

## Інгібітори імунних контрольних точок у терапії метастатичного колоректального раку (огляд літератури)

П. П. Сорочан <sup>A,C,E,F</sup>, І. А. Громакова <sup>\*B,D</sup>, Н. Е. Прохач <sup>C-E</sup>, І. С. Громакова <sup>B,D</sup>

ДУ «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва НАМН України», м. Харків

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

### Ключові слова:

колоректальний рак, метастази, інгібітори імунних контрольних точок, радіотерапія, хіміотерапія, таргетні препарати.

Запорізький медичний журнал. 2022. Т. 24, № 3(132). С. 354-364

\*E-mail: radimiririna@gmail.com

### Key words:

colorectal cancer, metastasis, immune checkpoint inhibitors, radiotherapy, chemotherapy, drug targeting.

Zaporozhye medical journal 2022; 24 (3), 354-364

**Мета роботи** – схарактеризувати клінічні досягнення терапії інгібіторами імунних контрольних точок хворих на метастатичний колоректальний рак і проаналізувати результати випробувань комбінованого застосування цих інгібіторів з хіміотерапією, радіотерапією та таргетними препаратами.

**Результати.** Підсумовано результати клінічних випробувань інгібіторів імунних контрольних точок (ІКТ) у хворих на MSI-H/dMMR метастатичний колоректальний рак (МКР), що стали основою для схвалення до застосування цих препаратів FDA. Навели результати комбінованого застосування ІКТ у хворих із MSS/pMMR статусом. Схарактеризували потенційні біомаркери відповіді на ІКТ у хворих на МКР.

**Висновки.** Ефективність ІКТ та їхніх комбінацій доведена у хворих із MSI-H/dMMR статусом. Тривають випробування з застосуванням комбінованих стратегій у хворих на MSS МКР, що обмежуються невеликими дослідженнями I/II фази і не завжди мають групу порівняння. Немає відомостей щодо тривалої відповіді на лікування в разі застосування комбінованих стратегій.

### Immune checkpoint inhibitors in metastatic colorectal cancer therapy (a review)

P. P. Sorochan, I. A. Hromakova, N. E. Prokhach, I. S. Hromakova

**Aim** – to characterize the clinical achievements of therapy with immune checkpoint inhibitors in patients with metastatic colorectal cancer and to analyze the trial results of combined use of these inhibitors with chemotherapy, radiotherapy, and targeted drugs.

**Results.** The review has summarized the clinical trial results of immune checkpoint inhibitors (ICI) in patients with MSI-H/dMMR metastatic colorectal cancer (mCRC), which were the basis for FDA approval of these drugs use. The results of the ICI combined use in patients with MSS/pMMR status have been described. Potential biomarkers of response to ICI in patients with CRC have been characterized.

**Conclusions.** The effectiveness of ICI and their combinations has been proven in patients with MSI-H/dMMR status. Trials using combination strategies in MSS mCRC patients are ongoing and limited to small phase I/II trials and do not always have a comparison group. There is no evidence of a durable response rate to treatment when combination strategies are used.

Колоректальний рак (КР) – одне з найчастіших злоякісних новоутворень у світі. Йому належить третє місце в структурі онкологічної захворюваності, друге – у структурі смертності. У 2020 році зареєстрували понад 1,9 млн нових випадків захворювання на КР і 935 000 смертей [1]. Впровадження інгібіторів імунних контрольних точок (анти-PD1/PD-L1 і анти-CTLA моноклональних антитіл) забезпечило значні досягнення в лікуванні кількох типів пухлин, як-от меланома, рак легенів і нирок. Але лише мала частина хворих на метастатичний колоректальний рак (МКР), зокрема хворі з феноменом мікросателітної нестабільності (MSI-H) або дефектною системою репарації помилково спарених нуклеотидів (dMMR), мають тривалі відповіді в разі застосування цього підходу [2].

При КР частота MSI-H залежить від стадії захворювання. Близько 12–16 % пацієнтів з I–III стадіями мають MSI-H/dMMR пухлини. У хворих із IV стадії MSI-H/dMMR пухлини становлять майже 4 % [3].

Успіх інгібіторів імунних контрольних точок (ІКТ) у лікуванні MSI-H/dMMR пухлин пов'язаний із їхнім гіпермутуваним фенотипом, збільшеним синтезом пухлинних

неоантигенів, підвищеною інфільтрацією пухлинного мікрооточення Т-клітинами, особливо клітинами пам'яті та цитотоксичними Т-лімфоцитами, ефекторами антипухлинної імунної відповіді [4].

Більшість хворих на МКР (96 %) мають мікросателітно стабільні пухлини (MSS), пухлини з низькою мікросателітною нестабільністю (MSI-L), пухлини без порушень у системі репарації помилково спарених нуклеотидів (proficient MMR (pMMR)), що слабо реагують на ІКТ-терапію. Для цих хворих гостро необхідний розвиток ефективної імунотерапії. Нині чимало досліджень присвячені аналізу результатів використання комбінації ІКТ з хіміє-, радіотерапією та таргетними препаратами для трансформації імунотолерантного пухлинного мікросередовища MSS/pMMR пухлин.

### Мета роботи

Схарактеризувати клінічні досягнення терапії інгібіторами імунних контрольних точок хворих на метастатичний колоректальний рак і проаналізувати результати випробувань комбінованого застосування цих інгібіторів

з хімієтерапією, радіотерапією та таргетними препаратами.

**Імунотерапія MSI-H/dMMR метастатичного колоректального раку.** Імунотерапія з використанням пембролізумабу або ніволумабу (PD-1 інгібітори) з/без іпіліумабу (CTLA-4 інгібітор) показала істотну протипухлинну активність у клінічних випробуваннях при MSC-I/dMMR мКР. Це спричинило включення названих агентів до стандартів лікування.

Ефективність ІКТ доведена в разі застосування препаратів як першої лінії терапії у наївних до хімієтерапії пацієнтів із MSI/dMMR мКР. У дослідження CheckMate-142 залучили 45 попередньо не лікованих хворих, котрі отримували ніволумаб (3 мг/кг кожні 2 тижні) та низькі дози іпіліумабу (кожні 6 тижнів) до прогресування захворювання. Після медіани періоду спостереження, що становила 29 місяців, частота об'єктивних відповідей (ЧОВ) становила 72 %, а 2-річна виживаність без прогресування (ВБП) та загальна виживаність (ЗВ) – 57 % та 79 % відповідно [5].

У дослідженні KEYNOTE-177 (NCT02563002) [6] 307 хворих на метастатичний MSI-H/dMMR мКР рандомізовані для отримання першої лінії терапії пембролізумабом у дозі 200 мг кожні 3 тижні протягом 2 років або модифікованого режиму FOLFOX6 (фторурацил (5-ФУ), лейковорин, оксаліплатин) або FOLFIRI (5-ФУ, лейковорин, іринотекан) кожні 2 тижні з бевацизумабом або цетуксимабом чи без них. Пембролізумаб перевершував хімієтерапію за ВБП (медіана 16,5 місяця проти 8,2 місяця), ЧОВ (43,8 % проти 33,1 %) та частотою повної відповіді (ЧПВ) (11,1 % проти 3,9 %) Частота пов'язаних із лікуванням побічних проявів  $\geq 3$  ступеня становила 22 % та 66 % для пембролізумабу та хімієтерапії відповідно. На підставі результатів дослідження III фази KEYNOTE-177 Управління за санітарним наглядом за якістю харчових продуктів і медикаментів (Food and Drug Administration – FDA) затвердило пембролізумаб як терапію першої лінії в пацієнтів із неоперабельним або dMMR/MSI-H мКР.

Очікують на результати III фази дослідження CA209-8HW (NCT04008030) та III фази дослідження COMMIT (NCT02997228). У дослідженні CA209-8HW порівнюють результати лікування 3 груп пацієнтів, котрі як першу лінію терапії отримували хімієтерапію та таргетну терапію, ніволумаб і ніволумаб з іпіліумабом. У дослідженні COMMIT оцінюють результати лікування пацієнтів, котрі як першу лінію терапії отримували комбінацію mFOLFOX6, бевацизумабу й ателозумабу, та хворих, які отримували лише ателозумаб.

Здійснили випробування ІКТ у хворих на MSI-H/dMMR мКР, які попередньо отримували хімієтерапію. Дослідження KEYNOTE-016 включало 86 пацієнтів з dMMR пухлинами, серед них 40 хворих на мКР [7] отримували пембролізумаб у дозі 10 мг/кг кожні 2 тижні. У пацієнтів із MSI-H мКР ЧОВ становила 52 %, дворічна ВБП – 59 %, дворічна ЗВ – 72 %. Подібні результати встановили у дослідженнях KEYNOTE-164 і KEYNOTE-158. У KEYNOTE-164 клінічну активність пембролізумабу оцінювали у 124 пацієнтів із попередньо лікованим MSI-H/dMMR мКР. У цьому дослідженні 200 мг пембролізумабу вводили кожні 3 тижні, його ефективність оцінювали у двох когортах: пацієнтів, котрі отримували  $\geq 2$  попередні лінії стандартної терапії (когорта А), та хворих,

які отримували  $\geq 1$  попередню лінію терапії (когорта В). ЧОВ становила 33 % в обох когортах, медіана ВБП – 2,3 місяця в когорті А і 4,1 місяця в когорті В, медіана ЗВ – 31,4 місяця в когорті А і не досягнута в когорті В [8]. У KEYNOTE-158, що включало 77 пацієнтів із MSI-H солідними пухлинами, серед котрих не було хворих на мКР, ЧОВ становила 37,7 %, а ВБП та ЗВ у 6 місяців – 45 % і 73 % відповідно [9].

На підставі результатів аналізу 5 випробувань (KEYNOTE-016, -164, -012, -028 та -158), у яких проаналізовано результати лікування 149 пацієнтів із MSI-H/dMMR пухлинами, включаючи 90 хворих на мКР, пембролізумаб у 2017 р. схвалений FDA для лікування солідних MSI-H/dMMR пухлин незалежно від локалізації первинної пухлини.

У дослідженні CheckMate 142 trial оцінювали клінічну активність іншого блокатора PD1 ніволумабу та його комбінації з блокатором CTLA-4 іпіліумабом у когортах хворих, які попередньо отримували хімієтерапевтичне лікування. Ніволумаб отримували 74 пацієнти (3 мг/кг кожні 2 тижні) ЧОВ становила 31,1 %. Контроль захворювання протягом 12 тижнів або довше визначили у 69 % хворих, 12-місячна ВБП і загальна виживаність становила 50 % і 73 % відповідно [10]. Ніволумаб (3 мг/кг кожні 3 тижні) та іпіліумаб (1 мг/кг кожні 3 тижні) отримували 119 пацієнтів. ЧОВ становила 55 %, 12-місячна ВБП і загальна виживаність – 71 % і 85 % відповідно [11]. Пов'язані з лікуванням побічні ефекти 3–4 ступенів спостерігали в 32 % пацієнтів, а серед хворих, які отримували лише ніволумаб, – 20 % випадків. Отже, комбінація ІКТ дає додаткові клінічні переваги у хворих із попередньо лікованим MSI-H/dMMR мКР.

У 2017 році FDA надала прискорене схвалення ніволумабу (OPDIVO, компанія Bristol-Myers Squibb Company) для лікування пацієнтів віком 12 років і більше із dMMR/MSI-H мКР, який прогресував після лікування фторпіримідином, оксаліплатином та іринотеканом. У 2018 році схвалено комбінацію ніволумабу та іпіліумабу.

