

免疫检查点抑制剂在治疗原发性肝癌中的研究进展

刘 军¹, 李金昊², 龚建平^{2*}

¹重庆市璧山区第二人民医院普外科, 重庆

²重庆医科大学附属第二医院肝胆外科, 重庆

收稿日期: 2022年3月24日; 录用日期: 2022年4月18日; 发布日期: 2022年4月27日

摘 要

原发性肝癌是全球癌症相关性死亡的重要原因, 其往往起病隐匿, 发现时已发展至疾病中晚期。传统的靶向药物常常不能满足肝癌患者的临床需求, 近年来, 肿瘤免疫微环境受到越来越多的关注, 免疫检查点抑制剂的出现, 带给肝癌患者新的治疗选择。因此, 国内外众多学者纷纷开始研究免疫检查点抑制剂的临床获益, 相关的临床研究结果也给人以极大的鼓舞。因此, 本文将对免疫检查点抑制剂的作用机制及其临床研究进展作一综述。

关键词

原发性肝癌, 免疫治疗, 程序性细胞死亡蛋白-1, 细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4

Research Progress of Immune Checkpoint Inhibitors in the Treatment of Primary Liver Cancer

Jun Liu¹, Jinhao Li², Jianping Gong^{2*}

¹General Surgery, Second People's Hospital of Bishan District, Chongqing

²Hepatobiliary Surgery, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Mar. 24th, 2022; accepted: Apr. 18th, 2022; published: Apr. 27th, 2022

Abstract

Primary liver cancer is an important cause of cancer-related death worldwide, and its onset is of-

*通讯作者。

文章引用: 刘军, 李金昊, 龚建平. 免疫检查点抑制剂在治疗原发性肝癌中的研究进展[J]. 临床医学进展, 2022, 12(4): 3360-3366. DOI: 10.12677/acm.2022.124486

ten insidious, and it has progressed to the middle and late stages of the disease when it is detected. Traditional targeted drugs often cannot meet the clinical needs of liver cancer patients. In recent years, the tumor immune microenvironment has received more and more attention. The emergence of immune checkpoint inhibitors has brought new treatment options for liver cancer patients. Therefore, many scholars at home and abroad have begun to study the clinical benefits of immune checkpoint inhibitors, and the relevant clinical research results are also very encouraging. Therefore, this article will review the mechanism of action of immune checkpoint inhibitors and their clinical research progress.

Keywords

Primary Liver Cancer, Immunity Therapy, PD-1, CTLA-4

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

原发性肝癌是世界上最常见的癌症之一，同时也在癌症相关性死亡常见原因中排名第二。世界上发病率最高的是非洲和亚洲。蒙古的发病率最高，平均每 10 万人就有 93.7 例，由于发病率较高(每 10 万人中有 18.3 例)和世界上最大的人口(14 亿人)，因此中国的病例数最多。乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、酒精、代谢综合征、糖尿病、肥胖、非酒精性脂肪肝、黄曲霉毒素，吸烟、饮食习惯、遗传敏感性都是肝癌发病的危险因素[1]。原发性肝癌的发病分子机制复杂，涉及多种分子故障，如细胞周期失调、DNA 甲基化改变、染色体不稳定、免疫调节、上皮-间充质转化、HCC 干细胞增加和 microRNA (miRNA) 失衡。其疾病发展的顺序通常是肝损伤、慢性炎症、纤维化、肝硬化，最后是原发性肝癌[2]。肝癌的治疗一直是全球医疗卫生保健领域的热点和关键问题。肝癌的传统治疗包括手术切除、肝移植、经导管动脉化疗栓塞(TACE)、射频消融(RAF)、全身治疗。但晚期肝癌仅限于全身治疗[3]。全身治疗包括细胞毒性化疗(如 FOLFOX4 方案：氟尿嘧啶、亚叶酸钙、奥沙利铂)，索拉非尼等靶向药物治疗以及免疫治疗。

