



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## Towards implementation of the tumour-stroma ratio in colorectal cancer

Polack, M.

### Citation

Polack, M. (2025, December 10). *Towards implementation of the tumour-stroma ratio in colorectal cancer*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4285284>

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/1887/4285284>

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





8

# Chapter 8

Nederlandse samenvatting

## Nederlandse samenvatting

De hoeksteen van de huidige behandeling van kanker is gebaseerd op de uitgebreidheid van de ziekte volgens internationale richtlijnen. Voor deze uitgebreidheid wordt wereldwijd de TNM-classificatie gehanteerd, gedefinieerd door lokale ingroei en grootte van de tumor (*Tumour*), of het zich heeft verspreid naar nabijgelegen lymfeklieren (*Node*), en of het eventueel zelfs naar organen op afstand is uitgezaaid (*Metastasis*) [1, 2]. Het voor de patiënt resulterend TNM-stadium wordt meegewogen met andere karakteristieken die invloed hebben op potentiële overleving en succes van behandeling [3-6]. Deze classificatie is echter niet optimaal. Hierdoor wordt er immer onderzoek verricht om de classificatie te verbeteren, zo ook in kanker van de dikke darm en endeldarm (hier samengevoegd in de term ‘darmkanker’) [7]. Darmkanker is de nummer drie meest voorkomende vorm van kanker ter wereld en eist nog steeds veel mensenlevens [8-10]. Bij ongeveer 50% van de patiënten met darmkanker in eenzelfde TNM-stadium zien we terugkeer van de ziekte ondanks de behandeling [3, 5, 11, 12]. Aanvullende tumorkenmerken die het voorspellen van de behandelresultaten voor de individuele patiënt met darmkanker kunnen verbeteren, en zodoende in de toekomst overbehandeling of onderbehandeling verminderen, zijn daarom essentieel.

### Biomarkers in tumor stroma

Biologische parameters (biomarkers) van tumoren die het ziektebeloop bij de patiënt kunnen voorspellen zijn inmiddels in de richtlijnen opgenomen [13, 14], zoals bepaalde genetische mutaties, of ingroeïende kleine groepen tumor epitheelcellen (tumor *buds* of tumor *deposits*) [3, 15-17]. Deze biomarkers hebben echter slechts betrekking op de tumor epitheelcellen zelf. Initieel werd gedacht dat een tumor een simpele klomp is met cellen die zich ongeremd hebben kunnen delen. De laatste jaren is in tegenstelling daarvan duidelijk geworden dat de omgeving waar de tumor zich in bevindt, de zogenaamde ‘tumor micro-omgeving’, minstens net zo belangrijk is voor de tumor en ook het gedrag van de tumor beïnvloedt [18-21]. De tumor micro-omgeving, ook wel het tumor stroma genoemd, bestaat uit onder andere immuun cellen, kleine bloedvaten, bindweefsel zoals collageen, en fibroblasten [22-24]. Een fibroblast vormt normaliter bindweefsel en houdt het bijeen (denk aan een genezende wond), maar kan door invloed van een tumor zich ontwikkelen tot een kanker-gerelateerde fibroblast (*cancer-associated fibroblast*, CAF), die een stimulerende werking heeft op de tumor [25, 26]. Het tumor stroma vormt een dynamisch geheel, en is, indien in grote hoeveelheden aanwezig in een tumor, uiteindelijk verantwoordelijk voor een agressievere, ingroeïende tumor met resistentie voor behandelingen zoals radiotherapie en chemotherapie [23, 27-30]. Een biomarker die dat agressieve effect goed weergeeft, is de tumor-stroma ratio (TSR). Hiermee wordt volgens een vast protocol de hoeveelheid van het tumor stroma gescoord, telkens in stappen per tien procent, en daarna gecategoriseerd in stroma-laag ( $\leq 50\%$ ) en stroma-hoog ( $> 50\%$ ) [31, 32]. De TSR, specifiek in darmkanker, is het onderwerp van dit proefschrift.

Al in 2007 werd deze biomarker ontdekt door onze onderzoeksgroep op hematoxyline-en-eosine (HE) gekleurde objectglaasjes (coupes) met darmkankerweefsel, die normaliter routinematig door pathologen worden onderzocht [31]. Na deze eerste publicatie volgden nog vele andere onderzoeken, niet alleen in darmkanker [33] maar ook borstkanker [34], longkanker [35] en slokdarmkanker [36]. Al deze onderzoeken toonden aan dat veel stroma in een tumor (stroma-hoog) tot een kortere overleving leidde en minder succes van behandeling met chemotherapie en/of radiotherapie, dan als er weinig stroma in een tumor was (stroma-laag). Door alle onderzoeken die de TSR bewezen, niet alleen van onze eigen onderzoeksgroep maar inmiddels ook wereldwijd [27, 37, 38], werd destijds een verzoek tot implementeren van de TSR in de richtlijnen gestuurd. Onder andere de TNM-evaluatie commissie (*Union for International Cancer Control*, UICC) en de *College of American Pathologists* (CAP) ontvingen een oproep. Ondanks dat de commissies de waarde van de TSR erkenden, achtten zij eerst nog een grote studie nodig, specifiek één die patiënten in de toekomst vervolgt (prospectief), met een kwaliteitscontrole, vooraleer implementatie overwogen kon worden. Zodoende zette onze onderzoeksgroep in 2017 de UNITED-studie (*Uniform Noting for International application of the Tumour-stroma ratio as Easy Diagnostic tool*) op [39].