Досліджують протипухлинну активність інших інгібіторів PD-L1, дурвалумабу (NCT03435107) та авелумабу (NCT03150706) у хворих на MSI-H/dMMR мКР.

**Хімієтерапія та інгібітори імунних контрольних точок.** Обґрунтування доцільності комбінованого застосування хімієтерапії та ІКТ полягає в тому, що хімієтерапія може спричинити одночасне вивільнення пухлинних антигенів, зменшення популяції імуносупресорних клітин і збільшення вивільнення цитокинів [12]. Імуномодульовальні властивості притаманні загальноживаним під час лікування мКР цитотоксичним препаратам. 5-фторурацил викликає селективне виснаження пухлино-асоційованих MDSC і збільшення інфільтрації пухлини CD8+ Т-клітинами [13]. Оксаліплатин індукує імуногенну загибель (I3) пухлинних клітин, спричиняє активацію дендритних клітин і збільшує інфільтрацію пухлин CD8+ Т-клітинами [14, 15]. Підвищену експресію кальретикуліну на поверхні пухлинних клітин (ознаку I3) і підвищену експресію MHC-I спостерігали під впливом дії іринотекану [16]. У разі застосування стандартних під час лікування хворих на мКР хімієтерапевтичних режимів FOLFOX (фторурацил, лейковорин і оксаліплатин) та FOLFIRI (фторурацил, лейковорин та іринотекан)

спостерігали істотне зниження рівня Тreg у пацієнтів із високим вмістом цих імуносупресорних клітин перед хіміотерапією [17].

Отримали попередні результати кількох випробувань комбінації хіміотерапевтичних препаратів з ІКТ.

Shahda et al. [18] представили результати дослідження II фази, де оцінювали ефективність лікування, що поєднувало пембролізумаб із mFOLFOX6. У дослідження включили 30 пацієнтів незалежно від MMR-статусу. Повна відповідь зафіксована в 1 пацієнта, часткова – у 15 осіб, стабілізація хвороби – у 14.

У випробуванні MEDETRIME Ib/II фази пацієнти з RAS-мутуванням, попередньо нелікованим MSS МКР отримували дурвалумаб і тремеліумаб у комбінації з FOLFOX. Проміжний аналіз ефективності здійснили після досягнення медіани лікування 13,4 місяця. Медіана ВБП не досягнута, ВБП через 6 місяців – у 10/16 пацієнтів (62,5 %) при 5 ПВ, 5 ЧВ і 4 випадках стабілізації захворювання [19].

Дослідження KEYNOTE-651 фази Ib (NCT03374254) оцінювало результати застосування пембролізумабу в комбінації з mFOLFOX7 (когорти В) або FOLFIRI (когорти D) у пацієнтів із MSR/pMMR mCRC. Пацієнти когорти В не отримували попередньої системної хіміотерапії, а пацієнтам когорти D призначали одну попередню хіміотерапію на основі фторпіримідину та оксаліплатину. Лікування отримували 31 хворий у когорті В і 32 пацієнти в когорті D. Терапію припинили 19 (61 %) пацієнтів у когорті В і 20 (63 %) осіб із когорти D, передусім через прогресування захворювання. Підтверджену об'єктивну відповідь спостерігали в 18 пацієнтів (58 %; 1 ПВ, 17 ЧВ) і 5 хворих (16 %; 5 ЧВ) у когортах В і D відповідно; КЗ становив 94 % і 63 % відповідно. Середня тривалість відповіді – 10,3 місяця в когорті В і 17,4 місяця у когорті D. Отже, попередні докази ефективності отримали для обох когорт. Усі пацієнти мали  $\geq 1$  побічний ефект (ПЕ), пов'язаний із лікуванням; ПЕ  $\geq 3$  ступеня зареєстрували у 18 (58 %) пацієнтів когорти В і 17 (53 %) осіб когорти D. Найпоширеніші ПЕ – зменшення кількості нейтрофілів (23 %) у когорті В, нейтропенія та діарея (13 % кожна) у когорті D. Рекомендовані дози для дослідження II фази визначені як початковий рівень доз для обох когорт [20].

Триває дослідження I фази (NCT03626922), у якому оцінюють комбінацію пембролізумабу, оксаліплатину та пеметрекседу в пацієнтів із рефрактерним до хіміотерапії MSS МКР.

**Радіотерапія та інгібітори імунних контрольних точок.** З'являються докази, що підтверджують синергичну протипухлинну активність променевої терапії (ПТ) в поєднанні з ІКТ. Вивільнення імуностимулювальних сигналів і неоантигенів після радіотерапії призводить до глибоких змін у пухлинному мікрооточенні (ПМО) та сприяє протипухлинним імунним реакціям, що можуть бути додатково посилені системними імуностимулювальними агентами, як-от ІКТ [21–23].

Отримали результати застосування комбінації ПТ та ІКТ у хворих на МКР. У випробуванні II фази (NCT03104439) [24] 40 пацієнтів із рефрактерним MSS МКР отримували іпіліумаб, ніволумаб та ПТ (8 Гр у 3 фракціях на одне метастатичне ураження). Частота контролю захворювання (ЧЗ) становила 17,5 %, частота об'єктивної відповіді – 7,5 % за результатами ІТТ-аналізу

(intention-to-treat). Побічні ефекти виявили у 55 % хворих. У випробуванні II фази [25] хворі з рефрактерним до хіміотерапії pMMR МКР отримували дурвалумаб, тремеліумаб і ПТ. ЧОВ становила 8,3 %, медіана ВБП – 1,8 місяця, медіана ЗВ – 11,4 місяця. У 25 % пацієнтів визначили побічні ефекти лікування 3–4 ступенів. Зафіксували рідкісні випадки системної імунної відповіді та регресії в неопромінених ураженнях (абскопальна реакція).

Описали випадок повної патологічної відповіді в результаті застосування комбінації радіотерапії та пембролізумабу в хворого на dMMR/MSI-H МКР як терапії другої лінії. Ознак пухлини не було протягом 11 місяців спостереження без терапії [26].

Триває низка досліджень, в яких оцінюють результати комбінованого лікування ІКТ і радіотерапією хворих на МКР. У рандомізованому дослідженні II фази (NCT04001101) порівнюють результати радіотерапії та комбінації радіотерапії, пембролізумабу у хворих із MSI-H пухлинами, включаючи MSI-H КР. Аналізують ефективність комбінації радіотерапії та пембролізумабу (NCT02837263, NCT02437071), радіотерапії та ніволумабу (NCT04575922), радіотерапії в комбінації з ніволумабом і іпіліумабом (NCT04575922), ніволумабом і регорафенібом (NCT04030260) у хворих на MSS МКР.

Активність стереотаксичної променевої терапії в комбінації з пембролізумабом тестують у хворих на МКР із метастазами в печінку (NCT02837263), а також в комбінації з атезоліумабом у пацієнтів із метастатичними пухлинами, включаючи КР (NCT02992912).

**Анти-EGFR препарати.** Моноклональні антитіла проти рецептора епідермального фактора росту (EGFR) цетуксимаб або панітумумаб, що призначають окремо або в комбінації з хіміотерапією, показали свою ефективність під час лікування МКР із немутуванням геном RAS [27].

Виявили, що цитуксимаб впливає на вроджену імунну ефекторну функцію шляхом активації NK клітин. Fc-константний регіон цетуксимабу зв'язується з активувальним рецептором CD16/Fc $\gamma$ RIII на NK-клітинах, що призводить до активації NK-клітин і наступної літичної активності щодо пухлинних клітин шляхом процесу, що назвали антитілозалежною клітинною цитотоксичністю (АЗКЦ) [28,29]. Лізіс пухлинних клітин активними NK-клітинами спричиняє вивільнення пухлинних антигенів, які потім презентуються CD8+-Т-лімфоцитам дендритними клітинами, праймуючи CD8+-Т-клітини для наступної протипухлинної активності [28]. Повідомляють і про більшу інфільтрацію метастатичних сайтів печінки імунними клітинами (включаючи CD3+-, CD8+- та CD56+-клітини) у хворих на колоректальний рак, які отримували цетуксимаб і хіміотерапію, ніж у пацієнтів, котрі отримували лише хіміотерапію або не отримували лікування [30]. Імунна активність цетуксимабу дає вагоме обґрунтування для його комбінації з ІКТ або іншими імунотерапіями для синергетичної мобілізації адаптивного та вродженого протипухлинного імунітету.

Інший EGFR-інгібуєючий агент – панітумумаб, що не впливає на клітини вродженого й адаптивного імунітету, залучені до реалізації протипухлинної імунної відповіді.

У випробуванні II фази AVETUX оцінювали результати застосування mFOLFOX6 і цетуксимабу з авелумабом як терапію першої лінії при МКР без мутацій генів RAS

і BRAF незалежно від мікросателітного статусу (5 % пухлин – dMMR). ЧОВ становила 79,5 %, включаючи 6 повних і 25 часткових відповідей. Частота контролю захворювання – 92,3 %, ВБП (первинна кінцева точка) через 12 місяців – 40 %. Після медіани спостереження 16,2 місяця медіана ВБП становила 11,1 місяця, а ЗВ – 84,6 %. Хворі переносили лікування добре, авелумаб не додав несподіваних побічних ефектів до профілю безпеки стандартного режиму цетуксимаб + FOLFOX. Складні ПЕ зафіксували у 23 (60,5 %) хворих [31].

Розпочали дослідження AVETRIC (NCT04513951) для оцінювання ефективності нової терапевтичної стратегії, що поєднує посилений режим хіміотерапії, цетуксимаб та авелумаб. У цьому дослідженні II фази, що триває, хворі на мКР із немутованим геном RAS отримують до 12 циклів модифікованого FOLFOXIRI, цетуксимаб та авелумаб як терапію першої лінії з наступним підтримувальним лікуванням 5-ФУ, цетуксимабом та авелумабом незалежно від мікросателітного статусу. Первинна кінцева точка – PFS. Комбінацію авелумабу та цетуксимабу з режимом FOLFIRI (фолієва кислота + фторурацил + іринотекан) із наступним підтримувальним лікуванням авелумабом досліджують у пацієнтів із раніше нелікованим мКР без мутацій генів RAS і BRAF у дослідженні FIRE-6 (EudraCT 2018-002010-12) [32].

Ефективність анти-EGFR препаратів у комбінації з ІКТ тестують і на пізніших лініях терапії. Продовжують дослідження фази Ib/II (NCT02713373) цетуксимабу та пембролізумабу в попередньо пролікованих хворих на мКР із немутованим геном RAS. Результати оцінили у 42 хворих. Шестимісячна ВБП становила 30 %, ЧОВ – 5 %, медіана ВБП і ЗВ – 4,1 місяця і 14,9 місяця відповідно, частота контролю захворювання – 73 %. У 30 % пацієнтів рівень РЕА знизився на понад 50 %, у 49 % хворих спостерігали зменшення тягаря захворювання, встановлене завдяки зменшенню суми таргетних уражень. Зафіксували збільшення пухлиноінфільтруючих цитотоксичних лімфоцитів (ЦТЛ) CD3+CD8+. Інфільтрація ЦТЛ більш виражена в пацієнтів, у котрих рівень РЕА зменшився більш ніж на 50 %, а також тих, які мали зменшення пухлинного навантаження [33]. Порівнянню з історичним контролем (монотерапія анти-EGFR), показники ВБП зрівняні, а ЗВ довша.

