

University of Groningen

Optimizing the treatment strategy of breast cancer

Qiu, Si-Qi

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2019

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Qiu, S-Q. (2019). *Optimizing the treatment strategy of breast cancer*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

CHAPTER 11

**Nederlandse samenvatting
(Dutch summary)**

Samenvatting

De behandeling van patiënten met borstkanker is de afgelopen drie decennia aanzienlijk verbeterd. Borstsparende operaties, in combinatie met bestraling, maken het mogelijk gezond borstweefsel te behouden met een beter cosmetisch resultaat zonder negatief effect op de overleving van de patiënt. Daarnaast heeft vervanging van okselklierdissectie door een schildwachtklierbiopsie bij patiënten met klinisch negatieve klieren, een aantal bijwerkingen na de chirurgische procedure aanzienlijk verminderd zoals lymfoedeem en beperking van de schouder- en armfunctie. Ook hierbij is er geen negatief effect op de overleving of de lokaal recidiefkans voor patiënten gebleken. Verder heeft ook verbetering van de systeemtherapie, zoals het gebruik van anthracyclines, taxanen, trastuzumab en aromataseremmers, het risico op recidief en overlijden door borstkanker verminderd. Ondanks deze verbeteringen ontwikkelt rond 30% van alle vrouwen met borstkanker nog steeds een lokaal recidief of een recidief op afstand. Dit illustreert dat er behoefte is aan het verder optimaliseren van de huidige multidisciplinaire behandelingen. Voor een adequate besluitvorming over de behandeling is het o.a. van belang om optimale informatie te verkrijgen over eigenschappen van de tumorcellen en het bijbehorende omgevende weefsel in de tumor.

Nieuwe beeldvormingstechnieken zoals micro-computertomografie (micro-CT) en fluorescente optische moleculaire beeldvorming kunnen intra-operatief mogelijk informatie geven of het chirurgische sneevlak nog tumor bevat tijdens de initiële excisie.

Het doel van dit proefschrift is het evalueren van nieuwe minimaal invasieve technieken ter ondersteuning van zogenaamde de-escalatie van de chirurgische behandeling en het optimaliseren van systemische behandelingscombinaties voor borstkanker.

Hoofdstuk 1 bevat een korte inleiding en een overzicht van het proefschrift.

In **hoofdstuk 2** tot en met **hoofdstuk 6** wordt de de-escalatie bij de chirurgische behandeling van borstkanker beschreven. In **hoofdstuk 2** worden de ontwikkelingen rond het schildwachtklierbiopt bij borstkanker besproken. Hierbij wordt een overzicht gegeven van de huidige wetenschappelijke publicaties en de nog lopende klinische studies op het gebied van de schildwachtklier bij borstkanker. Patiënten met een vroeg stadium borstkanker (d.w.z. zowel klinisch negatieve oksellymfeklieren als bij pathologisch onderzoek een negatieve schildwachtklier) en die geen okselklierdissectie ondergingen, hadden minder chirurgische complicaties en een vergelijkbaar lokaal recidief risico en overleving als in vergelijking met patiënten die wel een dergelijke ingreep ondergingen. Zelfs als er sprake was van (micro-)metastasen in 1 à 2 schildwachtklieren, waren de uitkomsten met en zonder okselklierdissectie vergelijkbaar voor patiënten met T1-2 tumoren

die borstsparend waren geopereerd en bestraald. Inmiddels is bekend dat bij patiënten die voorafgaand aan neo-adjuvante systeemtherapie positieve okselklieren hadden, toch een schildwachtklierbiopsie kan gebeuren als: i) drie of meer schildwachtklieren zijn verwijderd, ii) de aangetaste klieren voorafgaand aan de systemische therapie zijn gemarkeerd, en dat de gemarkeerde klieren verwijderd worden tijdens de schildwachtklierbiopsie, en iii) als de verwijderde schildwachtklier(-en) middels immuunhistochemie onderzocht zijn. De middelen die momenteel gebruikt worden voor het identificeren van de schildwachtklier hebben elk hun eigen nadelen, zoals kans op allergische reacties door blauwe kleurstoffen of het niet beschikbaar zijn van ^{99}Tc -radiocolloïd in veel ontwikkelingslanden of als er sprake is van onoverbrugbare geografische afstanden voor het vervoer van de radioactieve tracer. Om deze nadelen te vermijden zijn enkele nieuwe niet-radioactieve methodes ontwikkeld voor de detectie van de schildwachtklier middels het fluorescente indocyanine groen of een MRI-contrastmiddel (superparamagnetisch ijzeroxide). Deze innovatieve benaderingen zijn voor de detectie van schildwachtklier(-en) niet inferieur gebleken ten opzichte van de conventionele methodes. Daarom kunnen ze een alternatief zijn voor ^{99}Tc -radiocolloïd in landen die minder makkelijk toegang hebben tot radioactieve stoffen. Om de complicaties van okselklieroperaties te vermijden, wordt momenteel zelfs het weglaten van deze procedure bij patiënten met een laag risico op okselkliermetastasen onderzocht in klinische studies, zoals in de Sentinel Node vs Observation after Axillary Ultra-souND studie (SOUND, NCT02167490).