### **TSR in dikke darmkanker**

Eerst, ook om het werk van voorgangers af te sluiten, beginnen we in dit proefschrift zodoende met de resultaten van deze langverwachte UNITED-studie (**hoofdstuk 2**). Meer dan 1500 patiënten met TNM-stadium II (grote, lokale tumoren) en III (tumoren die naar de lymfeklieren zijn uitgezaaid) dikke darmkanker werden geïncludeerd. Van deze patiënten werden karakteristieken verzameld van henzelf (zoals leeftijd en geslacht) en de tumor (zoals TNM-stadium en de gescoorde TSR), en vervolgens werden zij gemiddeld 3 jaar gevolgd om te kijken of er een terugkeer van ziekte was (ziektevrije overleving). De TSR werd gescoord door pathologen die waren getraind met een eerder door onze onderzoeksgroep opgezette E-learning [40]. In totaal deden 27 centra uit 12 verschillende landen over de hele wereld mee aan de studie. Naast de ziektevrije overleving werd ook gekeken naar de invloed van de TSR op het slagen van de chemotherapie die sommige patiënten na een operatie krijgen om overgebleven tumorcellen te behandelen (adjuvante chemotherapie, van het Latijn *adjuvare* = helpen) [3]. In patiënten met stroma-hoge dikke darmkanker zagen we een significant kortere ziektevrije overleving ten opzichte van stroma-lage tumoren. Een patiënt met een stroma-hoge tumor had dus een grotere kans op terugkeer van ziekte. Zelfs nadat er werd gecorrigeerd voor andere risicofactoren, zoals leeftijd of uitgebreidheid van de ziekte, bleef de TSR een onafhankelijke voorspellende parameter voor een slechte uitkomst. Tot slot zagen we bij de groep stroma-hoge patiënten een kortere ziektevrije overleving ondanks dat die adjuvante chemotherapie hadden kregen. Mogelijk wijst dit op therapieresistentie van het tumor stroma.

### **TSR in endeldarmkanker**

In **hoofdstuk 3** is vervolgens een eerste stap gezet om te kijken naar deze resistentie door de predictieve waarde van de TSR, het voorspellende effect op het wel of niet slagen van behandeling, verder te bewijzen. Dit hebben we onderzocht in uitsluitend endeldarmkanker. Ondanks dat tumoren van de dikke darm en de endeldarm vaak samen worden genoemd, zijn het eigenlijk biologisch gezien verschillende ziektes. Daardoor, alsmede door de andere locatie in het lichaam, ondergaan ze verschillende behandelingen [6, 41]. Endeldarmkanker wordt in opzet orgaan-sparend behandeld en hier zijn afgelopen jaren grote stappen in gezet [6, 42]. Neoadjuvante therapie (van het Latijn *neo* = nieuw; *adjuvare* = helpen) [43] is tegenwoordig de gouden standaard in endeldarmkanker en wordt gegeven aan patiënten vóór een operatie, omdat het, samen met een verbetering in operatietechniek (de totale mesorectale excisie) de kans op terugkeer van de tumor verkleint [44, 45]. Er werd zelfs door combinaties van chemotherapie en radiotherapie steeds vaker gezien dat de tumor soms helemaal verdween, waarbij een zware operatie mogelijk niet meer nodig was: de zogenaamde ‘complete respons’ [42, 46, 47]. De response op neoadjuvante therapie is alleen vaak heterogeen. Bovendien kwam de respons zoals werd gezien op beeldvorming (‘klinische complete respons’), niet altijd overeen met de respons in het weefsel (‘pathologische complete respons’) [48-51]. Daarom is het belangrijk de selectie te verbeteren van zowel patiënten die waarschijnlijk baat hebben bij neoadjuvante therapie, als patiënten die er waarschijnlijk geen baat bij hebben.

Eerder werd in studies gezien dat tumoren met veel stroma niet alleen een kortere overleving hebben, maar ook minder reageren op behandelingen [36, 52, 53]. Neoadjuvante behandeling tast echter de tumor en tumor micro-omgeving aan, waarna bijvoorbeeld verlittekening (fibrosering: een toename van fibroblasten) optreedt [54-56]. Het scoren van de TSR is op behandeld weefsel daarom niet betrouwbaar meer. Biopten vormen hierbij een uitkomst. Dit zijn kleine ‘hapjes’ weefsel die zijn afgenomen tijdens een coloscopie op het moment dat er een verdacht gezwel in de darm zit [7]. De biopten zijn van dan nog onbehandeld weefsel en dus geschikt voor een TSR bepaling. Eerder werd al gezien dat de TSR van deze biopten overeenkomt met de TSR van de daadwerkelijke tumor zelf (de primaire tumor). Bovendien bleek in de studies ook dat stroma-hoge tumoren minder reageerden op behandeling, en dus dat de TSR ook een predictieve biomarker kan zijn [57, 58]. Dit waren alleen vaak kleine studies die in slechts een enkel ziekenhuis was uitgevoerd [59-61]. Om een grote studie met data van verschillende ziekenhuizen (multicenter) te verkrijgen, en daarmee een hogere bewijskracht voor de TSR, hebben we in hoofdstuk 3 twee grote klinische studies (RAPIDO [48] en PROCTOR-SCRIPT [62]) met onze eigen LUMC cohort gecombineerd.

