

# Imunoterapie metastatického kolorektálního karcinomu

Stanislav Batko

Onkologická klinika, FN Motol a 2. lékařská fakulta UK, Praha

Katedra epidemiologie, Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Hradec Králové

Imunoterapie má v léčbě metastazujícího kolorektálního karcinomu své pevné místo u pacientů s mikrosatelitovou instabilitou/deficiencí v mismatch repair genech tvořících zhruba 5 % všech metastatických kolorektálních karcinomů. Data z menších studií také silně svědčí pro obdobně dobrou účinnost také u tumorů s mutací POLE1/POLD1. Probíhá intenzivní výzkum snažící se prolomit rezistenci k imunoterapii pozorovanou u mikrosatelitně stabilních nádorů kolorekta. Některé menší nerandomizované studie naznačují možný benefit kombinace imunoterapie s multikinázovými inhibitory nebo chemoterapií a cílenou léčbou v populaci mikrosatelitně stabilních tumorů, avšak negativní výsledky několika nedávno publikovaných studií ukazují nutnost dalšího výzkumu před uvedením do praxe. Slibné se jeví testování nové generace imunoterapie.

**Klíčová slova:** metastatický kolorektální karcinom, imunoterapie, MSI, MMS, dMMR, pMMR, pembrolizumab, nivolumab, botensilimab, KEYNOTE-177, CheckMate-142.

## Recent advances in immunotherapy for metastatic colorectal cancer

Immunotherapy has a established role in the treatment of metastatic colorectal cancer in patients with microsatellite instability/deficiency in mismatch repair genes accounting for roughly 5% of all metastatic colorectal cancers. Data from smaller studies also strongly support similarly good efficacy in tumors with the POLE1/POLD1 mutation. Intensive research is underway to break down the resistance to immunotherapy observed in microsatellite stable colorectal cancers. Some smaller non-randomized studies suggest a possible benefit of combining immunotherapy with multikinase inhibitors or chemotherapy and targeted treatment in the population of microsatellite stable tumors, but negative results from several recently published studies indicate the need for further research before implementation into clinical praxis. Promising results were seen with novel generation of immunotherapy agents.

**Key words:** metastatic colorectal cancer, immunotherapy, MSI, MSS, dMMR, pMMR, pembrolizumab, nivolumab, botensilimab, KEYNOTE-177, CheckMate-142.

## Úvod

Kolorektální karcinom (CRC) je celosvětově třetí nejčastější malignitou a druhou nejčastější příčinou úmrtí na nádorová onemocnění (1). V roce 2020 bylo zaznamenáno 1,9 milionu nových případů a současně více než 900 tisíc lidí tomuto onemocnění podlehl. Mezi rozvíjejícími se státy a státy s rozvinutými ekonomikami panují až desetinásobné rozdíly v incidenci s nejvyšší četností v Evropě,

Severní Americe a asijských zemích s vysokým podílem starší populace, jako je například Japonsko. Screening sice slaví dílčí úspěchy u populace nad 50 let, avšak vzrůstá počet kolorektálních karcinomů s časným nástupem ve věkové skupině pod 50 let (2).

Primárně metastatické onemocnění je při diagnóze zachyceno u zhruba 20–25 % pacientů (3), dalších 20–50 % pacientů s lokálním onemocněním časem relabuje a vyvine

metastatické onemocnění (4). Arzenál léčby metastazujícího onemocnění v současnosti sestává z chemoterapie, biologické léčby a imunoterapie. Tyto jednotlivé mohou být podávány samostatně nebo častěji v kombinacích.

Doposud prokázala imunoterapie u metastatického kolorektálního karcinomu přesvědčivý efekt v populaci pacientů s deficiencí v mismatch repair genech (dMMR)/

mikrosatelitovou instabilitou (MSI high), kterou lze diagnostikovat u cca 5 % případů metastatického onemocnění, se silnou převahou pravostranných nádorů. Studie v neselektovaných populacích a u nádorů s proficientními mismatch repair geny pMMR/mikrosatelitně stabilním (MSS) onemocněním byla po dlouhou dobu provázena řadou negativních výsledků, avšak v poslední době byly prezentovány slibné výsledky.

