostische biomarkers voor zowel borst- en darmkanker. Daarnaast is de prognostische waarde van de TSR bij longkankerpatiënten onderzocht. Het gevolgde stappenplan kan toegepast worden voor alle soorten kanker waarvoor de voorspellende (ook wel prognostische) waarde van de TSR reeds is gevalideerd.

Darmkanker en prognose

Darmkanker (coloncarcinoom) is een van de meest voorkomende kankersoorten wereldwijd (1). Hoewel de overlevingskansen toenemen door onder andere het bevolkingsonderzoek en nieuwe behandelingen, is er nog steeds ruimte voor verbetering (2). In de dagelijkse praktijk wordt voor de stadiëring (gradering van ernst van de ziekte) gebruik gemaakt van de TNM-classificatie (Tumor Node Metastasis) in combinatie met enkele hoog-risicofactoren. Het TNM-stadium is de basis voor de prognose en behandeling (3, 4). De huidige richtlijn voor darmkanker adviseert adjuvante (aanvullende) chemotherapie voor patiënten met een tumor stadium III of stadium II met één of meer hoog risicofactoren. Ondanks de selectiecriteria voor adjuvante chemotherapie is er nog veel over- en onderbehandeling. Er zijn nog steeds patiënten die geen baat hebben van adjuvante behandeling en dus overbehandeld worden met alle vervelende bijwerkingen. Een ander deel van patiënten welke niet adjuvant behandeld wordt volgens de huidige richtlijnen, ontwikkelt een recidief of metastase (uitzaaiing) en wordt eigenlijk onderbehandeld (5). Dit verschil weerspiegelt het feit dat ziekteprogressie door meer wordt veroorzaakt dan stadiëring alleen. Er is een enorme diversiteit in uitkomst van tumoren binnen één ziektestadium, hetgeen de noodzaak benadrukt voor betere risicostratificatie gericht op de individuele patiënt. De ontwikkeling van aanvullende criteria is noodzakelijk om die patiënten te selecteren die risico lopen op ziekteprogressie, een recidief en/of metastase (uitzaaiing) en daarnaast ook om de oudere patiënt met comorbiditeit met een minder agressieve tumor niet aan onnodige zware behandeling bloot te stellen.

Personalised medicine (een gepersonaliseerde aanpak voor elke patiënt op basis van meerdere persoonlijke factoren) wordt steeds belangrijker in de oncologie. Hierbij wordt

niet alleen rekening gehouden met de huidige toestand en de medische voorgeschiedenis van de patiënt, maar ook met het tumorstadium en andere kenmerken van de tumor, zoals bijvoorbeeld genetische veranderingen. Naast de ontwikkeling van nieuwe behandelstrategieën op basis van bijvoorbeeld tumorkenmerken, zijn er namelijk ook nieuwe laboratoriumtechnieken in ontwikkeling. De afgelopen jaren is DNA-analyse en ‘whole genome sequencing’ (WGS) van tumoren steeds meer beschikbaar geworden voor patiënten, wat heeft geleid tot een beter inzicht in de tumorbiologie. Het indelen van tumoren op basis van deze tumorbiologie, in combinatie met de huidige TNM-classificatie, helpt op haar beurt patiënten te identificeren die het risico lopen op een meer agressief ziektebeloop en die mogelijk baat kunnen hebben bij een adjuvante behandeling. Niet alleen op het gebied van de moleculaire pathologie zijn nieuwe technieken ontwikkeld, maar ook op het gebied van de histopathologie (weefselonderzoek) worden nieuwe methoden geïntroduceerd. Daarin speelt het micro-milieu van de tumor, ofwel het tumor-stroma, en bepaalde gerelateerde kenmerken daarvan momenteel een grote rol.

Biomarkers

Biomarkers zijn meetbare factoren van normale biologische of pathogene processen en worden bestudeerd voor een beter begrip van het biologische gedrag van de tumor. Biomarkers kunnen informatief zijn voor de prognostische waarde, d.w.z. voorspellende waarde van ziekte gerelateerde uitkomst voor de patiënt zoals kans op terugkeer van ziekte of overleving; en/of de predictieve waarde, welke de kans op respons op therapie beschrijft (6, 7). Een prognostische biomarker is niet per definitie een predictieve biomarker, of vice versa. Voordat een nieuwe biomarker in de dagelijkse praktijk kan worden toegepast, moet er aan bepaalde criteria worden voldaan. Robuustheid, reproduceerbaarheid en validiteit zijn een vereiste. Een biomarker wordt bij voorkeur gevalideerd in een prospectieve setting, idealiter multicenter, met kwaliteitscontrole tijdens het proces (7, 8). Bovendien wordt het sterk aanbevolen om een nauwkeurige beschrijving van de methode, inclusief laboratoriumtechnieken en/of scoringsprotocollen te publiceren (7).