De hypothese van onze grote multicenter onderzoek was dat neoadjuvante behandeling bij patiënten met een stroma-hoog biop van endeldarmkanker minder vaak zou slagen. We scoorden eerst de TSR

op de biopten [57, 60]. Vervolgens werd de respons op celniveau (pathologische respons) na de neoadjuvante behandeling [63] van stroma-hoge tumoren vergeleken met die van stroma-lage tumoren. Niet alleen werd er inderdaad minder vaak een grote respons gezien in stroma-hoge tumoren, dit effect was ook onafhankelijk van andere risicofactoren. TSR was alleen niet direct één-op-één voorspellend voor de ziektevrje en algehele overleving. Er bleken daarvoor te veel andere risicofactoren te zijn die de overleving mede beïnvloedden, zoals tumorgrootte en stadium van de ziekte. Daarnaast bleken de tumoren die groter waren of in de omringende weefsels ingroeien ('lokaal geavanceerd') ook vaker stroma-hoog, wat weer illustratief is voor de mate van agressiviteit van tumor stroma. Dit onderzoek bewijst dus de predictieve waarde van de TSR, al is dit in een retrospectieve manier met achteraf geïnccludeerde patiënten en alleen in specifiek endeldarmkanker onderzocht [64]. Inmiddels loopt er door nieuwe samenwerkingen een grote prospectieve vervolgstudie om de predictieve waarde van de TSR ook in patiënten met dikke darmkanker te bewijzen: de UNITED-II.

### **Tumor stroma op celniveau en nieuwe doelgerichte beeldvorming**

De eerdergenoemde CAFs zijn een groot onderdeel van tumor stroma. CAFs passen hun omgeving actief aan (remodelleren) en zijn daarmee een belangrijke invloed op tumor agressiviteit, ook op het uitzaaingsvermogen naar lymfeklieren. Aanwezigheid van tumorcellen in de lymfeklieren geeft aan hoe uitgebreid de ziekte is (N-stadium) en of aanvullende behandeling nodig is. Met huidige beeldvorming (met CT of MRI-scans) blijft het echter lastig om accuraat te voorspellen welke lymfeklieren verdacht zijn voor het bevatten van een uitzaaing. De PET-CT scan is een redelijk nieuwe soort beeldvorming waarbij door een radioactief gelabelde stof (een tracer: meestal fluorodeoxyglucose, FDG) de activiteit en locatie van cellen in het lichaam wordt weergegeven. De ongeremde celdeling in kanker leidt tot een hoge celactiviteit en laat dus in principe een sterkere opname zien op de scan, ook in lymfeklieren [3, 65, 66]. Door hun tumor-specificiteit en betrokkenheid bij uitzaaien zijn CAFs tegenwoordig vaak het onderwerp van studies, ook voor PET-CT scans [25, 26, 67]. De door hen het meest tot expressie gebracht eiwit is de *fibroblast activation protein* (fibroblast activatie eiwit, FAP) [68-70]. Een veelbelovende PET-CT tracer die recent hiervoor ontwikkeld is, is de *FAP-inhibitor* (FAP-remmer, FAPI). Hiermee wordt FAP niet alleen gebonden en op de scan weergegeven, maar zou men FAP, en daarmee CAFs en tumor activiteit, mogelijk zelfs kunnen remmen. De FAPI-tracer kan in theorie dus helpen met de diagnostiek, door de uitgebreidheid van ziekte, de tumorgrootte en ook met name de verspreiding naar lymfeklieren met meer accuratesse te bepalen [71-75]. Hierdoor zou in de toekomst een betere selectie gemaakt kunnen worden van patiënten voor bepaalde behandelstrategieën. Ondanks dat er veel nieuwe FAPI-studies in patiënten zijn, is er nog weinig onderzoek gedaan naar de theoretische grondslag op celniveau hiervan [76, 77], daarom hebben wij dat hier in dit proefschrift getracht.

Eerst hebben wij in **hoofdstuk 4** gekeken naar de lymfeklieren en de uitzaaiingen daarin, en specifiek hoeveel tumor stroma die bevatten. Onze onderzoeksgroep had al eerder gezien dat de TSR in deze lymfeklier uitzaaiingen ook de overleving van patiënten met dikke darmkanker beïnvloedt [78], en in dit hoofdstuk geven we er een verder algemeen overzicht over. Met huidige beeldvorming wordt een verdachte lymfeklier bepaald op basis van diameter (>5-10mm doorsnede) en bijvoorbeeld rondheid van de lymfeklier, maar dit is nog vaak aan fouten onderhevig [79, 80]. Niet alleen zagen we dat een grotere lymfeklier inderdaad een grotere kans had op het bevatten van een (grotere) uitzaaiing, maar belangrijker, dat ook juist kleine lymfeklieren <5mm in doorsnede ook een stromale uitzaaiing kon bevatten [81]. Zo bleek dat de FAPI-tracer in theorie potentie had om beter lymfeklier uitzaaiingen te kunnen opsporen [82]. In **hoofdstuk 5** analyseerden we daarom vervolgens het weefsel van de primaire tumor, biopten en lymfeklieren in darmkanker. We vergeleken coupes gekleurd met de standaard HE-kleuring, met coupes waarbij specifiek voor dat FAP-eiwit gekleurd is (immunohistochemische kleuring).

