

Aktuální možnosti léčby HER2+ metastatického kolorektálního karcinomu

Marián Liberko, Renata Soumarová

Onkologická klinika FNKV a 3. LF UK, Praha

3. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

Metastatický kolorektální karcinom je v současnosti stále nevyléčitelné onemocnění. Nicméně díky pokrokům v systémové terapii se medián přežití pacientů významně prodlužuje. Prodlužování celkového přežití je podmíněno více personalizovanou terapií dle ne/přítomnosti molekulárních alterací. Jednou z těchto relativně nově zkoumaných alterací a novým cílem terapie je HER2 pozitivní metastatický kolorektální karcinom. Cílem tohoto článku je podat stručný přehled současných možností léčby této specifické podskupiny.

Klíčová slova: metastatický kolorektální karcinom, HER2 amplifikace, cílená terapie.

Current treatment options of HER2+ metastatic colorectal carcinoma

Metastatic colorectal cancer is currently still an incurable disease. However, thanks to advances in systemic therapy, the median survival of patients is increasing. The prolongation of overall survival is due to more personalized therapy according to the absence/presence of molecular alterations. One of these relatively newly investigated alterations and a novel target for therapy is HER2-positive metastatic colorectal cancer. The aim of this article is to provide a brief overview of current therapeutic options for this specific subset of metastatic disease.

Key words: metastatic colorectal cancer, HER2 amplification, targeted therapy.

Úvod

Kolorektální karcinom je třetí nejčastější malignitou a druhou hlavní příčinou úmrtí na nádorové onemocnění celosvětově (1). I přes efektivní screening kolorektálního karcinomu je i v současnosti přibližně 25 % pacientů diagnostikováno ve stadiu metastatického onemocnění (mCRC) a přibližně 50 % pacientů s časným onemocněním po potenciálně kurbilní terapii dospěje do metastatického stadia. I přes to, že mCRC je v současnosti nevyléčitelné onemocnění, medián přežívání pacientů se prodlužuje díky pokrokům v molekulární biologii a genetice, které vedou k identifikaci specifických subtypů onemocnění. Na základě znalosti prediktivních a/nebo prognostických markerů (Ras, Braf, pMMR/MSS, dMMR/MSI-H) jsme schopni lépe personalizovat terapii.

V současnosti se ukazuje, že mCRC je velmi heterogenní onemocnění, kde jsou mimo Ras, Braf, MSS, MSI-H přítomny další alterace zastoupené řádově v jednotkách procent (2). Z řady studií máme důkazy o přínosu cílené terapie pro tyto podskupiny v rámci tzv. tumor agnostického přístupu. Jednou z těchto podskupin je i tzv. HER2 pozitivní (HER2+) mCRC, kde v současnosti přibývá důkazů možnostech specifické cílené terapie pro tuto populaci pacientů.

HER2 a mCRC

HER2 onkogen (ERBB2) je lokalizován na dlouhém raménku 17 chromozomu (17q12) a kóduje transmembránový glykoproteiny receptor s vlastní tyrosinkinázovou aktivitou (3). HER2 onkogen na rozdíl od ostatních

DECLARATIONS:

Declaration of originality:

The manuscript is original and has not been published or submitted elsewhere.

Ethical principles compliance:

The authors attest that their study was approved by the local Ethical Committee and is in compliance with human studies and animal welfare regulations of the authors' institutions as well as with the World Medical Association Declaration of Helsinki on Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects adopted by the 18th WMA General Assembly in Helsinki, Finland, in June 1964, with subsequent amendments, as well as with the ICMJE Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals, updated in December 2018, including patient consent where appropriate.

Conflict of interest and financial disclosures:

None.

Funding/Support:

None.

Cit. zkr: *Onkologie*. 2024;18(3):208-212

<https://doi.org/10.36290/oxon.2024.039>

Článek přijat redakcí: 17. 4. 2024

Článek přijat k tisku: 5. 5. 2024

MUDr. Marián Liberko

marian.liberko@fnkv.cz

členů HER/EGFR/ERBB rodiny nemá vlastní ligand, kterého navázáním by došlo k jeho aktivaci. Aktivace je zprostředkována homo-, heterodimerizací s jinými receptory rodiny EGFR (HER1/EGFR, HER3, HER4) s následným přenosem signálu do buňky s aktivací řady drah vedoucích k proliferaci, diferenciaci, inhibici apoptózy a nádorové progresi (4, 5).

