

BRAF突变的结直肠癌预后及治疗研究进展

陈 琪¹, 李瑜英²

¹青海大学, 青海 西宁

²青海大学附属医院, 青海 西宁

收稿日期: 2022年4月25日; 录用日期: 2022年5月19日; 发布日期: 2022年5月27日

摘 要

结直肠癌是发病和死亡率较高的肿瘤, 大约8%~10%的晚期结肠直肠癌(Colorectal Cancer, CRC)患者出现BRAF改变, 特别是V600E突变。并且BRAF突变(BRAF-mt)预后不良与多种因素相关, 已被确定为治疗优化的一个重要目标。目前, 治疗标准是一种涉及三联化疗和抗EGFR药物的积极策略, 但新的治疗方法正在出现。通过查阅国内外相关文献对BRAF突变结直肠癌的预后及治疗研究进展进行综述。

关键词

结直肠癌, BRAF突变, 预后, 免疫治疗

Advances in Prognosis and Treatment of Colorectal Cancer with BRAF Mutation

Qi Chen¹, Yuying Li²

¹Qingha University, Xining Qinghai

²Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining Qinghai

Received: Apr. 25th, 2022; accepted: May 19th, 2022; published: May 27th, 2022

Abstract

Colorectal cancer is a tumor with high morbidity and mortality, and approximately 8%~10% of patients with advanced colorectal cancer (CRC) have BRAF alterations, especially the V600E mutation. And BRAF mutation (BRAF-mt), with poor prognosis associated with multiple factors, has been identified as an important target for treatment optimization. Currently, the standard of care is an aggressive strategy involving triple chemotherapy and anti-EGFR drugs, but new treatments are emerging. The research progress of prognosis and treatment of BRAF-mutated colorectal cancer was reviewed by reviewing relevant domestic and foreign literatures.

Keywords

Colorectal Cancer, BRAF Mutation, Prognosis, Immunity Therapy

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

结直肠癌(Colorectal Cancer, CRC)是全球范围的消化系统常见恶性肿瘤,长期以来威胁着人民的健康,并引起了重大的经济和社会负担[1]。随着手术、放化疗的推广,分子靶向治疗技术的不断研究,新药的上市,CRC患者的生存期得到一定的延长,但是总体5年生存率仍仅为50%,长期疗效并不理想。为了延长CRC患者的生存、改善预后,探索新的诊治方法和手段,对CRC恶性进展机制的研究一直是热点。CRC的分布在全球范围有明显的差异,其在我国的发病率较高,占我国男性全身恶性肿瘤发病率的第五位,女性的第四位,但其病死率在男女性全身恶性肿瘤均为第五位[2]。近年来我国CRC患者的临床特征主要表现为,年轻化、城市化趋势、男性较为多见、直肠发病较结肠多、右半结肠癌比例逐渐上升等[3]。结直肠癌是发病和死亡率较高的肿瘤,研究发现其中部分患者中存在BRAF改变,尤其是V600E突变,而且它的存在是患者预后不良和治疗反应降低的标志[4]。本文主要就BRAFV600E突变结直肠癌的相关预后、靶向及免疫治疗进展的相关研究进行综述。

