

靶向治疗染色质重塑因子*ARID1A*突变 肿瘤的分子机理

杨淑娴[#] 陈佳钰[#] 孙序序^{*} 王英^{*}

(上海交通大学医学院生物化学与分子细胞生物学系, 上海市肿瘤微环境与炎症重点实验室,
癌基因及相关基因国家重点实验室, 上海 200025)

摘要 染色质重塑因子*ARID1A*(the AT-rich interaction domain 1A)基因是肿瘤中突变率最高的基因之一, *ARID1A*突变通常导致其蛋白质表达和功能缺失, *ARID1A*突变的肿瘤细胞和小鼠模型均证明*ARID1A*突变可促进肿瘤发生发展, 提示*ARID1A*突变在肿瘤演化中的恶性作用。挖掘靶向*ARID1A*突变肿瘤细胞的治疗方式和药物靶标有助于未来靶向*ARID1A*突变肿瘤的临床药物研发, 且具有临床应用意义。该文总结了针对*ARID1A*突变肿瘤细胞的合成致死(synthetic lethality)方法和*ARID1A*突变肿瘤免疫治疗策略的分子机理和最新研究进展, 旨在为未来探索*ARID1A*突变肿瘤的临床治疗方法提供参考。

关键词 *ARID1A*; 抑癌基因; 基因突变; 免疫治疗; 合成致死

Molecular Mechanism of Targeted Therapy of Chromatin Remodeling Factor *ARID1A* Mutant Tumors

YANG Shuxian[#], CHEN Jiayu[#], SUN Xuxu^{*}, WANG Ying^{*}

(Department of Biochemistry and Molecular Cell Biology, State Key Laboratory of Oncogenes and Related Genes,
Shanghai Key Laboratory for Tumor Microenvironment and Inflammation, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine,
Shanghai 200025, China)

Abstract Chromatin remodeling factor *ARID1A* (the AT-rich interaction domain 1A) is one of the genes with the highest mutation rate in many types of tumors. *ARID1A* mutations usually lead to the loss of protein expression and function. Both tumor cells and mouse models with *ARID1A* mutation proved that *ARID1A* mutation promoted tumor development, suggesting the malignant role of *ARID1A* mutation in tumor evolution. The exploration of therapeutic methods and drug targets for *ARID1A* mutant tumor cells will contribute to the future clinical drug development targeting *ARID1A* mutant tumors, which has clinical application significance. This paper summarized the latest molecular mechanism and research progress of the synthetic lethal methods and immunotherapy strategies for *ARID1A* mutant tumors, providing reference for future clinical treatment of *ARID1A* mutant tumor.

Keywords *ARID1A*; tumor suppressor gene; gene mutation; immune therapy; synthetic lethality

收稿日期: 2021-11-15 接受日期: 2022-03-28

国家自然科学基金(批准号: 31970587)、上海交通大学医学院“大学生创新训练计划”(第十四期项目)(批准号: 1420Y022)和2021年上海市级“大学生创新训练计划”(批准号: S202110248112)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通讯作者。Tel: 021-63846590-776317, E-mail: xuxu.sun@shsmu.edu.cn; Tel: 021-63846590-778024, E-mail: wangying@shsmu.edu.cn

Received: November 15, 2021 Accepted: March 28, 2022

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31970587), the Shanghai Jiao Tong University School of Medicine “Innovative Training Program for College Students” (the 14th Project) (Grant No.1420Y022), and the 2021 Shanghai “Innovative Training Program for College Students” (Grant No.S202110248112)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding authors. Tel: +86-21-63846590-776317, E-mail: xuxu.sun@shsmu.edu.cn; Tel: +86-21-63846590-778024, E-mail: wangying@shsmu.edu.cn

ARID1A是染色质重塑SWI/SNF复合物之一BAF复合物中的重要亚基,肿瘤测序结果发现,*ARID1A*在多种肿瘤中存在突变,且在某些类型肿瘤中突变率可达50%^[1]。目前的研究数据显示,*ARID1A*作为重要的抑癌基因影响肿瘤的发生发展,*ARID1A*突变在肿瘤的形成、增殖、侵袭、转移以及细胞DNA损伤修复等方面发挥重要作用,可促进肿瘤恶性转化^[2]。能否将突变的*ARID1A*作为靶点,寻找针对*ARID1A*突变肿瘤细胞的有效治疗方式是目前的研究热点。本文将简要介绍*ARID1A*突变在肿瘤中的作用,着重从*ARID1A*突变细胞的合成致死(synthetic lethality)方法和免疫治疗策略两个方面综述相关分子机理和研究成果。

1 *ARID1A*与肿瘤

1.1 *ARID1A*的生化功能

SWI/SNF复合物是一种ATP依赖的染色质重塑复合物,含多个亚基,可以通过ATP酶催化反应供能,重塑核小体组蛋白和基因组DNA之间的包装方式,进一步改变染色质结构和染色质可接近性,从而影响转录因子(transcriptional factor)、转录共激活因子(co-activator)或转录共抑制因子(co-repressor)的结合^[3],达到调控基因表达,参与调节细胞干性、细胞分化及细胞增殖等多种细胞功能或细胞行为^[4]。*ARID1A*基因编码的BAF250a蛋白是SWI/SNF复合物的重要亚基,其ARID(AT rich interacting domain)结构域介导SWI/SNF复合物与染色质DNA结合,之后ARID1A招募并结合特定的转录因子,在RNA聚合酶II的作用下,转录因子与染色质DNA共同形成转录起始复合物,激活基因转录过程^[5]。

1.2 肿瘤中*ARID1A*突变与异常功能

肿瘤测序研究发现,在已知的人类癌症突变中,SWI/SNF染色质重塑复合物亚基的突变率约为20%,而*ARID1A*又是SWI/SNF亚基中突变最为频繁的成員之一^[6]。*ARID1A*突变率在不同人类癌症中具有很大的差异,它在卵巢透明细胞癌中的突变率为46%~57%,在子宫内膜癌中达到40%,肾癌中约为34%,胃癌中约为18.7%,膀胱癌中约为18.6%,肝癌中约为13.7%,结直肠癌中也有9.4%的突变率^[7]。*ARID1A*的突变通常会引起读码框移位或无义突变,进而造成ARID1A蛋白缺失和功能丧失^[7]。研究发现,野生型*ARID1A*在多种组织细胞中表达,与细胞干性维持、

