

Nederlandse samenvatting

Plaveiselcelcarcinoom van het hoofd-halsgebied (HHPCC) is wereldwijd de zevende meest voorkomende vorm van kanker. In Nederland waren er in 2020 3070 nieuwe patiënten met een HHPCC en overleden 921 patiënten aan deze ziekte. HHPCC ontstaat uit het slijmvlies van de bovenste lucht- en voedselweg en de meest aangedane locaties zijn de mondholte, de keelholte (orofarynx, hypofarynx) en het strottenhoofd (larynx). Bekende risicofactoren voor het ontstaan van een HHPCC zijn langdurige blootstelling aan kankerverwekkende stoffen zoals tabak en/of alcohol die schade toebrengen aan het erfelijk materiaal (DNA) in cellen. Ook kan een orofarynx carcinoom het gevolg zijn van een infectie met het humaan papilloma virus (HPV) die epitheel gevoelig maakt voor DNA beschadiging en het ontstaan van tumoren. In deze tumoren kan een verhoogde concentratie van het eiwit p16 aangetoond worden. Gelukkig zijn lichaamscellen uitgerust met verschillende mechanismen die het DNA bij schade kunnen herstellen, de zogenaamde DNA schade respons. Een van de kritische regulatoren van de DNA schade respons, is het eiwit ataxia telangiectasia and Rad3-related protein (ATR). Soms kan de schade aan het DNA niet worden gerepareerd, bijvoorbeeld door afwezigheid van het eiwit ATR, wat leidt tot progressieve opeenstapeling van DNA schade, dit wordt ook wel genomische instabiliteit genoemd. Normale cellen kunnen een hoge mate van genomische instabiliteit niet overleven in tegenstelling tot kankercellen. De gedachtegang is dat kankercellen een hoge mate van genomische instabiliteit kunnen weerstaan door zich zo aan te passen, dat zij zelfs voor overleving afhankelijk worden van de regulatoren van de DNA-schade respons. Deze afhankelijkheid kan een potentieel aangrijpingspunt zijn voor kankertherapie.

Op het moment van diagnose, is er bij meer dan 60% van de patiënten sprake van een lokaal-vergevoerd stadium, dat wil zeggen een grote tumor met veelal uitzaaiingen naar de lymfklieren (regionale metastasen). Wanneer een lokaal-vergevoerde HHPCC niet chirurgisch te verwijderen is zonder (veel) schade aan te richten aan het nog normaal functionerende omliggende weefsel, is de huidige standaardbehandeling radiotherapie met gelijktijdige chemotherapie (chemoradiatie). Ondanks deze intensieve behandeling ontwikkelt de helft van de patiënten binnen twee jaar na deze behandeling toch opnieuw een tumor (recidief of nieuw) met of zonder uitzaaiingen (regionale metastasen in de hals of afstandsmetastasen in bijvoorbeeld de longen). Het vroegtijdig opsporen van na (chemo)radiatie overgebleven of terugkerende tumor is essentieel omdat het (alsnog) chirurgisch verwijderen ervan veelal de laatste kans op genezing is.

In dit proefschrift hebben we uitdagingen in de klinische praktijk rond de behandeling van HHPCC patiënten in een lokaal-vergevoerd stadium en het beoordelen van de respons op behandeling als leidraad gebruikt. We hebben ons gefocust op de bijwerkingen van de huidige

standaardbehandeling, het vinden van een eerste aanzet tot mogelijke nieuwe behandelingen en het verbeteren van het opsporen van resterende en/of terugkerende ziekte.

De huidige standaardbehandeling met chemoradiatie bevat in principe 35 bestralingen en drie kuren cisplatin. Dit is een intensieve behandeling die veel bijwerkingen veroorzaakt. Ongeveer een derde van de patiënten moet vanwege deze bijwerkingen voortijdig stoppen met de behandeling. Carboplatin+5-Fluoruracil(5-FU) is een ander chemotherapeuticum met een ander bijwerkingenprofiel. In hoofdstuk 2 beschrijven we onze retrospectieve studie waarin we beide chemotherapie behandelingen (cisplatin of carboplatin-5FU) bij patiënten met een lokaal-vergevoerd HHPCC met elkaar vergelijken. In tegenstelling tot onze hypothese vonden we dat patiënten die behandeld werden met carboplatin-5-FU vaker voortijdig stoppen (39,8%) vanwege de bijwerkingen, dan patiënten die behandeld werden met cisplatin (23.3%). De totale overleving was onafhankelijk geassocieerd met zowel de grote van de primaire tumor (T-stadium), het aantal metastasen in de lymfeklieren van de hals (N-stadium) en aanwezigheid van het HPV virus (p16 status). De totale overleving was echter niet geassocieerd met de chemotherapeutische behandeling zelf (HR 1,08, 95%CI 0.74-2,09, $p=0,4$). Waaruit we concludeerden dat beide chemotherapie behandelingen toch geschikte behandelopties zijn.