## Imunoterapie u dMMR/MSI high metastatických nádorů

V této podskupině se nabízejí dvě léčebné možnosti a to použití pembrolizumabu či kombinace ipilimumabu a nivolumabu. Pembrolizumab staví na výsledcích randomizované studie fáze III KEYNOTE 177, stavějící na poznatcích z předchozích menších studií. První z nich, KEYNOTE-016 (5) publikovaná v roce 2015 v populaci předléčených pacientů ukázala, že účinnost pembrolizumabu (testováno bylo 11 pacientů s MSI-H a 22 pacientů s MSS kolorektálním karcinomem) je limitována na MSI high populaci s objektivní odpovědí (ORR), která byla zaznamenána u 40 % pacientů s MSI-H mCRC a četnost kontroly onemocnění DCR (90 %). Důležitý střipek poznání přinesla studie fáze 1b KEYNOTE-028 (6), jenž přispěla k porozumění role PD-L1 u kolorektálního karcinomu. Ze vzorku 137 pacientů s na léčbu refraktorním, metastatickým CRC byla prokázána PD-L1 pozitivita u 24 % a do studie bylo následně zařazeno 23 pacientů. Nádorová odpověď byla zaznamenána u jediného pacienta, který se odlišoval od zbytku studiové populace tím, že měl MSI high kolorektální karcinom.

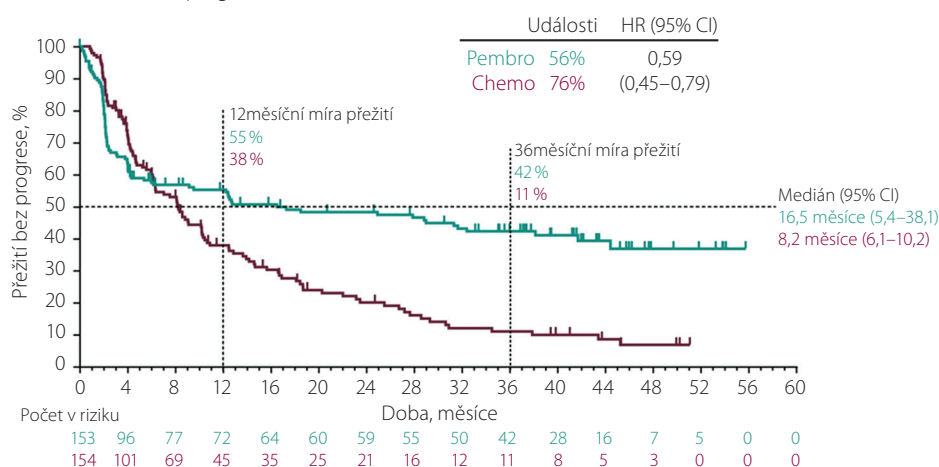
Nejrozsáhlejší publikovaná mezinárodní randomizovaná studie fáze III KEYNOTE-177 (7), v populaci pacientů s MSI-H/dMMR metastatickým kolorektálním karcinomem, v níž byl pembrolizumab testován v první linii léčby v monoterapii proti standardní léčbě chemoterapií FOLFOX + bevacizumab/cetuximabem dle RAS mutačního statutu. Primární cíle představovaly parametry PFS a OS, přičemž je nutné poznamenat, že byl pacientům v kontrolní skupině po progresi umožněn crossover, čímž dochází k podhodnocení rozdílu v celkovém přežití. V této studii bylo v následujících liniích anti-PD-1/

PD-L1 exponováno 60 % pacientů ze skupiny s chemoterapií. Podání pembrolizumabu vedlo k významně delšímu PFS v porovnání se standardní léčbou (16,5 vs. 8,2 měsíce; HR 0,60; 95% CI, 0,45–0,80;  $p = 0,0002$ ), (Obr. 1). Srovnání mediánu celkového přežití vykazovalo trend k lepšímu přežití ve skupině s pembrolizumabem (HR 0,74; 95% CI, 0,53–1,03;  $P = 0,0359$ ; mOS nedosažen vs. 36,7 měsíce), (Obr. 2). Celková objektivní odpověď nastala u 43,8 % pacientů s pembrolizumabem, přičemž u 11 % se jednalo o kompletní remisi, v rameni se standardní léčbou činila ORR 33,1 % s 4 % kompletních remisí. Kontrolu onemocnění (DCR) dosáhlo 65 % pacientů v rameni s pembrolizumabem oproti 75 % pacientům v rameni se standardní léčbou. Primární progresse onemocnění byla zaznamenána u 29,4 % pacientů s pembrolizumabem a 12,3 % pacientů v kontrolním rameni. Medián trvání odpovědi ve skupině s chemoterapií činil 10,6 měsíce, ve skupině