细胞周期及细胞分化、DNA损伤修复^[8]等多种生物学过程的信号通路调控密切相关,参与细胞正常功能和稳态维持^[9-11]。*ARID1A*突变造成ARID1A蛋白缺失或缺陷,进而促进肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移。利用*ARID1A*基因敲除小鼠模型已证明*ARID1A*在多种肿瘤中具有抑癌基因作用:比如在卵巢癌和乳腺癌的相关研究中,*ARID1A*缺失会促进肿瘤形成;在肝癌模型中发现,特异性敲除小鼠肝细胞的*ARID1A*会促进肝癌转移,等等。通过分子机制研究发现,敲除*ARID1A*可改变SWI/SNF复合物功能,使染色质的构象发生变化,进而改变转录因子与下游基因转录起始位点或者基因顺式元件增强子位点的结合,使得细胞基因表达谱失调,导致PI3K/AKT通路的持续激活,促进血管生成基因表达,或者关闭肿瘤转移抑制基因表达等,最终导致细胞癌变和肿瘤转移^[12-15]。

2 针对*ARID1A*基因突变肿瘤的治疗策略

在多种肿瘤细胞和小鼠模型中,*ARID1A*已被证明具有抑癌基因的作用,而其突变则会造成细胞恶性转化、肿瘤发生发展。然而,目前还没有针对*ARID1A*突变肿瘤的临床药物,所以运用各种策略挖掘针对*ARID1A*突变肿瘤的新靶标和治疗方法是当前研究热点。针对肿瘤中特定的抑癌基因突变,通过直接恢复该抑癌基因的表达或恢复肿瘤抑制因子都较难实现对肿瘤的抑制。因此,在靶向*ARID1A*突变基因以实现肿瘤治疗的研究策略上,目前采用的方法更多集中为细胞合成致死和免疫治疗。这些分子机制和细胞方面的研究探索为*ARID1A*突变肿瘤治疗的药物研发带来了希望。

2.1 以*ARID1A*缺失为靶标的细胞合成致死的治疗策略

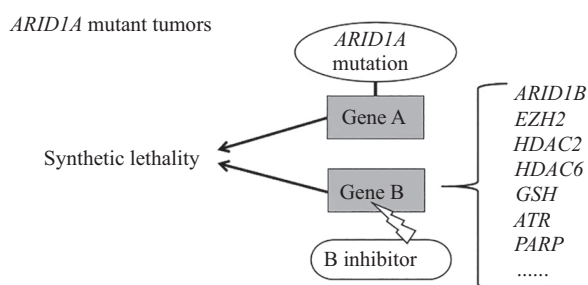
近年来,合成致死的治疗策略已被引入并用于治疗抑癌基因缺失的肿瘤。合成致死是指存在一组合成致死基因对如基因A和基因B,当其中一个基因(基因A或基因B)发生功能性缺失时细胞可以存活,但是当合成致死基因对中的两个基因(基因A和基因B)都发生功能性缺失时,细胞将被诱导死亡。根据此合成致死原理,在特定抑癌基因突变的肿瘤中,抑癌基因功能往往缺失,此时靶向抑制该抑癌基因的合成致死搭档基因可以起到抑制肿瘤生长的效果。现在针对抑癌基因合成致死搭档基因的靶向抑制剂正被用于发展肿瘤治疗的新策略,

特别是传统药物难以靶向的抑癌基因^[16]。在*ARID1A*突变肿瘤中, 寻找并靶向抑制*ARID1A*的合成致死搭档基因可能诱导肿瘤细胞死亡。目前研究发现, *ARID1A*的合成致死搭档基因主要有*ARID1B*、*EZH2*、*HDAC2*、*HDAC6*、*GSH*、*ATR*、*PARP*等, 合成致死方法或将成为靶向*ARID1A*突变肿瘤的治疗新策略(图1)^[8,16-17,20,22-24,26,29,31]。

2.1.1 ARID1B *ARID1A*和*ARID1B*是BAF复合体中相互排斥的蛋白亚基, 两者并不同时存在于同一个复合物中。在*ARID1A*缺失的情况下, 细胞中的*ARID1B*则会发挥更多功能, 促进结肠癌和卵巢透明细胞癌细胞PI3K/AKT/mTOR和ERBB受体酪氨酸激酶信号通路中增殖基因的表达^[17-18], 说明*ARID1A*缺陷导致*ARID1B*功能更加重要。而*ARID1A*或者*ARID1B*的丢失都会导致BAF复合物的分离, 并导致BAF复合物功能活性的缺陷。野生型细胞中敲除*ARID1B*不影响BAF复合物的功能, 然而*ARID1A*突变细胞中*ARID1B*的耗尽却会导致核心ATP酶催化亚基SMARCA4[又称BRG1(Brahma-related gene 1)]的分离, 并减少其他几个亚基的结合, 最终因BAF复合物解离而导致BAF复合物功能丧失^[17]。HELMING等^[17]提出在多种肿瘤中存在*ARID1A*和*ARID1B*共同突变现象, 但*ARID1B*缺失的是一条等位基因, 而另一条等位基因则保留正常表达功能, 提示*ARID1A*缺失细胞依赖于*ARID1B*并通过某种机制促进肿瘤发生。但是这种对*ARID1B*功能的依赖也提示并证明*ARID1B*可以作为分子靶点, 当利用干扰RNA敲低或者敲除细胞内*ARID1B*时, *ARID1A*缺陷的肿