Tumor-stroma ratio

De laatste decennia is het duidelijk geworden dat niet alleen tumorcellen binnen de tumor een rol spelen, maar ook het micro-milieu, met als onderdeel daarvan het tumor-stroma. Het tumor-stroma speelt een belangrijke rol in de ontwikkeling en progressie van tumoren. Een nieuwe biomarker welke is ontdekt door onze groep, is de tumor-stroma ratio (TSR). Deze biomarker is gebaseerd op de hoeveelheid stroma in de primaire tumor. Het is een onafhankelijke prognostische biomarker gebleken voor ziektevrije en algehele overleving bij diverse kankertypes, waaronder darmkanker (9-11). De scoringsmethode voor de TSR is gebaseerd op de hoeveelheid stroma in verhouding tot de hoeveelheid tumorcellen. De methode is robuust en is in detail beschreven (12). Ervaren pathologen kunnen de TSR in de dagelijkse praktijk gemakkelijk scoren op diagnostische hematoxyline en eosine

(H&E) gekleurde weefselcoupes (plakjes van de tumor) in relatief korte tijd (1-2 minuten). De hoeveelheid stroma wordt gescoord in veelvouden van 10 procent. Tumoren worden vervolgens ingedeeld in twee groepen: 1) tumoren met weinig stroma, 50 procent of minder stroma, ook wel stroma-laag; 2) tumoren met veel stroma, meer dan 50 procent stroma, ook wel stroma-hoog. Patiënten met tumoren met veel stroma hebben een slechtere ziektevrije en algehele overleving (11, 12).

Om te voldoen aan de criteria voor invoering van de TSR als nieuwe biomarker in het diagnostisch proces tijdens pathologie, werd de UNITED studie (Uniform Noting for International application of the Tumor-stroma ratio as Easy Diagnostic tool) opgezet. In hoofdstuk 2 is het UNITED studieprotocol beschreven. In het eerste deel van de UNITED studie is een E-learning ontwikkeld om pathologen te instrueren en om de reproduceerbaarheid van de TSR-scoringsmethode te bevestigen. Het laatste deel van de UNITED studie is erop gericht om de prognostische waarde van de TSR in een prospectief darmkanker cohort te valideren. Om de UNITED studie onder de aandacht te brengen bij pathologen wereldwijd, is een artikel gepubliceerd in 'The Pathologist' (een vaktijdschrift voor pathologen). Dit artikel is te vinden in hoofdstuk 3.

E-learning

Een biomarker moet reproduceerbaar zijn en dezelfde uitkomst geven als deze door verschillende pathologen beoordeeld wordt. Cohen's kappa is de statistische analyse die hiervoor wordt toegepast. Bij deze test wordt gekeken naar de overeenstemming van de scores, gecorrigeerd voor toeval, met een getal tussen 0-1 als resultaat. 0 betekent geen overeenstemming, 1 betekent een perfecte overeenstemming (dus dezelfde scores) (13). De eerder gepubliceerde intra- en interobserver overeenkomsten voor het scoren van de TSR zijn beoordeeld als "goed" (Cohen's kappa tussen 0,6-0,9). Deze gepubliceerde interobserver overeenkomsten zijn bepaald tussen twee of maximaal vier pathologen (12, 14). Er zijn geen gegevens beschikbaar over hoe deze pathologen zijn opgeleid en hoe de leercurve is voor de scoringsmethode van de TSR.

In hoofdstuk 4 worden de resultaten van de reproduceerbaarheidsstudie middels E-learning gepresenteerd (15). Voor pathologen (of arts-assistenten pathologie) deelnemen aan de UNITED prospectieve validatiestudie, dient de E-learning voor het scoren van de TSR te zijn afgerond met een goede (vooraf vastgestelde) intra- en interobserver overeenkomst (Cohen's kappa ten minste $>0,7$). Dit hoofdstuk laat een significante vooruitgang zien van de training set naar de test set voor het scoren van de TSR; en er werd geen terugval gezien na een stop (wash-out) periode van twee maanden. Dit betekent dat voor pathologen de TSR-scoringsmethode eenvoudig te leren is met een E-learning module en dat de TSR een goed reproduceerbare methode is.

Eén van de meest voorkomende fouten bij de E-learning was het scoren van de TSR aan het invasieve gedeelte van de tumor, in plaats van een gekozen gebied met de grootste hoeveelheid stroma. Dankzij de E-learning hebben we dit inzicht verkregen en zijn we ons nu bewust van deze misinterpretatie van het scoringsprotocol en is het mogelijk hierop te anticiperen.

Zoals ook gezien bij andere medische specialismen kunnen we concluderen dat een E-learning een goede en gemakkelijke methode is om een nieuwe techniek te leren en te introduceren (16-20). Eén van de voordelen van scholing via E-learning is dat deelnemers, bijvoorbeeld specialisten en arts-assistenten, gelijktijdig en wereldwijd kunnen worden bereikt. Bovendien kunnen de leercurven worden gevolgd en kan er gerichte terugkoppeling worden gegeven.