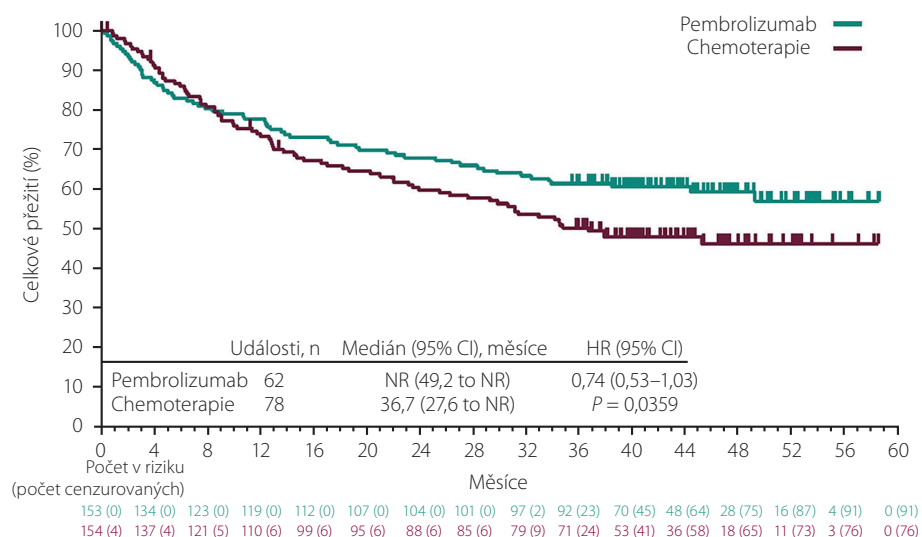
s imunoterapií nebyl dosažen. Po 24měsíčním sledování přetrvávala odpověď u 83 % pacientů s pembrolizumabem oproti 35 % pacientů se standardní léčbou (Obr. 2). Pohled do podskupinových analýz odhaluje zajímavé výsledky; z léčby profituje většina podskupin pacientů, nikoliv však pacienti s mutacemi KRAS a NRAS (HR 1,19, 95% CI 0,68–2,07). Kupodivu, v křehkých subpopulacích – podskupiny pacientů s ECOG 1 a ve věkové kategorii > 70 let, kde se preference imunoterapie před standardní volbou chemoterapie a cílené léčby jeví jako méně zatěžující volba – také neprokazovaly jednoznačný profit imunoterapie nad kontrolním ramenem. Každopádně je pembrolizumab obsažen v současných léčebných doporučeních ESMO, NCCN i České onkologické společnosti.

Další, praxi měnící, je studie fáze 2 CheckMate-142. Primárním cílem této studie byla četnost celkové léčebné odpovědi. V kohortě s monoterapií nivolumabem (8)

Obr. 1. Přežití bez progresse KEYNOTE 177



Obr. 2. Finální celkové přežití ve studii KEYNOTE 177





nosti  $p = 0,0214$ ). Za poznámku stojí vysoký, 70% – podíl pacientů s jaterním postižením, neboť tato lokalizace se ukázala negativním prognostickým faktorem účinnosti imunoterapie (17).

Další zkoumaný směr spočíval v kombinaci imunoterapie, cílené léčby a chemoterapie, také s nejednoznačnými výsledky.

Jako první lze zmínit randomizovanou studii fáze II AtezoTRIBE (18), v níž výzkumníci přiřadili studiovou populaci s nepředléčeným metastatickým kolorektálním karcinomem buď do ramene se standardní léčbou, pro kterou zvolili režim FOLFOXIRI + bevacizumab, nebo do studiového ramene, v němž ke standardní léčbě přidali atezolizumab. Po úvodních osmi cyklech podávání tripletu pacienti pokračovali v udržovací léčbě FUFA + bevacizumab +/- atezolizumab. Jako primární cíl byl stanoven parametr PFS. Pacienti mohli být zařazováni nezávisle na MSI statusu, studiová populace 218 pacientů proto sestávala z 92% MSS mCRC pacientů a 7% s MSI mCRC. Čistě jaterní postižení bylo zaznamenáno u 27% pacientů. Studie uspěla v primárním parametru přežití bez progresu; ve standardním rameni činilo 11,5 měsíce, ve studiovém rameni 13,1 měsíce (HR 0,69, 80% CI 0,56–0,85,  $p = 0,012$ ). Bližší pohled do subpopulací dle statusu MSI/MMR však odhaluje statisticky nesignifikantní trend k lepšímu PFS v MSS/pMMR skupině s HR 0,77 (CI 0,55–1,08) a nepřekvapivý silný efekt v MSI/dMMR podskupině s HR 0,10 (CI 0,02–0,42). Rozdíl v mediánu celkového přežití 27,2 měsíce ve standardním rameni a 33 měsíce v experimentálním rameni v rámci celé populace s léčebným záměrem nedosáhl statistické signifikance ( $p = 0,136$ ). Aktualizovaný parametr mediánu přežití bez progresu v podskupině s pMMR činil 11,5 vs. 13 měsíců (HR 0,79, CI 0,64–0,97,  $p = 0,073$ ), parametr mediánu celkového přežití 26,9 měsíce vs. 30,8 měsíce s HR 0,83 (CI 0,64–1,07,  $p = 0,172$ ), (Obr. 4). Jednoznačný benefit přidání atezolizumabu k tripletu FOLFOXIRI + bevacizumab tedy konstatovat nelze.