Здійснили попередній аналіз результатів випробування AVETUXIRI (NCT03608046), оцінювали клінічну ефективність і безпеку авелумабу в комбінації з цетуксимабом та іринотеканом під час лікування рефрактерного MSS мКР без мутації гена BRAFV600E. У першу стадію дослідження включили 10 хворих на мКР без мутації гена RAS (когорта А) та 13 пацієнтів із мКР з мутацією гена RAS (когорта В). У когорті А зареєстрували 3 часткових відповіді, у когорті В – жодної відповіді. ЧКЗ становила 60,0 % (6/10) і 61,5 % (8/13) у когортах А та В відповідно. Медіана ВБП і ЗВ становила 4,2 місяця і 12,7 місяця в когорті А, 3,8 місяця та 14,0 місяця в когорті В відповідно. Шестимісячна ВБП становила 40,0 % і 38,5 % у когортах А та В відповідно, 12-місячна ЗВ – 53,3 % і 57,7 % відповідно за когортами. Медіана тривалості спостереження за пацієнтами становила 9,2 місяця. Для мКР без мутації гена RAS досягнута первинна кінцева точка ефективності, що робить доцільним здійснення II стадії дослідження в когорті А. У когорті

В не зафіксували ЧВ, але обнадійливі показники ЧКЗ, ВБП і ЗВ дають підстави відкрити нову когорту для мКР з мутацією гена RAS (когорта С) із ВБП як первинною кінцевою точкою [34].

У дослідженні CAVE mCRC (EudraCT 2017-004392-32) вивчали комбінацію цетуксимабу й авелумабу як «rechallenge» терапію у хворих на мКР без мутації гена RAS із ПВ або ЧВ на першу лінію хіміотерапії в комбінації з цетуксимабом, у яких розвивалася резистентність до лікування.

Медіана ЗВ становила 13,1 місяця, медіана ВБП – 3,6 місяця. Пацієнти добре переносили лікування, ПЕ 3 ступеня зареєстрували в 22 % хворих. Найпоширеніші ПЕ 3 ступеня – висип (13 %) і діарея (4 %). Кращі результати виявили в пацієнтів із проявами шкірної токсичності (ШТ). У 33 пацієнтів із 2–3 ступенями ШТ медіана ЗВ становила 17,8 місяця, медіана ВБП – 4,6 місяця. У цих хворих зареєстрували 1 ПВ (3 %), 2 ЧВ (6,1 %) і 24 (72,7 %) випадки стабілізації захворювання. У 44 пацієнтів із 0–1 ступенями ШТ медіана ЗВ дорівнювала 8,2 місяця, медіана ВБП – 3,4 місяця. У цих хворих зареєстрували 0 ПВ, 3 ЧВ (6,8 %) і 20 (45,5 %) випадків стабілізації захворювання [35].

**Антиангіогенна терапія.** VEGF відіграє важливу роль у ухиленні пухлини від імунної відповіді. Цитокін має негативний вплив на дозрівання та антигенпрезентуючу функцію дендритних клітин, пригнічує активність Т-клітин, збільшуючи експресію інгібіторних імунних контрольних точок [36–38]. VEGF спричиняє експансію та збільшення імуносупресорної активності Treg і MDSC, поляризацію пухлино-асоційованих макрофагів M1 у бік M2 фенотипу [36]. VEGF-опосередкована імуносупресія та його негативний вплив на протипухлинну імунотерапію робить доцільним поєднання PD1/PDL1 антитіл з анти-VEGF препаратами.

У рандомізованому плацебо-контрольованому дослідженні BACCI II фази оцінювали результати терапії 133 попередньо лікованих хворих на КР, які отримували атезоліумаб у комбінації з капецитабіном і бевацизумабом або плацебо з капецитабіном і бевацизумабом [39]. ЧОВ становила 8,54 % у групі хворих, які отримували всі три препарати, 4,35 % – у групі, що отримувала капецитабін і бевацизумаб. Додавання атезоліумабу поліпшувало ВБП (3,3 місяця проти 4,4 місяця,  $p = 0,051$ ). У пацієнтів із MSS пухлинами переваги за ВБП вираженіші ( $HR = 0,67$ ). У дослідженні MODUL пацієнти з нерезектабельним попередньо нелікованим мКР без BRAF мутацій отримували індукційну хіміотерапію FOLFOX і бевацизумабом, потім – підтримувальну терапію фторпіримідином і бевацизумабом з/без атезоліумабу. Додавання атезоліумабу не поліпшувало результати лікування. За оновленим аналізом результатів, ВБП не змінювалась, а виживаність істотно не збільшилася ( $HR = 0,86$ ;  $p = 0,28$ ) [40].

Зважаючи на слабе поліпшення результатів або взагалі його відсутність у разі поєднання ІКТ з хіміотерапевтичним препаратом і бевацизумабом, Antoniotti et al. [41] припустили: необхідна активніша хіміотерапевтична комбінація для ефективної стимуляції імунної відповіді. Тому запланували проспективне випробування II фази AtezoTRIBE, в якому хворі на нерезектабельний попередньо нелікований мКР незалежно від мікросателітного

статусу будуть рандомізовані в співвідношенні 1:2, щоб отримувати до 8 циклів FOLFOXIRI/бевацизумабу окремо або в комбінації з атезоліумабом, наступним підтримувальним лікуванням бевацизумабом і 5-фторурацил/лейковорином з атезоліумабом або без нього відповідно до групи лікування до прогресування захворювання. Первинна кінцева точка в дослідженні – ВБП.

Нещодавно опубліковано результати дослідження REGONIVO 1b фази, в якому оцінювали безпеку й ефективність регорафенібу та ніволумабу під час лікування мКР і метастатичного раку шлунка [42]. У когорті з 25 хворих на мКР 24 особи (96 %) мали MSS/рMMR мКР. Хворі отримували регорафенібу у дозі 80–160 мг/добу та ніволумабу у дозі 3 мг/кг. Максимальна переносна й оптимальна дози регорафенібу – 120 мг і 80 мг відповідно. У хворих на мКР ЧОВ становила 36 %, медіана ВБП – 7,9 місяця, медіана 3В не досягнута на час спостереження. Ці результати створюють підґрунтя для здійснення масштабних досліджень ніволумабу в поєднанні з регорафенібом.

Оприлюднено результати дослідження II фази REGOMUNE, де оцінювали активність авелумабу та регорафенібу (в дозі 160 мг) у пацієнтів із рефрактерним рMMR мКР [43]. Об'єктивні відповіді не зафіксовані, найкраща відповідь на лікування – стабілізація захворювання у 23 (53,5 %) пацієнтів і прогресування захворювання у 17 (39,5 %) хворих. Медіани ВБП і 3В становили 3,6 місяця та 10,8 місяця відповідно.

**MAP-кіназний сигнальний шлях.** RAS/RAF/MEK/ERK шлях (також відомий як MAP-кіназний) відіграє вирішальну роль в ініціації та прогресуванні пухлин. Активуючі мутації цього шляху у хворих на мКР призводять до формування імуносупресивного фенотипу. У хворих на КР із мутацією гена KIPAS виявили знижену інфільтрацію пухлин макрофагами M1 та активованими CD4<sup>+</sup>-Т-клітинами пам'яті, суттєво підвищену інфільтрацію Treg [44]. Мутації KRAS призводять до підвищення експресії гранулоцитарно-макрофагального колоній-стимулювального фактора (GM-CSF) в ПМО КР, посилюючи інфільтрацію MDSC пухлин [45]. На моделі колоректального раку показано пригнічення KRASG12D експресії регуляторного фактора інтерферону 2 (IRF2), що призводить до підвищення експресії CXCL3 і стимуляції міграції MDSC в ПМО [46]. Інгібування MAPK-шляху може запобігти дії імуносупресивних факторів, сприяючи підвищенню активності ІКТ.

Основні цілі терапевтичного підходу, спрямованого на MAPK-шлях, – MEK (MAPK/ERK кіназа), KRAS і BRAF білки. Відкриття інгібіторів KRASG12C ізоформи AMG510 (соторасибу) та MRTX849 (адаграсибу) поставили під сумнів догму щодо невразливості KRAS мутацій. Нещодавнє дослідження показало, що соторасиб може посилити протипухлинну імунну відповідь при комбінації з PD-1 інгібітором. З одного боку, соторасиб сприяє регресії пухлини, блокуючи шляхи росту та проліферації, з іншого, він індукує зміну експресії імунomodulatory факторів у ракових клітинах, якот Т-клітинні хемоаттрактанти CXCL10 та CXCL11. Ці хемокіни притягують пухлиносупресивні імунні клітини, включаючи Т-клітини, макрофаги та дендритні клітини, що призводить до тривалих протипухлинних Т-клітинних відповідей [47]. Під час застосування комбінації

соторасибу з анти-PD-1 спостерігали відповідь у 9 із 10 мишей із карциномою товстої кишки CT26 з KRAS мутацією, що є однією з найбільш імуночутливих моделей пухлин миші, а також індукцію Т-клітин пам'яті [48]. У пацієнтів із солідними пухлинами KRASG12C, що прогресують, включаючи КР, триває випробування фази 1b CodeBreakTM 101, де тестують комбінацію соторасибу з анти-PD-1 (NCT04185883).

У приклінічних дослідженнях показана клінічна значущість комбінації інгібіторів MEK з ІКТ [49,50]. Це актуалізувало клінічні випробування комбінації цих препаратів. Отримали результати рандомізованого контрольованого випробування III фази IMblaze 370 (NCT02788279), де оцінювали результати лікування атезоліумабом і кобіметинібом (когорта А) або тільки атезоліумабом (когорта В) хворих на мКР як терапії третьої лінії. Група порівняння отримувала регорафенібу. MSS пухлини мали 93 % хворих когорти А та 92 % пацієнтів когорти В. У дослідженні не виявили поліпшення 3В у когортах А та В порівняно з групою, яка отримувала регорафенібу. Медіана 3В становила 8,87 місяця в когорті А, 7,1 місяця – в когорті В, 8,51 місяця – у групі порівняння. ПЕ 3–4 ступенів зафіксували у 61 % хворих когорти А, 31 % – когорти В, 58 % випадків – у групі, яка отримувала регорафенібу [51]. У дослідженні Іb/ІІ фази, що триває, тестують активність лікування інгібітором MEK бініметинібом у комбінації з ніволумабом або ніволумабом та іпілімумабом у попередньо пролікованих пацієнтів із MSS мКР та мутацією гена RAS (NCT03271047). У дослідженні фази Іb (NCT03374254) вивчають ефективність і безпеку комбінованого застосування пемброліумабу та бініметинібу порівняно з комбінацією пемброліумабу та хіміотерапії з/без бініметинібу в пацієнтів із метастатичним КР. Мультикогортне дослідження (NCT03374254), ціль якого – встановлення рекомендованої дози для дослідження II фази, включає п'ять когорт: когорта А – пемброліумаб і бініметинібу; когорта В – пемброліумаб і mFOLFOX7; когорта С – пемброліумаб і mFOLFOX7 з бініметинібом; когорта D – пемброліумаб і FOLFIRI, когорта Е – пемброліумаб, FOLFIRI та бініметинібу.

Здійснюють дослідження комбінованого лікування BRAF/MEK інгібіторами та ІКТ у хворих на мКР із мутаціями гена BRAF. У І/ІІ фази випробування (NCT04044430) досліджували комбінацію енкорафенібу та бініметинібу з ніволумабом, а в ІІ фази (NCT03668431) – комбінацію дабрафенібу та траметинібу з PD-1 інгібітором спарталіумабом у хворих на рMMR КР із BRAF-V600E мутацією. Попередні результати застосування цієї стратегії показали: пацієнти добре переносять цю комбінацію, мають сприятливу відповідь (ЧОВ = 33 %) [52].