Digitale pathologie

Pathologie wordt de laatste jaren steeds meer gedigitaliseerd en geautomatiseerd. Dit biedt ook mogelijkheden voor automatisering van de TSR-methode. Het visueel scoren van de TSR kan een uitdaging vormen in tumoren die 50 tot 60 procent stroma bevatten, het zogenaamde “grijze gebied”. Bij interobserver analyse kunnen in deze gevallen discrepanties ontstaan. Geautomatiseerde kwantificering van het absolute stromapercentage zou meer duidelijkheid kunnen bieden voor scores rond de afkapwaarde.

Kunstmatige intelligentie-algoritmen zijn gevoelig voor variërende kleurintensiteiten van H&E gekleurde weefselcoupes, waardoor het nodig is dat de kleuring genormaliseerd wordt (21). Naast de grote gevoeligheid voor kleurvariatie is het algoritme niet in staat context te zien. Het algoritme herkent alleen cellen en kleuren op basis van de training procedure. Dit probleem kan gedeeltelijk worden verholpen door duizenden gevallen aan een algoritme te laten zien als training voor de robuustheid van het algoritme. Soms is echter menselijke interactie nodig om de context te zien. Voor deze gevallen zou een semi-geautomatiseerde methode de patholoog kunnen ondersteunen om het exacte percentage stroma te kwantificeren.

In hoofdstuk 5 is onderzocht of de TSR (semi-)automatisch gescoord kan worden met behulp van deep learning algoritmen en is dit vergeleken met het visueel scoren van de TSR. Verder is de kwaliteit van het scoren van de TSR door deep learning algoritmen beoordeeld.

Het semiautomatische algoritme kwantificeert het stroma-percentage in een door de patholoog gekozen gebied. De resultaten laten zien dat het semiautomatische TSR-algoritme goed overeenkomt met de visuele microscopische beoordeling.

Het volledig automatische scoringsalgoritme voor de TSR vertoonde een redelijke correlatie met de met de visueel microscopisch gescoorde TSR. Bij het volledig automatische algoritme is ook door het algoritme het te scoren gebied gekozen. Echter, in sommige gevallen werd door het algoritme een gebied geselecteerd welke voor TSR-bepaling niet optimaal was (het gekozen gebied niet volledig voldeed aan de scoringscriteria) en voor visuele beoordeling met de microscoop niet gekozen zou zijn.

In de dagelijkse praktijk zou de workflow er als volgt uit kunnen zien: 1) het algoritme toont een heatmap van de hoeveelheid stroma en toont de drie plekken met de hoogste stromadichtheid. 2) De patholoog kiest de plek die hij/zij van toepassing acht, en het algoritme zal de exacte hoeveelheid stroma aangeven. 3) De patholoog neemt dit percentage op voor de classificatie en risicostratificatie in de klinische besluitvorming.

Er is meer onderzoek verricht op het gebied van automatisering en kunstmatige intelligentie om de hoeveelheid tumorstroma te kwantificeren. Zhao et al. (22) toonden aan dat de hoeveelheid stroma een prognostische waarde heeft wanneer dit is bepaald op gehele coupes van darmkanker tumoren. In hoofdstuk 6 wordt onze visie op dit artikel gegeven (23). Het belangrijkste verschil zit in de methode van scoring. Zhao et al. gebruikten het totale tumor-stroma percentage, gescoord over de gehele coupe. Dit is in contrast met het scoren van de TSR met de microscoop waarbij scoren van de TSR in één hotspot (gebied met hoogste percentage stroma) gebeurt. De vraag rijst of het nog steeds nodig is de TSR op één hotspot te scoren of dat deze op het gehele tumorgebied kan worden bepaald. Bij het verschil tussen deze twee methoden is de klinische relevantie van belang; meer onderzoek (grotere validatiestudie) is nodig om deze vragen te beantwoorden.

Tumor budding

Naast de TSR zijn de laatste jaren veel andere biomarkers bestudeerd, waaronder tumor budding. Patiënten met een tumor met veel budding (losliggende tumorcellen) hebben een slechtere overleving dan patiënten met een tumor met weinig budding. Tumor budding kan, net als de TSR, worden gescoord tijdens routinediagnostiek door de patholoog op H&E-gekleurde coupeglasjes. Een tumor bud wordt gedefinieerd als een enkele tumorcel of een kleine cluster (tot 4 tumorcellen) aan de invasieve zijde van de tumor. Voor stadium I en II coloncarcinoom wordt aanbevolen tumor budding te scoren en te rapporteren. Voor stadium III is deze aanbeveling er niet (24). Tumor budding kan op verschillende manieren worden gescoord, zodat een grote spreiding van interobserver-overeenkomsten wordt gerapporteerd. In enkele onderzoeken werd slechts een zwakke correlatie (Cohen's kappa 0,2-0,4) beschreven tussen twee waarnemers, ondanks het feit dat er een consensus overeenkomst voor het scoringsprotocol is gepubliceerd (24).