2. BRAF 基因突变与结直肠癌预后的相关分析

2.1. BRAF 基因突变与 MAPK 信号通路

BRAF基因在1988年被首次发现,研究发现人类尤因肉瘤中存在一个能够转染小鼠胚胎成纤维细胞系,即NIH3T3细胞的DNA序列,该DNA序列具有较强的活性,因其基因与A-迅速加速纤维肉瘤(Rapidly Accelerated Fibrosarcoma),RAF、C-RAF有高度同源性,故将其统称为BRAF基因[5]。BRAF属于RAF家族,RAF-家族包含3个成员,其中还有ARFA基因以及CRAF基因。BRAF基因负责编码一个传递细胞信号的RAF激酶蛋白,该蛋白属于RAS-RAF-MEK-ERK信号通路(即MAPK/ERK通路)的一部分。BRAF编码的RAF蛋白是个蛋白质单体。两个单体蛋白会聚合成一个二聚体从而发挥作用,其上游信号受EGFR、RAS等蛋白调控,下游传导至MEK蛋白,RAF激酶能通过磷酸化作用来激活其下游的MEK。从而调节细胞核内的转录、翻译等过程,具有促进细胞的生长、增殖、分化、迁移和凋亡的生理作用。BRAF基因属于致癌基因,当其发生致病性突变时,使得ERK持续性激活,从而促进了细胞侵袭和转移,致使正常细胞,转变为癌细胞[6]。而正是因为这种信号通路的存在,在临床治疗中为BRAF加MEK抑制剂的联合治疗提供思路[7]。但是实际临床应用上存在BRAF抑制剂的耐药问题,研究发现单纯抑制BRAF会导致ERK诱导的EGFR-RAS信号传导负反馈的下调,由此产生的RAS激活驱动BRAF/CRAF异二聚化和同二聚化,最终导致MEK和ERK的重新激活,再次引起细胞的恶性增殖,这一思路促进了后续联合使用BRAF/MEK/EGFR抑制剂治疗的研究[8]。

2.2. BRAF 基因突变的结直肠癌肝转移患者的预后分析

在临床上我们发现15%~25%的CRC患者确诊时已存在肝转移,而25%~50%的患者在3年内发生肝转移[9]。根据既往文献报道,BRAF突变型结直肠癌(mutant colorectal cancer, mtCRC)CRC肝转移患者出

现局限肝脏转移(Localized liver metastasis, LLD)的可能性较低(占比 28%~41%), 它们的生物学行为较差, 更易出现腹膜种植转移[10]。这种预后不良的临床特征与接受免疫检查点抑制剂治疗的其他实体瘤患者的数据一致, 包括黑色素瘤和非小细胞肺癌[11]。目前临床上肝切除仍然是 CRC 肝转移唯一可行的潜在治疗方法[12]。由于新的外科技术与更有效的诊疗方法相结合, 适合肝切除的患者数量不断增加[13][14]。肝切除患者 5 年生存率已经从 10% 上升至 50%。此外获得手术根治切除的 BRAF 突变结直肠癌肝转移(Liver metastasis of rectal cancer, CRLM)患者的生存期明显长于非手术治疗者, 但是统计数据显示, BRAF 突变的转移性结直肠癌(Metastatic colorectal cancer, mCRC)患者接受手术切除后中位无复发生存(Relapse-free survival, RFS)及总生存(overall survival, OS)均明显短于 BRAF 野生组。2019 年在 BJS 杂志上发表了一项法国多中心的匹配性研究提示, 在 158 例突变患者中, BRAF 突变组占 66.7%, BRAF 野生组占 62.3%, 两组复发率无统计学差异。随着研究的进行, 他们随访发现, 患者出现复发的情况, BRAF 野生组共 44 例对比 BRAF 突变组 114 例, 而平均值复发时间分别为 10 个月对比 11 个月, BRAF 突变组 44 例患者中有 21 例在多部位首次复发, BRAF 野生组 114 例患者中有 34 例首次复发, 此外 BRAF 突变组中, 初始复发可通过重复手术治疗的频率较低, 44 例中 12 例对比野生组 114 例中 48 例, 在 158 例经历疾病复发的患者中, BRAF 突变与复发后的 OS 显著恶化, BRAF 野生组复发后 1 年和 3 年的 OS 率分别为 76% 和 44%, 因此他们得出结论一旦出现复发后, BRAF 突变组更容易出现多器官复发, 更不容易有机会接受二次手术, 且长期生存显著差于 BRAF 野生型患者。既往研究认为, BRAF 突变型患者术后复发率高, 集中于术后第 1 年内。但是, 该研究发现, BRAF 突变并不显著增加 LLD 结直肠癌肝转移患者术后复发率, 但是 BRAF 突变对 OS 还是有显著影响。总生存时间短的原因可能与 BRAF 突变患者术后一旦出现复发, 容易出现广泛转移, 且再次接受局部治疗的机会比较少有关[10]。