На підставі результатів випробування BEACON комбінація енкорафенібу та цетуксимабу визначена як стандартний терапевтичний підхід до лікування хворих на мКР з BRAF мутацією, у котрих спостерігали прогресування захворювання після однієї або двох попередніх ліній хіміотерапії [53]. Припускають поліпшення результатів лікування мКР при комбінації цих таргетних препаратів з ІКТ. У І/ІІ фази випробування (NCT04017650) тестують комбінацію енкорафенібу та цетуксимабу з ніволумабом у попередньо пролікованих хворих на мКР із BRAFV600E мутацією.

**Біомаркери імунної відповіді.** Наявність dMMR/MSI-H у солідних пухлинах, включаючи КР, – очевидний предиктор відповіді на ІКТ-терапію [54]. Найбільш разючі результати для пацієнтів із dMMR КР – ранні результати дослідження Checkmate 142, де хворі, які отримували іпіліумаб і ніволумаб, мали ЧОВ 60 % і 12-місячну виживаність 83 % [55]. Незважаючи на ці переконливі результати, чимало пацієнтів у випробуванні не відповідали на ІКТ. Отже, одного лише dMMR-статусу недостатньо для точного визначення кола хворих, котрі відповідатимуть на терапію ІКТ.

Як прогностичний біомаркер відповіді на ІКТ широко досліджували експресію PD-L1 на пухлинних та імунних клітинах при різних типах раку. Для КР частота експресії PD-L1 на пухлинах становила майже 5 % у всіх популяціях і істотним збільшенням у dMMR-пухлинах порівняно з pMMR пухлинами (18 % проти 2 %,  $p < 0,001$ ) [56]. Однак експресія PD-L1 на пухлинних або імунних клітинах не корелювала з відповідями на ІКТ у клінічних випробуваннях за участю хворих на мКР [10,11,57].

Один із біомаркерів, що може передбачати реакцію на ІКТ, – мутаційне навантаження пухлини (МНП). Кілька досліджень показали високе МНП у пухлинному мікрооточенні dMMR/MSI-H КР [58]. Численні мутації в пухлинних клітинах нерідко призводять до генерації неоантигенів, презентація яких дендритними клітинами спричиняє розвиток адаптивної протипухлинної імунної відповіді. Показано, що МНП – відмінний предиктор відповіді на ІКТ у пацієнтів із MSI-H мКР. У хворих, які отримували монотерапію PD-1/L1 інгібіторами, передусім пембролізумабом, МНП мало сильний зв'язок з об'єктивною відповіддю ( $p < 0,001$ ) та ВБП за результатами одновимірного ( $p < 0,001$ ) й багатоваріантного ( $P < 0,01$ ) аналізу. Встановлення оптимальної предикторної точки відсічення передбачають між 37 та 41 мутаціями/Мб [59].

Позитивним прогностичним фактором для результатів лікування онкологічних хворих вважають імунну інфільтрацію пухлин. Ідентифікували популяції імунних клітин, що надають найбільше інформації про прогресування хвороби, розробили імунологічний тест Immunoscore для імунної класифікації пухлин і прогнозування відповіді на терапію. Immunoscore визначає щільність і розташування CD3+ і CD8+Т-клітин у пухлині. Ця система оцінювання базується на обчисленні популяцій лімфоцитів у центральних зонах пухлини та на інвазивних краях пухлин. Результати варіюють від Immunoscore 0, коли виявили низьку щільність Т-клітин в обох регіонах, до Immunoscore 4, коли встановили високу щільність. Прогностичну цінність Immunoscore проаналізували в масштабному дослідженні, що включало 2681 хворого на рак товстої кишки ранньої стадії (14 центрів у 13 країнах). З'ясували, що пацієнти з високим Immunoscore мали подібні показники рецидивування пухлини та виживаності незалежно від MSI-H/dMMR статусу. Вищі Immunoscore корелювали з кращими клінічними результатами у пацієнтів із КР I–III стадій [60,61]. Невелике когортне дослідження у хворих на MSI-H/dMMR рак товстої кишки показало: більша щільність CD3+ і CD8+Т-клітин у пухлинах пов'язана з вищою ЧОВ і тривалістю контролю захворювання після лікування пембролізумабом [62].

Консенсусна класифікація молекулярних підтипів (CMS) – потенційно новий біомаркер відповіді на імунну терапію, який також розроблений для КР. Ґрунтуючись на профілі генної експресії, визначили чотири підтипи. Перший тип, CMS1 – імунний, складається передусім з dMMR/MSI-H пухлин і характеризується високим МНП, високою імунною інфільтрацією та активацією, мутаціями гена BRAF. Другий тип, CMS2 – канонічний, характеризується активацією сигнальних шляхів WNT і MYC. Третій, CMS3 – метаболічний, характеризується метаболічною дерегуляцією ракових клітин і мутаціями гена KRAS. Четвертий тип, CMS4 – мезенхімальний, характеризується стромальною інфільтрацією, активацією TGF- $\beta$ -залежного сигнального шляху й ангиогенезу [63].

CMS1 і CMS4 – імунореактивні, так звані «гарячі» пухлини з високою інфільтрацією імунними клітинами, на відміну від CMS2 і CMS3, які є «холодними» пухлинами. Наголошують: обираючи біопсії та зразки резекції для класифікації CMS, треба бути обережним, оскільки ця система розроблена на основі зразків первинного метастатичного CRC і не може бути повністю відтворена на метастатичних зразках або підтверджена в метастатичному середовищі [64].

Перспективні потенційні біомаркери імунної відповіді – показники периферичної крові, зокрема через простоту визначення. Багато років значення співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів (N/L) визначають як несприятливий прогностичний маркер при різних типах раку. Недавно цей показник запропонували як предиктор результату імунотерапії. У ретроспективному когортному дослідженні, що включало 1714 пацієнтів із 16 різними типами раку (в тому числі хворих на КР), які отримували лікування з ІКТ, показано: вищий коефіцієнт N/L істотно асоціюється з погіршенням ЗВ і ВБП, а також нижчим рівнем відповіді на лікування та клінічною користю після терапії ІКТ для різних типів раку. При поєднанні N/L з МНП імовірність клінічної користі від ІКТ істотно вища в групі з низьким рівнем N/L/високою МНП порівняно з групою з високим рівнем N/L/низькою МНП [65].

## Висновки

1. Інгібітори імунних контрольних точок показали ефективність у хворих на колоректальний рак зі статусом MSI-H/dMMR, отримали схвалення FDA на застосування цих препаратів та їхніх комбінацій у першій і наступних лініях лікування.

2. Оскільки MSS/pMMR колоректальний рак нечутливий лише до блокади імунних контрольних точок, здійснюють випробування з використанням інгібіторів у поєднанні з таргетною терапією, хіміє- та радіотерапією для подолання імунної толерантності та поліпшення клінічної ефективності лікування цих хворих.

3. Важливим завданням залишається виявлення прогностичних біомаркерів відповіді на інгібітори імунних контрольних точок. Його розв'язання сприятиме переходу до індивідуалізованих стратегій лікування пацієнтів із метастатичним колоректальним раком.

**Перспективи подальших досліджень.** Незважаючи на ефективність інгібіторів імунних контрольних точок у хворих на MSI-H/dMMR метастатичний колоректальний рак, у частини із них виявляють раннє прогресування

після терапії, а в пацієнтів із MSS-статусом ці препарати визначають як неефективні. Для вибору комбінованого лікування та розроблення нових мультитаргетних підходів, здатних подолати імунну толерантність у пацієнтів із метастатичним колоректальним раком, вкрай необхідний пошук надійних біомаркерів відповіді на терапію та з'ясування точних механізмів резистентності до лікування цими препаратами.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 10.12.2021

Після доопрацювання / Revised: 19.01.2022

Прийнято до друку / Accepted: 28.01.2022

### Відомості про авторів:

Сорочан П. П., канд. мед. наук, зав. лабораторії радіаційної імунології, ДУ «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0001-7057-6724](https://orcid.org/0000-0001-7057-6724)

Громакова І. А., канд. біол. наук, старший науковий співробітник лабораторії радіаційної імунології, ДУ «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0002-2921-4956](https://orcid.org/0000-0002-2921-4956)

Прохач Н. Е., канд. мед. наук, старший науковий співробітник лабораторії радіаційної імунології, ДУ «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0002-8497-1319](https://orcid.org/0000-0002-8497-1319)

Громакова І. С., молодший науковий співробітник лабораторії радіаційної імунології, ДУ «Інститут медичної радіології та онкології імені С. П. Григор'єва НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0003-1463-6918](https://orcid.org/0000-0003-1463-6918)

### Information about authors:

Sorochan P. P., MD, PhD, Head of the Laboratory of Radiation Immunology, State Institution "Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the NAMS of Ukraine", Kharkiv.

Hromakova I. A., PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Radiation Immunology, State Institution "Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the NAMS of Ukraine", Kharkiv.

Prokhach N. E., MD, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Radiation Immunology, State Institution "Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the NAMS of Ukraine", Kharkiv.

Hromakova I. S., Junior Researcher of the Laboratory of Radiation Immunology, State Institution "Grigoriev Institute for Medical Radiology and Oncology of the NAMS of Ukraine", Kharkiv.