In hoofdstuk 7 wordt de prognostische waarde van de TSR en tumor budding bestudeerd en worden beide biomarkers vergeleken. Recent is geadviseerd om tumor budding als hoog-risico factor te scoren bij stadium I en stadium II darmkanker tumoren (25). De TSR wordt nog steeds gebruikt in onderzoek setting. De studie in hoofdstuk 7 toonde de onafhankelijke prognostische waarde van TSR voor ziektevrije overleving (DFS), maar er werd geen onafhankelijk prognostische waarde gezien voor algehele overleving (OS). Tumor budding toonde in eerste instantie (univariate analyse) een significante correlatie met DFS en OS, maar uiteindelijk bleek het geen onafhankelijke prognostische biomarker te zijn (het prognostisch effect werd niet gezien in multivariate analyse) (26).

Er werd een associatie aangetoond tussen TSR en tumor budding, hetgeen eerder gepubliceerd onderzoek bevestigt (27, 28).

In hoofdstuk 7 onderzochten we ook de reproduceerbaarheid van de TSR en tumor budding, we concludeerden dat de TSR makkelijker te reproduceren is (26). Beide bevindingen kunnen worden geïnterpreteerd als het feit dat de TSR een sterke concurrent is van tumor budding, en dat het interessant zou zijn om de TSR als biomarker te gebruiken naast reeds bekende hoog-risico factoren die al in de dagelijkse praktijk worden gebruikt.

Andere tumortypes en de TSR

De TSR is een prognostische biomarker gebleken bij diverse epitheliale kankersoorten, waaronder borstkanker. De scoringsmethode is identiek, evenals de bevinding dat tumoren met een hoog stromapercentage tot een slechter ziektebeloop leidt (9-11). Bij borstkanker wordt soms bij de diagnostiek gebruik gemaakt van een moleculaire test, het 70-genen profiel (70-GS) ook bekend als de MammaPrint®, voor de identificatie van subgroepen van patiënten die waarschijnlijk baat zullen hebben bij adjuvante chemotherapie na curatieve chirurgie (29, 30). Dit panel van 70 genen omvat zowel tumor- als stroma-gerelateerde genen (29, 30). De TSR en de 70-GS hebben beide aangetoond onafhankelijke prognostische biomarkers te zijn in specifieke subgroepen. De TSR is van meer prognostische waarde in triple negatieve en oestrogeen receptor negatieve borstkanker tumoren vergeleken met andere subtypes (31, 32). In hoofdstuk 8 is de associatie tussen het 70-GS en de TSR bij borstkanker onderzocht (33). Er werd geen associatie gevonden tussen het 70-GS en de TSR. Een associatie werd verwacht, omdat het 70-GS ook stromale genen bevat, maar dit kon niet worden bevestigd. Dit resultaat suggereert dat beide biomarkers verschillende risicogroepen voor ziekteprogressie identificeren en naast elkaar kunnen worden gebruikt.

Wordt de ene biomarker verkozen boven de ander? Moet de TSR worden verkozen boven de 70-GS, of vice versa? Genomische tests zijn duur, de TSR kan worden gescoord op H&E-gekleurde coupes tijdens diagnostiek door de patholoog. Het scoren van de TSR kan tijd en

kosten besparen en zo bijdragen tot een gemakkelijkere risicofratificatie voor vrouwen bij wie borstkanker wordt vastgesteld.

