

<sup>1</sup> Федеральное  
государственное  
бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский  
исследовательский  
центр онкологии»

им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России  
(Москва, Россия)

<sup>2</sup> Факультет непрерывного  
медицинского образования  
Российского университета  
дружбы народов  
(Москва, Россия)

<sup>3</sup> Федерального  
государственного  
бюджетного научного  
учреждения  
«Медико-генетический  
научный центр  
им. акад. Н.П. Бочкова»  
(Москва, Россия)

<sup>4</sup> Башкирский университет  
(Уфа, Россия)

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДТИПЫ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ – ПРОГРЕСС ИЛИ ТУПИК?

М.Ю. Федянин<sup>1,2</sup>, Е.О. Игнатова<sup>1,3</sup>, А.А. Трякин<sup>1,4</sup>

### COLORECTAL MOLECULAR SUBTYPES – PROGRESS OR DEADLOCK?

**М.Ю. Федянин<sup>1,2</sup>**

Доктор медицинских наук, старший научный сотрудник онкологического  
отделения лекарственного лечения (химиотерапевтического) № 2  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;  
Доцент кафедры онкологии и гематологии ФНМО РУДН.  
115478, г. Москва, Каширское шоссе 24.  
SPIN-код: 4381-5628.

**Е.О. Игнатова<sup>1,3</sup>**

Кандидат медицинских наук, научный сотрудник онкологического отделения  
лекарственного лечения (химиотерапевтического) № 2  
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;  
доцент кафедры онкогенетики ИВДПО ПГБНУ «МГНЦ».  
SPIN-код: 4381-5628.

**А.А. Трякин<sup>1,4</sup>**

Доктор медицинских наук, заведующий отделением онкологического отделения  
лекарственного лечения (химиотерапевтического) № 2; зам. директора по науке  
НИИ КО ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;  
доцент кафедры онкологии Башкирского университета.  
SPIN-код: 7708-5775.

**М.Ю. Fedyanin<sup>1,2</sup>**

Doctor of Medicine, PhD, Medical oncologist, Department of chemotherapy № 2.  
Russian Cancer Research Center named after N.N. Blokhin,  
115478, Moscow, Kashirskoe sh., 24.  
SPIN-code: 4381-5628.  
<https://orcid.org/0000-0001-5615-7806>

**E.O. Ignatova<sup>1,3</sup>**

Doctor of Medicine, PhD, Medical oncologist, Department of chemotherapy № 2.  
Russian Cancer Research Center named after N.N. Blokhin,  
SPIN-code: 4381-5628.  
<https://orcid.org/0000-0002-8114-7885>.

**A.A. Tryakin<sup>1,4</sup>**

Doctor of Medicine, PhD, Medical oncologist, Department of chemotherapy № 2.  
Russian Cancer Research Center named after N.N. Blokhin.  
SPIN-code: 7708-5775.  
<https://orcid.org/0000-0003-2245-214X>.

Попытки классификации опухолей с целью обоснования различного течения болезни и ответа на терапию претерпели за последние десятилетия значительные изменения и продвинулись от создания прогностических систем на основе клинической и морфологической картины до разделения на молекулярно-генетические подтипы. Последние, основанные на различных омических данных, должны были открыть новую эру в онкологии, разделив опухоли не только по

прогностическому течению, но и позволить индивидуализировать лечение. Однако полученные в клинических исследованиях данные, по крайней мере, при колоректальном раке, показывают противоречивые результаты. Именно критическому анализу применимости молекулярно-генетического субтипирования опухолей толстой кишки в клинической практике и посвящен настоящий обзор.

**Ключевые слова:** рак толстой кишки, молекулярно-генетические подтипы, иммунотерапия, таргетная терапия.

Attempts to classify tumors in order to substantiate the different course of the disease and response to therapy have undergone significant changes over the past decades and have advanced from the creation of prognostic systems based on the clinical and morphological picture to the division into molecular-genetic subtypes. The latter, based on various omics data, should have opened a new era in oncology, dividing tumors not only according to the prognostic course, but also allowing individualized treatment. However, data from clinical trials, at least in colorectal cancer, show conflicting results. This review is devoted to the critical analysis of the applicability of molecular genetic subtyping of colon tumors in clinical practice.

**Keywords:** colorectal cancer, molecular subtypes, immunotherapy, targeted therapy.

## Введение

В 2021 году в стандарты первичной молекулярно-генетической диагностики при метастатическом раке толстой кишки вошли 5 обязательных маркеров: мутационный статус генов *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, экспрессия или амплификация *Her-2/neu*, микросателлитная нестабильность [1, 2]. Первые 4 фактора можно рассматривать как негативные предикторы эффективности анти-EGFR антител. При этом мутация в гене *BRAF* (V600) и экспрессия *Her-2/neu* являются предикторами эффективности ингибиторов *BRAF* (с анти-EGFR антителами +/- ингибиторами MEK) и таргетных препаратов с анти-*Her-2* воздействием соответственно. Наличие микросателлитной нестабильности является предиктором эффективности иммунотерапии. Из редких мутаций предлагается определять транслокации гена *NTRK* 1-3. В то же время даже внутри группы опухолей с диким типом генов *RAS/BRAF* на выбор таргетного препарата в первой линии влияет такой клинический фактор, как локализация первичной опухоли, что говорит о наличии более сложных молекулярно-генетических различий между опухолями [3, 4]. В этой связи продолжается планомерная работа по поиску подгрупп пациентов, выигрывающих от тех или иных таргетных препаратов. В первую очередь, это касается имплементации молекулярной классификации рака толстой кишки в результаты уже проведенных рандомизированных исследований.

## Консенсус по молекулярным подтипам рака толстой кишки

В 2015 году были опубликованы результаты совокупного молекулярно-генетического анализа 4151 опухоли толстой кишки 6 научных групп, которые ранее предлагали различные генетические классификаторы колоректального рака. На основании данной работы был создан консенсус по молекулярно-генетическому (экспрессионному или транскриптомному) субтипированию рака толстой кишки. Было выделено

5 подтипов (CMS1, CMS2, CMS3, CMS4 и неклассифицируемый подтип), которые характеризуются определенными клиническими и молекулярными отличиями (табл. 1) [5].

В иммунном подтипе (CMS1), который описан в 14% наблюдений, преобладали опухоли с гипермутированным фенотипом, микросателлитной нестабильностью, экспрессионными данными по инфильтрации опухоли лимфоцитами и активированными клетками иммунной системы, чаще опухоль локализовалась в слепой кишке, восходящем отделе и печеночном изгибе ободочной кишки. Канонический (CMS2) описан в 37% образцах и характеризовался активностью WNT и MYC сигнальных путей, опухоли преимущественно локализовались в левосторонней части толстой кишки. Для метаболического (CMS3) подтипа, встречающегося в 13% случаев, характерны альтерации в метаболических системах клетки, мутации в гене *KRAS*, низкое число копий генов с мутациями и метильторный фенотип (CIMP); локализация первичной опухоли преобладает в сигмовидной и прямой кишке. В мезенхимальном подтипе (CMS4), встречающемся у 23% опухолей, чаще встречалась активация трансформирующего фактора роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), выраженная стромальная реакция и ангиогенез; аналогичная CMS3 подтипу специфическая локализация первичной опухоли. Однако исследователям не удалось классифицировать практически каждый пятый образец [5].

Изначально консенсусное субтипирование не подразумевало выявления различий в прогнозе течения болезни. Тем не менее, когда исследователи изучили выживаемость пациентов в зависимости от подтипа, то выявили, что при резектабельных стадиях наилучшим прогнозом обладали пациенты с мезенхимальным подтипом, различий же между иммунным, каноническим и метаболическим подтипами не обнаружено (OR 1,69,  $p < 0,001$ ). После прогрессирования ситуация менялась: пациенты с иммунным подтипом

показывали наименьшую выживаемость, наилучшая выживаемость была в группе больных с каноническим подтипом, тогда как пациенты с мезенхимальным и метаболитическим подтипами обладали промежуточным прогнозом течения болезни ( $p < 0,001$ ) [5].

Необходимо учесть, что данная классификация основывалась на экспрессионных данных образцов первичных опухолей и, преимущественно, с локализацией в ободочной кишке и ранних стадиях заболевания, в частности образцов из исследования РЕТАСС-3. Только 15% образцов в исследовании были представлены опухолями прямой кишки, что, по-видимому, обусловлено частым проведением предоперационной терапии в этой группе пациентов, что являлось критерием исключения. Интересно, что при локализации опухоли в прямой кишке только в 0,1% наблюдений определялся CMS1 подтип [6].

Кроме этого, при классификации по CMS подтипам базы экспрессионных данных образцов из метастазов рака толстой кишки в печени [7, 8], можно обнаружить некоторые отличия от распределения подтипов от такового в оригинальном исследовании [5]. Если доля пациентов с CMS2 подтипом в метастазах в печени соответствовала встречаемости данного подтипа при левосторонних опухолях, то подтипы CMS1 и CMS3 были, в большинстве своем, замещены мезенхимальным вариантом (CMS4). Частично это можно объяснить тем, что CMS1 подтип, при котором часто встречается мутация в гене *BRAF*, а также муци-

нозные опухоли, преимущественно метастазируют по брюшине [9, 10]. В другом исследовании CMS4 подтип значительно превалировал в первичных опухолях и их метастазах по брюшине [11]. Также, несмотря на то, что мутация в гене *KRAS* характерна для метаболитического (CMS3) подтипа, только 1 пациент с данной альтерацией (2%) был классифицирован в CMS3 подтип по экспрессионным данным из метастазов в печени. Аналогичные данные по метаболитическому подтипу были получены и в исследовании Ostrup с соавторами [12]. Возможно, такое несоответствие распределению подтипов в образцах метастазов из печени связано с действием иммуносупрессивного действия микроокружения печени (IL-10, TGF- $\beta$ ) [13] и изменению экспрессионных данных под действием химиотерапии. В связи с чем, необходимо продолжение изучения субтипирования в метастазах с различной локализацией.

Следует отметить и отличие в частоте встречаемости подтипов в зависимости от стадии болезни. Так CMS4 подтип чаще встречался при IV стадии – 38,5% против 9,8% при I стадии. Генные сигнатуры внутри CMS4 подтипа значительно коррелировали при III и IV стадиях. Авторы данного исследования подтвердили негативное прогностическое значение для мезенхимального подтипа как среди всех пациентов, так и для II стадии. При последней показатели 5-летней выживаемости без признаков болезни различались более чем в 2 раза (41% против 100%,  $p = 0,008$ ) [14].