Door de patronen van FAP-kleuringen op deze coupes te beschrijven, konden we inzicht krijgen of er inderdaad een biologische basis is voor de FAPI-tracer [76]. Daarnaast keken we naar de correlatie tussen de TSR en de sterkte van de aankleuring van het FAP-eiwit. Ondanks dat in ons onderzoek darmkanker meestal aankleurde voor FAP, bleek het vaak heterogeen. Er waren niet alleen verschillen in sterkte en patroon tussen tumoren, maar ook binnen dezelfde tumor van eenzelfde patiënt. Daarnaast zagen we dat niet tumor-bevattend weefsel soms kon aankleuren voor FAP, zoals weefsel dat is behandeld door neoadjuvante therapie en een grote respons heeft doorgemaakt. Mogelijk kleurde dat aan door de fibrosering. Ook gezonde actieve lymfeklieren kleurden sporadisch aan voor FAP. Bovendien zagen we dat stroma-hoge tumoren niet altijd een sterkere aankleuring voor FAP hadden, waarschijnlijk door verschil in locatie van het scoren van de twee parameters in de tumor. Concluderend dient men voorzichtig te zijn met direct vertalen van aankleuring van FAP (en in de toekomst dus FAPI opname) naar activiteit en uitgebreidheid van ziekte, en dient er meer onderzoek verricht te worden [76].

### **TSR en kunstmatige intelligentie**

Al sinds halverwege de negentiende eeuw is de microscoop de vertrouwde techniek en gouden standaard voor pathologen [83, 84]. Na al deze jaren is er echter een nieuw tijdperk op komst: dat van de digitale pathologie [85]. Traditionele objectglaasjes kunnen tegenwoordig worden ingescand waardoor een digitaal plaatje van de gehele coupe wordt gevormd (*whole slide image*, WSI). Deze WSIs kunnen dan niet alleen bekeken worden, maar inmiddels ook door steeds krachtigere computers met kunstmatige intelligentie worden geanalyseerd [86-88]. Waar het begon om de patholoog te ondersteunen, van automatisch simpele aantekeningen op coupes (annotaties) laten zetten, is door zogeheten *deep learning* het mogelijk geworden om patronen op de WSIs te leren herkennen en

voorspellen, en zelfs de samenhang met patiënt-gerelateerde uitkomsten daarvan te analyseren [89, 90]. Deep learning maakt gebruik van neurale netwerken, als een soort brein, waardoor het niet altijd duidelijk is hoe de computer tot een conclusie komt, als een soort ‘black box’. In **hoofdstuk 6** pogen we dit fenomeen te verhelderen.

Eerder heeft onze onderzoeksgroep met deep learning getracht de TSR automatisch te bepalen op WSIs [91]. Het trainen vergde echter veel tijd en werk, met name door de benodigde extensieve annotaties van pathologen. In ons onderzoek nu hanteerden we een revolutionaire aanpak, waardoor we WSIs konden gebruiken zonder dat er annotaties op stonden. Deze zelfgestuurde vorm van deep learning heet ook wel *self-supervised learning*, en is compleet onafhankelijk van kennis en input van pathologen [92]. We verdeelden eerst de grote WSIs in kleine beeldstukjes (‘tegels’), die door ons self-supervised deep learning model (specifiek het Barlow-Twins netwerkmodel [93]) werd gegroepeerd (geclusterd) op basis van kenmerken op celniveau (histologie). Dit resulteerde in 47 unieke groepen, *histomorphological phenotype clusters* (HPCs) genoemd. Elk HPC werd in detail onderzocht, op zowel tumorcel eigenschappen, als immuunsysteem en genetische eigenschappen. Vervolgens werd de verhouding en samenhang onderzocht tussen de verschillende HPCs, en werd dit gecorreleerd met algehele overleving en respons op therapie. Opmerkelijk was dat het geheel onafhankelijke deep learning model zelfstandig weefsel types (tumor, spier, slijm) en hoeveelheden (veel/weinig) van elkaar onderscheidde en per soort groepeerde. Nog opmerkelijker was dat tumor stroma ook als aparte entiteit werd gezien, zonder dat wij daar invloed op hadden gehad. Daarnaast bleek dat hogere hoeveelheden tumor stroma ook leidden tot een slechtere uitkomst. Op basis van de door ons gevormde HPCs konden wij de overleving van patiënten voorspellen, accurater dan wat er wereldwijd tot dan toe gepubliceerd was. Tevens konden we voorspellen welke patiënten beter op bepaalde gegeven behandelingen zouden reageren. In de toekomst zouden deze HPC-analyses het stellen van de diagnose middels pathologie kunnen verbeteren, en eventueel zelfs kunnen helpen met het selecteren van een behandelstrategie [94].

### **Toekomstperspectieven en TSR implementeren**

Dit proefschrift bevestigt het belang van tumor stroma en specifiek de TSR, van het laboratorium tot aan het bed van patiënten. Door de hoofdstukken bladerend kan een ruim overzicht aan bewijsmateriaal gevonden worden, aansluitend op bestaande literatuur, en specifiek in onderzoeken en proefschriften van voorgangers. Ondanks dat dit overzicht belangrijk is, is het implementeren van een nieuwe biomarker in richtlijnen niet zo eenvoudig als het louter presenteren daarvan. In de discussie van dit proefschrift wordt hierbij stilgestaan. De *evidence-based* (op onderzoeksbewijs-gebaseerde) werkwijze, die tegenwoordig wordt gehanteerd in de geneeskunde om richtlijnen op te stellen, is gebaseerd op het systematisch analyseren van al het bewijsmateriaal en dit rangschikken in een vooraf gedefinieerde, hiërarchische volgorde [95]. Onderzoeken naar tumor kenmerken in het veld van de pathologie lenen zich hier echter niet goed voor [96]. In een poging dit te verbeteren werd recent een grote Delphi-studie

verricht onder pathologen en andere deskundigen. Dit is een studie, die door het verzamelen van kennis, meningen en ervaringen, en na het verrichten van grote discussies, resulteert in een overeenstemming (consensus). Deze Delphi-studie leidde tot een gewijzigde hiërarchische volgorde voor pathologische parameters van tumoren [97]. Ondanks dat de UNITED-studie officieel volgens deze nieuwe hiërarchie wellicht niet het hoogste niveau van bewijs geeft, werd door de werkgroep ook al aangegeven dat deze nuance vereist, ook vanwege enkele unieke aspecten per onderwerp en biomarker.