HER2+ CRC je onemocnění, které představuje asi 2 % všech CRC a 5 % wtRas mCRC (6). Retrospektivní analýza 1 730 nádorů tlustého střeva prokázala rostoucí prevalenci HER2 overexpresce/amplifikace od pravého kolon k levému kolon a rektu, což je dalším důkazem, že genomické alterace u pacientů s CRC se kontinuálně mění v závislosti na lokalizaci ve střevě a naše arbitrární dělení na pravou a levou stranu je poměrně velkým zjednodušením komplexnosti tohoto onemocnění (7). Obecně platí, že přítomnost dvou řídících mutací v nádorové buňce je velmi vzácná a důkazem toho je i raritní současná přítomnost HER2 overexpresce a/nebo amplifikace HER2 a mtRas statutu (8). Vyšší míra zastoupení HER2 mCRC, je typicky pozorována u levostranných nádorů tlustého střeva ve shodě s vyšší mírou wtRas statutu v této oblasti (8). Cenaj et al. prokázali, že přítomnost HER2 amplifikace je korelována s nepřítomností Ras, nebo Raf mutace ($p = 0,0001$). Konkrétně, 62 (71 %) z 87 HER2 nonamplifikovaných případů, mělo alespoň jednu hotspot mutaci v Kras, Nras, Braf, nebo PIK3CA genech. Na druhou stranu pouze 3 (20 %) z 15 HER2 amplifikovaných případů mělo alteraci v těchto genech (konkrétně 2 případy mtKras a jeden PIK3CA) (9). Existují i další práce které dokládají skutečnost, že HER2 amplifikace je častější v případě wtKras, wtNras, wtBraf nádorů (2,1–5,4 % případů) a méně častá v případě mtKras, mtNras, mtBraf nádorů (pozorováno v 0,2–1,4 % případů) (10).

Z klinického hlediska se ukazuje, že přítomnost HER2 amplifikace v případě mCRC je spojena s vyšší frekvencí výskytu metastáz plic a centrálního nervového systému (11, 12, 13).

Laboratorní diagnostika HER2

HER2 overexpresce a amplifikace je rutinně vyšetřována pomocí imunohistochemie a fluorescenční in situ hybridizace (FISH) a je standardizována pro pacienty s karcinomy prsu a žaludku. Standard pro vyšetřování HER2

pozitivity v případě mCRC se vyvíjel postupně a prvně byl aplikován k výběru pacientů do studie HERACLES, kde byla kritéria HER2 pozitivity pro karcinom prsu a žaludku adaptována na populaci pacientů s mCRC; jedná se o tzv. HERACLES diagnostická kritéria (14). V současnosti se za standardní metodu HER2 testování považuje imunohistochemie, FISH a NGS. Základním vyšetřením je stanovení overexpresce HER2 pomocí imunohistochemie, kde za HER2 3+ onemocnění je považována přítomnost HER2 overexpresce u > 50 % nádorových buněk. HER2 3+ overexpresce je definována jako intenzivní membránové barvení, které může být cirkumferenční, bazolaterální, nebo laterální. Pacienti s HER2 2+ overexpresí by měli být reflexně testováni pomocí FISH. Amplifikace HER2 pomocí FISH je považována za pozitivní v případě, kdy je poměr HER2 : CEP17 > 2 u více než 50 % buněk (14). Další možností stanovení HER2 amplifikace je NGS s vysokou mírou korelace s HER2 overexpresí (9).

Nicméně na ASCO GI 2024 byl prezentován poster, který hodnotil konkordanci HER2 v populaci pacientů s mCRC v rámci studie MOUNTAINEER, s využitím algoritmu HER2 testování pro karcinom prsu, nebo žaludku. Studie prokázala 100 % konkordanci HER2 statutu s využitím jednoho nebo druhého algoritmu. Autoři toto pozorování uzavřeli konstatováním, že oba přístupy mohou být použity k identifikaci pacientů s mCRC vhodných pro anti-HER2 terapii do doby dostupnosti FDA-schváleného HER2 testu specificky pro populaci mCRC pacientů (15).

Stanovení HER2 overexpresce a/nebo amplifikace je doporučováno i recentními ESMO guidelines již vstupně při diagnóze mCRC s vědomím, že případná anti-HER2 terapie může být zvažována u pacientů až ve vyšších liniích léčby (16).