2.3. BRAF 突变结直肠癌与 MSI-H 结直肠癌的预后分析

一些研究表明, BRAF 突变与 DNA 错配修复(DNA mismatch repair, MMR)缺陷型 CRC 密切相关, 这部分患者的生存期更长[15]。由于 MMR 系统存在缺陷无法修复 DNA 复制中相关的错误, 使得重复 DNA 区域(称为微卫星)中的错配突变持续存在, 最后导致了微卫星不稳定性(microsatellite instability, MSI)。研究发现在 15%~20% 的散发性 CRC 中可以观察到微卫星不稳定性的高频率(microsatellite instability-high, MSI-H) [16]。此外 MSI-H 的 CRC 患者的预后良好, 并且 BRAF 突变的 CRC 患者与 MSI-H 高度相关。那么, 所有 BRAF 突变的 CRC 患者的预后都很差吗? 不同阶段 BRAF 突变的 CRC 患者是否具有不同的预后意义和结果? 引发了许多人的思考, 给予以上问题, 国外的一项研究全面调查了 BRAF 突变型 CRC 的预后, 比较了 BRAF 突变型患者与 BRAF 野生型患者在早期(I 期和 II 期)和晚期(III 和 IV 期)的 OS, 以确定所有阶段的 BRAF 突变 CRC 患者预后影响的潜在差异。他们发现在早期患者(I 期和 II 期)中, BRAF 突变与 CIMP 阳性($P < 0.001$)和 MSI-H ($P = 0.0013$)显著相关。相比之下, 在晚期患者(III 和 IV 期)中, BRAF 突变与 CIMP 阳性($P = 0.0015$)和右侧结肠($P = 0.014$)显著相关, 但与 MSI-H 状态($P = 0.59$)无关。研究结果表明, BRAF 突变早期(I 期和 II 期) CRC 患者的 OS 与 BRAF 野生型早期 CRC 患者的 OS 差异不显著, 而 BRAF 突变晚期(III 和 IV 期) CRC 患者的 OS 显著低于 BRAF 野生型晚期 CRC 患者。这些相关分析提供了进一步的支持证据, 表明 BRAF 突变 CRC 可能进一步细分为 MSI-H 和 MSI-L, 两者具有不同的预后[15]。

3. BRAF 突变结直肠癌的治疗进展

大约 8%~10% 的结直肠癌病例中存在 BRAF 基因突变, 而其中绝大多数为 BRAF V600E 突变[17], BRAFV600E 突变的 CRC 患者预后极差, 生存期显著缩短, 并且单纯化疗对此类患者并不敏感, 强烈的三药化疗方案(FOLFOXIRI + 贝伐珠单抗)虽然提高了应答率及 PFS, 但其临床不良反应使其临床应用受

限。而 BRAF 靶向抑制剂单药治疗疗效有限, 所以 BRAFV600E 突变结直肠癌是治疗中的难点。当 BRAF 抑制剂“单点”治疗 BRAF V600E 突变结直肠癌失败时, 对 EGFR 通路的深入了解让我们意识到“从源头抓起”的重要性。既往对 BRAF V600E 突变的 mCRC 患者的长期研究涉及 MAPK 途径阻断的联合治疗已显示出希望[4]。经过长期的临床研究使得抗 EGFR + 抗 BRAF 的核心地位确立。例如“SWOG S1406”研究证实, 采用双靶(抗 EGFR 单抗 + BRAF 抑制剂)加化疗的策略, CRC 患者的无进展生存期(Progression Free Survival, PFS)、疾病控制率(Disease control rate, DCR)具有明显提高[18]。EACON 研究更新数据也印证了抗 EGFR + 抗 BRAF 的核心价值, 抗 EGFR 单抗双靶方案与三靶方案 OS 相似, 均显著优于对照组[19]。