Omdat de helft van de patiënten ondanks deze intensieve behandeling te maken krijgt met resterende/terugkerende ziekte is er duidelijk behoefte aan nieuwe en mogelijk effectievere behandelingen. Een nieuwe behandelstrategie, welke nog niet gebruikt wordt voor HHPCC, zijn antilichaam-geneesmiddel-conjugaten (antibody-drug conjugates, ADC). Een ADC bindt aan een tumor specifiek eiwit (doeleiwit) op de buitenkant van de cel (celmembraan) dat idealiter tot verhoogde expressie komt in de specifieke kankercellen en niet of nauwelijks tot expressie komt in de normale cellen. Deze specifieke antilichamen maken het mogelijk om een hoge dosis toxische stoffen specifiek op kankercellen te richten. Voor de behandeling van HHPCC met ADC's moeten potentiële doeleiwitten worden geïdentificeerd. In hoofdstuk 3 hebben we hiervoor "Functional Genomic mRNA (FGmRNA), profiling" gebruikt, wat een methode is die gebruik maakt van publiekelijk beschikbare mRNA (boodschapper tussen DNA en eiwitproductie) profielen. Hierbij werden er voor HHPCC potentiële ADC doeleiwitten geprioriteerd op basis van mRNA expressie profielen. Van de 55 geïdentificeerde doeleiwitten waarvoor een goedgekeurde ADC al beschikbaar is, toonde glycoproteïne nonmetastatic melanoma protein B (GPNMB) de hoogste voorspelde eiwitexpressie in HHPCC cellen in vergelijking met normale cellen. Dit konden we bewijzen met behulp van immunohistochemie (IHC), die expressie van GPNMB bevestigde in 92% van 414 HHPCC tumoren en in veel lagere mate in normale weefsels.

Een andere innovatieve strategie voor de behandeling van HHPCC is gebruik te maken van de hoge mate van genomische instabiliteit in HHPCC als aangrijpingspunt. Wanneer er storingen ontstaan in het kopiëren van DNA (DNA replicatie) noemen we dat replicatiestress. Het ex-

ploiteren van replicatiestress kan leiden tot onherstelbare DNA schade en celdood. Om meer inzicht te krijgen in de mate van afhankelijkheid van replicatiestress in HHPCC hebben we in hoofdstuk 4 een genoom-brede associatieanalyse uitgevoerd tussen individuele genen (met behulp van het FG-mRNA expressiesignaal) en de mate van genomische instabiliteit in 354 HHPCC tumoren. We ontdekten dat hogere niveaus van genomische instabiliteit geassocieerd waren met hogere expressie van het eiwit ATR in HHPCC. De replicatie snelheid in HHPCC biopoten behandeld met en zonder ATR-remmer werd onderzocht om de afhankelijkheid van ATR te analyseren. Verschillende patronen voor ATR remming werden gezien waarbij een aantal HHPCC een afname van replicatie snelheid lieten zien. Daarmee ondersteunen onze resultaten dat sommige HHPCC tumoren mogelijk afhankelijk zijn geworden van ATR voor DNA-replicatie en dat gebruik van ATR-remmers mogelijk een effectieve therapeutische strategie bij behandeling van deze HHPCC zou kunnen worden.

Na een behandeling door middel van bestraling eventueel in combinatie met chemotherapie (zgn (chemo)radiatie) wordt de mate van succes (respons) beoordeeld door middel van computer tomografie (CT), een vorm van beeldvorming die gebruik maakt van röntgenstralen. Dit vindt doorgaans plaats 8-12 weken na het voltooien van de behandeling. Dat het voorspellen van resterende ziekte lastig is middels een response CT, wordt geïllustreerd door het hoge percentage salvage behandelingen (chirurgische verwijdering als laatste redmiddel) waarbij het histopathologisch onderzoek geen vitale tumor laat zien (59%) en deze chirurgische behandeling derhalve vermeden had kunnen worden. De interpretatie van lymfekliermetastasen op CT-scans na de behandeling wordt bemoeilijkt door de door therapie veroorzaakte veranderingen in het weefsel. Daarnaast ontbreken criteria voor radiologische kenmerken die resterende vitale lymfekliermetastasen na behandeling goed kunnen voorspellen. In hoofdstuk 5 hebben we daarom gezocht naar onafhankelijke radiologische voorspellers voor lymfekliermetastasen op CT-scans na behandeling. In tegenstelling tot algemeen aanvaarde radiologische kenmerken die lymfekliermetastasen voorspellen vóór behandeling (zoals verminderde aankleuring door contrastmiddel, verkalking en onregelmatige marges) waren deze niet geassocieerd met resterende vitale lymfekliermetastasen na behandeling. Daarnaast ontdekten we dat een verhoogde aankleuring juist geassocieerd was met de afwezigheid van lymfekliermetastasen terwijl het vóór behandeling voorspellend is voor de aanwezigheid van lymfekliermetastasen ($OR = 0,067$; $p = 0,037$). Op basis van onze resultaten concluderen wij dat radiologische voorspellers van lymfekliermetastasen op CT vóór de behandeling niet geschikt zijn om lymfekliermetastasen na de behandeling te voorspellen.