瘤细胞停止生长并发生凋亡^[17], 说明了*ARID1B*可以作为合成致死搭档基因用于治疗*ARID1A*缺失突变的肿瘤。

2.1.2 EZH2 Zeste增强子同源物2(enhancer of zeste homolog 2, EZH2)是多梳蛋白抑制复合物(polycomb repressive complex, PRC)的一个催化亚基, 当该复合物聚集到染色体上时, EZH2催化组蛋白H3的第27位赖氨酸的三甲基化(trimethylation of lysine 27 of histone H3, H3K27me3), 进而阻止RNA聚合酶II的转录延伸, 抑制基因表达^[19]。2015年ZHANG^[20]和ROBERTS^[21]两个研究组分别在*Nature Medicine*上报道, 在*ARID1A*突变的卵巢癌细胞中, EZH2甲基转移酶抑制剂可以发挥合成致死作用, 卵巢癌细胞*ARID1A*突变状态与其对EZH2抑制剂的反应相关。同时, 有研究构建了卵巢透明细胞癌腹腔内异种移植小鼠模型, 并发现运用EZH2甲基转移酶抑制剂能够使得*ARID1A*突变卵巢透明细胞癌的肿瘤结节显著减少^[20]。这些研究结果都提示了EZH2抑制剂可能成为*ARID1A*突变肿瘤的有效治疗策略。研究发现这种作用的分子机制是: *ARID1A*和组蛋白甲基转移酶EZH2直接靶向作用于PI3K相互作用的蛋白1(PI3K-interacting protein 1, PIK3IP1), 在*ARID1A*突变肿瘤细胞中, EZH2抑制PIK3IP1表达, 从而解除PIK3IP1对PI3K/AKT信号的抑制作用; 而PI3K/AKT信号的激活能增强细胞生存能力^[20,22], 从而促进肿瘤细胞增殖和生长。EZH2抑制剂的使用可促进PIK3IP1表达, 抑制细胞生长, 促进细胞凋亡。ZHANG研究组^[20]发现, 利用GSK126抑制EZH2酶活性可以很好



A基因与B基因为一对合成致死基因, A基因或B基因中只有一个发生功能性缺失并不会影响细胞存活, 但是两个基因同时发生功能性缺失, 能够特异性诱导细胞死亡。根据此合成致死原理, 在*ARID1A*突变肿瘤中, 靶向抑制*ARID1A*的合成致死搭档基因可能诱导肿瘤细胞死亡。

Gene A and gene B are a pair of synthetic lethal genes. Either gene A or gene B with functional loss does not affect cell survival, however, the simultaneous occurrence of the two genes with functional loss can specifically induce cell death. According to this synthetic lethal principle, in *ARID1A* mutant tumors, targeting the synthetic lethal partner gene of *ARID1A* may induce tumor cell death.

图1 *ARID1A*突变肿瘤的合成致死疗法(根据参考文献[8,16-17,20,22-24,26,29,31]修改)

Fig1 The synthetic lethal therapy methods for *ARID1A* mutant tumor (modified from the references [8,16-17,20,22-24,26,29,31])

地抑制 *ARID1A* 突变肿瘤细胞的生长; 而 ROBERTS 研究组^[21]发现, 使用稳定表达 EZH2 的一段 alpha 螺旋短肽 (SAH-EZH2) 可诱导 EZH2 降解, 阻断 EZH2 与 PRC2 复合物的结合, 最终导致细胞死亡, 这说明通过抑制 EZH2 酶活性或者破坏 EZH2 蛋白质结构都可以有效诱导 *ARID1A* 突变细胞的合成致死。值得注意的是, 研究发现 *RAS* 通路缺陷的肿瘤细胞存活不依赖于 PRC2 复合物, 因此在 *ARID1A* 突变叠加 *KRAS*、*HRAS*、*NRAS*、*BRAF* 等突变细胞中使用 EZH2 抑制剂则没有效果^[21]。

2.1.3 HDAC2 HDAC2 的功能是在细胞核内移除组蛋白中的乙酰基团进而浓缩染色质并抑制转录。FUKUMOTO 等^[24]发现, HDAC2 是 PRC2 复合物的共抑制因子, 当 *ARID1A* 突变时, HDAC2 联合 PRC2 共同抑制靶基因 *PIK3IP1*, 促进 *ARID1A* 突变卵巢癌的细胞增殖、肿瘤发生^[23-24]。这说明 HDAC2 也类似于 EZH2, 在 *ARID1A* 突变后是细胞生存依赖因子, 抑制 HDAC2 可诱导 *ARID1A* 突变卵巢癌细胞死亡。HDAC2 的高表达往往与卵巢癌患者的不良预后紧密相关, 因此, 当把 HDAC2 作为治疗肿瘤的靶点时, *ARID1A* 突变的卵巢癌患者对 HDAC2 抑制剂更加敏感。目前 FDA 已经批准了几款 HDAC 抑制剂用于治疗血液系统恶性肿瘤, 其中 SAHA (suberoylanilide hydroxamine) 是目前研究范围最广且常用的 HDAC 抑制剂, FUKUMOTO 等^[24]研究发现, SAHA 可通过合成致死方式减轻 *ARID1A* 突变卵巢癌的肿瘤负担, 提高 *ARID1A* 突变卵巢癌小鼠的存活率。

2.1.4 HDAC6 HDAC6 主要在细胞质中对各种底物去乙酰化, 调节蛋白质转运、稳定性及活性, 进而影响如细胞形状改变和迁移等细胞行为。HDAC6 在包括卵巢癌在内的多种肿瘤中的表达水平显著增加; 针对血液系统恶性肿瘤的 HDAC6 特异性的小分子抑制剂已经被研发且目前正在开展临床试验^[24-25]。而对 *ARID1A* 缺失细胞的研究发现, *ARID1A* 突变上调 HDAC6 表达水平, 而上调的 HDAC6 进一步促进 P53 的 Lys120 的去乙酰化, Lys120 位点乙酰化是 P53 发挥引发细胞凋亡功能的重要翻译后修饰位点, 因此 *ARID1A* 突变通过上调 HDAC6 水平而抑制 P53 促凋亡功能。研究发现相对于 *ARID1A* 野生型癌细胞, *ARID1A* 突变的卵巢癌细胞系对 HDAC6 抑制剂 Ricolinostat (ACY1215) 更敏感, HDAC6 抑制剂 ACY1215 能够明显提高 *ARID1A* 突变卵巢癌小鼠的生存率^[26-27]。所以, HDAC6 可