De UNITED-studie bewijst namelijk met hoogste betrouwbaarheid het prognostische effect van de TSR: het is een onafhankelijke factor die voorspelt dat patiënten met stroma-hoge dikke darmtumoren een kortere ziektevrije overleving hebben. Ook resultaten van eerdere onderzoeken, onder andere van (systematische) reviews en andere meta-analysen, van zowel onze onderzoeksgroep [98] als wereldwijd [99-101], worden meegenomen in de UNITED-studie. Zodoende hebben wij weer een herhaalde oproep verstuurd om de TSR te implementeren aan de TNM-evaluatiecommissie van de UICC. De commissie feliciteerde ons met de behaalde resultaten en zegden toe de TSR daadwerkelijk in de volgende aankomende TNM-classificatie in de lijst te zetten van belangrijke tumorkenmerken die gescoord moeten worden in het pathologisch diagnostisch proces. De UICC suggereerde ook om de resultaten te delen met de *International Collaboration on Cancer Reporting* (ICCR) om de TSR voortaan standaard in pathologie verslagen te laten implementeren [84]. De ICCR gaf ook toe dat de TSR de overweging verdiende voor de volgende versie. De Nederlandse richtlijnencommissie [102], waar de resultaten tot slot naar verstuurd werden, erkende de prognostische waarde van deze biomarker en beloofde de TSR als zodanig toe te voegen in de lijst met optioneel te bepalen tumorkenmerken door de patholoog. Voor de predictieve waarde was er volgens hen eerst alleen nog een specifieke grote studie nodig die dit zou bewijzen. Inmiddels is daarom de UNITED-II begonnen.

## **Conclusie**

De TSR is een belangrijke prognostische factor in darmkanker. Stroma-hoge tumoren zijn agressiever en reageren minder vaak op behandelingen, zowel gescoord op biopten, de tumor zelf, als de lymfeklieren. De TSR kan daardoor de selectie van patiënten voor bepaalde behandelstrategieën ondersteunen. Zo kan bij kwetsbare en/of oudere stroma-hoge patiënten gekozen worden om minder of geen (neo-)adjuvante therapie te geven, en bij fittere en/of jongere patiënten juist intensieve of experimentele behandelingen. Nieuwe technieken, zoals FAPI PET-CT scans en kunstmatige intelligentie, kunnen in de toekomst tot slot helpen om de TSR en andere tumorkenmerken sneller en nauwkeuriger in kaart te brengen. De TSR is niet alleen door onze onderzoeksgroep bewezen, maar inmiddels door overweldigende hoeveelheden gepubliceerde onderzoeken wereldwijd [31]. Dit proefschrift roept daarom op tot het implementeren van de TSR in internationale richtlijnen, waar de eerste stappen voor zijn gezet.