此外, 研究已经发现 BRAF V600E 突变与微卫星不稳定性之间存在强烈关联。因此, 免疫治疗可能代表了该亚组的新治疗标准[20] [21]。MSI-H/dMMR 型结直肠癌对免疫治疗高度敏感的原因可能是患者具有更高的肿瘤突变负荷(Tumor Mutation Burden, TMB)。此外, 微卫星不稳定会产生大量的移码突变(Frameshift mutation), 导致阅读框变化, 造成下游的一系列密码子改变, 产生完全不同的肽链, 也被称为移码肽。这些移码肽作为新抗原, 具有高度的免疫原性, 引起肿瘤浸润淋巴细胞(tumor infiltrating lymphocytes, TIL)的免疫应答。由此可见, 这也是 MSI-H 肿瘤对免疫治疗敏感的原因之一[22]。

2020 年公布的 KEYNOTE-177 研究结果显示, 相较于化疗, 帕博利珠单抗作为 MSI-H 转移性结直肠癌的一线治疗方案具有显著的临床和统计学意义, 这一研究结果进一步扩大 MSI 检测在肿瘤免疫检测中的应用范围。对于非转移性不可切除的结直肠癌, 跟单纯化疗相比, 帕博利珠单抗组患者总缓解(完全或部分缓解)为 43.8% (95%CI: 35.8~52.0), 而化疗组为 33.1% (95%CI: 25.8~41.1), 完全缓解分别为 11% 和 4%, 帕博利珠单抗一线免疫治疗给 MSI-H/dMMR 的患者带来了显著的无进展生存期, PFS 由 8.2 个月延长至 16.5 个月, 此外不良反应方面, 发生 5 级不良事件的帕博利珠单抗组患者有 6 例(4%)对比化疗组 7 例(5%), 发生 3 级或以上不良事件, 帕博利珠单抗组为 33 例(22%)对比化疗 94 例(66%), 其各方面都优于单纯化疗。对于转移性结直肠癌, MSI-H/dMMR 结直肠癌患者的姑息一线、二线及三线方案: KEYNOTE177 研究表明: MSI-H/dMMR 结直肠癌患者一线使用帕博利珠单抗结果带来明显 PFS 及客观缓解率(Objective Response Rate, ORR)获益。其他小样本 II 期研究表明, 既往接受过系统治疗的 MSI-H/dMMR 的结直肠癌患者, 二线或者三线使用 PD-1 (programmed cell death protein 1, 程序性细胞死亡蛋白 1)抑制剂, 均具有较好的疗效, 客观缓解率在 31%~33%左右[23]。基于以上证据, 2021 版 CSCO 结直肠癌指南将转移灶初始不可切除转移性结肠癌的 MSI-H/dMMR 患者单列, 把帕博利珠单抗作为姑息一线治疗的 I 级推荐, PD-1 抑制剂作为姑息二线和三线治疗的 II 级推荐, 在二线和三线治疗中不限定 PD-1 抑制剂的种类。大约 52% 的 MSI-H 肿瘤出现 BRAF 突变, 并且 55% 的 BRAF 突变结直肠癌显示 MSI-H。免疫疗法, 特别是免疫检查点抑制剂(针对 PD1 及其配体 PDL1 的抗体)对几种肿瘤的治疗产生了积极影响[24] [25]。然而, 除去 MSI-H 肿瘤患者的疗效及预后, 免疫治疗的研究结果未能证明给其它 CRC 患者带来显著的益处, 但 MSI-H 的肿瘤患者除外[26]。在 CheckMate142 试验中, 119 例 MSI-H 的患者(其中 24% 例为 BRAF-mt)接受了纳武利尤单抗联合伊匹单抗治疗, 结果显示客观缓解率为 55%, ≥ 12 周的疾病控制率为 80%。证明该治疗显示出可管理的安全性[27]。因此基于以上试验结果, 纳武利尤单抗联合伊匹单抗被批准用于先前使用氟尿嘧啶、奥沙利铂和伊立替康治疗后出现进展的 MSI-H/dMMRCRC 的患者。由此我们了解到免疫治疗相对于单纯化疗能为 CRC 患者带来显著的获益。

