



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Beyond the visible: molecular imaging of aggressive epithelial solid tumors**

Muynck, L.D.A.N. de

### **Citation**

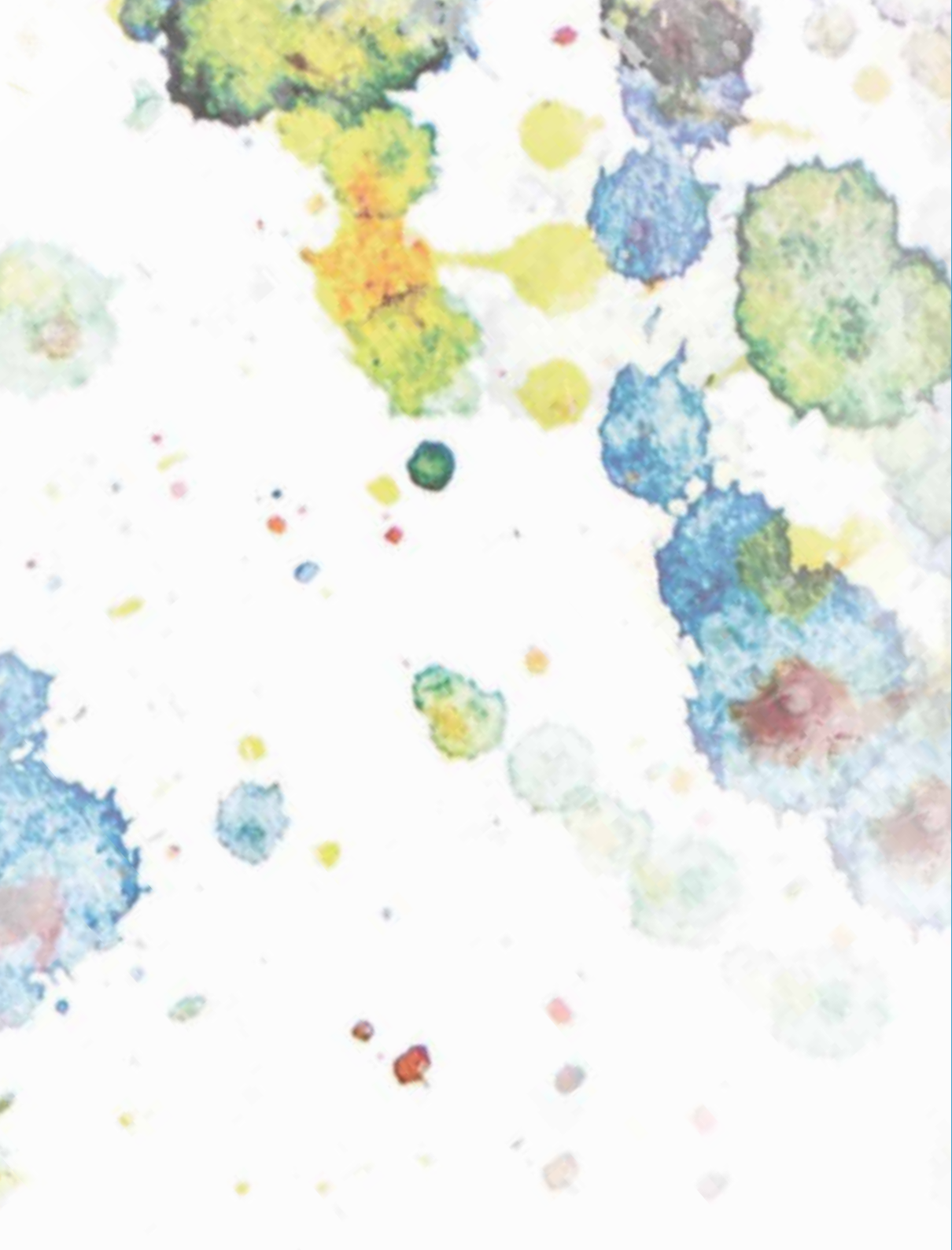
Muynck, L. D. A. N. de. (2026, March 3). *Beyond the visible: molecular imaging of aggressive epithelial solid tumors*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4295040>

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/1887/4295040>

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



## Nederlandse samenvatting

Chirurgie speelt een cruciale rol bij de behandeling van alvleesklierkanker (pancreatic ductal adenocarcinoma; PDAC) en eierstokkanker (epithelial ovarian cancer; EOC), waarbij nauwkeurige pre- en intra-operatieve beeldvorming essentieel is voor succesvolle uitkomsten. PDAC en EOC zijn vaak lastig te detecteren vanwege hun locatie en specifieke symptomen. Pre-operatieve beeldvorming, zoals computertomografie (CT) en magnetische resonantie beeldvorming (MRI), helpt bij het beoordelen van tumor grootte, locatie, betrokkenheid van omliggende structuren en de aanwezigheid van metastasen. Deze technieken bieden echter niet altijd voldoende detail voor chirurgische planning, vooral na neoadjuvante therapie.