## Referenties

1. Brierley, J.D., Gospodarowicz, M.K., Wittekind, C., *The TNM Classification of Malignant Tumours*. 8 ed. 2016: Wiley Blackwell.
2. Weiser, M.R., *AJCC 8th Edition: Colorectal Cancer*. *Ann Surg Oncol*, 2018. 25(6): p. 1454–1455.
3. Argiles, G., et al., Localised colon cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*, 2020. 31(10): p. 1291–1305.
4. Cervantes, A., et al., Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*, 2023. 34(1): p. 10–32.
5. Baxter, N.N., et al., Adjuvant Therapy for Stage II Colon Cancer: ASCO Guideline Update. *J Clin Oncol*, 2022. 40(8): p. 892–910.
6. Glynne-Jones, R., et al., Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*, 2018. 29(Suppl 4): p. iv263.
7. Weitz, J., et al., Colorectal cancer. *Lancet*, 2005. 365(9454): p. 153–65.
8. Sung, H., et al., Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2021.
9. Siegel, R.L., et al., Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin*, 2022. 72(1): p. 7–33.
10. Bray, F., et al., Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2024. 74(3): p. 229–263.
11. Kim, H.S., et al., Clinicopathological and biomolecular characteristics of stage IIB/IIC and stage IIIA colon cancer: Insight into the survival paradox. *J Surg Oncol*, 2019. 120(3): p. 423–430.
12. Li, H., et al., Re-Evaluation of the Survival Paradox Between Stage IIB/IIC and Stage IIIA Colon Cancer. *Front Oncol*, 2020. 10: p. 595107.
13. Chuang, J.P., et al., Comprehensive Review of Biomarkers for the Treatment of Locally Advanced Colon Cancer. *Cells*, 2022. 11(23).
14. Chen, K., et al., Pathological Features and Prognostication in Colorectal Cancer. *Curr Oncol*, 2021. 28(6): p. 5356–5383.
15. Lugli, A., 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): p. 1299–1311.
16. Roth, A.D., et al., Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2012. 104(21): p. 1635–46.
17. Ueno, H., et al., Optimal colorectal cancer staging criteria in TNM classification. *J Clin Oncol*, 2012. 30(13): p. 1519–26.
18. Fidler, I.J., Seed and soil revisited: contribution of the organ microenvironment to cancer metastasis. *Surg Oncol Clin N Am*, 2001. 10(2): p. 257–69, vii–viii.
19. Ouahoud, S., et al., Bidirectional tumor/stroma crosstalk promotes metastasis in mesenchymal colorectal cancer. *Oncogene*, 2020. 39(12): p. 2453–2466.
20. Sudhakar, M., H. Vignesh, and K.N. Natarajan, Crosstalk between tumor and microenvironment: Insights from spatial transcriptomics. *Adv Cancer Res*, 2024. 163: p. 187–222.
21. Werb, Z. and P. Lu, The Role of Stroma in Tumor Development. *Cancer J*, 2015. 21(4): p. 250–3.
22. Balkwill, F.R., M. Capasso, and T. Hagemann, The tumor microenvironment at a glance. *J Cell Sci*, 2012. 125(Pt 23): p. 5591–6.
23. Bremnes, R.M., et al., The role of tumor stroma in cancer progression and prognosis: emphasis on carcinoma-associated fibroblasts and non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol*, 2011. 6(1): p. 209–17.
24. Sugai, T., et al., Microenvironmental markers are correlated with lymph node metastasis in invasive submucosal colorectal cancer. *Histopathology*, 2021. 79(4): p. 584–598.
25. Chen, Y., K.M. McAndrews, and R. Kalluri, Clinical and therapeutic relevance of cancer-associated fibroblasts. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021. 18(12): p. 792–804.
26. Kobayashi, H., et al., Cancer-associated fibroblasts in gastrointestinal cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019. 16(5): p. 282–295.
27. Park, J.H., et al., The relationship between tumour stroma percentage, the tumour microenvironment and survival in patients with primary operable colorectal cancer. *Ann Oncol*, 2014. 25(3): p. 644–651.
28. Tsujino, T., et al., Stromal myofibroblasts predict disease recurrence for colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 2007. 13(7): p. 2082–90.
29. Zhuyan, J., et al., Critical steps to tumor metastasis: alterations of tumor microenvironment and extracellular matrix in the formation of pre-metastatic and metastatic niche. *Cell Biosci*, 2020. 10: p. 89.
30. Strous, M.T.A., et al., A high tumour-stroma ratio (TSR) in colon tumours and its metastatic lymph nodes predicts poor cancer-free survival and chemo resistance. *Clin Transl Oncol*, 2022. 24(6): p. 1047–1058.
31. Mesker, W.E., 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): p. 387–98.
32. van Pelt, G.W., et al., Scoring the tumor-stroma ratio in colon cancer: procedure and recommendations. *Virchows Arch*, 2018. 473(4): p. 405–412.
33. Huijbers, A., et al., The proportion of tumor-stroma as a strong prognosticator for stage II and III colon cancer patients: validation in the VICTOR trial. *Ann Oncol*, 2013. 24(1): p. 179–85.
34. Vangangel, K.M.H., 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): p. 2296–2304.