Prediktivní a prognostický význam HER2

Přítomnost HER2 amplifikace je obecně přijímána jako negativní prediktor účinnosti anti-EGFR terapie v léčbě mCRC. Raghav et al. hodnotili význam přítomnosti HER2 amplifikace na efektivitu anti-EGFR terapie. Jednalo se o populaci 90 pacientů (kohorta 1, kde HER2 amplifikace byla identifikována pomocí FISH), kteří po progresi na 1. linii non

anti-EGFR léčby, byli ve 2., nebo 3. linii léčeni anti-EGFR preparáty. V této populaci autoři prokázali, že pacienti s HER2 amplifikací měli signifikantně kratší PFS ve srovnání s pacienty bez HER2 amplifikace (2,8 měsíce vs. 8,1 měsíce, HR 7,05, $p < 0,001$) v případě léčby anti-EGFR preparáty. Populace 70 pacientů (kohorta 2, kde HER2 amplifikace byla identifikována pomocí NGS) byla tvořena opět pacienti, kteří po progresi na 1. linii non anti-EGFR léčby, byli ve 2., nebo 3. linii léčeni anti-EGFR preparáty. Výsledky této kohorty 2 jsou prakticky identické s výše uvedenými pro kohortu 1 (konkrétně: 2,8 měsíce vs. 9,3 měsíce, HR 10,66, $p < 0,001$). Na druhou stranu, pacienti, kteří byli léčeni terapií, která neobsahovala anti-EGFR preparáty, měli podobný PFS bez ohledu na přítomnost, nebo nepřítomnost HER2 amplifikace (9,7 měsíce vs. 11,1 měsíce, HR 1,01, $p = 0,97$) (17). Obdobné výsledky byly reportovány italskými autory, kdy HER2 amplifikace byla negativním prediktorem benefitu anti-EGFR preparátů. Pacienti s HER2 amplifikací měli nižší míru objektivních odpovědí (ORR) 31,2 % vs. 46,9 % a kratší PFS (5,7 měsíce vs. 7,0 měsíce) (18). Počtem pacientů největší a zcela recentní je práce zahrnující 594 pacientů léčených anti-EGFR preparáty, která prokázala 2,84násobně vyšší riziko progresie a smrti u pacientů HER2+ vs. HER2-. Je nutno podotknout, že se jednalo o značně heterogenní populaci, kdy pacienti byli léčeni anti-EGFR preparáty v rozmezí 1–5 linie léčby, a někdy se jednalo i o monoterapii anti-EGFR preparáty (19).

Na druhou stranu, na rozdíl od obecně přijímané HER2 amplifikace jako negativního prediktivního faktoru efektivity anti-EGFR preparátů, je prognostický význam HER2 amplifikace v současnosti nejasný. V rámci stadia III CRC, byl prokázán vliv HER2 alterace na kratší dobu do vzniku recidivy (HR 1,55, $p = 0,04$) a celkové přežívání (HR 1,57, $p = 0,05$) (20). Další retrospektivní analýzy velkých souborů pacientů napříč stadii CRC ale neprokázaly signifikantní asociaci mezi HER2 statusem a přežíváním (21).

Amplifikace HER2 je v onkologii dobře známý terapeutický cíl u nádorů prsu, kde je tato terapie spojena s významným klinickým benefitem pro pacienty v monoterapii, případně i v kombinacích. V případě mCRC

nám výsledky z preklinických studií ukazují, že monoterapie anti-HER2 preparáty v případě mCRC je spojena s malým efektem, zatímco benefit je pozorován v případě kombinace anti-HER2 preparátů (22).