Nabij-infrarode fluorescentie (NIRF)-beeldvorming, ook wel fluorescentie-geleide chirurgie genoemd, maakt real-time visualisatie van tumor marges en kleine metastasen mogelijk tijdens een operatie, wat de precisie van resecties vergroot en het risico op achterblijvende kankercellen verkleint. Positronemissietomografie (PET) biedt aanvullende informatie over de metabole activiteit van tumoren, bijvoorbeeld met tracers zoals [<sup>18</sup>F]FDG, waardoor uitzaaiingen beter opgespoord kunnen worden en het effect van systemische behandeling beter geëvalueerd kan worden.

De uitspraak van de gerenommeerde chirurg Dr. Atul Gawande, “Betere beeldvorming leidt tot betere beslissingen, en betere beslissingen leiden tot betere uitkomsten”, onderstreept het belang van nauwkeurige beeldvorming in chirurgische planning en uitvoering, vooral bij complexe gevallen zoals PDAC en EOC, waar de marge voor fouten minimaal is. Door geavanceerde moleculaire beeldvormingstechnieken zoals tumor-targeted NIRF- en PET-beeldvorming in de klinische praktijk op te nemen, kunnen chirurgen tumoren verwijderen met meer precisie en daardoor de kans op ziekteprogressie verminderen.

Dit proefschrift richt zich op het verbeteren van chirurgische uitkomsten bij PDAC en EOC door middel van tumor-targeted moleculaire beeldvorming. Het doel is om zowel de pre- als intra-operatieve detectie van tumoren te optimaliseren, zodat chirurgen beter geïnformeerde beslissingen kunnen nemen en nauwkeuriger kunnen opereren. Op basis hiervan is dit proefschrift opgedeeld in drie delen.

**Hoofdstuk 1** biedt een algemene inleiding en schets van dit proefschrift.

## DEEL I: NIEUWE TARGETS VOOR MOLECULAIRE BEELDVORMING VAN ALVLEESKLIERKANKER EN EIERSTOKKANKER

In **Deel I** worden drie studies gepresenteerd die bijdragen aan verbeterde diagnostische en intra-operatieve beeldvormingsstrategieën door nieuwe moleculaire targets te identificeren. **Hoofdstuk 2** bespreekt hoe huidige beeldvormingstechnieken onbetrouwbaar zijn in het beoordelen van therapieresponse, aangezien die niet kunnen onderscheiden tussen vitaal tumorweefsel en therapie-geïnduceerde fibrose (TIF). Om dit probleem te adresseren, werden specifieke moleculaire targets onderzocht die PDAC kunnen visualiseren na neoadjuvante FOLFIRINOX-therapie. De expressie van deze targets werd geëvalueerd ter identificatie van vitaal PDAC en lymfekliermetastasen na neoadjuvante FOLFIRINOX-behandeling. Integrine  $\alpha_v\beta_6$ , CEACAM5, Mesotheline en PSMA vertoonden een significant hogere expressie in PDAC in vergelijking met tumor-geassocieerde pancreatitis (TAP) en normaal pancreasparenchym (NPP) en zijn potentiëel geschikte targets voor zowel pre-operatieve als intra-operatieve moleculaire beeldvorming vóór en na neoadjuvante FOLFIRINOX-behandeling. Met behulp van PET/CT, NIRF of andere moleculaire beeldvormingstechnieken, vertoonden zowel integrine  $\alpha_v\beta_6$  als CEACAM5 de meeste veelbelovende moleculaire targets voor beeldvorming van PDAC en lymfekliermetastasen.

**Hoofdstuk 3** gaat over het identificeren van nieuwe moleculaire targets voor tumor specifieke beeldvorming van EOC-metastasen. EOC verspreidt zich vaak binnen de peritoneale holte, wat aanzienlijke uitdagingen met zich meebrengt voor detectie en behandeling. Eerder onderzoek toonde aan dat de folaat receptor alpha (FR $\alpha$ )-gerichte fluorescente probe OTL-38 29% meer laesies detecteerde, maar ook fout-positieve lymfeklieren. Deze studie evalueert de geschiktheid van vijf alternatieve targets (EGFR, VEGF-A, LICAM, integrine  $\alpha_v\beta_6$  en EPCAM) voor moleculaire beeldvorming van EOC-metastasen. De expressie van EPCAM kwam het meest overeen met FR $\alpha$  in metastasen en was volledig afwezig in de eerdergenoemde fout-positieve lymfeklieren, waardoor het een veelbelovend target lijkt voor intra-operatieve beeldvorming.

Terwijl **Hoofdstukken 2 en 3** zich richten op reeds bekende moleculaire targets, werd in **Hoofdstuk 4** een omics-gebaseerde aanpak (systematische benadering van moleculaire gegevens) gebruikt om nieuwe membraan-eiwitten te identificeren die specifiek tot expressie komen in EOC-cellen en afwezig of laag tot expressie gebracht worden in omringende tumor-negatieve en ontstekingscellen. Differentiële genexpressieanalyse leidde tot de identificatie van VTCN1 en AQP5 als potentiële nieuwe targets. Immunohistochemische validatie bevestigde de bruikbaarheid van B7-H4 (gecodeerd door VTCN1), terwijl de discrepantie tussen RNA- en eiwitexpressie voor AQP5 het belang van aanvullende validatie onderstreept.