能作为 *ARID1A* 缺失突变肿瘤治疗的潜在合成致死靶点。

2.1.5 GSH 氧化应激稳态的调节对细胞生存至关重要, 低剂量活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 能够造成氧化胁迫, 使细胞代谢改变, 适应或者促进细胞增殖, 而过高的 ROS 会造成细胞损伤和死亡。谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 是一种细胞内含量丰富的抗氧化三肽分子, 由 ATP 依赖的半胱氨酸、谷氨酸和甘氨酸的半胱氨酸连接合成酶合成^[28], 主要起到缓冲 ROS 的作用, 从而保持细胞内氧化还原平衡, 维持细胞稳态。半胱氨酸转运体蛋白 SLC7A11 将半胱氨酸供给细胞, 这是 GSH 合成的关键来源, 但 *ARID1A* 缺失会下调 *SLC7A11* 基因表达水平, 造成转运 GSH 减少, 使细胞内 GSH 含量降低, 此时进一步使用 GSH 抑制剂 APR-246 或 BSO (buthionine sulfoximine) 处理, 抑制 GSH 或 GSH 合成催化酶 GCLC 能显著下调 GSH 表达水平, 使 *ARID1A* 缺失卵巢癌或其他肿瘤细胞中 GSH 水平急剧降低, ROS 水平明显上升, 并最终引发细胞凋亡。研究表明: GCLC 或 GSH 是 *ARID1A* 缺失肿瘤中具有前景的合成致死靶点, 而作为 GCLC 抑制剂的 BSO (buthionine sulfoximine) 有望成为 *ARID1A* 突变肿瘤的有效治疗药物^[29]。

2.1.6 ATR DNA 损伤检查点激酶 ATR (ataxia telangiectasia and RAD3-related protein) 是细胞响应 DNA 损伤的中心调节者^[30]。通常情况下 DNA 双链断裂 (double strand break, DSB) 激活 DNA 损伤检查点激酶 ATR, 维持基因组的稳定性。利用 RNAi 筛选 ATR 抑制剂联用效果时发现, 干扰 *ARID1A* 的表达, 可使细胞对 ATR 抑制剂 VE-821 特异性敏感, 分子机制研究进一步发现 *ARID1A* 突变细胞发生了 TopIIA 缺陷和细胞周期障碍, 因此这类细胞的正常分裂更加依赖 ATR 介导的检查点活性, 在 *ARID1A* 突变的细胞中应用 ATR 抑制剂, 会推动细胞进入不成熟的细胞分裂期, 造成基因组不稳定和细胞凋亡。这提示 *ARID1A* 缺陷是可以使用 ATR 单一抑制剂的指示标志, 并且 ATR 可作为 *ARID1A* 突变细胞合成致死的潜在靶点^[31]。

2.1.7 PARP 除了以上直接应用 ATR 抑制剂诱导 *ARID1A* 缺陷细胞合成致死外, 研究表明: DSB 损伤招募 ARID1A 与 ATR 相互作用, ARID1A 促进 DNA DSB 末端加工产生复制蛋白 A 包被的单链 DNA, 并在响应 DSB 时维持 ATR 激活状态^[32]。*ARID1A* 缺失抑制

DSB诱导的ATR激活,造成DSB修复缺陷。多聚ADP核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)主要参与DNA单链损伤修复和细胞程序性死亡;PARP抑制剂导致DNA单链断裂修复失败,当DNA复制又在持续的DNA单链断裂修复中停止时,可能导致DSB损伤;因此PARP抑制剂对缺乏BRCA1或BRCA2这两种参与DSB修复的蛋白,或缺乏DSB断裂修复通路的其他成分的细胞具有选择性致死作用^[8]。同样,研究表明:*ARID1A*缺失细胞发生DSB时具有明显的G₂-M检查点缺陷,这可能导致细胞周期阻滞而影响DNA修复;*ARID1A*缺失也可通过抑制ATR活性、同源重组(homologous recombination, HR)以及单链退火(single-strand annealing, SSA)而破坏DSB修复。当运用PARP抑制剂时,*ARID1A*缺陷肿瘤细胞中DSB修复和单链修复均受到抑制,进而诱导肿瘤细胞死亡。体内体外实验表明,*ARID1A*缺失使得胸腺上皮细胞对PARP抑制剂奥拉帕尼、卢卡帕尼和维利帕尼更敏感,且PARP抑制剂BMN673特异性抑制免疫缺陷人源性肿瘤异种移植瘤(patient-derived xenograft, PDX)模型中的*ARID1A*缺陷肿瘤的肿瘤细胞生长。因此,PARP抑制剂的应用为*ARID1A*突变的肿瘤患者提供了一个潜在的治疗策略^[8]。

除了以上分子机制水平的研究外,目前关于*ARID1A*突变肿瘤合成致死疗法的药物和临床研究也已经取得了一些进展:FDA批准的首款EZH2抑制剂Tazemetostat(他泽司他)已于2020年1月在临床上投入使用,批准的适应症为不适用于手术切除的转移性或晚期的上皮样肉瘤;而使用该药物治疗*ARID1A*突变实体肿瘤的研究目前已经进入II期临床试验阶段(NCT05023655)。HDAC2抑制剂SAHA在血液系统肿瘤中的临床疗效已被证实,关于HDAC2和*ARID1A*的合成致死研究提示SAHA也可能成为*ARID1A*突变肿瘤药物治疗的一种新的选择。HDAC6抑制剂Ricolinostat(ACY1215)在骨髓瘤患者中被证明具有良好的耐受性^[33],这可能支持HDAC6抑制剂在未来治疗*ARID1A*突变肿瘤患者的适用性。GSH抑制剂APR-246及GSH合成催化酶GCLC抑制剂BSO(buthionine sulfoximine)也可能成为*ARID1A*突变肿瘤的有效治疗药物。ATR抑制剂M6620(VX-970)治疗*ARID1A*突变肿瘤的I期临床试验结果证明:M6620耐受性良好,同时研究者也观察到靶点参与和药物的初步抗肿瘤反应^[34];另一种ATR抑制剂VE-821也可能具有治疗前

景。PARP抑制剂奥拉帕尼、卢卡帕尼和维利帕尼作为卵巢癌的靶向治疗药物已经在临床上得到应用,*ARID1A*在卵巢癌中的高突变性及*ARID1A*和PARP的合成致死性可能提示了PARP抑制剂在*ARID1A*突变肿瘤治疗中的有效性,目前多种临床试验正在进行中。特别是,有研究表明ATR抑制剂AZD6738可以增强奥拉帕尼对胆管癌的抗肿瘤作用^[35],提示联合应用ATR抑制剂AZD6738和PARP抑制剂奥拉帕尼可能在*ARID1A*突变肿瘤中具有更好的疗效,与此相关的II期临床试验(NCT04065269)也正在进行中。以上多种药物和临床研究表明,合成致死疗法在*ARID1A*突变肿瘤的治疗中具有良好的可行性和发展性,或将为*ARID1A*突变肿瘤患者带来新的希望。