In **hoofdstuk 3** wordt een voorspellend statistisch model beschreven dat is ontwikkeld om het risico op okselkliermetastasen te voorspellen bij patiënten met operabele borstkanker waarbij één of meer oksellymfeklieren gedetecteerd zijn middels een pre-operatieve echografie. In totaal zijn 556 opeenvolgende Chinese patiënten, gediagnosticeerd in het Cancer Hospital van de Shantou University Medical College, geïncludeerd. Gegevens van de eerste 322 patiënten zijn gebruikt om het model te ontwikkelen en de gegevens van de resterende 234 patiënten dienden om het model te valideren. Multivariabele logistische regressie-analyse identificeerde zes onafhankelijke voorspellers die werden opgenomen in het voorspellende model. Deze voorspellers waren klinische tumorgrootte, oestrogenreceptor (ER) status, histologische graad van de primaire tumor, de transversale diameter, aspect en dikte van het centrum en de cortex van de oksellymfeklier zoals gedetecteerd middels pre-operatieve echografie. De voorspellende waarde van het model werd geëvalueerd door de area under the receiver operating characteristic curve (AUC) te berekenen. Het model deed een juiste voorspelling van oksellymfekliermetastasen met een AUC van 0,864 in de 234 patiënten uit de validatieset. Om de generaliseerbaarheid van het model bij patiënten van verschillende etnische afkomst te evalueren, hebben we in **hoofdstuk 4** een externe validatie van het model uitgevoerd met gegevens van 1416 Nederlandse patiënten uit zes ziekenhuizen. De kli-

nisch-pathologische gegevens van deze patiëntengroep werd retrospectief verkregen uit de database van de Nederlandse Kankerregistratie in combinatie met echografische rapporten en beeldvorming uit de deelnemende ziekenhuizen. In het algemeen presteerde het model goed in Nederlandse patiënten met een AUC van 0,774. Echter, het risico op oksellymfekliermetastasen bij patiënten met een a priori laag risico werd onderschat; een vergelijkbare onderschatting werd reeds waargenomen in de Chinese validatie set. Daarom hebben we het model bijgewerkt met behulp van een zogenaamd generalized linear model tree analyse om de voorspelling te verbeteren, vooral voor patiënten met een laag risico op okselkliermetastasen. In de Nederlandse validatieset vertoonden de bijgewerkte modellen een preciezere voorspelling van oksellymfekliermetastasen dan het oorspronkelijke model, vooral voor patiënten met een laag risico. Bovendien bleef de voorspellende waarde van de bijgewerkte modellen goed (AUC = 0,851) ook voor de Chinese patiëntenpopulatie, hetgeen duidt op de generaliseerbaarheid van de bijgewerkte modellen. Met behulp van de bijgewerkte modellen konden we een subgroep van patiënten identificeren met een laag risico op okselkliermetastasen, waarin mogelijk okselchirurgie vermeden kan worden.