HERCALES-A trial

Jednou z prvních studií hodnotících benefit anti-HER2 terapie u pacientů s mCRC byla italská studie fáze II, HERACLES-A, hodnotící efektivitu duální anti-HER2 blokády trasuzumabem a lapatinibem u značně předléčených pacientů (medián linií 5 a 74 % pacientů mělo > 4 linie léčby pro mCRC) s HER2 amplifikací. Autoři hodnotili 914 pacientů s mCRC, kdy HER2 amplifikace byla prokázána u 48 (5 %) z nich a do studie bylo zařazeno 27 pacientů. Pacienti byli léčeni nasycovací dávkou 4 mg trastuzumabu s následnou aplikací 2 mg trastuzumabu v týdenních intervalech a současně užívali 1 000 mg lapatinibu kontinuálně do progresu, resp. nepřijatelné toxicity. Míra ORR byla 30 % a jeden (4 %) pacient dosáhl kompletní remise při mediánu sledování 94 týdnů. Navíc 12 (44 %) pacientů mělo stabilizaci onemocnění s výslednou kontrolou onemocnění u 74 % zařazených pacientů. Medián PFS byl 21 týdnů a 9 (33 %) pacientů nemělo progresi ani po 6 měsících. Z nežádoucích účinků byly nejčastěji reportovány průjem (78 %), vyrážka (44 %) a únava (33 %) (23). Byly reportovány již i výsledky dlouhodobého sledování (6,7 let), které potvrdily benefit této terapie, kdy pacienti měli mPFS 4,7 měsíce a mOS 10 měsíců. Autoři navíc prokázali významný výskyt metastáz v CNS v této populaci pacientů (6–19 %) pacientů (24).

HERCALES-B trial

HERACLES-B, je další italskou studií fáze II, ve které investigátoři hodnotili efektivitu duální anti-HER2 terapie (pertuzumab a T-DM1). I v této studii se jednalo o velmi předléčenou populaci mCRC pacientů, 48 % pacientů bylo léčeno > 4 liniemi léčby. V této studii pacienti obdrželi standardní nasycovací dávku 840 mg pertuzumabu s následnou udržovací dávkou 420 mg pertuzumabu. T-DM1 byly podávány v dávce 3,6 mg/kg. Kombinovaná terapie byla podávána v intervalu à 3 týdny. V rámci studie bylo hodnoceno 31 pacientů s ORR 9,7 %, což

ale nesplnilo předdefinovaný cíl ORR > 30 %. Nicméně 21 (67,7 %) z 31 pacientů dosáhlo stabilizaci a mPFS byl i přes nízké ORR zajímavých 4,1 měsíce, a proto komentář autorů studie vyzněl ve prospěch této kombinace jako další možnosti terapie (25).

MyPathway trial

MyPathway trial je basket trial fáze II, který hodnotil efektivitu trastuzumabu a pertuzumabu v populaci chemorefrakterního mCRC (medián předchozích linií byl 4). Do studie bylo zařazeno 57 pacientů a primárním cílem byl ORR. Studie splnila primární cíl, když ORR byl 32 % (byla pozorována 1 (2 %) kompletní odpověď). Medián PFS byl 2,9 měsíce v celkové populaci. Tato studie současně prokázala různou odpověď na anti-HER2 terapii v závislosti od Ras statusu. ORR byl 40 % u pacientů s wtRas nádory a pouze 8 % v případě přítomnosti mtRas. Obdobně, wtRas populace měla delší mPFS ve srovnání s mtRas (5,3 vs. 1,4 měsíce). V rámci této exploratorní analýzy byl prokázán i delší mOS ve wtRas populaci (14 vs. 8,5 měsíce). I v této studii byla toxicita anti-HER2 terapie obdobná, jak bylo pozorováno dříve (průjem, vyrážka, únava) (26).

TAPUR trial

TAPUR trial je basket trial fáze II, který hodnotil podobně jako MyPathway trial efektivitu kombinace trastuzumab a pertuzumab u chemorefrakterního mCRC (> 80 % pacientů mělo > 3 linií přechází terapie), nicméně kromě pacientů s HER2 amplifikací (n = 28), byl hodnocen efekt této kombinace i v populaci s HER2 mutacemi (n = 10). V populaci mCRC s HER2 amplifikací byla potvrzena efektivita kombinace, ORR byl 25 % a kontrola onemocnění u 52 % pacientů; mPFS byl 17,2 týdnů, mOS byl 60 týdnů. Tyto slibné výsledky ale nebyly potvrzeny v populaci mCRC pacientů s HER2 mutacemi (ORR 0 % a kontrola onemocnění 10 %). I zde se potvrdil negativní prediktivní význam současně přítomného mtRas statusu na efekt duální anti-HER2 terapie (27).