2.2 *ARID1A*突变肿瘤与免疫治疗研究

随着近年对肿瘤发生发展及免疫抵抗等机制的不断深入研究,免疫治疗被迅速引入到癌症的临床治疗实践中,免疫治疗已然成为当今肿瘤治疗研究的一大热点。其中免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitors, ICIs)的应用在肿瘤治疗中展现出了良好的前景。免疫检查点分子是免疫系统起抑制作用的调节分子,参与调节免疫细胞活性;但肿瘤细胞或肿瘤微环境中其他细胞利用了这个机制,高表达免疫检查点分子,抑制了效应T细胞的活性,从而导致肿瘤发生发展,因此应用免疫检查点抑制剂可以激活效应T细胞进而杀伤肿瘤。目前ICIs已经运用于多种肿瘤如黑色素瘤、肾癌、肺癌等的治疗中且效果较好,主要的ICIs包括抗程序性死亡受体-1(programmed cell death-1, PD-1)、程序性死亡受体配体-1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)和细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白-4(cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)等抗体^[36]。然而在其他癌症治疗中,免疫检查点阻断(immune checkpoint blockade, ICB)的客观反应率(objective response rate, ORR)仍然低于20%,表明只有少数晚期癌症患者受益于免疫检查点阻断,尽管多项临床研究显示免疫检查点阻断治疗在肿瘤患者上取得了较显著的效果,但并非所有癌症患者对免疫检查点抑制剂均敏感。为了提高免疫检查点阻断治疗的疗效,需要找出合适的生物标志物,选择出可以对ICIs产生特异性应答的患者人群。已有大量研究表明,PD-1/PD-L1表达水平、DNA损伤错配修复(mismatch repair, MMR)缺

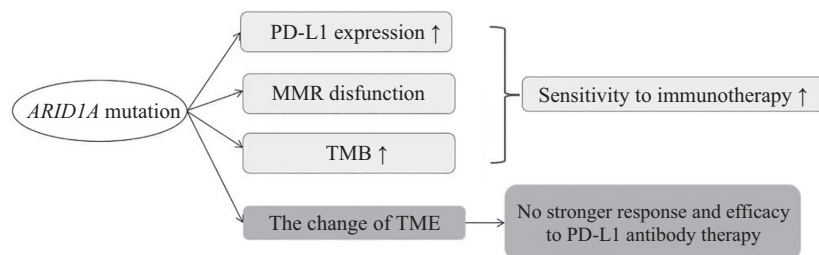
陷、肿瘤突变负荷 (tumor mutation burden, TMB) 以及特异的肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 等可作为免疫检查点抑制剂临床治疗应用的预后标志物^[40,44-47]。*ARID1A* 突变肿瘤中 PD-L1 表达上调, MMR 功能缺陷, TMB 水平升高, TME 改变, 提示 *ARID1A* 可能可以作为免疫检查点抑制剂临床治疗应用的预测标志物, 即 *ARID1A* 突变肿瘤可能对免疫检查点抑制剂更加敏感, 这些病人应用免疫检查点抑制剂可能治疗效果较好, 针对免疫微环境的研究发现^[46], *ARID1A* 突变使 TME 改变, 但这种改变并没有使肿瘤对 PD-L1 抗体治疗有更强的反应 (图2)。此外, 也有研究探索免疫检查点在 *ARID1A* 突变肿瘤中的应用^[37]。

2.2.1 *ARID1A* 突变调控 PD-1/PD-L1 通路表达及免疫应答 PD-1 及配体 PD-L1 的相互作用对控制人体免疫反应的平衡至关重要, 在生理状态下, PD-1/PD-L1 通路可以抑制 T 细胞活性, 促进 T 细胞凋亡, 最终抑制机体过度免疫激活, 保持免疫稳态。而在突变的肿瘤细胞中, 肿瘤的免疫逃避是通过过表达的 PD-L1 与 T 细胞上的 PD-1 结合, 诱导效应 T 细胞凋亡, 降低 T 细胞对肿瘤细胞的免疫杀伤作用, 从而导致肿瘤恶化的。研究证据表明, PD-L1 的上调表达与 ICB 的反应率呈正相关, 肿瘤中 PD-L1 表达水平越高, PD-L1 抗体对肿瘤的治疗效果越好^[36-37]。KIM 等^[38]对胃癌组织的研究发现, 胃癌中 *ARID1A* 失活通过激活 PI3K/AKT 信号途径增强 PD-L1 的表达, 且 PI3K 抑制剂 LY294002 能够影响该信号途径从而减弱 PD-L1 的表达; 当协同 *KRAS* 突变时, PD-L1 表达增强更显著。这些研究提示了 *ARID1A* 突变肿瘤可能对 PD-L1 抗体治疗敏感。然而, FUKUMOTO 等^[27]发现 *ARID1A* 突变的卵巢透明细胞癌可上调 CD274, 即

上调 *PD-L1* 基因表达, 但是该肿瘤对 PD-L1 抗体使用不敏感, 联用 HDAC6 抑制剂 ACY1215 与抗-PD-L1 抗体, 可有效促进杀伤性 CD8⁺T 淋巴细胞浸润, 抑制 *ARID1A* 缺失小鼠卵巢透明细胞癌肿瘤的进展。WANG 等^[39]分析 Cancer Genomic Atlas 数据库发现, *ARID1A* 突变肿瘤中 DNA 损伤检查点激酶 (check-point kinase 2, Chk2) 蛋白表达水平上调, 其分子机制是缺失 *ARID1A* 抑制了 RNF8 介导的 Chk2 蛋白质泛素化降解, 使 Chk2 蛋白更加稳定。在 *ARID1A* 突变肿瘤中, 抑制 ATM/Chk2 这条 DNA 损伤检查通路, 会导致 DNA 复制应激和细胞质内 DNA 的累积, 随后进一步激活 DNA 感受器 CGAS-STING 信号通路, 从而诱导肿瘤细胞的先天免疫反应。所以 *ARID1A* 缺陷合并 ATM/Chk2 低表达的肿瘤微环境中会有更多的细胞毒性 T 细胞被激活, 且其浸润使 ICB 对肿瘤的疗效更好, 从而使肿瘤病人拥有更长的生存时间。联用 ATM 抑制剂和 PD-L1 抗体治疗 *ARID1A* 突变肿瘤体外荷瘤小鼠时, ATM 抑制剂进一步扩大了免疫检查点抑制剂的作用, 提高了 *ARID1A* 缺陷肿瘤对于免疫治疗的敏感性^[39]。