Obdobná, randomizovaná studie fáze II Checkmate 9X8 (19) zkoumající přínos nivolumabu nad rámec standardního režimu FOLFOX + bevacizumab v první linii léčby na vzorku 195 pacientů neprokázala přínos v pri-

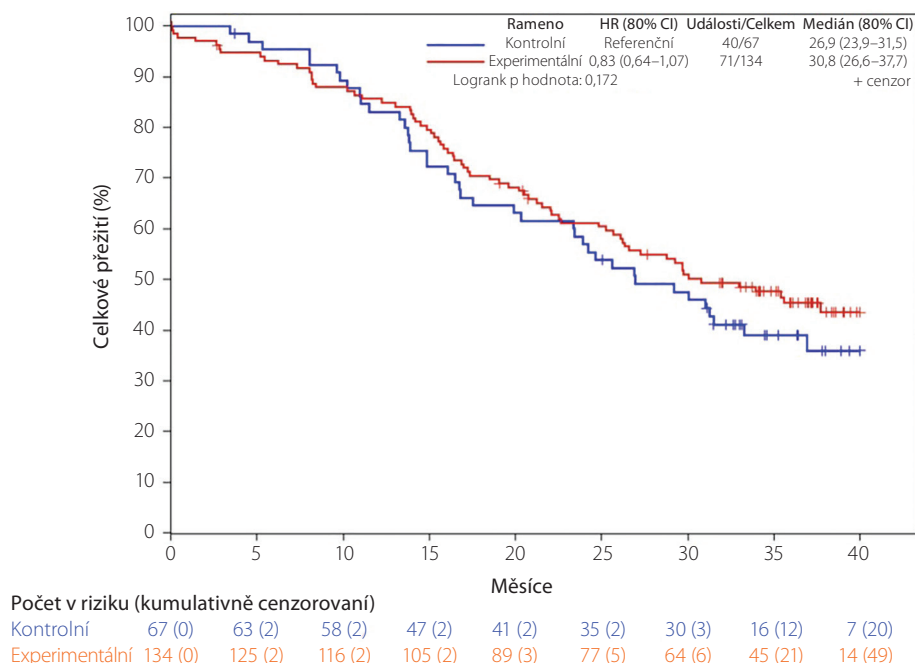
márním cíli PFS, který činil v obou ramenech shodně 11,9 měsíce, nelišily se ani křivky celkového přežití. Slabší důkazy o efektu kombinace imunoterapie s chemoterapií a anti-EGFR cílenou léčbou poskytují menší, studie fáze II postrádající kontrolní ramena, jako je např. v první linii AVETUX (20). Na populaci 62 pacientů v první linii mCRC dosáhla kombinace avelumabu s cetuximabem a režimem FOLFOXIRI v první linii léčby mediánu PFS 14,1 měsíce, což je nepochybně povzbuzující, nikoliv však vybočující z rozptylu hodnot PFS v rámci jiných menších studií fáze 2 s cetuximabem a tripletem FOLFOXIRI (např. studie CELIM2 (21) nebo FOCULM (22)), proto bude nutné vyčkat, zda se objeví potvrzující výsledky větších randomizovaných studií fáze III. Obecně tedy lze z hlediska účinnosti dosavadní výsledky studií kombinujících imunoterapii, cílenou léčbu a chemoterapii u populace neselektované z hlediska MSI/MMR statusu – tzn. s více než 90% převahou MSS/pMMR pacientů – shrnout jako nedostatečně průkazné a nezralé do klinické praxe.