Een andere, minder gunstige, maar wel veel voorkomende vorm van kanker is longkanker. Patiënten met longkanker hebben vaak een slechte prognose met een 5-jaars overleving van ongeveer 15% (34). Longkanker kan in twee hoofdgroepen worden onderverdeeld: de kleincellige longcarcinomen (SCLC) en de niet-kleincellige longcarcinomen (NSCLC). De NSCLC-groep bestaat hoofdzakelijk uit adenocarcinomen en plaveiselcelcarcinomen (PCC). Plaveiselcel longtumoren zijn bijna altijd het gevolg van het roken van tabak, terwijl adenocarcinomen in de longen een veel breder spectrum van oorsprong hebben (35). In het geval van een adenocarcinoom is immunotherapie de (nieuwe) behandeling na chirurgie. Voor plaveiselcel tumoren zijn er nog geen specifieke behandelingen of tests beschikbaar om die groep patiënten te selecteren die een risico lopen op uitzaaiingen, ziekteprogressie of overlijden ten gevolge van kanker. In longkanker tumoren is de TSR nog niet vaak onderzocht (36, 37). Daarnaast is zijn in de huidige literatuur de resultaten voor het prognostische effect van de TSR niet eenduidig (36-38). De prognostische waarde van TSR in een cohort met alleen plaveiselcel tumoren in de long is niet eerder onderzocht. In hoofdstuk 9 toonden wij aan dat de TSR een onafhankelijke prognostische waarde heeft voor 5-jaars OS en DFS in stadium II plaveiselcel longtumoren (39). Dit resultaat kon echter niet worden gevalideerd in de andere tumorstadia van het onderzochte patiënten cohort (stadium I en III). Patiënten met stadium II tumoren krijgen vaak een adjuvante behandeling na chirurgie. Onze resultaten kunnen erop wijzen dat patiënten met stadium II en een stroma-laag tumor niet noodzakelijk adjuvante chemotherapie hoeven te krijgen, omdat het minder waarschijnlijk is dat zij uitzaaiingen zullen ontwikkelen en/of zullen overlijden ten gevolge van ziekteprogressie. De onafhankelijke prognostische waarde van de TSR is eerder bestudeerd bij plaveisel tumoren van de mondholte, inclusief tong. Deze studies toonden vergelijkbare resultaten als in ons onderzoek (40-42). Patiënten met een stroma-hoog tumor hebben een slechtere prognose vergeleken met patiënten met een stroma-laag tumor. De prognostische waarde van de TSR in plaveiselcel tumoren van de long stadium II moet bij voorkeur worden gevalideerd in een groter, prospectief cohort omdat de groepsgrootte in deze studie relatief klein was.

Hindernissen bij de implementatie van een biomarker

Naast de criteria waaraan moet worden voldaan voor de implementatie van een nieuwe biomarker, lijkt ook een andere, meer persoonlijke factor een rol te spelen. De TSR is ontdekt en ontwikkeld door de afdeling chirurgie en werd door toeval ontdekt. De TSR is gemakkelijk te scoren, reproduceerbaar en een goedkope prognostische biomarker. Maar waarom is het zo moeilijk om het in de dagelijkse praktijk van pathologen geïmplementeerd te krijgen? Wanneer men de invoering van de TSR vergelijkt met de invoering van tumor budding, lijkt het lastiger om de TSR ingevoerd te krijgen. Waarschijnlijk is niet één reden de oorzaak,

maar is het multifactorieel. Eén van de factoren zou het feit kunnen zijn dat de TSR contra intuïtief is. Hoe hoger het percentage stroma, hoe slechter de overleving. Het lijkt logischer dat de tumorcellen in een kwaadaardige tumor de agressiviteit van een tumor veroorzaken, en niet het tumorstroma. Voor andere pathologische parameters is dit meer logisch. Een positieve tumormarge veroorzaakt een slechtere prognose. Meer tumor budding aan het invasieve front van de tumor, veroorzaakt een slechtere overleving. Beide biomarkers tonen agressiviteit voor de groep die men mag verwachten. Voor de TSR is dit niet het geval.

De biologie achter de TSR is nog niet helemaal duidelijk, wat het nog moeilijker maakt om deze te begrijpen. Een tweede argument zou kunnen zijn dat er geen industrie bij betrokken is, wat het vaak lastiger maakt nieuwe biomarkers te implementeren. Een bedrijf dat helpt bij de productie van een nieuwe biomarker wil dat de medische wereld hun nieuwe product gaat gebruiken, dus zal reclame maken en lobbyen voor het product. Een onderzoeksgroep heeft niet de financiële en logistieke macht om de methode in te promoten zoals de farmaceutische industrie dit kan.

Toekomstperspectieven

Implementatie

Het uiteindelijke doel van ons onderzoek is om de TSR toe te voegen als hoog risicofactor naast de TNM-classificatie. Dit betekent dat de TSR zal worden geïmplementeerd als biomarker in de dagelijkse praktijk van pathologen om beter te kunnen voorspellen welke patiënten risico lopen op ziekteprogressie en/of -recidief. Een van de vereisten voor nieuwe biomarkers is de prospectieve validatie van de biomarker. Hiertoe is de UNITED-studie opgezet. Het studieprotocol is sinds februari 2018 goedgekeurd. Bijna 1500 patiënten, stadium II en stadium III, moeten worden geïnccludeerd. De inclusie van patiënten is nog gaande in 2021. Nadat de resultaten van de prospectieve studie over een paar jaar beschikbaar komen, en de TSR zijn prognostische waarde heeft bevestigd, verwachten wij dat de TSR klaar is om naast de TNM-classificatie te worden geïmplementeerd.

Andere tumortypes en de TSR

De TSR is gevalideerd in meerdere (epitheliale) kankertypes. De scoringsmethode is identiek voor elk tumortype, evenals de afkapwaarde voor stroma-hoog en stroma-laag. De UNITED studie is ontwikkeld om de TSR in de kliniek te introduceren ter ondersteuning van beslissingen in de nabehandeling van patiënten met darmkanker. De vraag rijst of het nodig is de TSR prospectief te valideren bij alle andere kankertypes aangezien de literatuur de onafhankelijke prognostische waarde van de TSR al beschrijft? Voor een patholoog is het een kleine hoeveelheid extra werk, en het zou de oncoloog kunnen helpen bij de klinische besluitvorming voor een gepersonaliseerd behandelplan. Naar onze mening is het niet

nodig om het prognostische effect van de TSR in alle verschillende epitheliale kankertypes te valideren als in één prospectieve studie het prognostische effect is aangetoond.