Таблица 1.

**Характеристика подтипов рака толстой кишки.**

Подтип	%	Клинические характеристики	Молекулярные характеристики
CMS1	13	Женский пол Старший возраст Правая половина толстой кишки	Микросателлитная нестабильность Мутация в гене <i>BRAF</i> Активация генов иммунного ответа Большое число мутаций
CMS2	35	Левая половина толстой кишки	Эпителиальный тип Микросателлитная стабильность Мутация в гене TP53 Активация сигнального пути WNT/MYC Высокая хромосомная нестабильность
CMS3	11		Эпителиальный тип Гетерогенность по микросателлитной и хромосомной нестабильности Мутация в гене <i>KRAS</i> Гиперэкспрессия IGF1R
CMS4	20	Молодой возраст Стадия III-IV	Мезенхимальный тип Хромосомная и микросателлитная нестабильность Активация TGF $\beta$ /VEGF Гиперэкспрессия NOTCH3
Неклассифицируемые опухоли	21		Иммунная и стромальная инфильтрация Различная эпителиально-мезенхимальная активация

Возможно, это определяется более частым наличием при ранних стадиях признаков tumor budding именно при мезенхимальном подтипе [15]. При этом отмечено, что в таких клеточных отсевах чаще экспрессируются гены эпителиально-мезенхимального перехода и транскриптомно эти клетки относятся к CMS4 подтипу, тогда как основная опухолевая масса может быть представлена каноническим (CMS2) подтипом [16]. В другой работе при II стадии, наряду с CMS4, негативное прогностическое значение имел и метаболический (CMS3) подтип [17].

Интересно, что аденомы толстой кишки также можно разделить по подтипам, характерным для колоректального рака. Однако частота распределения подтипов различна: при аденомах превалирует метаболический подтип (73%), реже встречаются канонический (13%) и иммунный подтипы (2%), не описано ни одного случая с мезенхимальным подтипом. При этом, риск малигнизации был повышен при CMS1 и CMS2 подтипах [18]. В другой работе, как при спорадических, так и ассоциированных с наследственными синдромами, аденомах чаще встречался канонический и иммунный подтипы (69,5% и 21,9%, и 52,6% и 38,5% соответственно), реже – метаболический и мезенхимальный подтипы (5,1% и 1,6%, и 2,6% и 6,4%, соответственно) [19].

### Роль субтипирования в предсказании эффективности системной противоопухолевой терапии

Следующим этапом стала попытка применения субтипирования опухолей как предиктора эффективности таргетных и химиопрепаратов. Так, в клиническом исследовании FIRE3, где проводилось сравнение комбинаций FOLFIRI+цетуксимаб и FOLFIRI+бевацизумаб в первой линии терапии больных метастатическим раком толстой кишки с диким типом гена *KRAS*, классифицировать по CMS подтипам удалось 438 из 514 пациентов. При этом частота встречаемости подтипов при диком типе гена *KRAS* составила: CMS1 – 14%, CMS2 – 37%, CMS3 – 15%, CMS4 – 34%. Распределение по подтипам при диком типе генов *RAS* значимо не отличалось: 12%, 41%, 11% и 34%, соответственно. При сравнении распределения подтипов в зависимости от локализации первичной опухоли (справа или слева), различия для CMS1 подтипа составили – 27% против 11%, для CMS2 – 28% против 45%, для CMS3 подтипа – 10% против 12% и для CMS4 подтипа – 35% против 32%. Прогностические различия между подтипами соответствовали первоначальной работе Guinney с соавторами. В группе дикого типа генов *RAS* значимый выигрыш в общей выживаемости в пользу цетуксимаба отмечался только в группе мезенхимального подтипа (CMS4) – ОР 0,57 (95% ДИ 0,38–0,86),  $p=0,008$ ; некоторая аналогичная тенденция отмечалась и в группе метаболического (CMS3) подтипа – ОР=0,57, 95% ДИ 0,27–1,23,  $p=0,15$ . В то же время

основным критерием эффективности в исследовании FIRE3 была частота объективных эффектов. По этому показателю численно цетуксимаб был эффективнее во всех подгруппах, но статистически значимо превалировал над комбинацией с бевацизумабом только в CMS2 и CMS4 подтипах: 74% против 42% ( $p=0,043$ ) и 76% против 55% ( $p=0,049$ ) [21].

В исследовании CALGB/SWOG 80405 аналогичного дизайна, но с различными режимами химиотерапии (73% пациентам проводилась терапия режимом FOLFOX, 27% – FOLFIRI) различий в общей выживаемости между сравниваемыми комбинациями с таргетными препаратами получено не было. В отличие от исследования FIRE3 только у половины ( $n=581$ ) пациентов удалось классифицировать опухоль по подтипам. По результатам анализа распределение по подтипам произошло следующим образом: CMS1 – 17,9%, CMS2 – 41,65%, CMS3 – 11,7%, CMS4 – 28,74%. При сравнительном анализе частоты встречаемости подтипов в зависимости от локализации первичной опухоли (правосторонней или левосторонней) различия для CMS1 подтипа составили – 37,34% против 9,01%, для CMS2 – 23,42% против 48,26%, для CMS3 подтипа – 11,39% против 12,5% и для CMS4 подтипа – 27,85% против 30,24%, что не значимо отличалось от аналогичного распределения в исследовании FIRE3. Прогностические различия между подтипами также соответствовали первоначальной работе Guinney с соавторами. Однако более выраженными были различия между метаболическим и мезенхимальным подтипами в пользу последнего. В отличие от результатов исследования FIRE3, улучшение общей выживаемости, но не выживаемости без прогрессирования, на комбинациях с цетуксимабом отмечено при подтипе CMS2 (ОР 0,62, 95% ДИ 0,45–0,86,  $p=0,0046$ ). В то же время комбинации с анти-EGFR антителом проигрывали режимам с бевацизумабом при CMS1 подтипе в отношении общей выживаемости (ОР 2,34, 95% ДИ 1,48–3,7,  $p<0,001$ ) и выживаемости без прогрессирования (ОР 2,28, 95% ДИ 1,47–3,55,  $p<0,001$ ). В этом иммунном подтипе исследователи отметили, что в основном такой выигрыш схем с бевацизумабом отмечается в подгруппе опухолей с высокой микросателлитной нестабильностью (ОР 0,42,  $p=0,0091$  для общей выживаемости и ОР 0,46,  $p=0,0109$ , – для выживаемости без прогрессирования). В случае микросателлитной стабильности при CMS1 подтипе различий между цетуксимабом и бевацизумабом получено не было [22]. Исследователи частично связывают данные находки с микроокружением опухоли и, в частности, с наличием опухолево-ассоциированных макрофагов и их M1/M2 поляризацией [23], а также с иммуномодулирующим эффектом бевацизумаба. В последнем случае подавление ангиогенеза и нормализация сосудистого русла в опухоли способствует инфильтрации опухолью Т-лимфоцитами и их активации [24].

Выдвигаются несколько основных причин различий в результатах приведенных исследований (FIRE3 и CALGB/SWOG 80405). Первое, это различия в химиотерапевтической составляющей режима терапии – в FIRE3 всем пациентам приводилась терапия по схеме FOLFIRI, тогда как в исследовании CALGB/SWOG 80405 – у 73% пациентов назначалась схема FOLFOX.

Ранее в рандомизированном исследовании III фазы NSABP C-07, в котором изучалась эффективность добавления оксалиплатина к лейковорину и фторурацилу при II-III стадии рака толстой кишки в адъювантном режиме, также ретроспективно проведено субтипирование 67,6% опухолей в соответствии с CMS классификацией. Значимый выигрыш от добавления оксалиплатина наблюдался именно при CMS2 (каноническом) подтипе (ОР 0,61, 95% ДИ 0,43–0,87,  $p=0,006$ ) и то не во всей подгруппе, а только у пациентов с энтероцитным вариантом экспрессионных данных (CMS2-enterocyte: ОР 0,2, 95% ДИ 0,07–0,59,  $p=0,003$ ) [25]. Во всех остальных подгруппах выигрыша от добавления оксалиплатина к лейковорину и фторурацилу получено не было. Эти находки несколько подтверждают результаты субтипирования в исследовании CALGB/SWOG 80405 (выигрыш от добавления цетуксимаба к схемам с оксалиплатином в каноническом CMS2 подтипе). Хотя для чистоты эксперимента необходима была группа пациентов с цетуксимабом, лейковорином и фторурацилом (без оксалиплатина). В тоже время рядом исследовательских групп показано, что анти-EGFR антитела эффективны не во всем CMS2 подтипе, а только у его Transit-Amplifying (TA) подгруппе [7, 26] или при смешанных опухолях с наличием TA-субклонов [27].

В ретроспективном исследовании из Японии оказалось, что применение иринотекан-содержащих схем в первой линии было эффективнее оксалиплатин-содержащих режимов при мезенхимальном подтипе как в отношении выживаемости без прогрессирования (ОР 0,31, 95% ДИ 0,13–0,64), так и общей выживаемости (ОР 0,45, 95% ДИ 0,19–0,99). Анти-EGFR антитела показали свою эффективность при каноническом подтипе (ВВП: ОР 0,67, 95% ДИ 0,44–1,01; ОВ: ОР 0,49, 95% ДИ 0,27–0,87), но не при иммунном подтипе (ВВП: ОР 2,5, 95% ДИ 1,31–4,39; ОВ: 4,23, 95% ДИ 1,83–9,04) [28].

В исследовании III фазы PETACC-8, в котором добавление цетуксимаба к режиму FOLFOX в адъювантном назначении при III стадии болезни было не эффективным, субтипирование в соответствии с CMS классификацией выявило у 17% опухолей CMS1, 34% – CMS2, 4% – CMS3 и 45% – CMS4 подтипы. Подтвердив неблагоприятный прогноз CMS4 подтипа (ОР 1,7,  $p=0,021$ ), авторы выявили, что в подгруппе CMS1 подтипа добавление цетуксимаба ухудшило выживаемость пациентов ( $p=0,037$ ) [34]. Возможным объяснением таких результатов может быть обогащение фибробластами опухолей CMS1 подтипа, что за

счет секреции фибробластами интерлейкина-16а и TGF- $\beta$  снижает активность цетуксимаба [35]. Такие результаты могут говорить в пользу того, что цетуксимаб в подтипе CMS1 исследования CALGB/SWOG 80405, возможно, компрометировал эффект химиотерапии. С другой стороны, CMS1 подтип преимущество наблюдается в опухолях правосторонней локализации, где также часто встречается мутация в гене *BRAF* [3]. Добавление же антиангиогенных препаратов в первой или второй линии терапии при данной альтерации значительно увеличивает выживаемость пациентов [36].