### Список літератури

- [1] Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / H. Sung et al. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021. Vol. 71. Issue 3. P. 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Results and challenges of immune checkpoint inhibitors in colorectal cancer / S. Emambux, G. Tachon, A. Junca, D. Tougeron. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2018. Vol. 18. Issue 5. P. 561-573. <https://doi.org/10.1080/14712598.2018.1445222>
- [3] Current status and perspectives of immune checkpoint inhibitors for colorectal cancer / H. Hirano et al. *Japanese Journal of Clinical Oncology*. 2020. Vol. 51. Issue 1. P. 10-19. <https://doi.org/10.1093/jcco/hyaa200>
- [4] Relationship between MLH1, PMS2, MSH2 and MSH6 gene-specific alterations and tumor mutational burden in 1057 microsatellite instability-high solid tumors / M. E. Salem et al. *International Journal of Cancer*. 2020. Vol. 147. Issue 10. P. 2948-2956. <https://doi.org/10.1002/ijc.33115>
- [5] Nivolumab (NIVO) + low-dose ipilimumab (IPI) as first-line (1L) therapy in microsatellite instability-high/mismatch repair-deficient (MSI-H/dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC): Two-year clinical update / H.-J. Lenz et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2020. Vol. 38. Issue 15. Suppl. P. 4040. [https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15\\_suppl.4040](https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15_suppl.4040)
- [6] KEYNOTE-177: Phase III randomized study of pembrolizumab versus chemotherapy for microsatellite instability-high advanced colorectal cancer / K.-K. Shiu et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2021. Vol. 39. Issue 3. Suppl. P. 6. [https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.3\\_suppl.6](https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.3_suppl.6)
- [7] Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade / D. T. Le et al. *Science*. 2017. Vol. 357. Issue 6349. P. 409-413. <https://doi.org/10.1126/science.aan6733>
- [8] Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164 / D. T. Le et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2020. Vol. 38. Issue 1. P. 11-19. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02107>
- [9] Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study / A. Marabelle et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2020. Vol. 38. Issue 1. P. 1-10. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02105>
- [10] Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study / M. J. Overman et al. *The Lancet Oncology*. 2017. Vol. 18. Issue 9. P. 1182-1191. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30422-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30422-9)
- [11] Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer / M. J. Overman et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2018. Vol. 36. Issue 8. P. 773-779. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.76.9901>
- [12] Emens L. A., Middleton G. The Interplay of Immunotherapy and Chemotherapy: Harnessing Potential Synergies. *Cancer Immunology Research*. 2015. Vol. 3. Issue 5. P. 436-443. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-15-0064>
- [13] 5-Fluorouracil Selectively Kills Tumor-Associated Myeloid-Derived Suppressor Cells Resulting in Enhanced T Cell-Dependent Antitumor Immunity / J. Vincent et al. *Cancer Research*. 2010. Vol. 70. Issue 8. P. 3052-3061. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3690>
- [14] Oxaliplatin induces immunogenic cells death and enhances therapeutic efficacy of checkpoint inhibitor in a model of murine lung carcinoma / F. Sun et al. *Journal of Receptors and Signal Transduction*. 2019. Vol. 39. Issue 3. P. 208-214. <https://doi.org/10.1080/10799893.2019.1655050>
- [15] Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin / A. Tesniere et al. *Oncogene*. 2010. Vol. 29. Issue 4. P. 482-491. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.356>
- [16] The key role of calreticulin in immunomodulation induced by chemotherapeutic agents / Y. Yamamura et al. *International Journal of Clinical Oncology*. 2014. Vol. 20. Issue 2. P. 386-394. <https://doi.org/10.1007/s10147-014-0719-x>
- [17] Impact of Chemotherapy for Colorectal Cancer on Regulatory T-Cells and Tumor Immunity / K. Maeda et al. *Anticancer Research*. 2011. Vol. 31. Issue 12. P. 4569-4574.
- [18] A phase II study of pembrolizumab in combination with mFOLFOX6 for patients with advanced colorectal cancer / S. Shahda et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2017. Vol. 35. Issue 15. Suppl. P. 3541. [https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15\\_suppl.3541](https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15_suppl.3541)
- [19] Durvalumab and tremelimumab in combination with FOLFOX in patients with RAS-mutated, microsatellite-stable, previously untreated metastatic colorectal cancer (MCR): Results of the first intermediate analysis of the phase Ib/II MEDETREME trial / F. Ghiringhelli et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2020. Vol. 38. Issue 15. Suppl. P. 3006. [https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15\\_suppl.3006](https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15_suppl.3006)
- [20] 493P Pembrolizumab (pembro) plus mFOLFOX7 or FOLFIRI in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Updated results from KEYNOTE-651 cohorts B and D / R. Kim et al. *Annals of Oncology*. 2020. Vol. 31. Suppl. 4. P. S450. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.604>
- [21] Combining Radiation and Immunotherapy: A New Systemic Therapy for Solid Tumors? / C. Tang et al. *Cancer Immunology Research*. 2014. Vol. 2. Issue 9. P. 831-838. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0069>
- [22] Immune-modulating properties of ionizing radiation: rationale for the treatment of cancer by combination radiotherapy and immune checkpoint inhibitors / A. Derer, B. Frey, R. Fietkau, U. S. Gaipl. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2015. Vol. 65. Issue 7. P. 779-786. <https://doi.org/10.1007/s00262-015-1771-8>
- [23] Radiotherapy and the immune system: More than just immune suppression / M. Rückert, A. S. Flohr, M. Hecht, U. S. Gaipl. *Stem Cells*. 2021. Vol. 39. Issue 9. P. 1155-1165. <https://doi.org/10.1002/stem.3391>
- [24] A phase II study of ipilimumab and nivolumab with radiation in microsatellite stable (MSS) metastatic colorectal adenocarcinoma (mCRC) / A. R. Parikh et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2019. Vol. 37. Issue 15. Suppl. P. 3514. [https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15\\_suppl.3514](https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15_suppl.3514)

- [25] Phase II Single-arm Study of Durvalumab and Tremelimumab with Concurrent Radiotherapy in Patients with Mismatch Repair-proficient Metastatic Colorectal Cancer / N. H. Segal et al. *Clinical Cancer Research*. 2021. Vol. 27. Issue 8. P. 2200-2208. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2474>
- [26] Yang J., Bi F., Gou H. Complete Pathologic Response After Concurrent Treatment with Pembrolizumab and Radiotherapy in Metastatic Colorectal Cancer: A Case Report. *OncoTargets and Therapy*. 2021. Vol. 14. P. 2555-2561. <https://doi.org/10.2147/OTT.S298333>
- [27] ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer / E. Van Cutsem et al. *Annals of Oncology*. 2016. Vol. 27. Issue 8. P. 1386-1422. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw235>
- [28] Rationale for combination of therapeutic antibodies targeting tumor cells and immune checkpoint receptors: Harnessing innate and adaptive immunity through IgG1 isotype immune effector stimulation / R. L. Ferris et al. *Cancer Treatment Reviews*. 2018. Vol. 63. P. 48-60. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.11.008>
- [29] Combination of NK Cells and Cetuximab to Enhance Anti-Tumor Responses in RAS Mutant Metastatic Colorectal Cancer / J. P. Veluchamy et al. *PLOS ONE*. 2016. Vol. 11. Issue 6. P. e0157830. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157830>
- [30] Cetuximab strongly enhances immune cell infiltration into liver metastatic sites in colorectal cancer / Y. Inoue et al. *Cancer Science*. 2017. Vol. 108. Issue 3. P. 455-460. <https://doi.org/10.1111/cas.13162>
- [31] Avelumab and cetuximab in combination with FOLFOX in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer (MCR): The phase II AVETUX-CRC trial (AIO KRK 0216) / A. Stein et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2017. Vol. 35. Issue 15. Suppl. P. TPS3620. [https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15\\_suppl.tps3620](https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15_suppl.tps3620)
- [32] Stintzing S., Heinemann V. FIRE-6 Studie. *Forum*. 2019. Vol. 34. Issue 4. P. 371-373. <https://doi.org/10.1007/s12312-019-0657-7>
- [33] P-156 A phase IIb study of cetuximab and pembrolizumab in metastatic colorectal cancer / C. Fountzilas et al. *Annals of Oncology*. 2020. Vol. 31. Suppl. 3. P. S140. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.04.238>
- [34] Interim analysis of the AVETUXIRI Trial: Avelumab combined with cetuximab and irinotecan for treatment of refractory microsatellite stable (MSS) metastatic colorectal cancer (mCRC)-A proof of concept, open-label, nonrandomized phase IIa study / M. Van Den Eynde et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2021. Vol. 39. Issue 3. Suppl. P. 80. [https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.3\\_suppl.80](https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.3_suppl.80)
- [35] Final results from the CAVE (cetuximab rechallenge plus avelumab) mCRC phase II trial: Skin toxicity as a predictor of clinical activity / G. Martini et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2021. Vol. 39. Issue 15. Suppl. P. 3578. [https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15\\_suppl.3578](https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15_suppl.3578)
- [36] Enhancing cancer immunotherapy using antiangiogenics: opportunities and challenges / D. Fukumura et al. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2018. Vol. 15. Issue 5. P. 325-340. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2018.29>
- [37] Hack S. P., Zhu A. X., Wang Y. Augmenting Anticancer Immunity Through Combined Targeting of Angiogenic and PD-1/PD-L1 Pathways: Challenges and Opportunities. *Frontiers in Immunology*. 2020. Vol. 11. P. 598877. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.598877>
- [38] VEGF-A modulates expression of inhibitory checkpoints on CD8<sup>+</sup> T cells in tumors / T. Voron et al. *Journal of Experimental Medicine*. 2015. Vol. 212. Issue 2. P. 139-148. <https://doi.org/10.1084/jem.20140559>
- [39] 533PD – BACC1: A phase II randomized, double-blind, multicenter, placebo-controlled study of capecitabine (C) bevacizumab (B) plus atezolizumab (A) or placebo (P) in refractory metastatic colorectal cancer (mCRC): An ACCRU network study / N. B. Mettu et al. *Annals of Oncology*. 2019. Vol. 30. Suppl. 5. P. v203. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz246.011>
- [40] LBA19 – Fluoropyrimidine (FP) + bevacizumab (BEV) + atezolizumab vs FP/BEV in BRAFWt metastatic colorectal cancer (mCRC): Findings from Cohort 2 of MODUL – a multicentre, randomized trial of biomarker-driven maintenance treatment following first-line induction therapy / A. Grothey et al. *Annals of Oncology*. 2018. Vol. 29. Suppl. 8. P. viii714-viii715. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy424.020>
- [41] AtezotRIBE: a randomised phase II study of FOLFOXIRI plus bevacizumab alone or in combination with atezolizumab as initial therapy for patients with unresectable metastatic colorectal cancer / C. Antoniotti et al. *BMC Cancer*. 2020. Vol. 20. Issue 1. P. 683. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07169-6>
- [42] SO-007 – Regorafenib plus nivolumab in patients with advanced colorectal or gastric cancer: an open-label, dose-finding, and dose-expansion phase 1b trial (REGONIVO, EPOC1603) / H. Hara et al. *Annals of Oncology*. 2019. Vol. 30. Suppl. 4. P. iv124. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz157.006>
- [43] Regorafenib-Avelumab Combination in Patients with Microsatellite Stable Colorectal Cancer (REGOMUNE): A Single-arm, Open-label, Phase II Trial / S. Cousin et al. *Clinical Cancer Research*. 2021. Vol. 27. Issue 8. P. 2139-2147. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-3416>
- [44] Immune landscape and prognostic immune-related genes in KRAS-mutant colorectal cancer patients / J. Liu et al. *Journal of Translational Medicine*. 2021. Vol. 19. Issue 1. P. 27. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02638-9>
- [45] Differential Expression of IL-17, 22 and 23 in the Progression of Colorectal Cancer in Patients with K-ras Mutation: Ras Signal Inhibition and Crosstalk with GM-CSF and IFN- $\gamma$  / S. Petanidis et al. *PLOS ONE*. 2013. Vol. 8. Issue 9. P. e73616. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073616>
- [46] KRAS-IRF2 Axis Drives Immune Suppression and Immune Therapy Resistance in Colorectal Cancer / W. Liao et al. *Cancer Cell*. 2019. Vol. 35. Issue 4. P. 559-572.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.02.008>
- [47] The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity / J. Canon et al. *Nature*. 2019. Vol. 575. Issue 7781. P. 217-223. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1694-1>
- [48] Galluzzi L. Targeting Mutant KRAS for Immunogenic Cell Death Induction. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2020. Vol. 41. Issue 1. P. 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2019.11.004>
- [49] MAP Kinase Inhibition Promotes T Cell and Anti-tumor Activity in Combination with PD-L1 Checkpoint Blockade / P. Ebert et al. *Immunity*. 2016. Vol. 44. Issue 3. P. 609-621. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.01.024>
- [50] The MEK inhibitor selumetinib complements CTLA-4 blockade by reprogramming the tumor immune microenvironment / E. Poon et al. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2017. Vol. 5. Issue 1. P. 63. <https://doi.org/10.1186/s40425-017-0268-8>
- [51] Atezolizumab with or without cobimetinib versus regorafenib in previously treated metastatic colorectal cancer (IMblaze370): a multicentre, open-label, phase 3, randomised, controlled trial / C. Eng et al. *The Lancet Oncology*. 2019. Vol. 20. Issue 6. P. 849-861. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(19\)30027-0](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(19)30027-0)
- [52] SO-26 Clinical efficacy of combined BRAF, MEK, and PD-1 inhibition in BRAFV600E colorectal cancer patients / R. Corcoran et al. *Annals of Oncology*. 2020. Vol. 31. Suppl. 3. P. S226-S227. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.04.041>
- [53] Encorafenib Plus Cetuximab as a New Standard of Care for Previously Treated BRAF V600E-Mutant Metastatic Colorectal Cancer: Updated Survival Results and Subgroup Analyses from the BEACON Study / J. Tabernero et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2021. Vol. 39. Issue 4. P. 273-284. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.02088>
- [54] Immunotherapy in colorectal cancer: rationale, challenges and potential / K. Ganesh et al. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2019. Vol. 16. Issue 6. P. 361-375. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0126-x>
- [55] LBA18\_PR – Durable clinical benefit with nivolumab (NIVO) plus low-dose ipilimumab (IPI) as first-line therapy in microsatellite instability-high/mismatch repair deficient (MSI-H/dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC) / H.-J. J. Lenz et al. *Annals of Oncology*. 2018. Vol. 29. Suppl. 8. P. viii714. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy424.019>
- [56] Patterns and prognostic relevance of PD-1 and PD-L1 expression in colorectal carcinoma / L. H. Lee et al. *Modern Pathology*. 2016. Vol. 29. Issue 11. P. 1433-1442. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.139>
- [57] Regorafenib Plus Nivolumab in Patients With Advanced Gastric or Colorectal Cancer: An Open-Label, Dose-Escalation, and Dose-Expansion Phase Ib Trial (REGONIVO, EPOC1603) / S. Fukuoka et al. *Journal of Clinical Oncology*. 2020. Vol. 38. Issue 18. P. 2053-2061. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.03296>
- [58] Biomarkers of Response and Resistance to Immunotherapy in Microsatellite Stable Colorectal Cancer: Toward a New Personalized Medicine / N. Huyghe et al. *Cancers*. 2022. Vol. 14. Issue 9. P. 2241. <https://doi.org/10.3390/cancers14092241>
- [59] Tumor mutational burden is predictive of response to immune checkpoint inhibitors in MSI-high metastatic colorectal cancer / A. B. Schrock et al. *Annals of Oncology*. 2019. Vol. 30. Issue 7. P. 1096-1103. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz134>
- [60] Huyghe N., Baldin P., Van den Eynde M. Immunotherapy with immune checkpoint inhibitors in colorectal cancer: what is the future beyond deficient mismatch – repair tumours? *Gastroenterology Report*. 2019. Vol. 8. Issue 1. P. 11-24. <https://doi.org/10.1093/gastro/goz061>
- [61] Analytical validation of the Immunoscore and its associated prognostic value in patients with colon cancer / F. Marliot et al. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2020. Vol. 8. Issue 1. P. e000272. <https://doi.org/10.1136/jitc-2019-000272>
- [62] Intratumoral CD3<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-Cell Densities in Patients With DNA Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer Receiving Programmed Cell Death-1 Blockade / S. Chakrabarti et al. *JCO Precision Oncology*. 2019. Vol. 3. P. 1-7. <https://doi.org/10.1200/PO.19.00055>
- [63] The consensus molecular subtypes of colorectal cancer / J. Guinney et al. *Nature Medicine*. 2015. Vol. 21. Issue 11. P. 1350-1356. <https://doi.org/10.1038/nm.3967>