Kunstmatige intelligentie

Aangezien kunstmatige intelligentie steeds meer toepasbaar wordt, zal het waarschijnlijk een grote rol gaan spelen in de dagelijkse praktijk. Zoals in hoofdstuk 4 is aangetoond en in hoofdstuk 5 is besproken, kunnen deep learning algoritmen worden gebruikt voor het scoren van de TSR, maar voordat deze kunnen worden geïmplementeerd, moeten ze worden gevalideerd in een grote multicentrische setting met meer dan duizenden gevallen. Niet alleen validatie is nodig, bij het scoren van de TSR met een volledig geautomatiseerd algoritme en zonder menselijke interactie, moet de afkapwaarde van 50% opnieuw worden onderzocht. Anderzijds wordt bij het automatisch scoren van de TSR een continue output geleverd. Onderzocht moet worden of het gebruik van de continue variabele even geschikt is om patiënten met een risico op een recidief of ziekteprogressie te selecteren als de gecategoriseerde TSR.

Behandeling en de tumor-stroma ratio

Het tumorstroma heeft een beschermende rol ten opzichte van de tumor bij adjuvante behandelingen. Wat precies de oorzaak is van dit “beschermende” gedrag van de stroma is onbekend. Eén van de verklaringen zou gevonden kunnen worden in de architectuur van het stroma (43, 44). De organisatie van het stroma maakt het voor chemotherapie moeilijk om op de plaats van de tumor zijn werking uit te voeren. Er kunnen nieuwe therapieën worden ontwikkeld om het stroma binnen te dringen, maar men kan ook onderzoeken hoe de beschermende laag stroma rond de tumor en tussen de tumorcellen kan worden beïnvloed.

Met de opkomst van nieuwe behandelingen, zoals immunotherapie, en het gebrek aan literatuur over de predictieve waarde van de TSR, zou het interessant zijn om te zien of er een predictieve waarde van de TSR is voor de respons op immunotherapie.

Predictie model

Veel biomarkers worden onderzocht voor risicostratificatie van darmkankerpatiënten. Zij tonen allen hun nut aan, maar ook het feit dat niet één factor van invloed is op de prognose en de oorzaak van de ontwikkeling en/of progressie van kanker. Met al deze onderzochte factoren zou rekening moeten worden gehouden, bij voorkeur in één voorspellingsmodel, zoals reeds beschikbaar is voor borstkanker (45). Nadat alle tumorkenmerken en enkele patiëntkenmerken in het model zijn ingevoerd, zou aan het eind een percentage voor het risico van ziekteprogressie moeten worden berekend, samen met het gepersonaliseerde behandelingsadvies. Om te evalueren of een dergelijk “prediction model” of predictie model nuttig en kosteneffectief is, zou een validatie- en kosteneffectiviteitsstudie moeten worden opgezet.

Conclusie

Het in dit proefschrift gepresenteerde onderzoek heeft aangetoond dat de TSR nagenoeg klaar is om te worden geïmplementeerd in de dagelijkse praktijk van pathologen. Dit om een betere inschatting te kunnen maken welke patiënten met kanker risico lopen op ziekteprogressie of -recidief, of de groep patiënten die dat risico juist niet heeft. Door betere risicostratificatie kan de TSR een toevoeging zijn in de besluitvorming bij gepersonaliseerde behandeling. Zo kan bijvoorbeeld de oude fragiele patiënt met een niet agressieve darmkanker tumor in stadium III adjuvante chemotherapie worden bespaard, terwijl aan de andere kant een jonge en gezonde patiënt met een stroma-hoog darmkanker tumor stadium II baat kan hebben bij adjuvante chemotherapie.