Также опубликованы результаты субтипирования в соответствии с CMS классификацией образцов из исследования AGITG MAX, в котором проводилось сравнение эффективности терапии первой линии режимами капецитабина, капецитабина с бевацизумабом и капецитабина с бевацизумабом и митомицином С. Распределение подтипов среди всех пациентов значительно не отличалось от других работ и составило 18% для CMS1, 47% для CMS2, 12% для CMS3 и 23% для CMS4 подтипа. Прогностическое значение подтипов также соответствовало оригинальной работе Guinney с соавторами. Исследователи выявили, что добавление бевацизумаба к химиотерапии значительно увеличивало выживаемость без прогрессирования при CMS 1 (ОР 0,83, 95% ДИ 0,43–1,62), CMS2 (ОР 0,5, 95% ДИ 0,33–0,76), CMS3 (0,31, 95% ДИ 0,13–0,75), но не CMS4 подтипе (ОР 1,24, 95% ДИ 0,68–2,25) [29].

Принимая во внимание эти результаты, можно прийти к вероятному выводу, что, как и в исследовании FIRE3, преимущество цетуксимаба над бевацизумабом было отражением, прежде всего, неэффективности последнего при мезенхимальном подтипе. Это подтверждается и тем, что в CMS4 подтипе хоть и превалирует ангиогенез, но это реализуется, в первую очередь, не за счет VEGF-опосредованного пути, а посредством, вероятно, TGF- $\beta$  сигнального пути. Такой вариант поддержания ангиогенеза, проявляющийся кооптацией сосудов и васкулярной мимикрией, происходит за счет превалирования в опухоли мезенхимального компонента [4, 30, 31], что объясняет неэффективность бевацизумаба [32, 33].

При химиорезрактерных опухолях ситуация несколько иная. Так, субтипирование в исследовании III фазы CORRECT (сравнение регорафениба и плацебо в поздних линиях терапии) удалось распределить по подтипам только 37% пациентов. В 50% выявлен CMS2, в 30% – CMS4, в 9% – CMS1 и в 11% – CMS3 подтип. Такое изменение распределения можно объяснить тем, что до 3 и последующих линий лечения доходят пациенты с более прогностически благоприятными подтипами. К примеру, в исследовании CORRECT только у 2% пациентов выявлялась мутация в гене *BRAF*. Кроме этого, проведение химиотерапии может изменять экспрессионные данные в опухоли и миграцию фенотипа ближе к мезенхимально-подобному подтипу [37]. Преимущество регорафениба

(тирозинкиназного ингибитора с преимущественно анти-VEGFR действием) в отношении выживаемости без прогрессирования отмечено при CMS2 (ОР 0,571, 95% ДИ 0,387–0,842), CMS3 (ОР 0,287, 95% ДИ 0,112–0,737) и CMS4 подтипах (ОР 0,483, 95% ДИ 0,286–0,814), но не при CMS1 подтипе (ОР 0,85, 95% ДИ 0,321–2,252). По-видимому, небольшое количество больных не позволило выявить выигрыш от регорафениба в сравнении с плацебо в отношении общей выживаемости ни при одном из подтипов. Однако численно выраженное снижение относительного риска смерти было достигнуто в подгруппах CMS4 (ОР 0,672, 95% ДИ 0,358–1,261) и CMS2 подтипов (ОР 0,779, 5% ДИ 0,486–1,249) [38].

### Гетерогенность подтипов рака толстой кишки

Еще одним объяснением несоответствия результатов исследований FIRE3 и CALGB/SWOG 80405 является невозможность исключения гетерогенности подтипов у каждого конкретного пациента и возможность изменения экспрессии генов в процессе прогрессирования на той или иной схеме с формированием доминирования определенного подтипа. Известно, что при прогрессировании на оксалиплатине увеличивается экспрессия генов эпителиально-мезенхимального перехода, что также ассоциировано и с активностью фибробластов в опухоли. Данные изменения определяют резистентность к анти-EGFR воздействию, о чем говорилось выше, что, возможно, объясняет снижение эффективности цетуксимаба во второй линии после прогрессирования на FOLFOX с бевацизумабом [39].

Гетерогенность подтипов была изучена несколькими группами. Так, Piskol с соавторами при изучении 182 образцов первичной опухоли и 130 метастазов обнаружили совпадение по распределению CMS2 и CMS4 подтипов, но в метастазах несколько чаще встречался CMS1 подтип (16,9% против 9,34%) и реже CMS3 подтип (<1% против 11% в первичных опухолях). При этом для CMS1 подтипа были более характерны локализации метастазов в печени и легких, для CMS4 подтипа – альтернативные локализации, что возможно, указывает на некоторый тропизм отдельных подтипов к метастазированию в определенные органы. В то же время экспрессионные данные для CMS2 и CMS4 подтипов были довольно консервативны между первичной опухолью и метастазами. Конкордантность по CMS подтипам между первичной опухолью и метастазами составила всего 60%, в первую очередь, за счет перехода CMS2 и CMS4 подтипа и изменению экспрессий генов эпителиально-мезенхимального перехода, что говорит о невозможности ориентироваться по подтипам при метастатической болезни на результаты анализа первичной опухоли. Исследователи обнаружили дрейф и селекцию клонов, при этом в случаях дискордантности, сложности к идентификации под-

типа встречались чаще. Тем не менее, авторы пришли к выводу, что присущие конкретной опухоли особенности, включая экспрессию опухоли-специфических генов, не изменялись в процессе прогрессирования заболевания, но изменялось микроокружение, что и могло привести к дефектам точности классификации по CMS подтипам [40]. Справедливости ради следует сказать, что Piskol с соавторами применяли упрощенный вариант генетического анализа, результаты которого совпадали с классическим классификатором, разработанным Guinney с соавторами в 85% случаях. Для анализа использовался материал парафиновых блоков, в отличие от оригинального исследования, в котором изучался свежемороженый материал.

Еще в одной работе при анализе 51 пары образцов первичной опухоли и метастазов в печени, несмотря на высокую конкордантность по мутации в гене *BRAF* и статусу микросателлитной нестабильности (90,2% и 98% соответственно), изменения CMS подтипа наблюдались в 39,2%, преимущественно в рамках мезенхимального фенотипа. При этом не выявлено отличий по содержанию стромального компонента между первичными опухолями и метастазами, также как и корреляцией между степенью выраженности стромального компонента и CMS подтипом. Интересно, что изменение экспрессионного фенотипа в метастазах не было ассоциировано с ухудшением прогноза течения болезни [41].

В исследовании Dunne с соавторами провели более глубокий анализ, изучив экспрессионные данные в различных участках первичной опухоли. В частности, при сравнении центральной части и инвазивного фронта опухоли конкордантность по CMS подтипам составила всего 38%; между центральной частью и метастазом в лимфоузле – 29%; между фронтом инвазии и метастазом в лимфоузле – 21%; а если сравнивать все три зоны – 17%. В первую очередь это происходило за счет более высокой вероятности приобретения опухолью CMS4 фенотипа в зоне инвазии и метастазирования. При этом в центральной зоне опухоли преобладали CMS2 и CMS3 подтипы. Как и в предыдущей работе, только в 46% образцов были однозначно классифицированы в соответствии с CMS подтипом. Также авторы отметили, что окружающая строма опухоли значимо влияет на экспрессионные данные, и, следовательно, отнесение образца к тому или иному подтипу. Особенно это актуально становится при изучении транскрипционных факторов по небольшому образцу биопсийного материала [42].

В 2018 году Laurent-Puig с соавторами представили более расширенные данные по субтипированию образцов опухоли пациентов, принимавших участие в исследовании PETACC8, о котором шла речь выше. Авторы отметили, что однозначно классифицировать подтип удалось только в 42,6%, тогда как у 57,4% опухоль трактовалась как смешанная по подтипам CMS, содержащая как минимум до 20% двух подгрупп. Если

разделить смешанные подгруппы по сочетанию наибольшего и наименьшего компонента у исследователей получилось сформировать 16 вариантов опухолей с частотой встречаемости от 2,1 до 18,3%. Интересно, что чистый метаболический (CMS3) подтип включал только опухоли с мутацией в гене *KRAS*. Наихудший прогноз в отношении выживаемости без признаков болезни был характерен для смешанных опухолей в сочетании с CMS4 подтипом даже с учетом клинических факторов [44].

Если мы говорим о смешанных подтипах (при использовании CRCR классификатора), то по результатам субтипирования образцов опухолей исследования TRIBE2 (сравнение последовательного назначения схемы FOLFOXIRI с бевацизумабом в первой и во второй линии лечения и последовательного назначения режимов FOLFOX с бевацизумабом в первой линии и FOLFIRI с бевацизумабом во второй), именно в группе смешанных опухолей оказался эффективным подход назначения более интенсивного лечения – режима FOLFOXIRI с бевацизумабом как в отношении выживаемости без прогрессирования (ОР 0,44, 95% ДИ 0,24–0,78,  $p=0,002$ ), так и общей выживаемости (ОР 0,39, 95% ДИ 0,21–0,74,  $p=0,003$ ). Субтипирование же по CMS подтипам в данном исследовании не выявило подтипов, в которых бы был эффективен режим FOLFOXIRI [45].

Кроме дискордантности в субтипировании первичной опухоли и метастазов, отмечены различия и в частоте встречаемости CMS подтипов в различных странах. Так, в Мексике и США чаще встречается CMS4 подтип (48,6% и 44,9%, соответственно) в сравнении с Бразилией (14%). С другой стороны, в Бразилии и Таиланде чаще описан CMS2 подтип (47,3% и 40,5% соответственно) в сравнении с Мексикой (14%). Иммунный подтип чаще встречается в Мексике (29,7%), но редко встречается в Бразилии (8,2%). Метаболический подтип – редкость в Таиланде (2,7%), но не в Бразилии (19%) [43].