TRIUMPH trial

TRIUMPH trial studie fáze II, je třetí studii po MyPathway a TAPUR, která testovala efektivitu kombinace trastuzumab a pertuzumab

u pacientů s chemorefrakterním mCRC. Studie zahrnovala 30 pacientů. Odlišná od předchozích studií byla skutečnost, že do studie byli zařazováni pacienti s prokázanou HER2 amplifikací v nádoru a/nebo s prokázanou HER2 amplifikací v ctDNA. Studie prokázala vysokou míru konkordance HER2 amplifikace mezi tkání a ctDNA (83 %). Studie potvrdila výsledky předchozích studií, ORR byl 30 % v případě HER2 amplifikace v nádoru a 28 % v případě amplifikace HER2 v ctDNA. Velmi podobně, mezi HER2 amplifikací v nádoru vs. ctDNA, byly i výsledky mPFS (4,0 vs. 3,1 měsíce) a mOS (10,1 vs. 8,8 měsíce). Současně i tato studie potvrdila negativní prediktivní vliv současně přítomného mtRas statusu na efektivitu anti-HER2 terapie. Studie je navíc důkazem možného využití tzv. liquid biopsy při zvažování anti-HER2 terapie, zejména v případě nedostupnosti tkáně (28).

MOUNTAINEER trial

MOUNTAINEER trial, studie fáze II, hodnotila efektivitu tucatinibu v kombinaci s trastuzumabem. Do studie bylo zařazeno celkem 117 pacientů. Vzhledem ke známému negativnímu prediktivnímu vlivu mtRas statusu byli do studie zařazováni pouze pacienti s wtRas statutem. Medián předchozích linií pro mCRC byl 3. Tucatinib byl podáván dávkou 300 mg 2× denně a trastuzumab v nasycovací dávce 8 mg/kg, s následnou udržovací dávkou 6 mg/kg à 3 týdny do progresu, resp. nepřijatelné toxicity. Výsledky této kombinace jsou velmi povzbudivé, kdy ORR byl 38,1 % a 3 (4 %) pacienti dosáhli kompletní odpovědi. Kontrola onemocnění byla 71 %. Délka trvání odpovědi byla 12,4 měsíce. Medián PFS byl 7,0 měsíce a mOS byl 24,1 měsíce. Navíc, 12měsíční PFS rate byl 34,2 % a 12měsíční OS rate byl 51,3 %. I v této studii hlavní toxicitou byla kombinace průjmů, vyrážky a únavy. Vzhledem k těmto velmi povzbudivým výsledkům tato kombinace obdržela FDA registraci pro pacienty s HER2+, wtRas mCRC (29).

DESTINY-CRC 01 a 02 trial

Trastuzumab deruxatecan, konjugát protilátky a léčiva (inhibitoru topoizomerázy I), je v posledních letech vedle imunoterapie další velmi úspěšnou onkologickou molekulou, která vede až k nečekaně dob-

rým výsledkům v terapii například HER2+ karcinomu prsu (včetně HER2-low), HER2+ karcinomu žaludku, endometria, žlučových cest a vedla k registraci trastuzumab derux-tecanu v dubnu 2024 jako tumor agnostické terapie HER2+ nádorů. Jedná se o první tzv. antibody drug conjugate, který obdržel tuto registraci.

V rámci mCRC byl trastuzumab derux-tecan testován ve studii fáze II, DESTINY-CRC 01, v populaci chemorefrakterního mCRC (medián předchozích linií léčby byl 4). Studie měla 3 kohorty: kohorta A (53 pacientů) s HER2 overexpresí IHC3+ a IHC2+ a FISH+, kohorta B (15 pacientů) s IHC2+ a FISH-, kohorta C (18 pacientů) s IHC1+. Důležité je zmínit, že na rozdíl od všech předchozích uvedených studií, byli v této studii zařazováni i pacienti, kteří již v minulosti byli anti-HER2 terapií léčeni (trastuzumab, pertuzumab, lapatinib, tucatinib). Trastuzumab derux-tecan byl podáván v dávce 6,4 mg/kg v intervalu 3 týdny. I zde se ukázala velmi slibná efektivita této molekuly. Studie prokázala jednoznačný benefit v kohortě A, kde ORR byl 45,3 % a kontrola onemocnění v 83,0 % (ale ORR 0 % v kohortě B a C). Medián PFS byl 6,9 měsíce, mOS 15,5 měsíce. Obávaná toxicita trastuzumab derux-tecanu, intersticiální pneumoniti-

da byla reportována u 8 (9,3 %) pacientů – 4 pacienti s G2, 1 pacient s G3 a 3 pacienti s G5 toxicitou (30, 31).