这些研究表明当对 *ARID1A* 突变肿瘤使用 PD-L1 抗体治疗效果不明显时, 联用其他抑制剂可能扩大 *ARID1A* 突变肿瘤对免疫治疗的敏感性。但不同组织的肿瘤微环境都很复杂, 对 *ARID1A* 突变肿瘤是否应用 PD-L1 治疗以及是否联合其他抑制剂或药物治疗还需要根据深入的分子机制研究来确定。

2.2.2 *ARID1A* 突变导致的 DNA 损伤 MMR 与 TMB 提示其免疫治疗应用潜能 DNA 损伤 MMR 机制在正常和癌细胞 DNA 复制和基因重组过程中对识别和修复错配碱基起着至关重要的作用, 以保证 DNA 稳定并减少突变发生^[40]。SHEN 等^[41]研究发现, 肿瘤细胞中



PD-L1: 程序性死亡受体配体-1; MMR: 错配修复; TMB: 肿瘤突变负荷; TME: 肿瘤微环境; ↑: 升高。

PD-L1: programmed cell death-ligand 1; MMR: mismatch repair; TMB: tumor mutation burden; TME: tumor microenvironment; ↑: increase.

图2 *ARID1A* 突变肿瘤的免疫治疗 (根据参考文献 [40,44-47] 修改)

Fig2 The immunotherapy methods for *ARID1A* mutant tumor (modified from the references [40,44-47])

*ARID1A*可招募MMR蛋白MSH2至染色质进行DNA损伤修复,而*ARID1A*失活使MMR不能正常发挥功能,从而导致微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)增加,MSI是DNA修复关键蛋白MMR功能丧失后导致DNA复制错误累加的一种现象。MAO等^[42]也发现,*ARID1A*的表达与肿瘤的MMR缺陷或MSI状态相关,在子宫内膜癌中,MMR/MSI型约占*ARID1A*功能缺失肿瘤的63%,表明*ARID1A*缺失与肿瘤的MMR表达及MSI状态密切相关。

MSI增多会导致TMB增加。TMB是每百万碱基中被检测出的体细胞突变总数,TMB越高的肿瘤免疫原性越强,越可能产生新的肿瘤抗原,从而被免疫细胞识别和预警,对这类病人应用免疫治疗,更可能从中获益^[43]。TOKUNAGA等^[44]整合了7 978例结直肠癌等多个肿瘤类型患者的临床研究数据得出结论,*ARID1A*突变具有更高基因组不稳定性肿瘤特征,如较高的MSI或TMB,*ARID1A*突变肿瘤中也检测出较高的PD-L1表达水平及增多的浸润性细胞毒性T淋巴细胞数量。小鼠实验也证明,当将*ARID1A*敲除细胞系种植到小鼠上后,相对于*ARID1A*野生型细胞,*ARID1A*敲除肿瘤组织中显示出更多的T淋巴细胞浸润,使用PD-L1抗体治疗可使肿瘤缩小并延长荷瘤小鼠生存率^[41]。提示*ARID1A*突变可能是应用免疫治疗的一个潜在生物标志物,在*ARID1A*缺失或突变肿瘤中应用免疫检查点抑制剂是具有前景的肿瘤免疫治疗方式。

以上研究均证明,对*ARID1A*突变肿瘤应用免疫治疗可能有显著疗效。比如,根据临床病人队列分析发现非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中,*ARID1A*、*ARID1B*和*ARID2*突变可能与接受ICIs治疗的NSCLC患者更好的预后有关,*ARID1A*、*ARID1B*或*ARID2*突变的患者更有可能从ICIs中受益^[45]。但肿瘤微环境很复杂,针对*ARID1A*突变肿瘤的免疫治疗研究也存在相反观点的发现。ZOU等^[46]最新的研究发现,*ARID1A*缺失可下调IFN γ 及其下游分子的表达,进一步使IFN γ 诱导的淋巴细胞浸润和免疫反应减少。与其他研究有所不同,这项研究通过探究免疫微环境发现,*ARID1A*缺陷肿瘤并不能对PD-L1抗体治疗有更强的反应。同样,ALAIWI等^[47]通过对美国Dana-Farber癌症中心676个病人的数据队列以及已发表的Memorial Sloan Kettering癌症中心的数据进行分析,对七种实体瘤组织中SWI/

SNF复合物亚基缺失突变(比如*ARID1A*、*ARID1B*、*SMARCA4*、*SMARCB1*、*PBRM1*和*ARID2*等)进行综合分析得出结论:SWI/SNF亚基缺失与免疫检查点抑制剂治疗预后效果没有直接相关性,提示SWI/SNF亚基突变并不能作为使用免疫检查点抑制剂治疗的标志物。因此,*ARID1A*或者其他SWI/SNF复合物亚基突变肿瘤是否可用免疫治疗还有待未来进一步的深入研究证明。

3 总结

对于肿瘤来说,特定的基因突变会赋予肿瘤一定的特性,利用这种关联可以在分子层面对肿瘤进行分型,分子分型指导临床治疗的精准医疗成为当今肿瘤治疗的研究热点之一,而寻找合适的治疗靶点则是肿瘤精准医疗的核心。*ARID1A*作为一个抑癌基因,在正常细胞中与细胞干性调节、细胞分化及细胞增殖等多种细胞生物学行为密切相关,*ARID1A*高频突变往往造成其功能缺失,进而影响SWI/SNF复合体的正常功能,最终导致肿瘤发生,*ARID1A*在多种肿瘤中均有突变,且与肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移等肿瘤恶性行为密切相关,这些特征使得*ARID1A*可能成为一个合理的肿瘤分子治疗靶点,*ARID1A*突变肿瘤的治疗具有很大的研究前景。目前针对*ARID1A*突变肿瘤治疗的研究,主要包括寻找合成致死靶点、免疫检查点阻断治疗这两方面的研究;当然除此之外,还有其他诸如化疗联用药^[48-49]等方面的研究。这些研究为治疗*ARID1A*突变癌症提供了更多的分子理论可能,特别是抗癌治疗全新模式Tissue-Agnostic Therapies的提出,即只需根据特定的遗传学突变选择靶向药物,而不受组织病理学结果的限制;目前Tissue-Agnostic Therapies在临床肿瘤治疗上已有应用,如Pembrolizumab治疗dMMR^[50]或MSI-H的恶性肿瘤及Larotrectinib治疗*TRK*基因融合的恶性肿瘤^[51],这种全新的治疗模式,使得*ARID1A*突变肿瘤分子靶向药物的临床应用成为可能。