Neznamená to však, že by byla imunoterapie u MSI/pMMR pacientů neperspektivní. V poslední době byly identifikovány nové poznatky a strategie, které jsou podrobovány klinickému testování. Predikce účinnosti imunoterapie nezávislým na MSI/MMR statusu byla zkoumána u TMB (nádorové mutační nálože) a mutace POLE-1/POLD1 (DNA po-

lymeráza epsilon, katalytická podjednotka A a DNA polymeráza delta). Incidence POLE-1/POLD1 mutací se u metastatického kolorektálního karcinomu pohybuje mezi 1–7% (23, 24), a navzájem se vylučuje s deficiencí v mismatch repair genech. Mezi TMB a MSI/dMMR statusem existuje velmi úzké propojení, analýza (25) téměř 1 400 nádorů kolorekta nalezla MSI statut u 5,7%, vysoké TMB u 6,7% a souběžný výskyt MSI a vysokého TMB u 5,4% pacientů. Vztah mezi účinností imunoterapie u pacientů v závislosti na TMB, mutacích POLE-1 a MSI/dMMR naznačila práce z roku 2021 (26), kde bylo zaznamenáno lepší celkové přežití u nádorů s TMB  $\geq 10$ /Mb léčených imunoterapií. Po stratifikaci dle MMR statusu a mutačního stavu POLE/POLD1 ukázala závislost účinnosti imunoterapie na přítomnosti mutace POLE/POLD1. Pacienti s TMB  $\geq 10$ /Mb s nemutovanou POLE/POLD1 vykazovali stejné výsledky jako podskupina pacientů s pMMR a nízkou mutační náloží, tedy absenci benefitu. U pacientů s prokázanou mutací POLE/POLD1 lze očekávat efekt imunoterapie zcela srovnatelný s MSI/pMMR nádory a má své místo v léčebném algoritmu.

Pacienti s MSS/pMMR a POLE/POLD1 nemutovanými nádory aktuálně představují populaci, u níž nebyl doložen benefit standardně dostupné imunoterapie. Nové molekuly však mají potenciál tento stav zvrátit, jak ukázala studie (27) s dubletem bosenti-

**Obr. 4.** Celkové přežití v MSS podskupině studie AtezoTRIBE





limabu s balstilimabem u MSS refraktorních pacientů. Balstilimab funguje jako duální PD-L1/2 antagonist a bosentilimab představuje novou generaci anti-CTLA4 protilátek, s vystupňovaným stimulačním účinkem na FcγIIIA vedoucím k účinnější aktivaci antigen prezentujících buněk a depleci regulačních T lymfocytů (Treg) tlumících imunitní odpověď. V rámci studiové populace zaznamenali výzkumníci kontrolu onemocnění u 80 % ze 101 pacientů, četnost ORR činila 18 %, v podskupině bez jaterních metastáz pak 23 %, přetrvávající odpověď na léčbu mělo 69 % pacientů. Medián celkového přežití dosáhl 20,9 měsíce u podskupiny bez jaterních metastáz oproti 8,7 měsíce u skupiny s jaterním postižením (Obr. 5).

Jiný, originální přístup zvolili italsí autoři ve své studii MAYA (28), v populaci refraktorních pacientů s MSS metastatickým kolorektálním karcinomem použili léčbu temozolomidem a kombinaci nivolumabu s ipilimumabem. Základní vstupní kritérium splňovali pacienti s metylovaným genem MGMT (O<sup>6</sup>-metylguanin-DNA-metyltransferázy), jenž hraje důležitou roli v reparaci DNA poškozené alkylačními činidly. Pacienti s metylovaným promotorem MGMT, tudíž neexprimující tento gen, jsou náchylnější k poškození alkylačními cytostatiky např. temozolomidem. Odpověď