Еще одним объяснением различий в результатах эффективности таргетных и химиопрепаратов в зависимости от CMS субтипирования является использование различных молекулярных платформ для проведения анализа [6]. Однако современные платформы позволяют даже на материале из парафиновых блоков проводить экспрессионное субтипирование на основе транскриптомного анализа всего 40 генов с точностью 0,88–0,9 в сравнении с классической системной CMS [46]. Так, Fessler с соавторами с помощью только экспрессии одной miRNA-200 выделял CMS4 подтип [47]. Trif с соавторами на основе иммуногистохимического определения экспрессии белков 5 генов (*CDX2*, *FRMD6*, *HTR2B*, *ZEB1* и *KER*), а также информации о статусе микросателлитной нестабильности, субтипировал образцы рака толстой кишки, показав 87% конкордантность с классической классификацией CMS. Однако удовлетворительно отделив CMS4 от

CMS2/3 подтипов, исследователи не могли разделить CMS2 и CMS3 варианты [48]. Тем не менее, используя иммуногистохимическую панель для белков *CDX2*, *HTR2B*, *FRMD6* *ZEB1* при II стадии рака толстой кишки авторы выявили, что адьювантная химиотерапия, наряду с левосторонней локализацией опухоли и изучением более 12 лимфоузлов, была эффективна только в объединенной группе CMS2/3 подтипов (ОР 0,445, 95% ДИ 0,227–0,875). При правосторонней локализации опухоли эффекта от адьювантной терапии не наблюдалось вне зависимости от молекулярного подтипа [49].

### Иммунологические аспекты субтипирования

Galon с соавторами еще в 2006 году создали систему иммунологического субтипирования рака толстой кишки [50–52]. Авторы обнаружили, что высокая инфильтрация опухоли цитотоксическими лимфоцитами и Т-хелперами-1 с IFN $\gamma$ -преобладающим профилем позитивно коррелирует с безрецидивной и общей выживаемостью. С другой стороны, инфильтрация опухоли Т-хелперами-17 лимфоцитами с IL-17-преобладающим фенотипом, ассоциирована с низкой выживаемостью [50]. Полученные находки легли в основу создания прогностической системы Immunoscope, которая, оценивая степень выраженности инфильтрации центра и инвазивного края опухоли CD8-Т лимфоцитами и CD45RO Т-клетками памяти, позволяет предсказать риск прогрессирования при ранних стадиях колоректального рака независимо от других клинических прогностических данных и статуса микросателлитной нестабильности [53, 54]. В дальнейшем исследователи показали, что в процессе прогрессирования заболевания степень инфильтрации Т-лимфоцитами опухоли снижается, но возрастает инфильтрация В-клетками и Т-хелперами. Наличие последних определяет более высокие показатели выживаемости без прогрессирования при поздних стадиях [52], а инфильтрация CD4+ Т-регуляторными лимфоцитами, которые экспрессируют транскрипционный фактор FOXP3, подавляя иммунный ответ противоопухолевых клеток, ухудшает прогноз [55]. Интересно, что по результатам ретроспективного анализа проведение адьювантной химиотерапии было эффективно при II–III стадии только при CMS3 подтипе, а точнее, при его подварианте CRIS-C. Именно данный подтип характеризовался низким уровнем инфильтрации опухоли CD8+ Т-лимфоцитами, при котором хуже прогноз болезни [56].

Продолжая тему влияния микроокружения на эффективность терапии и формирования тех или иных транскриптомных подтипов рака толстой кишки, Veht с соавторами создали SMP-алгоритм, позволяющий по экспрессионным данным определять степень инфильтрации опухолевого образца различными клетками микроокружения (фибробла-

стами, макрофагами, эндотелиоцитами, различными подгруппами лимфоцитов и т.д.). Данный подход был валидирован подсчетом клеточного состава образца иммуногистохимически. Полученные результаты авторы соотнесли с различными подтипами рака толстой кишки в соответствии CMS классификацией. Исследователи выявили, что при иммунном (CMS1) и мезенхимальном (CMS4) подтипах отмечена более выраженная инфильтрация CD8 T-лимфоцитами и CD68 макрофагами в сравнении с каноническим (CMS2) и метаболическим (CMS3) подтипами. При мезенхимальном (CMS4) подтипе авторы подтвердили высокую плотность опухолево-ассоциированных фибробластов, миелоидных клеток, эндотелиоцитов, что подтверждается экспрессией миелоидных хемокинов (CCL2), компонентов системы комплемента, проангиогенных факторов (VEGFA, VEGFB, PDGFC), а также молекул иммуносупрессии (TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 3, PDGFC). При CMS1 подтипе отмечена высокая экспрессия хемоаттрактантов к T-лимфоцитам (CXCL9, CXCL10 и CXCL16) или молекул, участвующих в формировании третичных лимфоидных структур (CXCL13), повышенная экспрессия INF $\gamma$  и IL15, высокая экспрессия генов, кодирующих PD-1 лиганды. Интересно, что последние также выявлены и при мезенхимальном подтипе. При каноническом (CMS2) подтипе снижена презентация белков главного комплекса гистосовместимости I класса, низкая инфильтрация опухоли лимфоцитами [57]. Такое подавление антигенпрезентирующей функции, как ни странно, в опухоли может встречаться и у части пациентов с CMS1 подтипом [58]. В тоже время, опухоли с микросателлитной нестабильностью также могут встречаться при разных подтипах, однако, если они ассоциированы с CMS1 подтипом, то они обладают более высокой иммуногенностью, за счет большого количества неоантигенов [59].

Если между количеством фибробластов, миелоидных и эндотелиальных клеток (в соответствии с SMP-алгоритмом) отмечена сильная позитивная корреляция, то между наличием фибробластов и цитотоксических клеток такой корреляции не обнаружено. Такие находки подтолкнули авторов к выводу, что фибробласты в мезенхимальных подтипах способствуют ангиогенезу, рекрутменту провоспалительных клеток и формированию иммуносупрессивного фенотипа [60].

Проведение химиотерапии также может менять состав микроокружения и, это является еще одним механизмом изменения экспрессионных характеристик самой опухоли. Причем разные препараты действуют по-разному. Так, при применении режима FOLFOX отмечалось уменьшение в опухоли миелоидных клеток супрессоров (MDSC), обладающих иммуносупрессивной функцией. При применении же комбинаций с включением иринотекана, наоборот, увеличивался уровень данного подтипа клеток микроокружения

[61]. Лучевая терапия может повышать экспрессию белков главного комплекса гистосовместимости I и II типов, CD80, лигандов стресса и рецепторов смерти на поверхности опухолевых клеток, а также способствовать высвобождению иммуно-активирующих хемокинов, цитокинов и экзосом, которые приводят к рекрутменту дендритных клеток в облученную опухоль [62, 63].

### Терапевтические предпосылки

Разработанные подходы – объединение данных по экспрессионному подтипу опухоли с характеристикой микроокружения – позволяют предполагать, какие терапевтические опции следует изучать. В частности, при мезенхимальном подтипе – комбинацию антиангиогенных препаратов с ингибиторами иммунных чекпойнтов или с ингибиторами белков, участвующих во взаимодействии клеток с компонентами экстрацеллюлярного матрикса.

К сожалению, попытки применения комбинации ингибиторов иммунных контрольных точек и бевацизумаба не были эффективными при метастатическом раке толстой кишки без дефицита системы репарации неспаренных оснований [64]. Аналогично, что и бевацизумаб не работал при CMS4 подтипе, хотя в последнем выражена экспрессия проангиогенных факторов и в соответствии с CML-алгоритмом выявляются эндотелиальные клетки. Возможно, это связано с тем, что в данном подтипе, как говорилось выше, экспрессирован TGF- $\beta$ , который индуцирует альтернативные пути поддержания ангиогенеза, что также подтверждается тем, что опухоли толстой кишки резистентные к бевацизумабу, зачастую имеют повышенную экспрессию TGF- $\beta$  [65]. Такие находки предполагают необходимость применения при CMS4 подтипе ингибиторов TGF- $\beta$  и ингибиторов иммунных контрольных точек. Хотя данный подход показал скромные результаты в терапии рака поджелудочной железы – опухолях с выраженным мезенхимальным компонентом [66].

При метаболическом (CMS3) и каноническом (CMS2) подтипах инфильтрация лимфоцитами опухоли низкая, экспрессия компонентов главного комплекса гистосовместимости I типа также снижена, что определяет неудовлетворительную антиген-презентирующую функцию. В такой ситуации возможно думать об искусственном насыщении опухоли лимфоцитами. Например, применяя биспецифические антитела к антигенам опухоли и лимфоцитам – cibisatamab [67]. Последний в комбинации с атезолизумабом в I фазе исследования среди больных метастатическим химиорезистентным раком и повышенным РЭА продемонстрировал 60% метаболических ответов по данным ПЭТ/КТ [68]. Однако, учитывая гетерогенность и динамичность экспрессии РЭА опухолевыми клетками рака толстой кишки, данный подход может себя и не оправдать [69].



В клетках, экспрессирующих РЭА, также как и при каноническом (CMS2) подтипе, выражена активность WNT/ $\beta$ -катенинового сигнального пути. Это ставит вопрос о возможности изучения активности ингибиторов данного сигнального пути в соответствующем подтипе опухоли. Надежду связывали с применением таких ингибиторов, как ВВ1608 (напабуказин) и CGX1321 в сочетании с пембролизумабом. Если по второй молекуле исследования еще продолжаются, то по первой уже проведен анализ эффективности данной комбинации во II фазе в соответствии с подтипами рака толстой кишки. В группе больных с химиорефрактерными опухолями частота объективных эффектов в подгруппе с микросателлитной нестабильностью составила 50%, в группе с отсутствием нарушений в системе репарации неспаренных оснований – 10%. Во второй группе объективный эффект зарегистрирован: при CMS1 подтипе у 1 из 3 пациентов, при CMS2 подтипе – ни у кого из 6 пациентов, при CMS3 подтипе – у 1 (с мутацией в гене POLE) из 4, а при CMS4 подтипе – у 2 из 6 больных. Таким образом, предположение, что ингибиторы WNT с ингибиторами иммунных контрольных точек будут эффективны при каноническом и метаболическом подтипах не оправдались. В тоже время, наличие эффектов в группе CMS4 подтипа видится обнадеживающим [70].