In **hoofdstuk 5** onderzochten we de haalbaarheid en nauwkeurigheid van micro-CT-beeldvorming van operatief verwijderd borstkankerweefsel voor de beoordeling van de chirurgische sneevlakken bij borstsparende operaties. Operatiespecimen (weefselmateriaal) van 30 patiënten met borstkanker die een borstsparende operatie ondergingen werden geïncludeerd voor een ex vivo micro-CT-scan. Het gehele specimen werd intra-operatief gescand direct na de borstsparende operatie. Onmiddellijk na het scannen van het weefsel werd een beeldreconstructie verricht. Micro-CT-beelden werden retrospectief geanalyseerd en resultaten werden vergeleken met de resultaten van de histologische sneevlak beoordeling (de gouden standaard). De tijd die nodig was voor het scannen van het weefsel, beeldreconstructie en beeldevaluatie was respectievelijk 7, 1,5 en 5 minuten. Dit suggereert dat micro-CT technisch haalbaar is voor intra-operatief 'back table' gebruik, d.w.z. buiten het steriele veld. Deze methodiek levert voldoende tijdige feedback aan de opererende chirurg over de status van het sneevlak. De tumor was bij één patiënt niet zichtbaar op micro-CT-beelden vanwege het dichte omringende borstweefsel. Bij de overige 29 patiënten was het sneevlak wel te beoordelen met micro-CT-beelden. De tumoren van negen van hen hadden een histopathologisch positief sneevlak, terwijl dat bij de overige 20 tumoren niet het geval was. Bij vijf van de negen patiënten met een positief sneevlak werd dit correct voorspeld door micro-CT, terwijl het negatief sneevlak correct voorspeld werd bij alle overige 20 patiënten. Dit resulteerde in een sensitiviteit van 56% en een specificiteit van 100% in de voorspelling van het sneevlak. Het aantal re-operaties had mogelijk verlaagd kunnen worden van 31% naar 14% als micro-CT intra-operatief als een 'back table' techniek was gebruikt om de chirurgische

besluitvorming te ondersteunen. Aanvullende klinische studies met grotere cohorten patiënten zijn nodig om de toegevoegde waarde van het intra-operatief gebruik van micro-CT voor de standaard chirurgische procedure met betrekking tot het verminderen van het aantal re-operaties te kunnen bepalen.

In **hoofdstuk 6** beschrijven we een dosisescalatie fase II studie waarin de optimale dosis bevacizumab-800CW voor fluorescent-beeldgeleide chirurgie bij borstsparende operaties wordt onderzocht. Zesentwintig patiënten met primaire borstkanker ontvingen 3 dagen vóór de operatie een bolus intraveneuze injectie met 4,5 mg (drie patiënten), 10 mg (10 patiënten), 25 mg (10 patiënten) en 50 mg (drie patiënten) van de nabij-infrarode fluorescente tracer bevacizumab-800CW. Macroscopisch werd de intensiteit van de fluorescentie in het borstkankerweefsel en het omringende normale weefsel gemeten in vers gesneden weefsel op de afdeling pathologie. De tumor-specifieke opname van de tracer was dosis-afhankelijk. De verhoogde signaal/achtergrond ratio's bereikten een plateau bij een dosis van 25 mg. Op microscopisch niveau werd de distributie van bevacizumab-800CW in 10 µm coupes van het tumorweefsel beoordeeld door de fluorescentie-intensiteit van verschillende weefselcomponenten te meten. Alle tumorweefsels, ongeacht de bevacizumab-800CW dosering, vertoonden een hogere gemiddelde fluorescentie intensiteit in vergelijking met het omliggende normale borstweefsel. De intra-operatieve fluorescentiebeelden en video's van de chirurgische holte van alle patiënten werden retrospectief geanalyseerd om de status van het chirurgische sneevlak te evalueren. Bevacizumab-800CW fluorescerentie beeld-geleide chirurgie bleek, retrospectief, de detectie van tumor in het sneevlak in 88% van de patiënten met een positief chirurgisch sneevlak te detecteren. Dit duidt op een mogelijke klinische toepasbaarheid van deze techniek om het aantal positieve marges te doen verminderen en dus het aantal reoperaties. Vanwege de ongelijke verdeling van patiënten met een positief sneevlak over de vier dosisgroepen en de mogelijke aanwezigheid van tumorheterogeniteit kon de optimale tracerdosis voor deze fluorescente beeldgeleide chirurgie echter niet betrouwbaar worden bepaald. Op basis van de gegevens die in deze studie zijn verkregen, hebben we een schema ontwikkeld voor internationale standaardisatie van gegevensverzameling en fluorescente beeldanalyses voor optische tracer en fluorescente geleide chirurgie. Dit schema zou gebruikt kunnen worden bij de ontwikkeling van klinisch toepasbare fluorescente tracers om tumoren mee te detecteren en te evalueren. Het evaluatieschema kan vanzelfsprekend bij verschillende tumortypes, tracers en detectie camera's worden gebruikt.