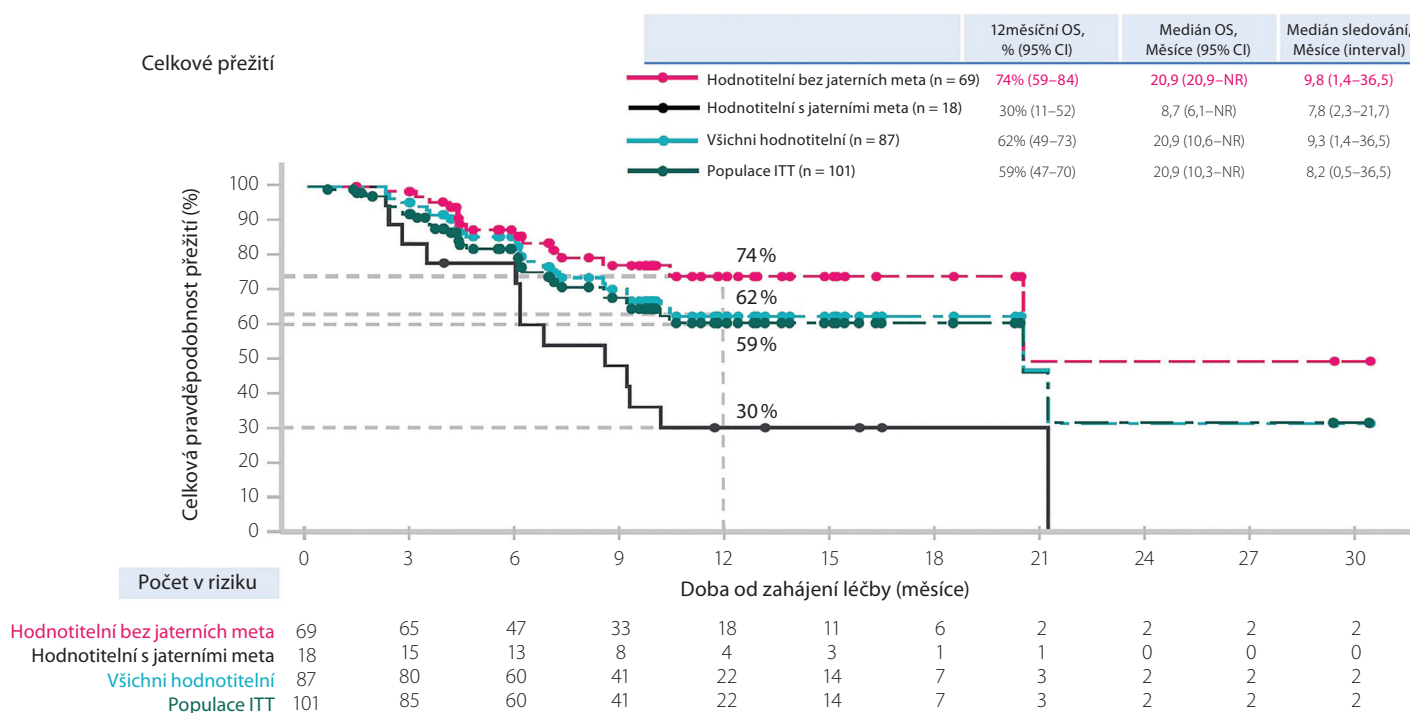
na léčbu temozolomidem je podmíněna MSS statutem, přičemž jeden z mechanismů vzniku rezistence představuje de novo mutace v mismatch repair genech, zejména MSH6. V populaci 703 silně předléčených lidí s MSS mCRC identifikovali silencing genu MGMT u 204 (29 %) pacientů, a 142 z nich bylo následně zařazeno do studie. Studiová léčba zahrnovala úvodní dva cykly temozolomidu (150 mg/m<sup>2</sup> den 1–5 v rámci 28denního cyklu) a zhodnocení odpovědi. Pacienti, kteří dosáhli kontroly onemocnění (33/135, 24 %), poté pokračovali v další léčbě temozolomidem v kombinaci s nivolumabem + ipilimumabem. V tomto vyselektovaném vzorku navodila léčba celkovou léčebnou odpověď u 45 % pacientů, medián přežití bez progresu činilo 7 měsíců a medián celkového přežití 18,4 měsíce. Rebiopsie provedené u 4 pacientů s mPFS > 8 měsíců potvrdily významné zvýšení TMB (vstupně medián 4,5/Mb). V rámci screenované MSS mCRC na léčbu refraktorní populace tudíž z tohoto postupu profitovaly 3 %, v rámci MGMT selektované populace 10,8 % pacientů.