综上所述, BRAF 基因的突变提示了 CRC 患者的不良预后, 但肿瘤精准诊治时代的到来, 为我们在 BRAF 突变的 CRC 患者上提供了更多的思路, 其中抗 EGFR + 抗 BRAF 的确立, 证实双靶或三靶治疗方案能够为患者带来更好的治疗效果。BRAF 基因突变与微卫星不稳定性之间的强相关性, 更预示着免疫治疗的可行性, 相信在未来有更多的试验数据来验证目前的理论设想, 推动医学及研究的发展。

参考文献

- [1] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., *et al.* (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **71**, 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [2] Chen, W., Xia, C., Zheng, R., *et al.* (2019) Disparities by Province, Age, and Sex in Site-Specific Cancer Burden Attributable to 23 Potentially Modifiable Risk Factors in China: A Comparative Risk Assessment. *The Lancet Global Health*, **7**, e257-e269. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30488-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30488-1)
- [3] Chen, W., Zheng, R., Baade, P.D., *et al.* (2016) Cancer Statistics in China, 2015. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, **66**, 115-132. <https://doi.org/10.3322/caac.21338>
- [4] Grothey, A., Fakih, M. and Tabernero, J. (2021) Management of BRAF-Mutant Metastatic Colorectal Cancer: A Review of Treatment Options and Evidence-Based Guidelines. *Annals of Oncology*, **32**, 959-967. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.03.206>
- [5] Tabbo, F., Pisano, C., Mazieres, J., *et al.* (2022) How Far We Have Come Targeting BRAF-Mutant Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *Cancer Treatment Reviews*, **103**, Article ID: 102335. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102335>
- [6] Dankner, M., Rose, A., Rajkumar, S., Siegel, P.M. and Watson, I. (2018) Classifying BRAF Alterations in Cancer: New Rational Therapeutic Strategies for Actionable Mutations. *Oncogene*, **37**, 3183-3199. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0171-x>
- [7] Sun, J., Carr, M.J. and Khushalani, N.I. (2020) Principles of Targeted Therapy for Melanoma. *Surgical Clinics of North America*, **100**, 175-188. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2019.09.013>
- [8] Pickles, O.J., Drozd, A., Tee, L., Beggs, A.D. and Middleton, G.W. (2020) Paradox Breaker BRAF Inhibitors Have Comparable Potency and MAPK Pathway Reactivation to Encorafenib in BRAF Mutant Colorectal Cancer. *Oncotarget*, **11**, 3188-3197. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27681>
- [9] Van Cutsem, E., Cervantes, A., Nordlinger, B. and Arnold, D. (2014) Metastatic Colorectal Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up. *Annals of Oncology*, **25**, iii1-9. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu260>
- [10] Bachet, J.B., Moreno-Lopez, N., Vigano, L., *et al.* (2019) BRAF Mutation Is Not Associated with an Increased Risk of Recurrence in Patients Undergoing Resection of Colorectal Liver Metastases. *British Journal of Surgery*, **106**, 1237-1247. <https://doi.org/10.1002/bjs.11180>
- [11] Tume, P.C., Hellmann, M.D., Hamid, O., *et al.* (2017) Liver Metastasis and Treatment Outcome with Anti-PD-1 Monoclonal Antibody in Patients with Melanoma and NSCLC. *Cancer Immunology Research*, **5**, 417-424. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0325>
- [12] Bouvriez, N., Lakkis, Z., Lubrano, J., *et al.* (2014) Liver Resection for Colorectal Metastases: Results and Prognostic Factors with 10-Year Follow-Up. *Langenbeck's Archives of Surgery*, **399**, 1031-1038. <https://doi.org/10.1007/s00423-014-1229-z>
- [13] Primrose, J.N. (2010) Surgery for Colorectal Liver Metastases. *British Journal of Cancer*, **102**, 1313-1318. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605659>
- [14] Kopetz, S., Chang, G.J., Overman, M.J., *et al.* (2009) Improved Survival in Metastatic Colorectal Cancer Is Associated with Adoption of Hepatic Resection and Improved Chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, **27**, 3677-3683. <https://doi.org/10.1200/JCO.2008.20.5278>
- [15] Chen, K.H., Lin, Y.L., Liau, J.Y., *et al.* (2016) BRAF Mutation May Have Different Prognostic Implications in Early- and Late-Stage Colorectal Cancer. *Medical Oncology*, **33**, 39. <https://doi.org/10.1007/s12032-016-0756-6>
- [16] Poulgiannis, G., Frayling, I.M. and Arends, M.J. (2010) DNA Mismatch Repair Deficiency in Sporadic Colorectal Cancer and Lynch Syndrome. *Histopathology*, **56**, 167-179. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2009.03392.x>
- [17] Chang, X.N., Shang, F.M., Jiang, H.Y., *et al.* (2021) Clinicopathological Features and Prognostic Value of KRAS/NRAS/BRAF Mutations in Colorectal Cancer Patients of Central China. *Current Medical Science*, **41**, 118-126. <https://doi.org/10.1007/s11596-021-2326-1>
- [18] Kopetz, S., Guthrie, K.A., Morris, V.K., *et al.* (2021) Randomized Trial of Irinotecan and Cetuximab with or without Vemurafenib in BRAF-Mutant Metastatic Colorectal Cancer (SWOG S1406). *Journal of Clinical Oncology*, **39**, 285-294. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.01994>
- [19] Tabernero, J., Grothey, A., Van Cutsem, E., *et al.* (2021) Encorafenib plus Cetuximab as a New Standard of Care for Previously Treated BRAF V600E-Mutant Metastatic Colorectal Cancer: Updated Survival Results and Subgroup Analyses from the BEACON Study. *Journal of Clinical Oncology*, **39**, 273-284. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.02088>
- [20] Weisenberger, D.J., Siegmund, K.D., Campan, M., *et al.* (2006) CpG Island Methylator Phenotype Underlies Sporadic Microsatellite Instability and Is Tightly Associated with BRAF Mutation in Colorectal Cancer. *Nature Genetics*, **38**,