- [64] Context matters-consensus molecular subtypes of colorectal cancer as biomarkers for clinical trials / E. Fontana et al. *Annals of Oncology*. 2019. Vol. 30. Issue 4. P. 520-527. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz052>
- [65] Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio and mutational burden as biomarkers of tumor response to immune checkpoint inhibitors / C. Valero et al. *Nature Communications*. 2021. Vol. 12. Issue 1. P. 729. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-20935-9>
- ### References
- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Emambux, S., Tachon, G., Junca, A., & Tougeron, D. (2018). Results and challenges of immune checkpoint inhibitors in colorectal cancer. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 18(5), 561-573. <https://doi.org/10.1080/14712598.2018.1445222>
- [3] Hirano, H., Takashima, A., Hamaguchi, T., Shida, D., Kanemitsu, Y., & Colorectal Cancer Study Group (CCSG) of the Japan Clinical Oncology Group (JCOG). (2021). Current status and perspectives of immune checkpoint inhibitors for colorectal cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 51(1), 10-19. <https://doi.org/10.1093/jjco/hyaa200>
- [4] Salem, M. E., Bodor, J. N., Puccini, A., Xiu, J., Goldberg, R. M., Grothey, A., Korn, W. M., Shields, A. F., Worrlow, W. M., Kim, E. S., Lenz, H. J., Marshall, J. L., & Hall, M. J. (2020). Relationship between MLH1, PMS2, MSH2 and MSH6 gene-specific alterations and tumor mutational burden in 1057 microsatellite instability-high solid tumors. *International Journal of Cancer*, 147(10), 2948-2956. <https://doi.org/10.1002/ijc.33115>
- [5] Lenz, H. -J., Lonardi, S., Zagonel, V., Van Cutsem, E., Limon, M. L., Wong, M., Hendlisz, A., Aglietta, M., Garcia-Alfonso, P., Neyns, B., Gelsomino, F., Cardin, D. B., Dragovich, T., Shah, U., Yang, J., Ledezne, J.-M., & Overman, M. J. (2020). Nivolumab (NIVO) + low-dose ipilimumab (IPI) as first-line (1L) therapy in microsatellite instability-high/mismatch repair-deficient (MSI-H/dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC): Two-year clinical update. *Journal of Clinical Oncology*, 38(15\_suppl), 4040. [https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15\\_suppl.4040](https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15_suppl.4040)
- [6] Shiu, K. -K., Andre, T., Kim, T. W., Jensen, B. V., Jensen, L. H., Punt, C. J. A., Smith, D. M., Garcia-Carbonero, R., Benavides, M., Gibbs, P., De La Fouchardiere, C., Rivera, F., Elez, E., Bendell, J. C., Le, D. T., Yoshino, T., Yang, P., Farooqui, M. Z. H., Marinello, P., & Diaz, L. A. (2021). KEYNOTE-177: Phase III randomized study of pembrolizumab versus chemotherapy for microsatellite instability-high advanced colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 39(3\_suppl), 6. [https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.3\\_suppl.6](https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.3_suppl.6)
- [7] Le, D. T., Durham, J. N., Smith, K. N., Wang, H., Bartlett, B. R., Aulakh, L. K., Lu, S., Kemberling, H., Wilt, C., Luber, B. S., Wong, F., Azad, N. S., Rucki, A. A., Laheru, D., Donehower, R., Zaheer, A., Fisher, G. A., Crocenzi, T. S., Lee, J. J., Greden, T. F., ... Diaz, L. A., Jr. (2017). Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*, 357(6349), 409-413. <https://doi.org/10.1126/science.aan6733>
- [8] Le, D. T., Kim, T. W., Van Cutsem, E., Geva, R., Jäger, D., Hara, H., Burge, M., O'Neil, B., Kavan, P., Yoshino, T., Guimbaud, R., Taniguchi, H., Elez, E., Al-Batran, S. E., Boland, P. M., Crocenzi, T., Atreya, C. E., Cui, Y., Dai, T., Marinello, P., ... André, T. (2020). Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *Journal of Clinical Oncology*, 38(1), 11-19. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02107>
- [9] Marabelle, A., Le, D. T., Ascierto, P. A., Di Giacomo, A. M., De Jesus-Acosta, A., Delord, J. P., Geva, R., Gottfried, M., Penel, N., Hansen, A. R., Piha-Paul, S. A., Doi, T., Gao, B., Chung, H. C., Lopez-Martin, J., Bang, Y. J., Frommer, R. S., Shah, M., Ghorri, R., Joe, A. K., ... Diaz, L. A., Jr. (2020). Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. *Journal of Clinical Oncology*, 38(1), 1-10. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02105>
- [10] Overman, M. J., McDermott, R., Leach, J. L., Lonardi, S., Lenz, H. J., Morse, M. A., Desai, J., Hill, A., Axelson, M., Moss, R. A., Goldberg, M. V., Cao, Z. A., Ledezne, J. M., Maglinte, G. A., Kopetz, S., & André, T. (2017). Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *The Lancet Oncology*, 18(9), 1182-1191. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)30422-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)30422-9)
- [11] Overman, M. J., Lonardi, S., Wong, K., Lenz, H. J., Gelsomino, F., Aglietta, M., Morse, M. A., Van Cutsem, E., McDermott, R., Hill, A., Sawyer, M. B., Hendlisz, A., Neyns, B., Svrcek, M., Moss, R. A., Ledezne, J. M., Cao, Z. A., Kamble, S., Kopetz, S., & André, T. (2018). Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 36(8), 773-779. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.76.9901>
- [12] Emens, L. A., & Middleton, G. (2015). The Interplay of Immunotherapy and Chemotherapy: Harnessing Potential Synergies. *Cancer Immunology Research*, 3(5), 436-443. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CCR-15-0064>
- [13] Vincent, J., Mignot, G., Chalmin, F., Ladoire, S., Bruchard, M., Chevri- aux, A., Martin, F., Apetoh, L., Rébé, C., & Ghiringhelli, F. (2010). 5-Fluorouracil Selectively Kills Tumor-Associated Myeloid-Derived Suppressor Cells Resulting in Enhanced T Cell-Dependent Antitumor Immunity. *Cancer Research*, 70(8), 3052-3061. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3690>
- [14] Sun, F., Cui, L., Li, T., Chen, S., Song, J., & Li, D. (2019). Oxaliplatin induces immunogenic cells death and enhances therapeutic efficacy of checkpoint inhibitor in a model of murine lung carcinoma. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 39(3), 208-214. <https://doi.org/10.1080/10799893.2019.1655050>
- [15] Tesniere, A., Schlemmer, F., Boige, V., Kepp, O., Martins, I., Ghiringhelli, F., Aymeric, L., Michaud, M., Apetoh, L., Barault, L., Mendiboune, J., Pignon, J. P., Jooste, V., van Endert, P., Ducreux, M., Zitvogel, L., Piard, F., & Kroemer, G. (2010). Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin. *Oncogene*, 29(4), 482-491. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.356>
- [16] Yamamura, Y., Tsuchikawa, T., Miyauchi, K., Takeuchi, S., Wada, M., Kuwatani, T., Kyogoku, N., Kuroda, A., Maki, T., Shichinohe, T., & Hirano, S. (2015). The key role of calreticulin in immunomodulation induced by chemotherapeutic agents. *International Journal of Clinical Oncology*, 20(2), 386-394. <https://doi.org/10.1007/s10147-014-0719-x>
- [17] Maeda, K., Hazama, S., Tokuno, K., Kan, S., Maeda, Y., Watanabe, Y., Kamei, R., Shindo, Y., Maeda, N., Yoshimura, K., Yoshino, S., & Oka, M. (2011). Impact of Chemotherapy for Colorectal Cancer on Regulatory T-Cells and Tumor Immunity. *Anticancer Research*, 31(12), 4569-4574.
- [18] Shahda, S., Noonan, A. M., Bekaii-Saab, T. S., O'Neil, B. H., Sehdev, A., Shaib, W. L., Helft, P. R., Loehrer, P. J., Tong, Y., Liu, Z., & El-Rayes, B. F. (2017). A phase II study of pembrolizumab in combination with mFOLFOX6 for patients with advanced colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 35(15\_suppl), 3541. [https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15\\_suppl.3541](https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15_suppl.3541)
- [19] Ghiringhelli, F., Chibaudel, B., Taieb, J., Bennouna, J., Martin-Babau, J., Fonck, M., Borg, C., Cohen, R., Thibaudin, M., Limagne, E., & Fumet, J. -D. (2020). Durvalumab and tremelimumab in combination with FOLFOX in patients with RAS-mutated, microsatellite-stable, previously untreated metastatic colorectal cancer (MCRC): Results of the first intermediate analysis of the phase Ib/III MEDETREME trial. *Journal of Clinical Oncology*, 38(15\_suppl), 3006. [https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15\\_suppl.3006](https://doi.org/10.1200/jco.2020.38.15_suppl.3006)
- [20] Kim, R., Chaves, J., Kavan, P., Fakih, M., Kortmanský, J. S., Spencer, K., Wong, L., Tehfe, M., Li, J. J., Eyring, A. D., Mayo, C., & Chiorean, E. G. (2020). 493P Pembrolizumab (pembro) plus mFOLFOX7 or FOLFIRI in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): Updated results from KEYNOTE-651 cohorts B and D. *Annals of Oncology*, 31(Suppl. 4), S450. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.08.604>
- [21] Tang, C., Wang, X., Soh, H., Seyedin, S., Cortez, M. A., Krishnan, S., Massarelli, E., Hong, D., Naing, A., Diab, A., Gomez, D., Ye, H., Heymach, J., Komaki, R., Allison, J. P., Sharma, P., & Welsh, J. W. (2014). Combining Radiation and Immunotherapy: A New Systemic Therapy for Solid Tumors? *Cancer Immunology Research*, 2(9), 831-838. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0069>
- [22] Derer, A., Frey, B., Fietkau, R., & Gajpl, U. S. (2016). Immune-modulating properties of ionizing radiation: rationale for the treatment of cancer by combination radiotherapy and immune checkpoint inhibitors. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 65(7), 779-786. <https://doi.org/10.1007/s00262-015-1771-8>
- [23] Rückert, M., Flohr, A. S., Hecht, M., & Gajpl, U. S. (2021). Radiotherapy and the immune system: More than just immune suppression. *Stem Cells*, 39(9), 1155-1165. <https://doi.org/10.1002/stem.3391>
- [24] Parikh, A. R., Clark, J. W., Wo, J. Y.-L., Yeap, B. Y., Allen, J. N., Blaszkowsky, L. S., Ryan, D. P., Giantonio, B. J., Weekes, C. D., Zhu, A. X., Van Seventer, E. E., Matlack, L., Foreman, B., Ly, L., Drapek, L. C., Ting, D. T., Corcoran, R. B., & Hong, T. S. (2019). A phase II study of ipilimumab and nivolumab with radiation in microsatellite stable (MSS) metastatic colorectal adenocarcinoma (mCRC). *Journal of Clinical Oncology*, 37(15\_suppl), 3514. [https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15\\_suppl.3514](https://doi.org/10.1200/jco.2019.37.15_suppl.3514)
- [25] Segal, N. H., Cercek, A., Ku, G., Wu, A. J., Rimmer, A., Khalil, D. N., Reidy-Lagunes, D., Cuaron, J., Yang, T. J., Weiser, M. R., Romesser, P. B., Stadler, Z. K., Varghese, A. M., Ganesh, K., Yaeger, R., Connell, L. C., Faleck, D., Abou-Alfa, G. K., Mcauliffe, K. C., Vaishnava, P., ... Saltz, L. B. (2021). Phase II Single-arm Study of Durvalumab