过去，化疗药物在治疗晚期原发性肝癌方面并没有表现出显著的疗效，尤其是在局部治疗后发生进展的情况下[4]。在靶向药物治疗方面，索拉非尼是近十年来唯一一种提高接受一线姑息治疗患者总生存期(OS)的药物。然而，使用酪氨酸酶抑制剂的肝癌患者(child-pugh A 级)的中位生存期(mOS)仅为 1 年左右[5][6]。免疫治疗是原发性肝癌系统治疗的最新突破，免疫检查点抑制剂(ICI)治疗，尤其是对程序性细胞死亡受体-1 (programmed cell death-1)/程序性细胞死亡配体-1 (programmed cell death ligand-1)途径的抗体治疗，是近十年来肿瘤药物研究和开发的重大突破，抗程序性细胞死亡-1 受体或抗程序性细胞死亡配体-1 的单药治疗方法因其拥有良好的无进展生存期(FPS)和总生存期(OS)而被批准用于许多癌症类型的治疗[7]。大多数第三阶段的临床试验已经取得了重大突破，不仅在单药 Nivolumab、Pembrolizumab 和 Tislelizumab 的治疗方面，而且在与细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4)抗体的联合治疗上也是如此。近年来的一项三期试验中，在原发性肝癌患者的治疗中，阿替利珠单抗联合贝伐单抗比索拉非尼具有更好的无进展生存期和总生存期[8]。

免疫治疗已成为肿瘤治疗不可替代的手段，因此，免疫检查点相关抑制剂在原发性肝癌治疗中的作用机制及现阶段相关研究进展将在下面进行综述。

2. 肿瘤与免疫微环境

2.1. 肿瘤微环境

癌症的进展与免疫系统的损伤密切相关。肿瘤细胞可以对免疫系统的机制产生抵抗,并且能不受控制的进展。免疫编辑理论认为,肿瘤细胞免疫应答过程中的最后阶段逃逸,这个过程即是由消除、平衡和逃逸三个阶段组成。同时,这三个阶段也构成了对肿瘤细胞的免疫监视。在第一阶段,即是免疫机制杀死并清楚肿瘤细胞。在第二阶段,肿瘤细胞和免疫系统处于动态平衡状态,这个阶段正在控制肿瘤的进展。最后,逃逸是肿瘤细胞进展点。大量的免疫抑制机制被触发。免疫强度减弱,肿瘤从而可以进展[9]。

肝脏是一个“耐受性”器官,可以刺激其免疫反应,防止有害病原体攻击和肿瘤发生。然而,作为一种典型的炎症相关性肿瘤,免疫逃避是肝癌发生和发展过程中的特征性变化之一[10]。免疫原的减少会引起肿瘤逃逸,体内许多的免疫抑制更是引起肿瘤逃逸的关键机制,包括免疫抑制细胞群的聚集、抗原呈递缺陷和各种抑制受体-配体途径的激活,这将促进恶性肿瘤的进展[11]。肿瘤微环境是一个巨大的动态系统,由癌细胞、复杂的细胞因子环境、细胞外基质、免疫细胞亚群等组成。在这种复杂的环境中,不同的免疫抑制细胞亚群、分泌物和信号在促进肿瘤逃逸中发挥着关键作用。

局部免疫模式影响着患者对免疫检查点抑制剂的治疗反应。肝炎病毒感染或脂肪变性引起的慢性肝脏炎症通常是原发性肝癌的前兆。在肝癌发生过程中,免疫细胞(如细胞毒性 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞、NK 细胞)的普遍增殖从根本上改变了免疫模式。但这些免疫细胞通常会被耗尽。相反,在原发性肝癌中发现了免疫抑制细胞的增加,如调节性 B 细胞、调节性 T 细胞、骨髓源性抑制细胞(MDSC)和肿瘤相关的巨噬细胞(TAM) [12]。这种免疫细胞比例失衡正是肝脏肿瘤微环境的典型特征。其中,肿瘤相关的巨噬细胞(TAMs)、骨髓来源的抑制细胞(MDSCs)、肿瘤相关的中性粒细胞(TANs)、癌症相关的成纤维细胞(CAFs)和调节性 T 细胞(Treg)是肿瘤微环境的关键组成部分,同时,这些免疫细胞相互作用,导致了肿瘤免疫逃逸,促进了肝癌的生长和进展。免疫细胞的分化、成熟和发挥功能需要细胞因子和化学因子的参与和调节,以及相关受体和配体的联合作用。所有因素共同作用,形成了肿瘤微环境[13]。近年来,一些研究报告指出,识别肿瘤微环境中的特征性分子标记物有助于预测肝癌患者的预后。评估整个肿瘤免疫肿瘤微环境是关键一步,有研究指出,单区域肿瘤标本和利用单细胞测序平台是可靠的方法[14][15],因此,掌握免疫微环境对于进一步了解肝癌进展机制显得非常重要。