Na ASCO 2023 byly prezentovány i první výsledky studie DESTINY-CRC 02, která hodnotila efektivitu trastuzumab derux-tecanu ve dvou dávkách: 6,4 mg/kg vs. 5,4 mg/kg. Do studie byli zařazováni i pacienti s mtRas statutem, negativním prediktorem efektivitu anti-HER2 terapie. Studie prokázala efektivitu obou dávek, ale paradoxně nižší dávka trastuzumab derux-tecanu vedla k numericky vyšší míře ORR (37,8 % vs. 27,5 %). Současně ale podle očekávání byla nižší dávka spojena s nižším výskytem toxicity, a proto je do dalších studií s trastuzumab derux-tecanem plánována dávka 5,4 mg/kg (30). mCRC je tak další onkologická diagnóza, u které trastuzumab derux-tecan prokazuje své schopnosti (zvláště s přihlédnutím na předlčenost anti-HER2 preparáty a současně i přítomnost mtRas statutu).

Závěr

Z uvedeného přehledu možností terapie HER2+ mCRC je zřejmé, že naše možnosti jsou již i v současnosti poměrně široké a s každou další studií, resp. novým preparátem dochází ke zlepšování prognózy pacientů mCRC

s touto alterací. I přes relativní vzácnost této alterace jsou výsledky prezentovaných studií jasným důkazem, že kromě standardně vyšetřovaných alterací Kras, Nras, Braf, MSS, resp. MSI-H by součástí vstupního molekulárního vyšetření u pacientů s mCRC před zahájením 1. linie paliativní terapie mělo být i vyšetření HER2 amplifikace (doporučováno rovněž ESMO guidelines), které nás jednak může informovat o omezeném benefitu anti-EGFR preparátů v 1. linii léčby, a jednak nám pro tuto podskupinu mCRC dává k dispozici další účinnou terapii, která prokazatelně vede k prodloužení přežívání při očekávané a zvladatelné míře toxicity. Vzhledem k tomu, že samotné vyšetření HER2 může být provedeno pomocí imunohistochemie, FISH, či případně v rámci NGS vyšetření, nepředstavuje tak překážku v zařazení tohoto markeru jako vstupního vyšetření u pacientů s mCRC s cílem lepšího pochopení biologie aktuálního onemocnění již nyní v běžné klinické praxi. Závěrem lze konstatovat, že naše porozumění biologii nádorových onemocnění se s rozvojem molekulárně-biologických metod prohlubuje, poznatky přibývají, nicméně je potřeba dalšího výzkumu v této oblasti s cílem maximalizovat benefit terapie při přijatelné míře toxicity.

LITERATURA

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33538338.
2. Dienstmann R, Salazar R, Tabernero J. Molecular Subtypes and the Evolution of Treatment Decisions in Metastatic Colorectal Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2018;38:231-238. doi: 10.1200/EDBK_200929. PMID: 30231342.
3. Popescu NC, King CR, Kraus MH. Localization of the human erbB-2 gene on normal and rearranged chromosomes 17 to bands q12.1-32. *Genomics.* 1989;4(3):362-366. doi: 10.1016/0888-7543(89)90343-1. PMID: 2565881.
4. Neve RM, Lane HA, Hynes NE. The role of overexpressed HER2 in transformation. *Ann Oncol.* 2001;12 Suppl 1:S9-13. doi: 10.1093/annonc/12.suppl_1.s9. PMID: 11521729.
5. Moasser MM. The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene.* 2007;26(45):6469-6487. doi: 10.1038/sj.onc.1210477. Epub 2007 Apr 30. PMID: 17471238; PMCID: PMC3021475.
6. Ahcene Djabballah S, Daniel F, Milani A, et al. S. HER2 in Colorectal Cancer: The Long and Winding Road From Negative Predictive Factor to Positive Actionable Target. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2022;42:1-14. doi: 10.1200/EDBK_351354. PMID: 35580290.
7. Salem ME, Weinberg BA, Xiu J, et al. Comparative molecular analyses of left-sided colon, right-sided colon, and rectal cancers. *Oncotarget.* 2017;8(49):86356-86368. doi: 10.18632/