- and Tremelimumab with Concurrent Radiotherapy in Patients with Mismatch Repair-proficient Metastatic Colorectal Cancer. *Clinical Cancer Research*, 27(8), 2200-2208. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-2474>
- [26] Yang, J., Bi, F., & Gou, H. (2021). Complete Pathologic Response After Concurrent Treatment with Pembrolizumab and Radiotherapy in Metastatic Colorectal Cancer: A Case Report. *OncoTargets and Therapy*, 14, 2555-2561. <https://doi.org/10.2147/OTT.S298333>
- [27] Van Cutsem, E., Cervantes, A., Adam, R., Sobrero, A., Van Krieken, J. H., Aderka, D., Aranda Aguilar, E., Bardelli, A., Benson, A., Bodoky, G., Ciardiello, F., D'Hoore, A., Diaz-Rubio, E., Douillard, J. Y., Ducreux, M., Falcone, A., Grothey, A., Gruenberger, T., Haustermans, K., Heinemann, V., ... Arnold, D. (2016). ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology*, 27(8), 1386-1422. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw235>
- [28] Ferris, R. L., Lenz, H. -J., Trotta, A. M., Garcia-Foncillas, J., Schulten, J., Audhuy, F., Merlano, M., & Milano, G. (2018). Rationale for combination of therapeutic antibodies targeting tumor cells and immune checkpoint receptors: Harnessing innate and adaptive immunity through IgG1 isotype immune effector stimulation. *Cancer Treatment Reviews*, 63, 48-60. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2017.11.008>
- [29] Veluchamy, J. P., Spanholtz, J., Tordoir, M., Thijssen, V. L., Heide-man, D. A., Verheul, H. M., de Gruij, T. D., & van der Vliet, H. J. (2016). Combination of NK Cells and Cetuximab to Enhance Anti-Tumor Responses in RAS Mutant Metastatic Colorectal Cancer. *PLoS ONE*, 11(6), Article e0157830. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157830>
- [30] Inoue, Y., Hazama, S., Suzuki, N., Tokumitsu, Y., Kanekiyo, S., Tomochika, S., Tsunedomi, R., Tokuhisa, Y., Iida, M., Sakamoto, K., Takeda, S., Ueno, T., Yoshino, S., & Nagano, H. (2017). Cetuximab strongly enhances immune cell infiltration into liver metastatic sites in colorectal cancer. *Cancer Science*, 108(3), 455-460. <https://doi.org/10.1111/cas.13162>
- [31] Stein, A., Binder, M., Bokemeyer, C., Al Batran, S. E., Hinke, A., & Hegewisch-Becker, S. (2017). Avelumab and cetuximab in combination with FOLFOLX in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer (MCRC): The phase II AVETUX-CRC trial (AIO KRK 0216). *Journal of Clinical Oncology*, 35(15\_suppl), TPS3620. [https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15\\_suppl.tps3620](https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.15_suppl.tps3620)
- [32] Stintzing, S., & Heinemann, V. (2019). FIRE-6 Studie. *Forum*, 34(4), 371-373. <https://doi.org/10.1007/s12312-019-0657-7>
- [33] Fountzilas, C., Mukherjee, S., Saltzman, J., Bajor, D., Muhitch, J., Abrams, S., Maguire, O., Minderman, H., Wang, K., Hutson, A., Hicks, K., Ventola, J., Kalinski, P., Iyer, R., & Boland, P. (2020). P-156 A phase Ib/II study of cetuximab and pembrolizumab in metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology*, 31(Suppl. 3), S140. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.04.238>
- [34] Van Den Eynde, M., Huyghe, N., De Cuyper, A., Sinapi, I., Ferrier, M., Gilet, M., Van Maanen, A., Castella, M. -L., Galon, J., & Carrasco, J. (2021). Interim analysis of the AVETUXIRI Trial: Avelumab combined with cetuximab and irinotecan for treatment of refractory microsatellite stable (MSS) metastatic colorectal cancer (mCRC)-A proof of concept, open-label, nonrandomized phase IIa study. *Journal of Clinical Oncology*, 39(3\_suppl), 80. [https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.3\\_suppl.80](https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.3_suppl.80)
- [35] Martini, G., Napolitano, S., Famiglietti, V., De Braud, F. G., Terminiello, M., Borrelli, C., Vitiello, P. P., Avallone, A., Normanno, N., Maiello, E., Falcone, A., Santabarbara, G., Pinto, C., Santini, D., Di Liello, A., Renato, D., Esposito, L., Marrone, F., Troiani, T., & Ciardiello, D. (2021). Final results from the CAVE (cetuximab rechallenge plus avelumab) mCRC phase II trial: Skin toxicity as a predictor of clinical activity. *Journal of Clinical Oncology*, 39(15\_suppl), 3578. [https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15\\_suppl.3578](https://doi.org/10.1200/jco.2021.39.15_suppl.3578)
- [36] Fukumura, D., Kloepper, J., Amoozgar, Z., Duda, D. G., & Jain, R. K. (2018). Enhancing cancer immunotherapy using antiangiogenics: opportunities and challenges. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 15(5), 325-340. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2018.29>
- [37] Hack, S. P., Zhu, A. X., & Wang, Y. (2020). Augmenting Anticancer Immunity Through Combined Targeting of Angiogenic and PD-1/PD-L1 Pathways: Challenges and Opportunities. *Frontiers in Immunology*, 11, Article 598877. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.598877>
- [38] Voron, T., Colussi, O., Marcheteau, E., Pernot, S., Nizard, M., Pointet, A. L., Latreche, S., Bergaya, S., Benhamouda, N., Tanchot, C., Stockmann, C., Combe, P., Berger, A., Zinzindohoue, F., Yagita, H., Tartour, E., Taieb, J., & Terme, M. (2015). VEGF-A modulates expression of inhibitory checkpoints on CD8<sup>+</sup> T cells in tumors. *Journal of Experimental Medicine*, 212(2), 139-148. <https://doi.org/10.1084/jem.20140559>
- [39] Mettu, N. B., Twohy, E., Ou, F. -S., Halfdanarson, T. R., Lenz, H. J., Breakstone, R., Boland, P. M., Cryslser, O., Wu, C., Grothey, A., Nixon, A. B., Bolch, E., Niedzwiecki, D., Fruth, B., Schweitzer, B., Elsing, A., Hurwitz, H., Fakih, M. G., & Bekaii-Saab, T. (2019). 533PD – BACCI: A phase II randomized, double-blind, multicenter, placebo-controlled study of capecitabine (C) bevacizumab (B) plus atezolizumab (A) or placebo (P) in refractory metastatic colorectal cancer (mCRC): An ACCRU network study. *Annals of Oncology*, 30(Suppl. 5), v203. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz246.011>
- [40] Grothey, A., Tabernero, J., Arnold, D., De Gramont, A., Ducreux, M. P., O'Dwyer, P. J., Van Cutsem, E., Bosanac, I., Srock, S., Mancao, C., Gilberg, F., Winter, J., & Schmol, H. -J. (2018). LBA19 – Fluoropyrimidine (FP) + bevacizumab (BEV) + atezolizumab vs FP/BEV in BRAFWt metastatic colorectal cancer (mCRC): Findings from Cohort 2 of MODUL – a multicentre, randomized trial of biomarker-driven maintenance treatment following first-line induction therapy. *Annals of Oncology*, 29(Suppl. 8), viii714-viii715. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy424.020>
- [41] Antoniotti, C., Borelli, B., Rossini, D., Pietrantonio, F., Morano, F., Salvatore, L., Lonardi, S., Marmorino, F., Tambari, S., Corallo, S., Tortora, G., Bergamo, F., Brunella, D. S., Boccaccino, A., Grassi, E., Racca, P., Tamburini, E., Aprile, G., Moretto, R., Boni, L., ... Cremolini, C. (2020). Atezotribe: a randomised phase II study of FOLFOXIRI plus bevacizumab alone or in combination with atezolizumab as initial therapy for patients with unresectable metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer*, 20(1), Article 683. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07169-6>
- [42] Hara, H., Fukuoka, S., Takahashi, N., Kojima, T., Kawazoe, A., Asayama, M., Yoshii, T., Kotani, D., Tamura, H., Mikamoto, Y., Sugama, A., Wakabayashi, M., Nomura, S., Sato, A., Togashi, Y., Nishikawa, H., & Shitara, K. (2019). SO-007 – Regorafenib plus nivolumab in patients with advanced colorectal or gastric cancer: an open-label, dose-finding, and dose-expansion phase 1b trial (REGONIVO, EPOC1603). *Annals of Oncology*, 30(Suppl. 4), iv124. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz157.006>
- [43] Cousin, S., Cantarel, C., Guegan, J. P., Gomez-Roca, C., Metges, J. P., Adenis, A., Pernot, S., Bellera, C., Kind, M., Auzanneau, C., Le Loarer, F., Soubeyran, I., Bessedé, A., & Italiano, A. (2021). Regorafenib-Avelumab Combination in Patients with Microsatellite Stable Colorectal Cancer (REGOMUNE): A Single-arm, Open-label, Phase II Trial. *Clinical Cancer Research*, 27(8), 2139-2147. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-3416>
- [44] Liu, J., Huang, X., Liu, H., Wei, C., Ru, H., Qin, H., Lai, H., Meng, Y., Wu, G., Xie, W., Mo, X., Johnson, C. H., Zhang, Y., & Tang, W. (2021). Immune landscape and prognostic immune-related genes in KRAS-mutant colorectal cancer patients. *Journal of Translational Medicine*, 19(1), Article 27. <https://doi.org/10.1186/s12967-020-02638-9>
- [45] Petanidis, S., Anastakis, D., Argyraki, M., Hadzopoulou-Cladaras, M., & Salifoglou, A. (2013). Differential Expression of IL-17, 22 and 23 in the Progression of Colorectal Cancer in Patients with K-ras Mutation: Ras Signal Inhibition and Crosstalk with GM-CSF and IFN- $\gamma$ . *PLOS ONE*, 8(9), Article e73616. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073616>
- [46] Liao, W., Overman, M. J., Boutin, A. T., Shang, X., Zhao, D., Dey, P., Li, J., Wang, G., Lan, Z., Li, J., Tang, M., Jiang, S., Ma, X., Chen, P., Kathkuda, R., Korphaisarn, K., Chakravarti, D., Chang, A., Spring, D. J., Chang, Q., ... DePinho, R. A. (2019). KRAS-IRF2 Axis Drives Immune Suppression and Immune Therapy Resistance in Colorectal Cancer. *Cancer Cell*, 35(4), 559-572.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.02.008>
- [47] Canon, J., Rex, K., Saiki, A. Y., Mohr, C., Cooke, K., Bagal, D., Gaida, K., Holt, T., Knutson, C. G., Koppada, N., Lanman, B. A., Werner, J., Rapaport, A. S., San Miguel, T., Ortiz, R., Osgood, T., Sun, J. R., Zhu, X., McCarter, J. D., Volak, L. P., ... Lipford, J. R. (2019). The clinical KRAS(G12C) inhibitor AMG 510 drives anti-tumour immunity. *Nature*, 575(7781), 217-223. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1694-1>
- [48] Galluzzi, L. (2020). Targeting Mutant KRAS for Immunogenic Cell Death Induction. *Trends in Pharmacological Sciences*, 41(1), 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2019.11.004>
- [49] Ebert, P., Cheung, J., Yang, Y., McNamara, E., Hong, R., Moskalenko, M., Gould, S. E., Maecker, H., Irving, B. A., Kim, J. M., Belvin, M., & Mellman, I. (2016). MAP Kinase Inhibition Promotes T Cell and Anti-tumor Activity in Combination with PD-L1 Checkpoint Blockade. *Immunity*, 44(3), 609-621. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.01.024>
- [50] Poon, E., Mullins, S., Watkins, A., Williams, G. S., Koopmann, J. O., Di Genova, G., Cumberbatch, M., Veldman-Jones, M., Grosskurth, S. E., Sah, V., Schuller, A., Reimer, C., Dovedi, S. J., Smith, P. D., Stewart, R., & Wilkinson, R. W. (2017). The MEK inhibitor selumetinib complements CTLA-4 blockade by reprogramming the tumor immune microenvironment. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, 5(1), Article 63. <https://doi.org/10.1186/s40425-017-0268-8>
- [51] Eng, C., Kim, T. W., Bendell, J., Argilés, G., Tebbutt, N. C., Di Bartolomeo, M., Falcone, A., Fakih, M., Kozloff, M., Segal, N. H., Sobrero, A., Yan, Y., Chang, I., Uyei, A., Roberts, L., Ciardiello, F., Ahn, J., Asselah, J., Badarinarath, S., & Bajjal, S. (2019). Atezolizumab with or without cobimetinib versus regorafenib in previously treated metastatic colorectal cancer (IMblaze370): a multicentre, open-label, phase 3, randomised, controlled trial. *The Lancet Oncology*, 20(6), 849-861. [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(19\)30027-0](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(19)30027-0)