2.2. 免疫检查点抑制剂

免疫检查点就是免疫细胞表面表达抑制信号的分子,如抗细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 和程序性细胞死亡受体-1。肿瘤的免疫治疗就是通过增强和恢复机体自身免疫系统的监视和杀伤能力,纠正肿瘤微环境中免疫细胞失衡,进而杀死肿瘤细胞。免疫抑制是通过两组活动,免疫刺激和免疫调节的相互竞争和作用来实现和维持的[16]。程序性细胞死亡-1 受体是一种细胞表面受体,属于 CD28 受体家族的一员,它在 T 细胞和 B 细胞表面很常见,负责调节 T 细胞功能障碍、衰竭和耐受。细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 是一种跨膜蛋白,是 CD28 家族的成员。该分子在多种激活的免疫细胞表面表达,包括 T 细胞、NK 细胞、iNKT 细胞和 B 细胞。它与 CD80/CD86 结合产生抑制信号[17]。免疫细胞必须对不同的免疫威胁做出合适的免疫反应,以及对组织损伤和自身免疫的做出自我反应。因此,免疫检查点被广泛地描述为严格调节免疫系统激活的抑制途径。这些分子“刹车”主要参与维持免疫自我耐受,是避免自身免疫和组织损伤的关键[18]。许多研究认为,CTLA-4 是免疫检查点抑制反应的领导者,因为它以较高的亲和力结合 CD80 和 CD86,在 T 细胞激活的初始阶段与 CD28 竞争,从而阻止潜在的自身反应性 T 细胞,诱导

T 细胞功能抑制[19]。而 PD-1 是在免疫反应的后期通过调节先前激活的 T 细胞。PD-1 有两个配体, 程序性死亡配体-1 (PD-L1), 程序性死亡配体 2 (PD-L2), 其基因表达因细胞类型和激活状态而异。PD-L2 的亲和力是 PD-L1 的三倍, 主要在树突状细胞、B 细胞、巨噬细胞和单核细胞上表达。而 PD-L1 可在肿瘤细胞、抗原提呈细胞、T 淋巴细胞、内皮细胞和成纤维细胞上表达[20]。PD-1 主要通过上述配体 PD-L1 和 PD-L2 相互作用来调节 T 细胞的活化。然而, PD-1/PD-L1 通路可能参与获得性癌症的免疫适应机制, 我们可以利用这些信息作为一个指标来评估身体防御机制的抵抗力, 阻断肿瘤转导通路以在 PD-1 过度表达的肝癌患者中取得更好的治疗效果。这种有效性已得到证实。研究发现, 抑制 PD-1/PDL1 功能有助于 T 淋巴细胞功能的恢复[21]。

2.3. 肿瘤微环境中的免疫检查点

肿瘤微环境中免疫检查点的上调有利于肿瘤生长, 抑制 T 细胞反应。免疫检查点在功能障碍和耗竭的 CD8+ T 细胞上高度表达, 这些细胞的特征为效应功能障碍和增殖降低[22]。另一方面, 肿瘤微环境中免疫检查点的表达和调节可能取决于多种因素, 包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰、miRNA 和 lncRNA 等等。据报道, 阻断 PD-1 可上调其他检查点, 包括 TIGIT、TIM-3、LAG-3 和 CTLA-4, 在许多肿瘤环境中作为免疫抑制代偿机制[23]。相关领域的问题还待进一步研究。目前, 阻断细胞毒性 T 淋巴细胞抗原-4 (CTLA-4)和 CD80/86 之间的相互作用, 以及程序性细胞死亡受体-1 (PD-1)和 PD-L1/2 之间的相互作用, 是免疫检查点抑制剂中最重要和有效的治疗策略。接下来, 本文将总结近年来免疫检查点抑制剂对肿瘤患者的临床治疗效果。

3. 阻断免疫检查点成为治疗晚期肝癌的新方法

免疫治疗已成为肝癌治疗方法中一个新的、有价值的方向。近年来, 程序性细胞死亡受体-1、程序性细胞死亡配体-1 和细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 的抑制剂受到众多临床试验的青睐。