35. Smit, M.A., et al., The prognostic value of the tumor-stroma ratio in squamous cell lung cancer, a cohort study. *Cancer Treat Res Commun*, 2020. 25: p. 100247.
36. van Pelt, G.W., et al., The value of tumor-stroma ratio as predictor of pathologic response after neoadjuvant chemoradiotherapy in esophageal cancer. *Clin Transl Radiat Oncol*, 2020. 20: p. 39–44.
37. Sullivan, L., et al., Tumor Stroma Ratio and Its Significance in Locally Advanced Colorectal Cancer. *Curr Oncol*, 2022. 29(5): p. 3232–3241.
38. Souza da Silva, R.M., et al., Standardized assessment of the tumor-stroma ratio in colorectal cancer: interobserver validation and reproducibility of a potential prognostic factor. *Clinical pathology*, 2021. 14: p. 2632010X21989686.
39. Smit, M., 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. 8(6): p. e13464.
40. Smit, M.A., 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): p. e19408.
41. Wei, E.K., et al., Comparison of risk factors for colon and rectal cancer. *International journal of cancer*, 2004. 108(3): p. 433–442.
42. Beets, G.L., et al., A new paradigm for rectal cancer: Organ preservation: Introducing the International Watch & Wait Database (IWWD). *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*, 2015. 41(12): p. 1562–1564.
43. Wood, W.C., Neoadjuvant chemotherapy, in *Adjuvant Therapy of Breast Cancer*, I.C. Henderson, Editor. 1992, Springer US: Boston, MA. p. 279–291.
44. Peeters, K.C., et al., The TME trial after a median follow-up of 6 years: increased local control but no survival benefit in irradiated patients with resectable rectal carcinoma. *Ann Surg*, 2007. 246(5): p. 693–701.
45. Kapiteijn, E., et al., Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer. *New England Journal of Medicine*, 2001. 345(9): p. 638–646.
46. Garcia-Aguilar, J., et al., Organ Preservation in Patients With Rectal Adenocarcinoma Treated With Total Neoadjuvant Therapy. *J Clin Oncol*, 2022. 40(23): p. 2546–2556.
47. Custers, P.A., et al., Long-term Quality of Life and Functional Outcome of Patients With Rectal Cancer Following a Watch-and-Wait Approach. *JAMA Surgery*, 2023. 158(5): p. e230146–e230146.
48. Bahadoer, R.R., et al., Short-course radiotherapy followed by chemotherapy before total mesorectal excision (TME) versus preoperative chemoradiotherapy, TME, and optional adjuvant chemotherapy in locally advanced rectal cancer (RAPIDO): a randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*, 2021. 22(1): p. 29–42.
49. Lambregts, D.M.J., T.N. Boellaard, and R.G.H. Beets-Tan, Response evaluation after neoadjuvant treatment for rectal cancer using modern MR imaging: a pictorial review. *Insights Imaging*, 2019. 10(1): p. 15.
50. Temmink, S.J., et al., Complete response rates in rectal cancer: Temporal changes over a decade in a population-based nationwide cohort. *European Journal of Surgical Oncology*, 2023. 49(11): p. 106991.
51. Nahas, S.C., et al., Diagnostic performance of magnetic resonance to assess treatment response after neoadjuvant therapy in patients with locally advanced rectal cancer. *Abdom Radiol (NY)*, 2019. 44(11): p. 3632–3640.
52. Hagenaaers, S.C., et al., Tumor-stroma ratio is associated with Miller-Payne score and pathological response to neoadjuvant chemotherapy in HER2-negative early breast cancer. *Int J Cancer*, 2021.
53. Hansen, T.F., et al., Tumor-stroma ratio predicts recurrence in patients with colon cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Acta Oncol*, 2018. 57(4): p. 528–533.
54. Nagtegaal, I., et al., Morphological changes in tumour type after radiotherapy are accompanied by changes in gene expression profile but not in clinical behaviour. *J Pathol*, 2004. 204(2): p. 183–92.
55. Stone, H.B., et al., Effects of radiation on normal tissue: consequences and mechanisms. *Lancet Oncol*, 2003. 4(9): p. 529–36.
56. Miller, K.E., J.L. Ostrowski, and C.M. Quinn, Effects of chemotherapy on breast cancer tissue. *Histopathology*, 1997. 30(4): p. 397–8.
57. Park, J.H., et al., Preoperative, biopsy-based assessment of the tumour microenvironment in patients with primary operable colorectal cancer. *J Pathol Clin Res*, 2020. 6(1): p. 30–39.
58. Courrech Staal, E.F., et al., Reproducibility and validation of tumour stroma ratio scoring on oesophageal adenocarcinoma biopsies. *Eur J Cancer*, 2011. 47(3): p. 375–82.
59. Scheer, R., et al., Tumor-stroma ratio as prognostic factor for survival in rectal adenocarcinoma: A retrospective cohort study. *World J Gastrointest Oncol*, 2017. 9(12): p. 466–474.
60. Strous, M.T.A., et al., Tumour-stroma ratio to predict pathological response to neo-adjuvant treatment in rectal cancer. *Surg Oncol*, 2022. 45: p. 101862.
61. Zhu, Y., et al., Prognostic Value of Tumor-Stroma Ratio in Rectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Front Oncol*, 2021. 11: p. 685570.
62. Breugom, A.J., et al., Adjuvant chemotherapy for rectal cancer patients treated with preoperative (chemo)radiotherapy and total mesorectal excision: a Dutch Colorectal Cancer Group (DCCG) randomized phase III trial. *Ann Oncol*, 2015. 26(4): p. 696–701.
63. Mandard, A.M., et al., Pathologic assessment of tumor regression after preoperative chemoradiotherapy of esophageal carcinoma. *Clinicopathologic correlations*. *Cancer*, 1994. 73(11): p. 2680–6.
64. Polack, M., et al., The tumour–stroma ratio as predictive aid towards a biopsy-based treatment strategy in rectal carcinoma. *Histopathology*, 2025.
65. Godefroy, J., et al., Perceptual omission errors in Positron emission tomography/Computed tomography reporting. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 2021.
66. Lu, Y.Y., et al., A systematic review and meta-analysis of pretherapeutic lymph node staging of colorectal cancer by 18F-FDG PET or PET/CT. *Nucl Med Commun*, 2012. 33(11): p. 1127–33.