Referenties

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49.
2. Brouwer NPM, Bos A, Lemmens V, Tanis PJ, Hugen N, Nagtegaal ID, et al. An overview of 25 years of incidence, treatment and outcome of colorectal cancer patients. *Int J Cancer.* 2018;143(11):2758-66.
3. J.D. Bierley MKG, C. Wittekind. *TNM Classification of Malignant Tumours*, 8th Edition: Wiley-Blackwell; 2016. 272 p.
4. Benson AB, 3rd, Schrag D, Somerfield MR, Cohen AM, Figueredo AT, Flynn PJ, et al. American Society of Clinical Oncology recommendations on adjuvant chemotherapy for stage II colon cancer. *J Clin Oncol.* 2004;22(16):3408-19.
5. Vogelaar FJ, van Pelt GW, van Leeuwen AM, Willems JM, Tollenaar RA, Liefers GJ, et al. Are disseminated tumor cells in bone marrow and tumor-stroma ratio clinically applicable for patients undergoing surgical resection of primary colorectal cancer? The Leiden MRD study. *Cell Oncol (Dordr).* 2016;39(6):537-44.
6. Califf RM. Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med (Maywood).* 2018;243(3):213-21.
7. van Kempen LC, Spatz A. From biomarker development towards implementation of multidimensional biomarker panels in a clinical setting. *Mol Oncol.* 2014;8(4):781-2.
8. Daidone MG, Foekens JA, Harbeck N, Martens J, Brunner N, Thomssen C, et al. Identification, validation and clinical implementation of cancer biomarkers: Translational strategies of the EORTC PathoBiology Group. *European Journal of Cancer Supplements.* 2012;10(1):120-7.
9. Wu J, Liang C, Chen M, Su W. Association between tumor-stroma ratio and prognosis in solid tumor patients: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget.* 2016;7(42):68954-65.
10. Zhang R, Song W, Wang K, Zou S. Tumor-stroma ratio(TSR) as a potential novel predictor of prognosis in digestive system cancers: A meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2017;472:64-8.
11. Mesker WE, Junggeburst JM, Szuhai K, de Heer P, Morreau H, Tanke HJ, et al. The carcinoma-stromal ratio of colon carcinoma is an independent factor for survival compared to lymph node status and tumor stage. *Cell Oncol.* 2007;29(5):387-98.
12. van Pelt GW, Kjaer-Frifeldt S, van Krieken J, Al Dieri R, Morreau H, Tollenaar R, et al. Scoring the tumor-stroma ratio in colon cancer: procedure and recommendations. *Virchows Arch.* 2018;473(4):405-12.
13. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977;33(1):159-74.
14. da Silva RMS, Queiroga EM, Paz AR, Neves FFP, Cunha KS, Dias EP. Standardized Assessment of the Tumor-Stroma Ratio in Colorectal Cancer: Interobserver Validation and Reproducibility of a Potential Prognostic Factor. *Clin Pathol.* 2021;14.

15. Smit MA, van Pelt GW, Dequeker EM, Al Dieri R, Tollenaar RA, van Krieken JHJ, et al. e-Learning for Instruction and to Improve Reproducibility of Scoring Tumor-Stroma Ratio in Colon Carcinoma: Performance and Reproducibility Assessment in the UNITED Study. *JMIR Form Res.* 2021;5(3):e19408.
16. JE II, Madani A, Overbeek LI, Dekker E, Nagtegaal ID. Implementation of an e-learning module improves consistency in the histopathological diagnosis of sessile serrated lesions within a nationwide population screening programme. *Histopathology.* 2017;70(6):929-37.
17. Madani A, Kuijpers C, Sluijter CE, Von der Thusen JH, Grunberg K, Lemmens V, et al. Decrease of variation in the grading of dysplasia in colorectal adenomas with a national e-learning module. *Histopathology.* 2019.
18. Nakanishi H, Doyama H, Ishikawa H, Uedo N, Gotoda T, Kato M, et al. Evaluation of an e-learning system for diagnosis of gastric lesions using magnifying narrow-band imaging: a multicenter randomized controlled study. *Endoscopy.* 2017;49(10):957-67.
19. Canty D, Barth J, Yang Y, Peters N, Palmer A, Royse A, et al. Comparison of learning outcomes for teaching focused cardiac ultrasound to physicians: A supervised human model course versus an eLearning guided self- directed simulator course. *J Crit Care.* 2019;49:38-44.
20. Maertens H, Madani A, Landry T, Vermassen F, Van Herzeele I, Aggarwal R. Systematic review of e-learning for surgical training. *Br J Surg.* 2016;103(11):1428-37.
21. Ciompi F, Geessink O, Bejnordi BE, de Souza GS, Baidoshvili A, Litjens G, et al. The importance of stain normalization in colorectal tissue classification with convolutional networks. 2017 IEEE 14th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI 2017)2017. p. 160-3.
22. Zhao K, Li Z, Yao S, Wang Y, Wu X, Xu Z, et al. Artificial intelligence quantified tumour-stroma ratio is an independent predictor for overall survival in resectable colorectal cancer. *EBioMedicine.* 2020;61:103054.
23. Smit MA, Mesker WE. The role of artificial intelligence to quantify the tumour-stroma ratio for survival in colorectal cancer. *EBioMedicine.* 2020;61:103070.
24. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, Bosman F, Cathomas G, Dawson H, et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Mod Pathol.* 2017;30(9):1299-311.
25. Argiles G, Tabernero J, Labianca R, Hochhauser D, Salazar R, Iveson T, et al. Localised Colon Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-up. *Annals of Oncology.* 2020.
26. Smit MA, van Pelt GW, Terpstra V, Putter H, Tollenaar RAEM, Mesker WE, et al. Tumour-stroma ratio outperforms tumour budding as biomarker in colon cancer: a cohort study. *International Journal of Colorectal Disease.* 2021;36(12):2729-37.
27. Eriksen AC, Sorensen FB, Lindebjerg J, Hager H, dePont Christensen R, Kjaer-Frifeldt S, et al. The prognostic value of tumour stroma ratio and tumour budding in stage II colon cancer. A nationwide population-based study. *Int J Colorectal Dis.* 2018;33(8):1115-24.