## Závěr

Imunoterapie má u metastatického kolorektálního karcinomu své pevné postavení v populaci pacientů s prokázanou mikrosatelitovou instabilitou/deficiencí v mismatch repair

genech tvořících zhruba 5 % všech metastatických kolorektálních karcinomů, kde je na výběr v první linii léčby pembrolizumab, nebo kombinace ipilimumab + nivolumab u předléčených pacientů. Probíhá intenzivní výzkum, jehož cílem je prolomit rezistenci vůči imunoterapii v populaci MSS/pMMR pacientů. Kombinace multikinázových inhibitorů s imunoterapií přináší slibné výsledky v rámci malých studií, nicméně velká studie fáze III, jenž postavila dublet pembrolizumab + lenvatinib proti standardní léčbě v třetí linii neprokázala lepší výsledky, a proto je potřeba zachovat zdrženlivý přístup. Obdobně studie kombinující imunoterapii s chemoterapií a cílenou léčbou jsou v naprosté většině jednoramenné, přičemž randomizované studie AtezoTRIBE a CheckMate 9 × 8 neprokázaly v podskupině MSS pacientů prodloužení celkového přežití. Aktuálně slibně působí výsledky studie kombinující novou generaci anti-CTLA4 protilátek botensilimabu s balstilimabem, jenž u populace s refraktorním MSS metastatickým kolorektálním karcinomem vedla ke kontrole onemocnění 80 % pacientů a významnému prodloužení celkového přežití, zejména u podskupiny bez jaterních metastáz. Další varianty imunoterapie jako buněčné terapie jsou také intenzivně zkoumány, avšak klinickému použití jsou ještě více vzdáleny, a tudíž zde nejsou zmiňovány.