На клеточных линиях также было показано, что опухоли с CMS1 и CMS4 подтипов чувствительны к действию ингибиторов белков теплового шока (HSP90), а CMS2 подтип – к ингибиторам EGFR и Her-2. На ксенографтных моделях мезенхимального подтипа добавление ингибитора HSP90 (luminespib) улучшало эффективность 5-фторурацила [71]. Однако результаты по применению данного ингибитора у пациентов с химиорефрактерным раком толстой кишки не были успешными, препарат не продемонстрировал ни одного случая объективного эффекта [72]. В комбинации с капецитабином luminespib в рамках I фазы позволил достичь 4 объективных эффекта у 28 пациентов с различными солидными опухолями.

Длительность эффекта составила от 26 до 36 недель, при этом 2 пациентам ранее уже проводилась терапия фторпиримидинами [73].

Такое несоответствие ожиданий и результатов исследований, возможно, объясняется гетерогенностью иммунологических вариантов опухоли в отдельных CMS подтипах. Так, в исследовании Soldevilla с соавторами изучили инфильтрацию различных подтипов лимфоцитов и экспрессионные данные опухолей толстой кишки. Удалось выделить 5 иммунологических подтипов, но преимущественно встречались только два: C1 (с фенотипом «заживления раны» – 77%) и C2 («IFN- $\gamma$  преобладающий фенотип – 17%). При C1 подтипе отмечалась высокая активность метаболических сигнальных путей. Для C2 подтипа была характерна высокая плотность CD8 и активированных CD4 лимфоцитов, фолликулярных Т хелперов и регуляторных Т клеток, нейтрофилов и высокое отношение M1/M2 вариантов макрофагов. Отмечена значимая гетерогенность иммунных фенотипов. При CMS1 подтипе вариант C2 встречался в 53% наблюдений, а C1 46%; при CMS2 в 8% описан C2 вариант, C1 – в 91%. При этом прогностическое влияние на показатели выживаемости были более выражены при разделении пациентов по иммунным фенотипам, в сравнении с классификацией CMS [74].

## Заключение

На сегодняшний день не удалось показать клиническое значение субтипирования рака толстой кишки. Однако применение классификации по CMS подтипам может оказаться полезным в качестве биологической основы по поиску новых мишеней. Хочется верить, что такой подход по отбору пациентов на терапию тем или иным таргетным препаратом позволит в будущем заменить используемое сейчас деление пациентов по локализации первичной опухоли в правой и левой половине толстой кишки. Это будет некоторым переходным этапом к настоящей персонализированной терапии.

## Список литературы

1. Федянин М.Ю., Гладков О.А., Гордеев С.С., Рыков И.В., Трякин А.А. и соавт. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака ободочной кишки и ректосигмоидного соединения // Злокачественные опухоли. Практические рекомендации RUSSCO. – 2020. – № 3. – s2 (том 10). 22.
2. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Colon cancer. Version 2.2021 [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/colon.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf).
3. Loree J.M., Pereira A.A.L, Lam M., et al. Classifying colorectal cancer by tumor location rather than sidedness highlights a continuum in mutation profiles and consensus molecular subtypes // Clin Cancer Res. – 2018. – Vol. 24. – P. 1062-72.
4. Dienstmann R., Salazar R., Tabernero J. Molecular subtypes and the evolution on of treatment decisions in metastatic colorectal cancer // Am Soc Clin Oncol Educ Book. – 2018. – Vol. 38. – P. 231-8.
5. Guinney J., Dienstmann R., Wang X., et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer // Nat Med. – 2015 Nov. – Vol. 21, № 11 – P. 1350-6.
6. Fontana E., Eason K., Cervantes A., et al. Context matters-consensus molecular subtypes of colorectal cancer as biomarkers for clinical trials // Ann Oncol. – 2019 Apr 1. – Vol. 30, № 4. – P. 520-527.

7. *Sadanandam A., Lyssiotis C.A., Homicsko K., et al.* A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy // *Nat Med.* – 2013. – Vol. 19, № 5. – P. 619.
8. *Kbambata-Ford S., Garrett C.R., Meropol N.J., et al.* Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab // *J Clin Oncol.* – 2007. – Vol. 25, № 22. – P. 3230–3237.
9. *Tran B., Kopetz S., Tie J., et al.* Impact of BRAF mutation and microsatellite instability on the pattern of metastatic spread and prognosis in metastatic colorectal cancer // *Cancer.* – 2011. – Vol. 117, № 20. – P. 4623–4632.
10. *Hugen N., Van de Velde C.J., De Wilt J.H., Nagtegaal I.D.* Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype // *Ann Oncol.* – 2014. – Vol. 25, № 3. – P. 651–657.
11. *Ubink I., van Eden W.J., Snaebjornsson P., et al.* Histopathological and molecular classification of colorectal cancer and corresponding peritoneal metastases // *Br J Surg.* – 2018 Jan. – Vol. 105, № 2. – P. e204–e211.
12. *Østrup O., Dagenborg V.J., Rødland E.A., et al.* Molecular signatures reflecting microenvironmental metabolism and chemotherapy-induced immunogenic cell death in colorectal liver metastases // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, № 44. – P. 76290.
13. *Robinson M.W., Harmon C., O'Farrelly C.* Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis // *Cell Mol Immunol.* – 2016. – Vol. 13, № 3. – P. 267.
14. *Coebergh van den Braak R.R.J., Ten Hoorn S., Sieuwerts A.M., et al.* Interconnectivity between molecular subtypes and tumor stage in colorectal cancer // *BMC Cancer.* – 2020 Sep 4. – Vol. 20, № 1. – P. 850.
15. *Trinh A., Ladrach C., Dawson H.E., et al.* Tumour budding is associated with the mesenchymal colon cancer subtype and RAS/RAF mutations: a study of 1320 colorectal cancers with Consensus Molecular Subgroup (CMS) data // *Br J Cancer.* – 2018 Nov. – Vol. 119, № 1). – P. 1244–1251.
16. *De Smedt L., Palmans S., Andel D., et al.* Expression profiling of budding cells in colorectal cancer reveals an EMT-like phenotype and molecular subtype switching // *Br J Cancer.* – 2017 Jan 3. – Vol. 116, № 1. – P. 58–65.
17. *Purcell R.V., Schmeier S., Lau Y.C., et al.* Molecular subtyping improves prognostication of Stage 2 colorectal cancer // *BMC Cancer.* – 2019, № 19. – Article number: 1155.
18. *Komor M.A., Bosch L.J., Bounova G., et al.* Consensus molecular subtype classification of colorectal adenomas // *J Pathol.* – 2018 Nov. – Vol. 246, № 3. – P. 266–276.
19. *Chang K., Willis J.A., Reumers J., et al.* Colorectal premalignancy is associated with consensus molecular subtypes 1 and 2 // *Ann Oncol.* – 2018 Oct 1. – Vol. 29, № 10. – P. 2061–2067.
20. *Sveen A., Bruun J., Eide P.W., et al.* Colorectal cancer consensus molecular subtypes translated to preclinical models uncover potentially targetable cancer cell dependencies // *Clin Cancer Res.* – 2018. – Vol. 24. – P. 794–806.
21. *Stintzing S., Wirapati P., Lenz H.-J., et al.* Consensus molecular subgroups (CMS) of colorectal cancer (CRC) and first-line efficacy of FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab in the FIRE3 (AIO KKR-0306) trial // *Ann Oncol.* – 2019 Nov 1. – Vol. 30, № 11. – P. 1796–1803.
22. *Lenz H.J., Ou F.S., Venook A.P., et al.* Impact of consensus molecular subtype on survival in patients with metastatic colorectal cancer: Results from CALGB/SWOG 80405 (Alliance) // *J Clin Oncol.* – 2019. – Vol. 37. – P. 1876–85.
23. *Peterson T.E., Kirkpatrick N.D., Huang Y., et al.* Dual inhibition of Ang-2 and VEGF receptors normalizes tumor vasculature and prolongs survival in glioblastoma by altering macrophages // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2016. – Vol. 113. – P. 4470–4475.
24. *Tian L., Goldstein A., Wang H., et al.* Mutual regulation of tumour vessel normalization and immunostimulatory reprogramming // *Nature.* – 2017. – Vol. 544. – P. 250–254.
25. *Song N., Pogue-Geile K.L., Gavin P.G., et al.* Clinical outcome from oxaliplatin treatment in stage II/III colon cancer according to intrinsic subtypes: secondary analysis of NSABP C-07/NRG oncology randomized clinical trial // *JAMA Oncol.* – 2016. – Vol. 2, № 9. – P. 1162–1169.
26. *Medico E., Russo M., Picco G., et al.* The molecular landscape of colorectal cancer cell lines unveils clinically actionable kinase targets // *Nat Commun.* – 2015. – Vol. 6. – P. 7002.
27. *Fontana E., Nyamundanda G., Cunningham D., et al.* Molecular subtype assay to reveal anti-EGFR response sub-clones in colorectal cancer (CRC) // *J Clin Oncol.* – 2018. – Vol. 36 (Suppl 4). – P. 658–658.
28. *Okita A., Takahashi S., Ouchi K., et al.* Consensus molecular subtypes classification of colorectal cancer as a predictive factor for chemotherapeutic efficacy against metastatic colorectal cancer // *Oncotarget.* – 2018 Apr 10. – Vol. 9, № 27. – P. 18698–18711.
29. *Mooi J.K., Wirapati P., Asher R., et al.* The prognostic impact of consensus molecular subtypes (CMS) and its predictive effects for bevacizumab benefit in metastatic colorectal cancer: Molecular analysis of the AGITG MAX clinical trial // *Ann Oncol.* – 2018. – Vol. 29. – P. 2240–2246.
30. *Do`me B., Hendrix M.J.C., Paku S., et al.* Alternative vascularization mechanisms in cancer: pathology and therapeutic implications // *Am J Pathol.* – 2007. – Vol. 170, № 1. – P. 1–15.
31. *Leenders W.P., Kusters B., de Waal R.M.* Vessel co-option: how tumors obtain blood supply in the absence of sprouting angiogenesis // *Endothelium.* – 2002. – Vol. 9, № 2. – P. 83–87.
32. *Donnem T., Hu J., Ferguson M., et al.* Vessel co-option in primary human tumors and metastases: an obstacle to effective anti-angiogenic treatment? // *Cancer Med.* – 2013. – Vol. 2, № 4. – P. 427–436.
33. *Frentzas S., Simoneau E., Bridgeman V.L., et al.* Vessel co-option mediates resistance to anti-angiogenic therapy in liver metastases // *Nat Med.* – 2016. – Vol. 22, № 11. – P. 1294–1302.