- [52] Corcoran, R., Giannakis, M., Allen, J., Chen, J., Pelka, K., Chao, S., Meyerhardt, J., Enzinger, A., Enzinger, P., McCleary, N., Yugelun, M., Abrams, T., Kanter, K., Van Seventer, E., Bradford, W., Fetter, I., Siravegna, G., Tian, J., Clark, J., & Ryan, D. (2020). SO-26 Clinical efficacy of combined BRAF, MEK, and PD-1 inhibition in BRAFV600E colorectal cancer patients. *Annals of Oncology*, 31(Suppl. 3), S226-S227. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.04.041>
- [53] Taberero, J., Grothey, A., Van Cutsem, E., Yaeger, R., Wasan, H., Yoshino, T., Desai, J., Ciardiello, F., Loupakis, F., Hong, Y. S., Steeghs, N., Guren, T. K., Arkenau, H. T., Garcia-Alfonso, P., Elez, E., Gollerkeri, A., Maharry, K., Christy-Bittel, J., & Kopetz, S. (2021). Encorafenib Plus Cetuximab as a New Standard of Care for Previously Treated BRAF V600E-Mutant Metastatic Colorectal Cancer: Updated Survival Results and Subgroup Analyses from the BEACON Study. *Journal of Clinical Oncology*, 39(4), 273-284. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.02088>
- [54] Ganesh, K., Stadler, Z. K., Cercek, A., Mendelsohn, R. B., Shia, J., Segal, N. H., & Diaz, L. A., Jr. (2019). Immunotherapy in colorectal cancer: rationale, challenges and potential. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16(6), 361-375. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0126-x>
- [55] Lenz, H. -J. J., Van Cutsem, E., Limon, M. L., Wong, K. Y., Hendlisz, A., Aglietta, M., Garcia-Alfonso, P., Neyns, B., Luppi, G., Cardin, D., Dragovich, T., Shah, U., Atasoy, A., Postema, R., Boyd, Z., Ledezine, J. -M., Overman, M., & Lonardi, S. (2018). LBA18\_PR – Durable clinical benefit with nivolumab (NIVO) plus low-dose ipilimumab (IPI) as first-line therapy in microsatellite instability-high/mismatch repair deficient (MSI-H/dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC). *Annals of Oncology*, 29(Suppl. 8), viii714. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy424.019>
- [56] Lee, L. H., Cavalcanti, M. S., Segal, N. H., Hechtman, J. F., Weiser, M. R., Smith, J. J., Garcia-Aguilar, J., Sadot, E., Ntiamoah, P., Markowitz, A. J., Shike, M., Stadler, Z. K., Vakiani, E., Klimstra, D. S., & Shia, J. (2016). Patterns and prognostic relevance of PD-1 and PD-L1 expression in colorectal carcinoma. *Modern Pathology*, 29(11), 1433-1442. <https://doi.org/10.1038/modpathol.2016.139>
- [57] Fukuoka, S., Hara, H., Takahashi, N., Kojima, T., Kawazoe, A., Asayama, M., Yoshii, T., Kotani, D., Tamura, H., Mikamoto, Y., Hirano, N., Wakabayashi, M., Nomura, S., Sato, A., Kuwata, T., Togashi, Y., Nishikawa, H., & Shitara, K. (2020). Regorafenib Plus Nivolumab in Patients With Advanced Gastric or Colorectal Cancer: An Open-Label, Dose-Escalation, and Dose-Expansion Phase Ib Trial (REGONIVO, EPOC1603). *Journal of Clinical Oncology*, 38(18), 2053-2061. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.03296>
- [58] Huyghe, N., Benidovskaya, E., Stevens, P., & Van den Eynde, M. (2022). Biomarkers of Response and Resistance to Immunotherapy in Microsatellite Stable Colorectal Cancer: Toward a New Personalized Medicine. *Cancers*, 14(9), Article 2241. <https://doi.org/10.3390/cancers14092241>
- [59] Schrock, A. B., Ouyang, C., Sandhu, J., Sokol, E., Jin, D., Ross, J. S., Miller, V. A., Lim, D., Amanam, I., Chao, J., Catenacci, D., Cho, M., Braiteh, F., Klempner, S. J., Ali, S. M., & Fakih, M. (2019). Tumor mutational burden is predictive of response to immune checkpoint inhibitors in MSI-high metastatic colorectal cancer. *Annals of Oncology*, 30(7), 1096-1103. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz134>
- [60] Huyghe, N., Baldin, P., & Van den Eynde, M. (2019). Immunotherapy with immune checkpoint inhibitors in colorectal cancer: what is the future beyond deficient mismatch – repair tumours? *Gastroenterology Report*, 8(1), 11-24. <https://doi.org/10.1093/gastro/goz061>
- [61] Marliot, F., Chen, X., Kirilovsky, A., Sbarrato, T., El Sissy, C., Batista, L., Van den Eynde, M., Haicheur-Adjouri, N., Anitei, M. G., Musina, A. M., Scripcariu, V., Lagorce-Pagès, C., Hermitte, F., Galon, J., Fieschi, J., & Pagès, F. (2020). Analytical validation of the Immunoscore and its associated prognostic value in patients with colon cancer. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 8(1), Article e000272. <https://doi.org/10.1136/jitc-2019-000272>
- [62] Chakrabarti, S., Huebner, L. J., Finnes, H. D., Muranyi, A., Clements, J., Singh, S., Hubbard, J. M., McWilliams, R. R., Shanmugam, K., & Sinicrope, F. A. (2019). Intratumoral CD3<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T-Cell Densities in Patients With DNA Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer Receiving Programmed Cell Death-1 Blockade. *JCO Precision Oncology*, 3, 1-7. <https://doi.org/10.1200/PO.19.00055>
- [63] Guinney, J., Dienstmann, R., Wang, X., de Reyniès, A., Schlicker, A., Soneson, C., Marisa, L., Roepman, P., Nyamundanda, G., Angelino, P., Bot, B. M., Morris, J. S., Simon, I. M., Gerster, S., Fessler, E., De Sousa E Melo, F., Missiaglia, E., Ramay, H., Barras, D., Homiczko, K., ... Tejpar, S. (2015). The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nature Medicine*, 21(11), 1350-1356. <https://doi.org/10.1038/nm.3967>
- [64] Fontana, E., Eason, K., Cervantes, A., Salazar, R., & Sadanandam, A. (2019). Context matters-consensus molecular subtypes of colorectal cancer as biomarkers for clinical trials. *Annals of Oncology*, 30(4), 520-527. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz052>
- [65] Valero, C., Lee, M., Hoen, D., Weiss, K., Kelly, D. W., Adusumilli, P. S., Paik, P. K., Plitas, G., Ladanyi, M., Postow, M. A., Ariyan, C. E., Shoushtari, A. N., Balachandran, V. P., Hakimi, A. A., Crago, A. M., Long Roche, K. C., Smith, J. J., Ganly, I., Wong, R. J., Patel, S. G., ... Morris, L. (2021). Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio and mutational burden as biomarkers of tumor response to immune checkpoint inhibitors. *Nature Communications*, 12(1), Article 729. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-20935-9>