- oncotarget.21169. PMID: 29156800; PMCID: PMC5689690.
8. Ross JS, Fakih M, Ali SM, et al. Targeting HER2 in colorectal cancer: The landscape of amplification and short variant mutations in ERBB2 and ERBB3. *Cancer.* 2018;124(7):1358-1373. doi: 10.1002/cncr.31125. Epub 2018 Jan 16. PMID: 29338072; PMCID: PMC5900732.
9. Cenaj O, Ligon AH, Hornick JL, et al. Detection of ERBB2 Amplification by Next-Generation Sequencing Predicts HER2 Expression in Colorectal Carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 2019;152(1):97-108. doi: 10.1093/ajcp/aqz031. PMID: 31115453.
10. Richman SD, Southward K, Chambers P, et al. HER2 overexpression and amplification as a potential therapeutic target in colorectal cancer: analysis of 3256 patients enrolled in the QUASAR, FOCUS and PICCOLO colorectal cancer trials. *J Pathol.* 2016;238(4):562-570. doi: 10.1002/path.4679. Epub 2016 Jan 29. PMID: 26690310; PMCID: PMC4785607.
11. Tan RYC, Camat MD, Ng M, et al. HER2 positive rates are enriched amongst colorectal cancer brain metastases: a study amongst 1920 consecutive patients. *Ann Oncol.* 2018;29(7):1598-1599. doi: 10.1093/annonc/mdy156. PMID: 29868843.
12. Chen PC, Yeh YM, Chu CT, et al. HER2 amplification in colorectal cancer with brain metastasis: A propensity score matching study. *Eur J Cancer.* 2023;181:62-69. doi: 10.1016/j.ejca.2022.12.019. Epub 2022 Dec 27. PMID: 36640475.
13. Sartore-Bianchi A, Lonardi S, Aglietta M, et al. Central Nervous System as Possible Site of Relapse in ERBB2-Positive Metastatic Colorectal Cancer: Long-term Results of Treatment With Trastuzumab and Lapatinib. *JAMA Oncol.* 2020;6(6):927-929. doi: 10.1001/jamaoncol.2020.0571. PMID:

- 32324210; PMCID: PMC7180725.
14. Valtorta E, Martino C, Sartore-Bianchi A, et al. Assessment of a HER2 scoring system for colorectal cancer: results from a validation study. *Mod Pathol.* 2015;28(11):1481-1491. doi: 10.1038/modpathol.2015.98. Epub 2015 Oct 9. PMID: 26449765.
15. Cercek A, Kimmie Ng, Strickler JH, et al. HER2 testing in colorectal cancer: Concordance analysis between breast and gastric scoring algorithms from the MOUNTAINEER trial. *JCO.* 2023;41:198-198. doi: 10.1200/JCO.2023.41.4_suppl.198.
16. Cervantes A, Adam R, Roselló S, et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2023;34(1):10-32. doi: 10.1016/j.jannonc.2022.10.003. Epub 2022 Oct 25. PMID: 36307056.
17. Raghav K, Loree JM, Morris JS, et al. Validation of HER2 Amplification as a Predictive Biomarker for Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody Therapy in Metastatic Colorectal Cancer. *JCO Precis Oncol.* 2019;3:1-13. doi: 10.1200/PO.18.00226. PMID: 35100667.
18. Sartore-Bianchi A, Amatu A, Porcu L, et al. HER2 Positivity Predicts Unresponsiveness to EGFR-Targeted Treatment in Metastatic Colorectal Cancer. *Oncologist.* 2019;24(10):1395-1402. doi: 10.1634/theoncologist.2018-0785. Epub 2019 Apr 5. PMID: 30952821; PMCID: PMC6795149.
19. Bekaii-Saab TS, Lach K, Hsu LI, et al. Impact of Anti-EGFR Therapies on HER2-Positive Metastatic Colorectal Cancer: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis of Clinical Outcomes. *Oncologist.* 2023;28(10):885-893. doi: 10.1093/oncolo/oyad200. PMID: 37463037; PMCID: PMC10546818.