34. *Marisa J., Aydi M., Balogoun R., et al.* Clinical utility of colon cancer molecular subtypes: validation of two main colorectal molecular classifications on the PETACC-8 phase III trial cohort // *J Clin Oncol.* – 2017. – Vol. 35 – P. 3509.
35. *Trumpi K., Ubink I., Trinh A., et al.* Neoadjuvant chemotherapy affects molecular classification of colorectal tumors // *Oncogenesis.* – 2017 Jul 10. – Vol. 6, № 7. – P. e357.
36. *Colangelo T., Polcaro G., Muccillo L., et al.* Friend or foe? The tumour microenvironment dilemma in colorectal cancer // *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* – 2017. – Vol. 1867, № 1 – P. 1–18.
37. *Fedyanin M.Yu., Polyanskaya E.M., Elsnukaeva H.M., et al.* Is it necessary to add anti-angiogenic therapy to chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer and BRAF mutation? The systematic review and meta-analysis results // *Malignant tumours.* – 2020. – Vol. 10, № 2. – P. 36–44.
38. *Teufel M., Schwenke S., Seidel H., et al.* Molecular subtypes and outcomes in regorafenib-treated patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) enrolled in the CORRECT trial // *J Clin Oncol.* – 2015. – Vol. 33, № 15 suppl. – P. 3558–3558.
39. *Bennouna J., Hiret S., Bertaut A., et al.* Continuation of bevacizumab vs cetuximab plus chemotherapy after first progression in KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: the UNICANCER PRODIGE18 randomized clinical trial // *JAMA Oncol.* – 2019. – Vol. 5, № 1. – P. 83–90.
40. *Piskol R., Huw L., Sergin I., et al.* A clinically applicable gene-expression classifier reveals intrinsic and extrinsic contributions to consensus molecular subtypes in primary and metastatic colon cancer // *Clin Cancer Res.* – 2019 Jul 15. – Vol. 25, № 14. – P. 4431–4442.
41. *Schlicker A., Ellappalayam A., Beumer I.J., et al.* Investigating the concordance in molecular subtypes of primary colorectal tumors and their matched synchronous liver metastasis // *Int J Cancer.* – 2020 Oct 15. – Vol. 147, № 8. – P. 2303–2315.
42. *Dunne P.D., Alderdice M., O'Reilly P.G., et al.* Cancer-cell intrinsic gene expression signatures overcome intratumoural heterogeneity bias in colorectal cancer patient classification // *Nature Communication.* – 2017. – Vol. 8. – P. 15657.
43. *Korpbaisarn K., Lam M., Loree J.M., et al.* Consensus molecular subtypes in colorectal cancer differ by geographic region // *J Clin Oncol.* – 2020. – Vol. 38, № 15 suppl. – P. 4061–4061.
44. *Laurent-Puig P., Marisa J., Ayadi M., et al.* Colon cancer molecular subtype intratumoral heterogeneity and its prognostic impact: An extensive molecular analysis of the PETACC-8 // *Ann Oncol.* – 2018. – Vol. 29 (sup.8). – P. viii18.
45. *Borelli B., Fontana E., Giordano M., et al.* Consensus molecular subtypes and CRC assigner classifications in metastatic colorectal cancer (mCRC): Prognostic and predictive impact in the TRIBE2 study // *Journal of Clinical Oncology.* – 2020. – Vol. 38, № 15 suppl. – P. 4016–4016.
46. *Buechler S.A., Stephens M.T., Hummon A.B., et al.* ColoType: a forty gene signature for consensus molecular subtyping of colorectal cancer tumors using whole-genome assay or targeted RNA-sequencing // *Sci Rep.* – 2020 Jul 21. – Vol. 10, № 1. – P. 12123.
47. *Fessler E., Jansen M., De Sousa E.M.F., et al.* A multidimensional network approach reveals microRNAs as determinants of the mesenchymal colorectal cancer subtype // *Oncogene.* – 2016. – Vol. 35. – P. 6026–37.
48. *Trinh A., Trumpi K., De Sousa E.M.F., et al.* Practical and robust identification of molecular subtypes in colorectal cancer by immunohistochemistry // *Clinical cancer research.* – 2017. – Vol. 23. – P. 387–98.
49. *Li Y., Yao Q., Zhang L., et al.* Immunohistochemistry-based consensus molecular subtypes as a prognostic and predictive biomarker for adjuvant chemotherapy in patients with stage II colorectal cancer // *Oncologist.* – 2020 Dec. – Vol. 25, № 12. – P. e1968–e1979.
50. *Tosolini M., Kirilovsky A., Mlecnik B., et al.* Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, Th2, Treg, Th17) in patients with colorectal cancer // *Cancer Res.* – 2011. – Vol. 71. – P. 1263–1271.
51. *Galon J., Costes A., Sanchez-Cabo F., et al.* Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome // *Science.* – 2006. – Vol. 313. – P. 1960–1964.
52. *Bindea G., Mlecnik B., Tosolini M., et al.* Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer // *Immunity.* – 2013. – Vol. 39. – P. 782–795.
53. *Galon J., Pagès F., Marincola FM, et al.* Cancer classification using the Immunoscore: a worldwide task force // *J Transl Med.* – 2012. – Vol. 10. – P. 205.
54. *Galon J., Mlecnik B., Marliot F., et al.* Validation of the Immunoscore (IM) as a prognostic marker in stage I/II/III colon cancer: results of a worldwide consortium-based analysis of 1,336 patients // *J Clin Oncol.* – 2016. – Vol. 34. – abstr. 3500.
55. *Saito T., Nishikawa H., Wada H., et al.* Two FOXP3+CD4+ T cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers // *Nat Med.* – 2016. – Vol. 22. – P. 679–684.
56. *Allen W.L., Dunne P.D., McDade S., et al.* Transcriptional subtyping and CD8 immunohistochemistry identifies patients with stage II and III colorectal cancer with poor prognosis who benefit from adjuvant chemotherapy // *JCO Precis Oncol.* – 2018. – Vol. 2. – PO.17.00241.
57. *Becht E., de Reyniès A., Giraldo N.A., et al.* Immune and stromal classification of colorectal cancer is associated with molecular subtypes and relevant for precision immunotherapy // *Clin Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22. – P. 4057–66.
58. *Karpinski P., Rossowska J., Sasiadek M.M.* Immunological landscape of consensus clusters in colorectal cancer // *Oncotarget.* – 2017 Oct 27. – Vol. 8, № 62. – P. 105299–105311.

59. Sveen A., Johannessen B., Tengs T., et al. Multilevel genomics of colorectal cancers with microsatellite instability-clinical impact of JAK1 mutations and consensus molecular subtype 1 // *Genome Med.* – 2017 May 24. – Vol. 9, № 1. – P. 46.
60. Mantovani A., Allavena P., Sica A., Balkwill F. Cancer-related inflammation // *Nature.* – 2008. – Vol. 454. – P. 436–44.
61. Kanterman, J., Sade-Feldman M., Biton, M., et al. Adverse immunoregulatory effects of 5FU and CPT11 chemotherapy on myeloid-derived suppressor cells and colorectal cancer outcomes // *Cancer Res.* – 2014. – Vol. 74. – P. 6022–6035.
62. Derer A., Frey B., Fietkau R., Gaipl U.S. Immune-modulating properties of ionizing radiation: Rationale for the treatment of cancer by combination radiotherapy and immune checkpoint inhibitors // *Cancer Immunol Immunother.* – 2016. – Vol. 65. – P. 779–786.
63. Frey D.M., Droseser R.A., Viehl C.T., et al. High frequency of tumor-infiltrating FOXP3+ regulatory T cells predicts improved survival in mismatch repair-proficient colorectal cancer patients // *Int J Cancer.* – 2010. – Vol. 126. – P. 2635–2643.
64. Grothey A., Tabernero J., Arnold D., et al. Fluoropyrimidine and bevacizumab plus or minus atezolizumab as first-line treatment for BRAF wild type metastatic colorectal cancer: Findings from the MODUL trial of biomarker-driven maintenance // *ESMO 2018 Congress. Abstract LBA19.*
65. Itatani Y., Kawada K., Yamamoto T., Sakai Y. Resistance to anti-angiogenic therapy in cancer-alterations to anti-VEGF pathway // *Int J Mol Sci.* – 2018 Apr 18. – Vol. 19, № 4. – P. 1232.
66. Melisi D., Hollebecque A., Ob D.Y., et al. A phase Ib dose-escalation and cohort-expansion study of safety and activity of the transforming growth factor (TGF)  $\beta$  receptor I kinase inhibitor galunisertib plus the anti-PD-L1 antibody durvalumab in metastatic pancreatic cancer // *J Clin Oncol.* – 2019. – Vol. 37, suppl; abstr 4124.
67. Bacac M., Fauti T., Sam J., et al. A novel carcinoembryonic antigen T-cell bispecific antibody (CEA TCB) for the treatment of solid tumors // *Clin Cancer Res.* – 2016. – Vol. 22, № 13. – P. 3286–97.
68. Tabernero J., Melero I., Ros W., et al. Phase Ia and Ib studies of the novel carcinoembryonic antigen (CEA) T-cell bispecific (CEA CD3 TCB) antibody as a single agent and in combination with atezolizumab: preliminary efficacy and safety in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) // *J Clin Oncol.* – 2017. – Vol. 35, (15 suppl). – P. 3002.
69. Gonzalez-Exposito R., Semiannikova M., Griffiths B., et al. CEA expression heterogeneity and plasticity confer resistance to the CEA-targeting bispecific immunotherapy antibody cibisatamab (CEA-TCB) in patient-derived colorectal cancer organoids // *J Immunother Cancer.* – 2019 Apr 15. – Vol. 7, № 1. – P. 101.
70. Hara H., Kawazoe A., Kuboki Y., et al. Scoop: Multicenter phase I/II trial of BBI608 and pembrolizumab in patients with metastatic colorectal cancer (EPOC1503) // *Journal of Clinical Oncology.* – 2020. – Vol. 38, № 4, suppl. – P. 107–107.
71. Sveen A., Bruun J., Eide P.W., et al. Colorectal cancer consensus molecular subtypes translated to preclinical models uncover potentially targetable cancer cell dependencies // *Clin Cancer Res.* – 2018 Feb 15. – Vol. 24, № 4. – P. 794–806.
72. Cercek A., Shia J., Gollub M., et al. Ganetespib, a novel Hsp90 inhibitor in patients with KRAS mutated and wild type, refractory metastatic colorectal cancer // *Clin. Colorectal Cancer.* – 2014. – Vol. 13. – P. 207–212.
73. Bendell J.C., Jones S.F., Hart L., et al. A phase I study of the Hsp90 inhibitor AUY922 plus capecitabine for the treatment of patients with advanced solid tumors // *Cancer Invest.* – 2015. – Vol. 33. – P. 477–482.
74. Soldevilla B., Carretero-Puche C., Gomez-Lopez G., et al. The correlation between immune subtypes and consensus molecular subtypes in colorectal cancer identifies novel tumour microenvironment profiles, with prognostic and therapeutic implications // *Eur J Cancer.* – 2019 Dec. – Vol. 123. – P. 118–129.