当然,从基础研究到临床应用,对*ARID1A*作为治疗靶点的探索还有很长的路要走,在基础研究方面,对肿瘤微环境的认识拓宽了肿瘤研究视野,但肿瘤微环境很复杂,针对*ARID1A*突变肿瘤分子机制和药物筛选研究需要更多的探索;此外,对肿瘤分子标志物的研究逐渐从一种肿瘤标志物走向一套肿瘤标志物组,*ARID1A*突变会影响到一系列其他基

因的表达,正如前文所介绍的*ARID1A*突变肿瘤的合成致死疗法和免疫检查点阻断治疗,对*ARID1A*突变肿瘤的药物筛选研究也不应只局限于*ARID1A*突变这一个影响因素,进一步深入的分子机制研究以建立*ARID1A*突变相关的肿瘤分子标志物体系或将有助于进一步的精准化个体化药物选择。在临床应用方面,目前基于分子标志物的肿瘤精准治疗主要是美国癌症研究学会提出的“篮式研究”,即研究一种靶点明确的药物对不同肿瘤的治疗效果,目前对*ARID1A*突变肿瘤药物治疗的“篮式研究”还处于早期阶段,需要更大的样本量和更多的临床试验,除此之外,通过长期的临床试验已明确:*ARID1A*突变肿瘤靶向药物治疗与预后的相关性也是肿瘤治疗临床应用中不可忽视的问题。

尽管染色质重塑因子*ARID1A*突变肿瘤分子机理的研究已为其治疗提供了理论基础,但是对于*ARID1A*突变肿瘤的分子机制、药物筛选及临床试验研究,尚需要科学家们进一步的探索。

参考文献 (References)

- [1] MATHUR R. ARID1A loss in cancer: towards a mechanistic understanding [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 190: 15-23.
- [2] WU R C, WANG T L, SHIH IE M. The emerging roles of ARID1A in tumor suppression [J]. *Cancer Biol Ther*, 2014, 15(6): 655-64.
- [3] HARGREAVES D C, CRABTREE G R. ATP-dependent chromatin remodeling: genetics, genomics and mechanisms [J]. *Cell Res*, 2011, 21(3): 396-420.
- [4] WU J I, LESSARD J, CRABTREE G R. Understanding the words of chromatin regulation [J]. *Cell*, 2009, 136(2): 200-6.
- [5] WILSON B G, ROBERTS C W. SWI/SNF nucleosome remodelers and cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(7): 481-92.
- [6] HODGES C, KIRKLAND J G, CRABTREE G R. The many roles of BAF (mSWI/SNF) and PBAF complexes in cancer [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016, 6(8): a026930.
- [7] WU J N, ROBERTS C W. ARID1A mutations in cancer: another epigenetic tumor suppressor [J]? *Cancer Discov*, 2013, 3(1): 35-43.
- [8] PARK Y, CHUI M H, SURYO RAHMANTO Y, et al. Loss of ARID1A in tumor cells renders selective vulnerability to combined ionizing radiation and PARP inhibitor therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(18): 5584-94.
- [9] GAO X, TATE P, HU P, et al. ES cell pluripotency and germ-layer formation require the SWI/SNF chromatin remodeling component BAF250a [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(18): 6656-61.
- [10] KROSL J, MAMO A, CHAGRAOUI J, et al. A mutant allele of the Swi/Snf member BAF250a determines the pool size of fetal liver hemopoietic stem cell populations [J]. *Blood*, 2010, 116(10): 1678-84.
- [11] NAGL N G, Jr, PATSIALOU A, HAINES D S, et al. The p270 (ARID1A/SMARCF1) subunit of mammalian SWI/SNF-related complexes is essential for normal cell cycle arrest [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(20): 9236-44.
- [12] SUN X, WANG S C, WEI Y, et al. Arid1a has context-dependent oncogenic and tumor suppressor functions in liver cancer [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(5): 574-89.e6.
- [13] HU C, LI W, TIAN F, et al. Arid1a regulates response to anti-angiogenic therapy in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 2018, 68(3): 465-75.
- [14] MATHUR R, ALVER B H, SAN ROMAN A K, et al. ARID1A loss impairs enhancer-mediated gene regulation and drives colon cancer in mice [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(2): 296-302.
- [15] CHANDLER R L, DAMRAUER J S, RAAB J R, et al. Co-existent ARID1A-PIK3CA mutations promote ovarian clear-cell tumorigenesis through pro-tumorigenic inflammatory cytokine signalling [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6118.
- [16] HUANG A, GARRAWAY L A, ASHWORTH A, et al. Synthetic lethality as an engine for cancer drug target discovery [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(1): 23-38.
- [17] HELMING K C, WANG X, WILSON B G, et al. ARID1B is a specific vulnerability in ARID1A-mutant cancers [J]. *Nat Med*, 2014, 20(3): 251-4.
- [18] KELSO T W R, PORTER D K, AMARAL M L, et al. Chromatin accessibility underlies synthetic lethality of SWI/SNF subunits in ARID1A-mutant cancers [J]. *eLife*, 2017, 6: e30506.
- [19] SAUVAGEAU M, SAUVAGEAU G. Polycomb group proteins: multi-faceted regulators of somatic stem cells and cancer [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(3): 299-313.
- [20] BITLER B G, AIRD K M, GARIPPOV A, et al. Synthetic lethality by targeting EZH2 methyltransferase activity in ARID1A-mutated cancers [J]. *Nat Med*, 2015, 21(3): 231-8.
- [21] KIM K H, KIM W, HOWARD T P, et al. SWI/SNF-mutant cancers depend on catalytic and non-catalytic activity of EZH2 [J]. *Nat Med*, 2015, 21(12): 1491-6.
- [22] YAMADA L, SAITO M, THAR MIN A K, et al. Selective sensitivity of EZH2 inhibitors based on synthetic lethality in ARID1A-deficient gastric cancer [J]. *Gastric Cancer*, 2021, 24(1): 60-71.
- [23] TAKAHASHI K, TAKENAKA M, OKAMOTO A, et al. Treatment strategies for ARID1A-deficient ovarian clear cell carcinoma [J]. *Cancers*, 2021, 13(8): 1769.
- [24] FUKUMOTO T, PARK P H, WU S, et al. Repurposing pan-HDAC inhibitors for ARID1A-mutated ovarian cancer [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(13): 3393-400.
- [25] BITLER B G, WU S, PARK P H, et al. ARID1A-mutated ovarian cancers depend on HDAC6 activity [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(8): 962-73.
- [26] ALTUCCI L. A key HDAC6 dependency of ARID1A-mutated ovarian cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(8): 889-90.
- [27] FUKUMOTO T, FATKHUTDINOV N, ZUNDELL J A, et al. HDAC6 inhibition synergizes with anti-PD-L1 therapy in ARID1A-inactivated ovarian cancer [J]. *Cancer Res*, 2019, 79(21): 5482-9.
- [28] BIN P, HUANG R, ZHOU X. Oxidation resistance of the sulfur amino acids: methionine and cysteine [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 9584932.
- [29] OGIWARA H, TAKAHASHI K, SASAKI M, et al. Targeting