28. Eriksen AC, Andersen JB, Lindebjerg J, dePont Christensen R, Hansen TF, Kjaer-Frifeldt S, et al. Does heterogeneity matter in the estimation of tumour budding and tumour stroma ratio in colon cancer? *Diagn Pathol.* 2018;13(1):20.
29. van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature.* 2002;415(6871):530-6.
30. Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J, Slaets L, Viale G, Delaloge S, et al. 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *N Engl J Med.* 2016;375(8):717-29.
31. Kramer CJH, Vangangelt KMH, van Pelt GW, Dekker TJA, Tollenaar R, Mesker WE. The prognostic value of tumour-stroma ratio in primary breast cancer with special attention to triple-negative tumours: a review. *Breast Cancer Res Treat.* 2019;173(1):55-64.
32. Vangangelt KMH, Green AR, Heemskerk IMF, Cohen D, van Pelt GW, Sobral-Leite M, et al. The prognostic value of the tumor-stroma ratio is most discriminative in patients with grade III or triple-negative breast cancer. *Int J Cancer.* 2020;146(8):2296-304.
33. Smit MA, van Steenhoven JEC, Tollenaar RAEM, van Dalen T, J van Diest P, E Mesker W. 70-Gene Signature and Tumor-Stroma Ratio Select Different Groups of Patients with Breast Cancer at Risk for Recurrence. *Journal of Surgery and Research.* 2020;03(02).
34. IKNL. IKNL Longkanker cijfers [updated 16-04-2019. Available from: <https://www.iknl.nl/kankersoorten/longkanker>.
35. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature.* 2018;553(7689):446-54.
36. Zhang T, Xu J, Shen H, Dong W, Ni Y, Du J. Tumor-stroma ratio is an independent predictor for survival in NSCLC. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015;8(9):11348-55.
37. Xi KX, Wen YS, Zhu CM, Yu XY, Qin RQ, Zhang XW, et al. Tumor-stroma ratio (TSR) in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients after lung resection is a prognostic factor for survival. *J Thorac Dis.* 2017;9(10):4017-26.
38. Wang Z, Liu H, Zhao R, Zhang H, Liu C, Song Y. [Tumor-stroma ratio is an independent prognostic factor of non-small cell lung cancer]. *Zhongguo Fei Ai Za Zhi.* 2013;16(4):191-6.
39. Smit MA, Philipsen MW, Postmus PE, Putter H, Tollenaar RA, Cohen D, et al. The prognostic value of the tumor-stroma ratio in squamous cell lung cancer, a cohort study. *Cancer Treat Res Commun.* 2020;25:100247.
40. Zhang XL, Jiang C, Zhang ZX, Liu F, Zhang F, Cheng YF. The tumor-stroma ratio is an independent predictor for survival in nasopharyngeal cancer. *Oncol Res Treat.* 2014;37(9):480-4.
41. Wang K, Ma W, Wang J, Yu L, Zhang X, Wang Z, et al. Tumor-stroma ratio is an independent predictor for survival in esophageal squamous cell carcinoma. *J Thorac Oncol.* 2012;7(9):1457-61.
42. Karpathiou G, Vieville M, Gavid M, Camy F, Dumollard JM, Magne N, et al. Prognostic significance of tumor budding, tumor-stroma ratio, cell nests size, and stroma type in laryngeal and pharyngeal squamous cell carcinomas. *Head Neck.* 2019;41(6):1918-27.
43. Dekker TJ, Charehbili A, Smit VT, ten Dijke P, Kranenbarg EM, van de Velde CJ, et al. Disorganised stroma determined on pre-treatment breast cancer biopsies is associated with poor response to neoadjuvant chemotherapy: Results from the NEOZOTAC trial. *Mol Oncol.* 2015;9(6):1120-8.

44. Zunder S, van der Wilk P, Gelderblom H, Dekker T, Mancao C, Kiialainen A, et al. Stromal organization as predictive biomarker for the treatment of colon cancer with adjuvant bevacizumab; a post-hoc analysis of the AVANT trial. *Cell Oncol (Dordr)*. 2019;42(5):717-25.
45. Wishart GC, Azzato EM, Greenberg DC, Rashbass J, Kearins O, Lawrence G, et al. PREDICT: a new UK prognostic model that predicts survival following surgery for invasive breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2010;12(1):R1.