**Obr. 5.** Celkové přežití u MSS refraktorních pacientů léčených kombinací botensilimabu s balstilimabem



## LITERATURA

1. Sawicki T, Ruszkowska M, Danielewicz A, et al. Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis. *Cancers*. 2021;13(9):2025.
2. Sinicrope FA. Increasing Incidence of Early-Onset Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2022;386(16):1547-1558. doi: 10.1056/NEJMra2200869. PMID: 35443109.
3. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med*. 2012;366(26):2443-2454. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200690>.
4. Gelsomino F, Barbolini M, Spallanzani A, et al. The evolving role of microsatellite instability in colorectal cancer: A review. *Cancer Treat Rev*. 2016;51:19-26.
5. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med*. 2015;372(26):2509-2520. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500596>.
6. O'Neil BH, Wallmark JM, Lorente D, et al. Safety and anti-tumor activity of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab in patients with advanced colorectal carcinoma. *PLoS One*. 2017;12(12):e0189848. doi: 10.1371/journal.pone.0189848. PMID: 29284010; PMCID: PMC5746232.
7. Kai-Keen S, Thierry A, Tae Won K, et al. KEYNOTE-177: Phase III randomized study of pembrolizumab versus chemotherapy for microsatellite instability-high advanced colorectal cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2021 39:3suppl. 6-6.
8. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2017;18(9):1182-1191. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30422-9. Epub 2017 Jul 19. Erratum in: *Lancet Oncol*. 2017;18(9):e510. PMID: 28734759; PMCID: PMC6207072.
9. Overman MJ, Lonardi S, Wong KYM, et al. Durable Clinical Benefit With Nivolumab Plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36(8):773-779. doi: 10.1200/JCO.2017.76.9901. Epub 2018 Jan 20. PMID: 29355075.
10. Available from: <https://clinicaloptions.com/CE-CME/oncology/checkmate-142-5-yr-update/100002202-100003196>.
11. André T, Van Cutsem E, Eleaz E, et al. P-12 A phase 3 study of nivolumab (NIVO), NIVO + ipilimumab (IPI), or chemotherapy for microsatellite instability-high (MSI-H)/mismatch repair-deficient (dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC): CheckMate 8HW. *Annals of Oncology*. 2022;33:S250.
12. Eng C, Kim TW, Bendell J, et al. IMblaze370 Investigators. Atezolizumab with or without cobimetinib versus regorafenib in previously treated metastatic colorectal cancer (IMblaze370): a multicentre, open-label, phase 3, randomised, controlled trial. *Lancet Oncol*. 2019;20:849-861.
13. Overman MJ, Kopetz S, McDermott RS, et al. Nivolumab ± ipilimumab in treatment (tx) of patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) with and without high microsatellite instability (MSI-H): CheckMate-142 interim results. *J Clin Oncol*. 2016;34:15suppl; abstr. 3501.
14. Cousin S, Cantarel C, Guegan J-P, et al. Regorafenib-avelumab combination in patients with microsatellite stable colorectal cancer (REGOMUNE): a single-arm, open-label, phase II trial. *Clin Cancer Res*. 2021;27:2139-2147.
15. Morris VK, Parseghian CM, Escano M, et al. Phase I/II trial of encorafenib, cetuximab, and nivolumab in patients with microsatellite stable, BRAF V600E metastatic colorectal cancer. 2022 ASCO Gastrointestinal Cancers Symposium. 2022; January 22: Abstract 12.
16. Kawazoe A, Xu R, Passhak M, et al. Lenvatinib plus pembrolizumab versus standard of care for previously treated metastatic colorectal cancer (mCRC): the phase 3 LEAP-017 study. *Ann Oncol*. 2023;34(Suppl 1):S179. doi:10.1016/jannonc.2023.04.015.
17. Saberzadeh-Ardestani B, Jones JC, Hubbard JM, et al. Association Between Survival and Metastatic Site in Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer Treated With First-line Pembrolizumab. *JAMA Netw Open*. 2023;6(2):e230400. doi:10.1001/jamanetworkopen.2023.0400.
18. Antoniotti C, Rossini D, Pietrantonio F, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab and atezolizumab as upfront treatment of unresectable metastatic colorectal cancer (mCRC): Updated and overall survival results of the phase II randomized AtezoTRIBE study. Presented at ASCO Annual Meeting. 2023; Chicago: June 2-6: abstract 3500.
19. Lenz HJ, Raj Parikh A, Spigel DR, et al. Nivolumab (NIVO) + 5-fluorouracil/leucovorin/oxaliplatin (mFOLFOX6)/bevacizumab (BEV) versus mFOLFOX6/BEV for first-line (1L) treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC): Phase 2 results from CheckMate 9X8. *Journal of Clinical Oncology*. 2022;40:4\_suppl, 8-8.
20. Conca V, Antoniotti C, Bergamo F, et al. Modified FOLFOXIRI plus cetuximab and avelumab as initial therapy in RAS wild-type unresectable metastatic colorectal cancer: Results of the phase II AVETRIC trial by GONO. *Journal of Clinical Oncology*. 2023;41:16\_suppl.:3575-3575.
21. Folprecht G, Mende M, Liersch T, et al. Cetuximab/FOLFIRI +/- oxaliplatin or FOLFOXIRI +/- bevacizumab in patients with colorectal cancer and liver metastases (AIO CELIM2- study). *J Clin Oncol*. 2020;38:abstract 4024.
22. Hu H, Wang K, Huang M, et al. Modified FOLFOXIRI with or without cetuximab as conversion therapy in patients with RAS/BRAF wild-type unresectable liver metastases colorectal cancer: the FOCULM multicenter phase II trial. *Oncologist*. 2021;26:e90-e98.
23. Domingo E, Freeman-Mills L, Rayner E, et al. Somatic POLE proofreading domain mutation, immune response, and prognosis in colorectal cancer: a retrospective, pooled biomarker study. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2016;1(3):207-216. doi: 10.1016/S2468-1253(16)30014-0. Epub 2016 Jul 20. PMID: 28404093.
24. Wang F, Zhao Q, Wang Y, et al. Evaluation of POLE and POLD1 Mutations as Biomarkers for Immunotherapy Outcomes Across Multiple Cancer Types. *JAMA Oncol*. 2019;5(10):1504-1506. doi:10.1001/jamaoncol.2019.2963.
25. Vanderwalde A, Spetzler D, Xiao N, et al. Microsatellite instability status determined by next-generation sequencing and compared with PD-L1 and tumor mutational burden in 11,348 patients. *Cancer Med*. 2018;7:746-756. <https://doi.org/10.1002/cam4.1372>.
26. Rousseau B, Foote MB, Maron SB, et al. The spectrum of benefit from checkpoint blockade in hypermutated tumors. *N Engl J Med*. 2021;384:1168-1170.
27. WCGIC 2023, LBA-4. Available from: [https://agenusbio.com/wp-content/uploads/2023/06/15Jun2023\\_Bullock\\_ESMO-GI-Oral-Presentation\\_FINAL.pdf](https://agenusbio.com/wp-content/uploads/2023/06/15Jun2023_Bullock_ESMO-GI-Oral-Presentation_FINAL.pdf).
28. Morano F, Raimondi A, Pagani F, et al. Temozolomide Followed by Combination With Low-Dose Ipilimumab and Nivolumab in Patients With Microsatellite-Stable, O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase-Silenced Metastatic Colorectal Cancer: The MAYA Trial. *J Clin Oncol*. 2022;40(14):1562-1573. doi: 10.1200/JCO.21.02583. Epub 2022 Mar. 8.