- the vulnerability of glutathione metabolism in ARID1A-deficient cancers [J]. *Cancer Cell*, 2019, 35(2): 177-90, e8.
- [30] SULTANA R, ABDEL-FATAH T, PERRY C, et al. Ataxia telangiectasia mutated and Rad3 related (ATR) protein kinase inhibition is synthetically lethal in XRCC1 deficient ovarian cancer cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57098.
- [31] WILLIAMSON C T, MILLER R, PEMBERTON H N, et al. ATR inhibitors as a synthetic lethal therapy for tumours deficient in ARID1A [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13837.
- [32] SHEN J, PENG Y, WEI L, et al. ARID1A deficiency impairs the DNA damage checkpoint and sensitizes cells to PARP inhibitors [J]. *Cancer Discov*, 2015, 5(7): 752-67.
- [33] VOGL D T, RAJE N, JAGANNATH S, et al. Ricolinostat, the first selective histone deacetylase 6 inhibitor, in combination with bortezomib and dexamethasone for relapsed or refractory multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(13): 3307-15.
- [34] YAP T A, O'CARRIGAN B, PENNEY M S, et al. Phase I trial of first-in-class ATR inhibitor M6620 (VX-970) as monotherapy or in combination with carboplatin in patients with advanced solid tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(27): 3195-204.
- [35] NAM A R, YOON J, JIN M H, et al. ATR inhibition amplifies antitumor effects of olaparib in biliary tract cancer [J]. *Cancer Lett*, 2021, 516: 38-47.
- [36] JIANG Y, CHEN M, NIE H, et al. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: clinical implications and future considerations [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2019, 15(5): 1111-22.
- [37] HU G, TU W, YANG L, et al. ARID1A deficiency and immune checkpoint blockade therapy: from mechanisms to clinical application [J]. *Cancer Lett*, 2020, 473: 148-55.
- [38] KIM Y B, AHN J M, BAE W J, et al. Functional loss of ARID1A is tightly associated with high PD-L1 expression in gastric cancer [J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(4): 916-26.
- [39] WANG L, YANG L, WANG C, et al. Inhibition of the ATM/Chk2 axis promotes cGAS/STING signaling in ARID1A-deficient tumors [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(11): 5951-66.
- [40] LI Z, PEARLMAN A H, HSIEH P. DNA mismatch repair and the DNA damage response [J]. *DNA Repair*, 2016, 38: 94-101.
- [41] SHEN J, JU Z, ZHAO W, et al. ARID1A deficiency promotes mutability and potentiates therapeutic antitumor immunity unleashed by immune checkpoint blockade [J]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 556-62.
- [42] MAO T L, AYHAN A, KUO K T, et al. Immunohistochemical study of endometrial high-grade endometrioid carcinoma with or without a concurrent low-grade component: implications for pathogenetic and survival differences [J]. *Histopathology*, 2015, 67(4): 474-82.
- [43] RITTERHOUSE L L. Tumor mutational burden [J]. *Cancer Cytopathol*, 2019, 127(12): 735-6.
- [44] TOKUNAGA R, XIU J, GOLDBERG R M, et al. The impact of ARID1A mutation on molecular characteristics in colorectal cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2020, 140: 119-29.
- [45] ZHU G, SHI R, LI Y, et al. ARID1A, ARID1B, and ARID2 mutations serve as potential biomarkers for immune checkpoint blockade in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 670040.
- [46] LI J, WANG W, ZHANG Y, et al. Epigenetic driver mutations in ARID1A shape cancer immune phenotype and immunotherapy [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(5): 2712-26.
- [47] ABOU ALAIWI S, NASSAR A H, XIE W, et al. Mammalian SWI/SNF complex genomic alterations and immune checkpoint blockade in solid tumors [J]. *Cancer Immunol Res*, 2020, 8(8): 1075-84.
- [48] MILLER R E, BROUGH R, BAJRAMI I, et al. Synthetic lethality targeting of ARID1A-mutant ovarian clear cell tumors with dasatinib [J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(7): 1472-84.
- [49] CAI J, LIU P, HUANG H, et al. Combination of anti-PD-1 antibody with P-GEMOX as a potentially effective immunochemotherapy for advanced natural killer/T cell lymphoma [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 289.
- [50] DRILON A, LAETSCH T W, KUMMAR S, et al. Efficacy of larotrectinib in TRK fusion-positive cancers in adults and children [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(8): 731-9.
- [51] MARCUS L, LEMERY S J, KEEGAN P, et al. FDA approval summary: pembrolizumab for the treatment of microsatellite instability-high solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(13): 3753-8.