67. Joshi, R.S., et al., The Role of Cancer-Associated Fibroblasts in Tumor Progression. *Cancers (Basel)*, 2021. 13(6).
68. Henrich, L.M., et al., The Impact of Cancer-Associated Fibroblasts on the Biology and Progression of Colorectal Carcinomas. *Genes (Basel)*, 2024. 15(2).
69. Liu, F., et al., Fibroblast activation protein overexpression and clinical implications in solid tumors: a meta-analysis. *PLoS One*, 2015. 10(3): p. e0116683.
70. Janani, M., et al., Association of future cancer metastases with fibroblast activation protein- $\alpha$ : a systematic review and meta-analysis. *Front Oncol*, 2024. 14: p. 1339050.
71. Koerber, S.A., et al., The Role of (68)Ga-FAPI PET/CT for Patients with Malignancies of the Lower Gastrointestinal Tract: First Clinical Experience. *J Nucl Med*, 2020. 61(9): p. 1331–1336.
72. Giesel, F.L., et al., (68)Ga-FAPI PET/CT: Biodistribution and Preliminary Dosimetry Estimate of 2 DOTA-Containing FAP-Targeting Agents in Patients with Various Cancers. *J Nucl Med*, 2019. 60(3): p. 386–392.
73. Kratochwil, C., et al., (68)Ga-FAPI PET/CT: Tracer Uptake in 28 Different Kinds of Cancer. *J Nucl Med*, 2019. 60(6): p. 801–805.
74. Mori, Y., et al., FAPI PET: Fibroblast Activation Protein Inhibitor Use in Oncologic and Nononcologic Disease. *Radiology*, 2023. 306(2): p. e220749.
75. Dendl, K., et al., The Role of Fibroblast Activation Protein Ligands in Oncologic PET Imaging. *PET Clin*, 2021. 16(3): p. 341–351.
76. Mona, C.E., et al., Correlation of (68)Ga-FAPi-46 PET Biodistribution with FAP Expression by Immunohistochemistry in Patients with Solid Cancers: Interim Analysis of a Prospective Translational Exploratory Study. *J Nucl Med*, 2022. 63(7): p. 1021–1026.
77. Strating, E., et al., Fibroblast activation protein identifies Consensus Molecular Subtype 4 in colorectal cancer and allows its detection by (68)Ga-FAPI-PET imaging. *Br J Cancer*, 2022. 127(1): p. 145–155.
78. van Pelt, G.W., et al., Stroma-high lymph node involvement predicts poor survival more accurately for patients with stage III colon cancer. *J Med Surg Pathol*, 2016. 1(02).
79. Tudyka, V., et al., EURECCA consensus conference highlights about colon & rectal cancer multidisciplinary management: the radiology experts review. *Eur J Surg Oncol*, 2014. 40(4): p. 469–75.
80. Brouwer, N.P.M., et al., Clinical lymph node staging in colorectal cancer; a flip of the coin? *Eur J Surg Oncol*, 2018. 44(8): p. 1241–1246.
81. Polack, M., et al., Characteristics of tumour stroma in regional lymph node metastases in colorectal cancer patients: a theoretical framework for future diagnostic imaging with FAPI PET/CT. *Clin Transl Oncol*, 2022.
82. Chen, H., et al., Usefulness of [(68)Ga]Ga-DOTA-FAPI-04 PET/CT in patients presenting with inconclusive [(18)F]FDG PET/CT findings. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2021. 48(1): p. 73–86.
83. van den Tweel, J.G. and C.R. Taylor, A brief history of pathology: Preface to a forthcoming series that highlights milestones in the evolution of pathology as a discipline. *Virchows Arch*, 2010. 457(1): p. 3–10.
84. Loughrey, M.B., et al., Dataset for Pathology Reporting of Colorectal Cancer: Recommendations From the International Collaboration on Cancer Reporting (ICCR). *Ann Surg*, 2022. 275(3): p. e549–e561.
85. Pallua, J.D., et al., The future of pathology is digital. *Pathol Res Pract*, 2020. 216(9): p. 153040.
86. Hinton, G.E., 20 - CONNECTIONIST LEARNING PROCEDURES 11 This chapter appeared in Volume 40 of *Artificial Intelligence in 1989*, reprinted with permission of North-Holland Publishing. It is a revised version of Technical Report CMU-CS-87-115, which has the same title and was prepared in June 1987 while the author was at Carnegie Mellon University. The research was supported by contract N00014-86-K-00167 from the Office of Naval Research and by grant IST-8520359 from the National Science Foundation, in *Machine Learning*, Y. Kodratoff and R.S. Michalski, Editors. 1990, Morgan Kaufmann: San Francisco (CA). p. 555–610.
87. Hamet, P. and J. Tremblay, *Artificial intelligence in medicine*. *Metabolism*, 2017. 69s: p. S36–s40.
88. Chen, R.J., et al., Towards a general-purpose foundation model for computational pathology. *Nature Medicine*, 2024. 30(3): p. 850–862.
89. Bera, K., et al., Artificial intelligence in digital pathology — new tools for diagnosis and precision oncology. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2019. 16(11): p. 703–715.
90. Echle, A., et al., Deep learning in cancer pathology: a new generation of clinical biomarkers. *British Journal of Cancer*, 2021. 124(4): p. 686–696.
91. Smit, M.A., et al., Deep learning based tumor-stroma ratio scoring in colon cancer correlates with microscopic assessment. *J Pathol Inform*, 2023. 14: p. 100191.
92. Claudio Quiros, A., et al., Mapping the landscape of histomorphological cancer phenotypes using self-supervised learning on unannotated pathology slides. *Nat Commun*, 2024. 15(1): p. 4596.
93. Zbontar, J., Barlow Twins: Self-Supervised Learning via Redundancy Reduction. 2021.
94. Liu, B., et al., Self-Supervised Learning Reveals Clinically Relevant Histomorphological Patterns for Therapeutic Strategies in Colon Cancer. *bioRxiv*, 2024: p. 2024.02.26.582106.
95. Sackett, D.L., et al., *Evidence based medicine: what it is and what it isn't*. 1996, British Medical Journal Publishing Group. p. 71–72.
96. Indave, B.I., et al., Evidence-levels in pathology for informing the WHO classification of tumours. *Histopathology*, 2022. 81(4).
97. Colling, R., et al., A New Hierarchy of Research Evidence for Tumor Pathology: A Delphi Study to Define Levels of Evidence in Tumor Pathology. *Modern Pathology*, 2024. 37(1): p. 100357.
98. van Pelt, G.W., et al., The tumour-stroma ratio in colon cancer: the biological role and its prognostic impact. *Histopathology*, 2018. 73(2): p. 197–206.
99. Sullivan, L., et al., Tumor Stroma Ratio and Its Significance in Locally Advanced Colorectal Cancer. *Current Oncology*, 2022. 29(5): p. 3232–3241.

- Chapter 8

100. Wu, J., et al., Association between tumor-stroma ratio and prognosis in solid tumor patients: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*, 2016. 7(42): p. 68954–68965.
101. Gao, J., et al., Impact of tumor–stroma ratio on the prognosis of colorectal cancer: a systematic review. *Frontiers in oncology*, 2021. 11: p. 738080.
102. Richtlijndatabase. Colorectaal carcinoom (CRC). 2024 08–04–2024 28-11-2024]; Available from: [https://richtlijndatabase.nl/richtlijn/colorectaal\\_carcinoom\\_crc/startpagina\\_-\\_colorectaal\\_carcinoom.html](https://richtlijndatabase.nl/richtlijn/colorectaal_carcinoom_crc/startpagina_-_colorectaal_carcinoom.html).