## References

1. Fedyanin M., Gladkov O., Gordeev S., et al. O. Practical recommendation for treatment patients with colon and recto-sigmoid cancer. Malignant tumors: Practical recommendations RUSSCO. 2000:#3s2(10): 22. doi: 10.18027 / 2224-5057-2020-10-3s2-22.
2. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Colon cancer. Version 2.2021 [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/colon.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf)
3. Loree J.M., Pereira A.A.L., Lam M., et al. Classifying colorectal cancer by tumor location rather than sidedness highlights a continuum in mutation profiles and consensus molecular subtypes. *Clin Cancer Res.* 2018; 24: 1062-72. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2484.
4. Dienstmann R., Salazar R., Tabernero J. Molecular subtypes and the evolution on of treatment decisions in metastatic colorectal cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2018; 38: 231-8. doi: 10.1200/EDBK\_200929.
5. Guinney J., Dienstmann R., Wang X., et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med.* 2015 Nov; 21(11): 1350-6.
6. Fontana E., Eason K., Cervantes A., et al. Context matters-consensus molecular subtypes of colorectal cancer as biomarkers for clinical trials. *Ann Oncol.* 2019 Apr 1; 30(4): 520-527. doi: 10.1093/annonc/mdz052.
7. Sadanandam A., Lyssiotis C.A., Homiczko K., et al. A colorectal cancer classification system that associates cellular phenotype and responses to therapy. *Nat Med.* 2013; 19(5): 619. doi: 10.1038/nm.3175.
8. Khambata-Ford S., Garrett C.R., Meropol N.J., et al. Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab. *J Clin Oncol.* 2007; 25(22): 3230-3237. doi: 10.1200/JCO.2006.10.5437.

9. Tran B., Kopetz S., Tie J., et al. Impact of BRAF mutation and microsatellite instability on the pattern of metastatic spread and prognosis in metastatic colorectal cancer. *Cancer*. 2011; 117(20): 4623-4632. doi: 10.1002/cncr.26086.
10. Hugen N., Van de Velde C.J., De Wilt J.H., Nagtegaal I.D. Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype. *Ann Oncol*. 2014; 25(3): 651-657. doi: 10.1093/annonc/mdt591.
11. Ubink I., van Eden W.J., Snaebjornsson P., et al. Histopathological and molecular classification of colorectal cancer and corresponding peritoneal metastases. *Br J Surg*. 2018 Jan; 105(2): e204-e211. doi: 10.1002/bjs.10788. doi: 10.1002/bjs.10788.
12. Østrup O., Dagenborg V.J., Rødland E.A., et al. Molecular signatures reflecting microenvironmental metabolism and chemotherapy-induced immunogenic cell death in colorectal liver metastases. *Oncotarget*. 2017; 8(44): 76290. doi: 10.18632/oncotarget.19350.
13. Robinson M.W., Harmon C., O'Farrelly C. Liver immunology and its role in inflammation and homeostasis. *Cell Mol Immunol*. 2016; 13(3): 267.
14. Coebergh van den Braak R.R.J., Ten Hoorn S., Siewuerts A.M., et al. Interconnectivity between molecular subtypes and tumor stage in colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2020 Sep 4; 20(1): 850. doi: 10.1186/s12885-020-07316-z.
15. Trinh A., Ladrach C., Dawson H.E., et al. Tumour budding is associated with the mesenchymal colon cancer subtype and RAS/RAF mutations: a study of 1320 colorectal cancers with Consensus Molecular Subgroup (CMS) data. *Br J Cancer*. 2018 Nov; 119(10): 1244-1251. doi: 10.1038/s41416-018-0230-7.
16. De Smedt L., Palmans S., Andel D., et al. Expression profiling of budding cells in colorectal cancer reveals an EMT-like phenotype and molecular subtype switching. *Br J Cancer*. 2017 Jan 3; 116(1): 58-65. doi: 10.1038/bjc.2016.382.
17. Purcell R.V., Schmeier S., Lau Y.C., et al. Molecular subtyping improves prognostication of Stage 2 colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2019(19): Article number: 1155. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6327-4>.
18. Komor M.A., Bosch L.J., Bounova G., et al. Consensus molecular subtype classification of colorectal adenomas. *J Pathol*. 2018 Nov; 246(3): 266-276. doi: 10.1002/path.5129.
19. Chang K., Willis J.A., Reumers J., et al. Colorectal premalignancy is associated with consensus molecular subtypes 1 and 2. *Ann Oncol*. 2018 Oct 1; 29(10): 2061-2067. doi: 10.1093/annonc/mdy337.
20. Sveen A., Bruun J., Eide P.W., et al. Colorectal cancer consensus molecular subtypes translated to preclinical models uncover potentially targetable cancer cell dependencies. *Clin Cancer Res*. 2018; 24: 794-806. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1234.
21. Stintzing S., Wirapati P., Lenz H-J., et al. Consensus molecular subgroups (CMS) of colorectal cancer (CRC) and first-line efficacy of FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab in the FIRE3 (AIO KRK-0306) trial. *Ann Oncol*. 2019 Nov 1; 30(11): 1796-1803. doi: 10.1093/annonc/mdz387.
22. Lenz H.J., Ou F.S., Venook A.P., et al. Impact of consensus molecular subtype on survival in patients with metastatic colorectal cancer: Results from CALGB/SWOG 80405 (Alliance). *J Clin Oncol*. 2019; 37: 1876-85. doi: 10.1200/JCO.18.02258.
23. Peterson T.E., Kirkpatrick N.D., Huang Y., et al. Dual inhibition of Ang-2 and VEGF receptors normalizes tumor vasculature and prolongs survival in glioblastoma by altering macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016; 113: 4470-4475. doi: 10.1073/pnas.1525349113.
24. Tian L., Goldstein A., Wang H., et al. Mutual regulation of tumour vessel normalization and immunostimulatory reprogramming. *Nature*. 2017; 544: 250-254. doi: 10.1038/nature21724.
25. Song N., Pogue-Geile K.L., Gavin P.G., et al. Clinical outcome from oxaliplatin treatment in stage II/III colon cancer according to intrinsic subtypes: secondary analysis of NSABP C-07/NRG oncology randomized clinical trial. *JAMA Oncol*. 2016; 2(9): 1162-1169. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.2314.
26. Medico E., Russo M., Picco G., et al. The molecular landscape of colorectal cancer cell lines unveils clinically actionable kinase targets. *Nat Commun*. 2015; 6: 7002. doi: 10.1038/ncomms8002.
27. Fontana E., Nyamundanda G., Cunningham D., et al. Molecular subtype assay to reveal anti-EGFR response subclones in colorectal cancer (CRC). *J Clin Oncol*. 2018; 36(Suppl 4): 658-658. doi: 10.1200/JCO.2018.36.4\_suppl.658.
28. Okita A., Takahashi S., Ouchi K., et al. Consensus molecular subtypes classification of colorectal cancer as a predictive factor for chemotherapeutic efficacy against metastatic colorectal cancer. *Oncotarget*. 2018 Apr 10; 9(27): 18698-18711. doi: 10.18632/oncotarget.24617.
29. Mooi J.K., Wirapati P., Asher R., et al. The prognostic impact of consensus molecular subtypes (CMS) and its predictive effects for bevacizumab benefit in metastatic colorectal cancer: Molecular analysis of the AGITG MAX clinical trial. *Ann Oncol*. 2018; 29: 2240-2246. doi: 10.1093/annonc/mdy410.
30. Do`me B., Hendrix M.J.C., Paku S., et al. Alternative vascularization mechanisms in cancer: pathology and therapeutic implications. *Am J Pathol*. 2007; 170(1): 1-15.
31. Leenders W.P., Kusters B., de Waal R.M. Vessel co-option: how tumors obtain blood supply in the absence of sprouting angiogenesis. *Endothelium*. 2002; 9(2): 83-87. doi: 10.1080/10623320212006.
32. Donnem T., Hu J., Ferguson M., et al. Vessel co-option in primary human tumors and metastases: an obstacle to effective anti-angiogenic treatment? *Cancer Med*. 2013; 2(4): 427-436. doi: 10.1002/cam4.105.
33. Frentzas S., Simoneau E., Bridgeman V.L., et al. Vessel co-option mediates resistance to anti-angiogenic therapy in liver metastases. *Nat Med*. 2016; 22(11): 1294-1302. doi: 10.1038/nm.4197.