3.1. PD-1 抑制剂

考虑到 PD-1/PD-L1 通路在促进癌症中的重要作用, 在这种情况下, 国内外学者们将视野瞄准在了不良反应小与应答率高的免疫治疗上。近十年左右, 与之相关的试验数不胜数, 大多均取得了较为理想的结果。在免疫检查点抑制剂中, 特别是 PD-1 抑制剂中, Nivolumab 与 Pembrolizumab 已能延长部分恶性肿瘤患者的总生存时间。因此接下来将分别介绍这两种免疫检查点抑制剂的相关试验及进展情况。

3.1.1. Nivolumab

Nivolumab 属于人 IgG4a 抗体的一种, 2014 年被美国食品和药物管理局(FDA, USA)批准用于晚期或不可切除皮肤黑色素瘤患者的单一治疗方法。Nivolumab 可靶向结合 PD-1, 干扰免疫检查点的抑制功能, 恢复免疫细胞对抗肿瘤细胞的功能[24]。在 CheckMate-040 中, 评估了 Nivolumab 的单一疗法在晚期原发性肝癌患者中的有效性与安全性。这项 I/II 期试验研究包含了两个阶段, 在第一阶段, 剂量递增阶段中, 共研究了 48 名患者, 其客观缓解率(ORR)为 15%, 其中有 3 名完全缓解的患者(CR)和 4 名部分缓解的患者(PR), 疾病控制率(DCR)为 58%, 中位疾病进展时间(mTTP)为 3.4 个月, 中位总生存期(mOS)为 15 个月。在下一阶段, 也就是剂量放大的阶段, 一共研究了 214 位患者, 其中中位总生存期(mOS)达 17 个月, 在该组中, 有 68%曾接受过索拉非尼治疗, 结果客观缓解率(ORR)达 20%, 包括 3 例完全缓解(CR)和 39 例部分缓解(PR), 中位反应持续时间(mDOR)为 9.9 个月, 疾病控制率(DCR)达到 64%, 中位疾病进展时间(mTTP)为 4.1 个月, 总生存时间(OS)达到 9 个月的患者占比 74% [25]。因 CheckMate-040 良好的成绩, 推动了 CheckMate-459 的进行。这是一项 III 期临床试验, 其在接受 Nivolumab 和接受索拉非尼的患者之

间展开了对比,总生存时间是其主要终点,结果显示:在接受索拉非尼治疗后发生进展时调整为 Nivolumab 的患者的总生存时间为 28.6 个月,而接受索拉非尼单一治疗的患者总生存时间为 15 个月[26]。这样良好的结果直接导致了美国食品药品监督管理局(FDA)批准了 Nivolumab 作为晚期肝癌全身治疗的二线药物,许多相关实验也随之在国内外主要医院广泛开展。

3.1.2. Pembrolizumab

Pembrolizumab 同 Nivolumab 一样,也属于 IgG4a 类。KEYNOTE-224 (phase II, n = 104)中,评估对象为已行索拉非尼治疗过的晚期原发性肝癌患者,疾病控制率(DCR)为 61%。客观缓解率(ORR)为 17%。无进展生存期(PFS)均为 4.9 个月,中位总生存期(mOS)为 12.9 个月。在这项 II 期试验中,Pembrolizumab 显示出了良好的临床疗效和可控的安全性[27]。在 KEYNOTE-240 (III 期, n = 413)研究中,Pembrolizumab 与安慰剂进行了比较,但无进展生存期(13.9 vs. 10.6 月)和总生存期(3.0 vs. 2.8 月)却未达到统计学意义,最终结果与 KEYNOTE-224 相同,Pembrolizumab 被认为在该人群中有良好的风险收益比[28]。