## DEEL II: EVALUATIE VAN NIEUWE TUMOR-TARGETING CONTRAST MIDDELEN

In **Hoofdstuk 5** verschuift de focus naar de tumorstroma. De studie richt zich op het ontwikkelen van NIRF probes die gericht zijn op fibroblast activation protein (FAP), dat tot overexpressie komt in cancer associated fibroblasts (CAFs) in het stroma van vrijwel alle solide tumoren. Vanwege de prevalentie van FAP wordt het als een veelbelovend target voor fluorescence guided surgery (FGS) beschouwd. Drie nieuwe FAP-gerichte probes (eFAPs) gebaseerd op een (4-quinolinoyl)-glycyl-2-cyanopyrrolidine (QCP) structuur met of zonder GABOB linker werden gesynthetiseerd en gekoppeld aan de NIRF-dye IRDye800CW. *In vitro* toonden we specifieke binding aan FAP-positieve tumorcellen. *In vitro* modellen toonden aan dat de tracer specifiek bindt aan FAP+ cellen, terwijl *in vivo* beeldvorming een hoge TBR van 3,1 liet zien. Zowel de *in vitro* als *in vivo* modellen bevestigen een duidelijke verbetering in binding, stabiliteit en TBR met de eFAP-variant met linker. Biodistributie-analyse bevestigde hoge fluorescentiesignalen in tumoren en minimale signalen elders, wat wijst op het potentieel voor FGS bij solide tumoren met veel stroma, zoals pancreascarcinoom.

**Hoofdstuk 6** evalueert een nieuwe FR-gebaseerde PET/CT-tracer bij gevorderd EOC in een fase I safety and feasibility study. Pre-operatieve resectabiliteit wordt beoordeeld via beeldvormingstechnieken zoals CT, PET, en diffuse-weighted magnetic resonance imaging (DW-MRI), maar deze hebben beperkingen. FR-gerichte PET/CT-beeldvorming met behulp van [<sup>18</sup>F]fluoro-PEG-folate zou de pre-operatieve beoordeling kunnen verbeteren, wat mogelijk onnodige laparotomieën zou kunnen verminderen. Deze studie presenteert de eerste ervaring met [<sup>18</sup>F]fluoro-PEG-folate PET/

CT-beeldvorming in gevorderd EOC, met de nadruk op veiligheid, verdraagbaarheid en haalbaarheid bij het reflecteren van de mate van ziekte. Hoewel de tracer goed werd verdragen, was de effectiviteit voor tumor-specifieke beeldvorming beperkt. Problemen met de tracerbereiding beperkten het aantal patiënten dat beeldvorming onderging, waardoor de studie voortijdig werd beëindigd.

## DEEL III: TOEKOMSTIGE PERSPECTIEVEN VAN TUMOR-TARGETED MOLECULAIRE BEELDVORMING

Hoewel de meeste studies probes of tracers evalueren die zich op één specifiek target richten, onderzoekt **Hoofdstuk 7** de simultane binding aan twee verschillende targets, vanwege de variabele expressiepatronen die bij verschillende tumor targets worden waargenomen. Dit kan de sensitiviteit en specificiteit voor intra-operatieve beeldvorming van tumoren verbeteren. Multivalente probes kunnen aan een groter aantal receptoren binden, wat het signaal kan versterken. In deze studie werd onderzocht of GRPR en integrine  $\alpha_v\beta_6$  gelijktijdig gedetecteerd kunnen worden als basis voor toekomstige ontwikkeling van NIRF-probes voor PDAC. Immunohistochemie bevestigde de hoge expressie van beide receptoren op PDAC-cellen. Terwijl  $\alpha_v\beta_6$ -expressie heterogeen was, werd GRPR ook in lagere mate op gezond pancreasweefsel aangetroffen. Immunofluorescentie liet zowel overlappende als onderscheiden expressiepatronen zien, wat het potentieel van een gecombineerde probe ondersteunt.

**Hoofdstuk 8** presenteert een consensusverklaring over het gebruik van NIRF-beeldvorming tijdens pancreaskankerchirurgie, gebaseerd op een Delphi-studie die de inzichten van chirurgen bundelt over de huidige toepassingen en toekomstige richtlijnen. Door middel van meerdere enquête-rondes onder chirurgen werd het profijt van NIRF-beeldvorming bevestigd voor het visualiseren van de galwegen, het detecteren van metastasen en het definiëren van resectiemarges. De consensus benadrukte het belang van de integratie van NIRF-beeldvorming in de chirurgische opleiding en verdere onderzoek naar verbetering van de probe-specificiteit en combinatie met andere beeldvormingstechnieken. De studie ondersteunt het gebruik van NIRF-beeldvorming als hulpmiddel om de chirurgische nauwkeurigheid en uitkomsten bij pancreaskanker te optimaliseren.