20. Laurent-Puig P, Bologoun R, Cayre, A, et al. ERBB2 alterations a new prognostic biomarker in stage III colon cancer from a FOLFOX based adjuvant trial (PETACC8). *Ann. Oncol.* 2016;27(Suppl. S6):vi151.
21. Richman SD, Southward K, Chambers P, et al. HER2 overexpression and amplification as a potential therapeutic target in colorectal cancer: analysis of 3256 patients enrolled in the QUASAR, FOCUS and PICCOLO colorectal cancer trials. *J Pathol.* 2016;238(4):562-570. doi: 10.1002/path.4679. Epub 2016 Jan 29. PMID: 26690310; PMCID: PMC4785607.
22. Bertotti A, Migliardi G, Galimi F, et al. A molecularly annotated platform of patient-derived xenografts ("xenopatients") identifies HER2 as an effective therapeutic target in cetuximab-resistant colorectal cancer. *Cancer Discov.* 2011; 1(6):508-523. doi: 10.1158/2159-8290.CD-11-0109. Epub 2011 Sep 2. PMID: 22586653.
23. Sartore-Bianchi A, Trusolino L, Martino C, et al. Dual-targeted therapy with trastuzumab and lapatinib in treatment-refractory, KRAS codon 12/13 wild-type, HER2-positive metastatic colorectal cancer (HERACLES): a proof-of-concept, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(6):738-746. doi: 10.1016/S1470-2045(16)00150-9. Epub 2016 Apr 20. Erratum in: *Lancet Oncol.* 2016;17(10):e420. PMID: 27108243.
24. Tosi F, Sartore-Bianchi A, Lonardi S, et al. Long-term Clinical Outcome of Trastuzumab and Lapatinib for HER2-positive Metastatic Colorectal Cancer. *Clin Colorectal Cancer.* 2020;19(4):256-262.e2. doi: 10.1016/j.clcc.2020.06.009. Epub 2020 Jun 27. PMID: 32919890.
25. Sartore-Bianchi A, Lonardi S, Martino C, et al. Pertuzumab and trastuzumab emtansine in patients with HER2-amplified metastatic colorectal cancer: the phase II HERACLES-B trial. *ESMO Open.* 2020;5(5):e000911. doi: 10.1136/esmoopen-2020-000911. PMID: 32988996; PMCID: PMC7523198.
26. Meric-Bernstam F, Hurwitz H, Raghav KPS, et al. Pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer (MyPathway): an updated report from a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study. *Lancet Oncol.* 2019;20(4):518-530. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30904-5. Epub 2019 Mar 8. PMID: 30857956; PMCID: PMC6781620.
27. Gupta R, Meric-Bernstam F, Rothe M, et al. Pertuzumab Plus Trastuzumab in Patients With Colorectal Cancer With ERBB2 Amplification or ERBB2/3 Mutations: Results From the TAPUR Study. *JCO Precis Oncol.* 2022;6:e2200306. doi: 10.1200/PO.22.00306. PMID: 36315917.
28. Nakamura Y, Okamoto W, Kato T, et al. Circulating tumor DNA-guided treatment with pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer: a phase 2 trial. *Nat Med.* 2021;27(11):1899-1903. doi: 10.1038/s41591-021-01553-w. Epub 2021 Nov 11. PMID: 34764486; PMCID: PMC8604726.
29. Strickler JH, Cercek A, Siena S, et al. Tucatinib plus trastuzumab for chemotherapy-refractory, HER2-positive, RAS wild-type unresectable or metastatic colorectal cancer (MOUNTAINEER): a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2023;24(5):496-508. doi: 10.1016/S1470-2045(23)00150-X. PMID: 37142372.
30. Siena S, Di Bartolomeo M, Raghav K, et al. Trastuzumab deruxtecan (DS-8201) in patients with HER2-expressing metastatic colorectal cancer (DESTINY-CRC01): a multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2021;22(6):779-789. doi: 10.1016/S1470-2045(21)00086-3. Epub 2021 May 4. PMID: 33961795.
31. Yoshino T, Di Bartolomeo M, Raghav K, et al. Final results of DESTINY-CRC01 investigating trastuzumab deruxtecan in patients with HER2-expressing metastatic colorectal cancer. *Nat Commun.* 2023;14(1):3332. doi: 10.1038/s41467-023-38032-4. PMID: 37286557; PMCID: PMC10247780.
32. Raghav KPS, Siena S, Takashima A, et al. Trastuzumab deruxtecan (T-DXd) in patients (pts) with HER2-overexpressing/amplified (HER2+) metastatic colorectal cancer (mCRC): primary results from the multicenter, randomized, phase 2 DESTINY-CRC02 study. *J Clin Oncol.* 2023;41(suppl 16):3501. doi:10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.3501.