34. Marisa L., Aydi M., Balogoun R., et al. Clinical utility of colon cancer molecular subtypes: validation of two main colorectal molecular classifications on the PETACC-8 phase III trial cohort. *J Clin Oncol.* 2017; 35: 3509. doi: 10.1200/JCO.2017.35.15\_suppl.3509.
35. Trumpi K., Ubink I., Trinh A., et al. Neoadjuvant chemotherapy affects molecular classification of colorectal tumors. *Oncogenesis.* 2017 Jul 10; 6(7): e357. doi: 10.1038/oncis.2017.48. doi: 10.1038/oncis.2017.48.
36. Colangelo T., Polcaro G., Muccillo L., et al. Friend or foe? The tumour microenvironment dilemma in colorectal cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2017; 1867(1): 1–18. Guinney J., Dienstmann R., Wang X. et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat Med.* 2015; 21(11): 1350-1356.
37. Fedyanin M.Yu., Polyanskaya E.M., Elsnukaeva H.M., et al. Is it necessary to add anti-angiogenic therapy to chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer and BRAF mutation? The systematic review and meta-analysis results. *Malignant tumours.* 2020; 10(2): 36-44. (In Russ.). doi: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2020-10-2-3>.
38. Teufel M., Schwenke S., Seidel H., et al. Molecular subtypes and outcomes in regorafenib-treated patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) enrolled in the CORRECT trial. *Journal of Clinical Oncology.* 2015; 33; no. 15\_suppl: 3558-3558. doi: 10.1200/jco.2015.33.15\_suppl.3558.
39. Bennouna J., Hiret S., Bertaut A., et al. Continuation of bevacizumab vs cetuximab plus chemotherapy after first progression in KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: the UNICANCER PRODIGE18 randomized clinical trial. *JAMA Oncol.* 2019; 5(1): 83-90. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.4465.
40. Piskol R., Huw L., Sergin I., et al. A clinically applicable gene-expression classifier reveals intrinsic and extrinsic contributions to consensus molecular subtypes in primary and metastatic colon cancer. *Clin Cancer Res.* 2019 Jul 15; 25(14): 4431-4442. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3032.
41. Schlicker A., Ellappalayam A., Beumer I.J., et al. Investigating the concordance in molecular subtypes of primary colorectal tumors and their matched synchronous liver metastasis. *Int J Cancer.* 2020 Oct 15; 147(8): 2303-2315. doi: 10.1002/ijc.33003.
42. Dunne P.D., Alderdice M., O'Reilly P.G., et al. Cancer-cell intrinsic gene expression signatures overcome intratumoral heterogeneity bias in colorectal cancer patient classification. *Nature Communication.* 2017; 8: 15657. doi: 10.1038/ncomms15657.
43. Korpbaissarn K., Lam M., Loree J.M., et al. Consensus molecular subtypes in colorectal cancer differ by geographic region. *Journal of Clinical Oncology.* 2020; 38; no. 15\_suppl: 4061-4061. doi: 10.1200/JCO.2020.38.15\_suppl.4061.
44. Laurent-Puig P., Marisa L., Ayadi M., et al. Colon cancer molecular subtype intratumoral heterogeneity and its prognostic impact: An extensive molecular analysis of the PETACC-8. *Ann Oncol.* 2018; 29(sup.8): viii18. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdy269.058>.
45. Borelli B., Fontana E., Giordano M., et al. Consensus molecular subtypes and CRC assigner classifications in metastatic colorectal cancer (mCRC): Prognostic and predictive impact in the TRIBE2 study. *Journal of Clinical Oncology.* 2020; 38; no. 15\_suppl: 4016-4016. doi: 10.1200/JCO.2020.38.15\_suppl.4016.
46. Buechler S.A., Stephens M.T., Hummon A.B., et al. ColoType: a forty gene signature for consensus molecular subtyping of colorectal cancer tumors using whole-genome assay or targeted RNA-sequencing. *Sci Rep.* 2020 Jul 21; 10(1): 12123. doi: 10.1038/s41598-020-69083-y.
47. Fessler E., Jansen M., De Sousa E.M.F., et al. A multidimensional network approach reveals microRNAs as determinants of the mesenchymal colorectal cancer subtype. *Oncogene.* 2016; 35: 6026-37. doi: 10.1038/onc.2016.134.
48. Trinh A., Trumpi K., De Sousa E.M.F., et al. Practical and Robust Identification of Molecular Subtypes in Colorectal Cancer by Immunohistochemistry. *Clinical cancer research.* 2017; 23: 387-98. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0680.
49. Li Y., Yao Q., Zhang L., et al. Immunohistochemistry-based consensus molecular subtypes as a prognostic and predictive biomarker for adjuvant chemotherapy in patients with stage II colorectal cancer. *Oncologist.* 2020 Dec; 25(12): e1968-e1979. doi: 10.1002/ONCO.13521.
50. Tosolini M., Kirilovsky A., Mlecnik B., et al. Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, Th2, Treg, Th17) in patients with colorectal cancer. *Cancer Res.* 2011; 71: 1263-1271. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2907.
51. Galon J., Costes A., Sanchez-Cabo F., et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science.* 2006; 313: 1960-1964. doi: 10.1126/science.1129139.
52. Bindea G., Mlecnik B., Tosolini M., et al. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer. *Immunity.* 2013; 39: 782-795. doi: 10.1016/j.immuni.2013.10.003.
53. Galon J., Pagès F., Marincola F.M., et al. Cancer classification using the Immunoscore: a worldwide task force. *J. Transl Med.* 2012; 10: 205. doi: 10.1186/1479-5876-10-205.
54. Galon J., Mlecnik B., Marliot F., et al. Validation of the Immunoscore (IM) as a prognostic marker in stage I/II/III colon cancer: results of a worldwide consortium-based analysis of 1,336 patients. *J. Clin. Oncol.* 2016; 34: abstr.3500. doi: 10.1200/JCO.2016.34.15\_suppl.3500.
55. Saito T., Nishikawa H., Wada H., et al. Two FOXP3+CD4+ T cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers. *Nat. Med.* 2016; 22: 679-684. doi: 10.1038/nm.4086.
56. Allen W.L., Dunne P.D., McDade S., et al. Transcriptional subtyping and CD8 immunohistochemistry identifies patients with stage II and III colorectal cancer with poor prognosis who benefit from adjuvant chemotherapy. *JCO Precis Oncol.* 2018; 2: PO.17.00241. doi: 10.1200/PO.17.00241.

57. Becht E., de Reyniès A., Giraldo N.A., et al. Immune and stromal classification of colorectal cancer is associated with molecular subtypes and relevant for precision immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2016; 22: 4057-66. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2879.
58. Karpinski P., Rossowska J., Sasiadek M.M. Immunological landscape of consensus clusters in colorectal cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(62): 105299-105311. doi: 10.18632/oncotarget.22169.
59. Sveen A., Johannessen B., Tengs T., et al. Multilevel genomics of colorectal cancers with microsatellite instability-clinical impact of JAK1 mutations and consensus molecular subtype 1. *Genome Med.* 2017; 9(1): 46. doi: 10.1186/s13073-017-0434-0.
60. Mantovani A., Allavena P., Sica A., Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008; 454: 436-44. doi: <https://doi.org/10.1038/nature07205>.
61. Kanterman, J., Sade-Feldman M., Biton, M., et al. Adverse immunoregulatory effects of 5FU and CPT11 chemotherapy on myeloid-derived suppressor cells and colorectal cancer outcomes. *Cancer Res.* 2014;74: 6022-6035. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0657.
62. Derer A., Frey B., Fietkau R., Gajpl U.S. Immune-modulating properties of ionizing radiation: Rationale for the treatment of cancer by combination radiotherapy and immune checkpoint inhibitors. *Cancer Immunol. Immunother.* 2016; 65: 779-786. doi: 10.1007/s00262-015-1771-8.
63. Frey D.M., Drosner R.A., Viehl C.T., et al. High frequency of tumor-infiltrating FOXP3+ regulatory T cells predicts improved survival in mismatch repair-proficient colorectal cancer patients. *Int. J. Cancer.* 2010; 126: 2635-2643. doi: 10.1002/ijc.24989.
64. Grothey A., Tabernero J., Arnold D., et al. Fluoropyrimidine and bevacizumab plus or minus atezolizumab as first-line treatment for BRAF wild type metastatic colorectal cancer: Findings from the MODUL trial of biomarker-driven maintenance. ESMO 2018 Congress. Abstract LBA19.
65. Itatani Y., Kawada K., Yamamoto T., Sakai Y. Resistance to anti-angiogenic therapy in cancer-alterations to anti-VEGF pathway. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(4): 1232. doi: 10.3390/ijms19041232.
66. Melisi D., Hollebecque A., Oh D.Y., et al. A phase Ib dose-escalation and cohort-expansion study of safety and activity of the transforming growth factor (TGF)  $\beta$  receptor I kinase inhibitor galunisertib plus the anti-PD-L1 antibody durvalumab in metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol.* 2019; 37suppl: abstr.4124. doi: 10.1200/JCO.2019.37.15\_suppl.4124.
67. Bacac M., Fauti T., Sam J., et al. A novel carcinoembryonic antigen T-cell bispecific antibody (CEA TCB) for the treatment of solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2016; 22(13): 3286-97. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1696.
68. Tabernero J., Melero I., Ros W., et al. Phase Ia and Ib studies of the novel carcinoembryonic antigen (CEA) T-cell bispecific (CEA CD3 TCB) antibody as a single agent and in combination with atezolizumab: preliminary efficacy and safety in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol.* 2017; 35(15\_suppl): 3002. doi: 10.1200/JCO.2017.35.15\_suppl.3002.
69. González-Exposito R., Semiannikova M., Griffiths B., et al. CEA expression heterogeneity and plasticity confer resistance to the CEA-targeting bispecific immunotherapy antibody cibisatamab (CEA-TCB) in patient-derived colorectal cancer organoids. *J Immunother Cancer.* 2019; 7(1): 101. doi: 10.1186/s40425-019-0575.
70. Hara H., Kawazoe A., Kuboki Y., et al. Scoop: Multicenter phase I/II trial of BBI608 and pembrolizumab in patients with metastatic colorectal cancer (EPOC1503). *Journal of Clinical Oncology.* 2020; 38; no. 4\_suppl: 107-107. doi: 10.1200/JCO.2020.38.4\_suppl.107.
71. Sveen A., Bruun J., Eide P.W., et al. Colorectal cancer consensus molecular subtypes translated to preclinical models uncover potentially targetable cancer cell dependencies. *Clin Cancer Res.* 2018 Feb 15; 24(4): 794-806. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-1234.
72. Cercek A., Sbia J., Gollub M., et al. Ganetespib, a novel Hsp90 inhibitor in patients with KRAS mutated and wild type, refractory metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2014; 13: 207-212. doi:10.1016/j.clcc.2014.09.001.
73. Bendell J.C., Jones S.F., Hart L., et al. A phase I study of the Hsp90 inhibitor AUY922 plus capecitabine for the treatment of patients with advanced solid tumors. *Cancer Invest.* 2015; 33: 477-482. doi: 10.3109/07357907.2015.1069834.
74. Soldevilla B., Carretero-Puche C., Gomez-Lopez G., et al. The correlation between immune subtypes and consensus molecular subtypes in colorectal cancer identifies novel tumour microenvironment profiles, with prognostic and therapeutic implications. *Eur J Cancer.* 2019; 123: 118-129. doi: 10.1016/j.ejca.2019.09.008.