Een andere manier om tumor te visualiseren is positronemissietomografie (PET) en wordt vaak gecombineerd met een CT-scan, een PET-CT. Een PET-scan kan gebruik maken van een radioactief (^{18}F) gelabelde glucose, doordat tumoren in verhouding veel glucose gebruiken absorberen ze meer van de radioactieve glucose dan omliggende weefsels wat detectie van de tu-

morcellen mogelijk maakt. ^{18}F -FDG-PET/CT is een essentiële imaging modaliteit geworden voor het beoordelen van de respons op een bestraling of chemoradiatie. In hoofdstuk 6 beschrijven we onze studie naar de diagnostische waarde van ^{18}F -FDG-PET/CT door de nauwkeurigheid ervan te evalueren waarbij we onderscheid maakten tussen de primaire behandeling (alleen bestraling of gecombineerd met chemotherapie), HPV status (door aantonen van hoge concentratie van het eiwit p16), en patiënt- en tumorkenmerken. We ontdekten dat de nauwkeurigheid van PET minder was bij patiënten die behandeld werden met chemoradiatie dan met bestraling alleen, waarbij de kans op fout positieve FDG-PET lymfeklieren hoger (14,3%) is na behandeling met chemoradiatie in vergelijking met het percentage na alleen radiotherapie (1,8%) (HR 3,0 CI 95% 1,0-8,8). Ook werd er een hoger percentage fout-positieven waargenomen bij p16-positieve (dus veroorzaakt door het HPV) orofaryngeale kankers (3,1%) in vergelijking met p16-negatieve kankers (1,6%) (HR 5,8 BI 95% 1,07 – 32,0). Op basis van onze ervaring raden wij het gebruik van ^{18}F -FDG PET/CT aan bij de evaluatie van de behandelingsrespons en stellen we voor in de huidige algoritmen voor beoordeling van de behandelrespons ook de uitgevoerde initiële behandeling en p16 status mee te nemen om de nauwkeurigheid te verbeteren.

In het geval van resterende ziekte na een initiële behandeling is het volledig chirurgisch verwijderen van deze (resten) tumor zeer belangrijk voor de overlevingskansen van de patiënt. Wanneer het lukt om deze (rest)tumor volledig te verwijderen resulteert dit in een 5-jaars overleving van 30-58%, wanneer dit niet lukt is de prognose slechts zes tot negen maanden. Om de tumor volledig te kunnen verwijderen is het van groot belang peroperatief onderscheid te kunnen maken tussen resterende lymfekliermetastasen, therapie geïnduceerde weefsel-schade en normaal weefsel. Het gebruik van intra-operatieve beeldvorming met fluorescentie gericht op tumor specifieke eiwitten (doeleiwitten) kan dit onderscheid helpen verbeteren. In onbehandelde lymfeklieren in de hals zijn er veelbelovende resultaten bij het gebruik van intra-operatieve visualisatie door middel van fluorescentie met antilichamen (cetuximab) specifiek gericht tegen het doeleiwit epidermal growth factor receptor (EGFR). Omdat de effectiviteit na behandeling sterk afhangt van de receptor expressie na behandeling hebben wij in hoofdstuk 7 de receptor expressie van EGFR (als traditionele marker), vasculair endothelial growth factor (VEGF) en GPNMB na behandeling bepaald in lymfekliermetastasen en aangrenzende lymfeklieren zonder metastasen, afkomstig van dezelfde patiënt bepaald. Bij IHC toonde GPNMB de hoogste expressie (100%) in lymfekliermetastasen terwijl EGFR-expressie in (86%) van de metastasen werd aangetoond. Er werd een negatief voorspellende waarde van 98.2% voor EGFR en 100% voor GPNMB gevonden. VEGF toonde expressie in alle lymfeklieren, met of zonder metastasen en werd daarom ongeschikt geacht als doelreceptor na behandeling. Op basis van onze resultaten zou GPNMB een veelbelovend doeleiwit kunnen zijn voor de specifieke detectie van resterende lymfekliermetastasen met behulp van moleculaire beeldvorming in HHPCC na eerdere behandeling.

Ten slotte vatten we onze bevindingen samen in **hoofdstuk 8** en bespraken we verwachtingen voor toekomstig onderzoek.