In **hoofdstuk 7** en **hoofdstuk 8** wordt een gedetailleerde analyse van het omgevende 'gezonde' weefsel rondom borstkanker beschreven, en met name de immunologische aspecten van dit omgevende weefsel. In **hoofdstuk 7** hebben we bestudeerd of tumor-

geassocieerde macrofagen (TAM's) bij borstkanker een relevant focus voor behandeling kunnen zijn in de toekomst. We geven een overzicht over publicaties omtrent de prognostische waarde van TAM's bij borstkankerpatiënten, aanwijzingen uit preklinische modellen over de rol van TAM's bij borstkanker groei, uitzaaingen en resistentie tegen behandelingen. Verder wordt weergegeven wat er bekend is over het effect van het behandelen van deze TAM's. De huidige inzichten zijn echter tegenstrijdig. Wel is in het algemeen een hogere infiltratie van TAM's in de primaire tumor geassocieerd met ongunstige klinisch-pathologische kenmerken en een slechtere prognose bij patiënten met vroege borstkanker. Subtype borstkanker en de lokalisatie van TAM's in de tumor lijken uit te maken voor hun effect op de prognose. Preklinische studies laten zien dat TAM's de groei, lokale invasie, intravasatie, extravasatie en het vermogen om uit te zaaien van borstkankercellen bevorderen. In muismodellen met borstkanker induceren TAM's zelfs resistentie tegen meerdere behandelingen. Hierbij zijn verschillende tumorbevorderende aspecten van TAM's betrokken, zoals remming van CD8+ T-celfunctie, afbraak van de extracellulaire matrix, stimulatie van angiogenese en remming van fagocytose. In muismodellen kan deze bevordering van tumorgroei teniet gedaan worden door de influx van TAM's te remmen of verandering van TAM's in het tumorbevorderende fenotype te remmen. Op basis van deze gegevens zijn op macrofagen gerichte behandelingsstrategieën ontwikkeld en deze worden momenteel geëvalueerd in vroeg klinische borstkankerstudies. De klinische werkzaamheid van deze benadering bij borstkanker moet echter nog worden vastgesteld.

In **hoofdstuk 8** hebben we de androgeenreceptor (AR) expressie en immuun omgevingsfactoren bij primaire tumoren van 221 patiënten met humane epidermale groeifactor receptor 2 (HER2) -positieve uitgezaaide borstkanker geanalyseerd. Deze patiënten, die met trastuzumab werden behandeld, werden geïdentificeerd via 19 ziekenhuisapotheken in Noord-Nederland. Van 150 patiënten was voldoende primair tumormateriaal beschikbaar voor analyse. AR-expressie en de expressie van immuunmarkers werden geëvalueerd met behulp van immunohistochemische of immunofluorescentie kleuringen. AR kwam tot expressie in 81,3% van de tumoren en was omgekeerd gerelateerd aan infiltratie van M2-type TAM's, CD3+ en CD8+ T-cellen. Cluster-analyse werd uitgevoerd om de AR-expressie en samenstelling van immuuncelsamenstelling in de afzonderlijke tumoren te bestuderen. Dat resulteerde in vier subgroepen. Deze subgroepen waren: i) tumoren met veel immuuncellen en lage AR-expressie (~20%), ii) tumoren met veel immuuncellen en hoge AR-expressie (~15%), iii) tumoren met weinig immuuncellen en hoge AR-expressie (~50%) en iv) tumoren met weinig immuuncellen en lage AR-expressie (~15%). Bij tumoren met veel immuuncellen was een hoge AR-expressie vergeleken met lage AR-expressie geassocieerd met een betere overleving (89,7 versus 66,4 maanden, $P = 0,01$). Hoewel dit verschil werd gevonden in een relatief kleine patiëntengroep,

kan deze observatie erop wijzen dat de voorgestelde classificatie relevant is voor klinische uitkomst. Daarom zijn toekomstige studies gerechtvaardigd om onze resultaten te valideren.