- 787-793. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.02088>
- [21] Le, D., Kim, T.W., Van Cutsem, E., *et al.* (2020) Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *Journal of Clinical Oncology*, **38**, 11-19. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.02107>
- [22] Jang, M.H., Kim, S., Hwang, D.Y., *et al.* (2017) BRAF-Mutated Colorectal Cancer Exhibits Distinct Clinicopathological Features from Wild-Type BRAF-Expressing Cancer Independent of the Microsatellite Instability Status. *Journal of Korean Medical Science*, **32**, 38-46. <https://doi.org/10.3346/jkms.2017.32.1.38>
- [23] Andre, T., Shiu, K.K., Kim, T.W., *et al.* (2020) Pembrolizumab in Microsatellite-Instability-High Advanced Colorectal Cancer. *The New England Journal of Medicine*, **383**, 2207-2218. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2017699>
- [24] Schadendorf, D., Hodi, F.S., Robert, C., *et al.* (2015) Pooled Analysis of Long-Term Survival Data from Phase II and Phase III Trials of Ipilimumab in Unresectable or Metastatic Melanoma. *Journal of Clinical Oncology*, **33**, 1889-1894. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.56.2736>
- [25] Reck, M., Rodriguez-Abreu, D., Robinson, A.G., *et al.* (2016) Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine*, **375**, 1823-1833. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1606774>
- [26] Grassi, E., Corbelli, J., Papiani, G., Barbera, M.A., Gazzaneo, F. and Tamberi, S. (2021) Current Therapeutic Strategies in BRAF-Mutant Metastatic Colorectal Cancer. *Frontiers in Oncology*, **11**, Article ID: 601722. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.601722>
- [27] Overman, M.J., Lonardi, S., Wong, K., *et al.* (2018) Durable Clinical Benefit with Nivolumab plus Ipilimumab in DNA Mismatch Repair-Deficient/Microsatellite Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **36**, 773-779. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.76.9901>