3.2. PD-L1 与 CTLA-4 抑制剂

Durvalumab 与 Tremelimumab

Durvalumab 是一种 PD-L1 (CD274)分子的人 IgG1 单克隆抗体,也是一种普遍在树突状细胞和巨噬细胞上表达的跨膜蛋白。此外,PD-L1 也可以在肿瘤细胞表面表达。在肿瘤微环境中,PD-1、PD-L1 互相配合发挥生物效应抑制 T 细胞功能,从而降低对肿瘤细胞免疫攻击的可能性[29] [30]。Tremelimumab 是一种针对细胞毒性 T 淋巴细胞抗原-4 (CTLA-4)的全人源性单克隆抗体,已成功用于治疗转移性黑色素瘤和其他一些癌症。一项 I/II 期研究评估了 Tremelimumab 和 Durvalumab 分别作为单一疗法和联合疗法,用于不可切除的肝癌患者。这项实验共纳入 322 位患者。其中,无论是单一疗法还是联合疗法,均具有可耐受性与临床活性。其中 T300 + D 组(Tremelimumab 300 mg + Durvalumab 1500 mg)客观缓解率为 24.0%,中位生存期达 18.7 个月,CD8+淋巴细胞增殖水平以该组最高。在本试验中,T300 + D 组显示出令人鼓舞的收益-风险曲线,其相关联合治疗还需要进一步持续研究[31]。

4. 总结与展望

近年来,肿瘤相关的免疫机制及其相关的治疗方案逐渐进入人们的视野,国内外众多的基础研究及临床报告都展现出了预期的结果,免疫治疗已成为肝癌患者系统治疗中不可或缺的一环。肿瘤的进展与其微环境密切相关,因此,通过医学介入干预肿瘤微环境,影响相关基因信号传导通路,将成为遏制肿瘤发生发展的重要手段。在未来,将发现更多的免疫检查点及免疫细胞亚型,这也将为肝癌患者带来更多益处。

参考文献

- [1] McGlynn, K.A., Petrick, J.L. and El-Serag, H.B. (2021) Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology*, **73**, 4-13. <https://doi.org/10.1002/hep.31288>
- [2] Chidambaranathan-Reghupaty, S., Fisher, P.B. and Sarkar, D. (2021) Hepatocellular Carcinoma (HCC). Epidemiology, Etiology and Molecular Classification. *Advances in Cancer Research*, **149**, 1-61. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2020.10.001>
- [3] Forner, A., Reig, M. and Bruix, J. (2021) Hepatocellular Carcinoma. *The Lancet*, **391**, 1301-1314. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)30010-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)30010-2)
- [4] Le Grazier, M., Biagini, M.R., Tarocchi, M., Polvani, S. and Galli, A. (2017) Chemotherapy for Hepatocellular Carcinoma. The Present and the Future. *World Journal of Hepatology*, **9**, 907-920. <https://doi.org/10.4254/wjh.v9.i21.907>
- [5] Rizell, M., Sternby Eilard, M., Andersson, M., Andersson, B., Karlsson-Parra, A. and Suenart, P. (2019) Phase 1 Trial

- with the Cell-Based Immune Primer Ilixadencel, Alone, and Combined With Sorafenib, in Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Frontiers in Oncology*, **9**, Article No. 19. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00019>
- [6] Bruix, J., Chan, S.L., Galle, P.R., Rimassa, L. and Sangro, B. (2021) Systemic Treatment of Hepatocellular Carcinoma. An EASL Position Paper. *Journal of Hepatology*, **75**, 960-974. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2021.07.004>
 - [7] Cheng, A.L., Hsu, C., Chan, S.L., Choo, S.P. and Kudo, M. (2020) Challenges of Combination Therapy with Immune Checkpoint Inhibitors for Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Hepatology*, **72**, 307-319. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.09.025>
 - [8] Kudo, M., Ueshima, K., Yokosuka, O., Ogasawara, S., Obi, S., Izumi, N., *et al.* (2018) Sorafenib Plus Low-Dose Cisplatin and Fluorouracil Hepatic Arterial Infusion Chemotherapy versus Sorafenib alone in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma (SILIUS): A Randomised, Open Label, Phase 3 Trial. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, **3**, 424-432. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(18\)30078-5](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(18)30078-5)
 - [9] Swann, J.B. and Smyth, M.J. (2007) Immune Surveillance of Tumors. *Journal of Clinical Investigation*, **117**, 1137-1146. <https://doi.org/10.1172/JCI31405>
 - [10] Shlomai, A., de Jong, Y.P. and Rice, C.M. (2014) Virus Associated Malignancies. The Role of Viral Hepatitis in Hepatocellular Carcinoma. *Seminars in Cancer Biology*, **26**, 78-88. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2014.01.004>
 - [11] Hato, T., Goyal, L., Greten, T.F., Duda, D.G. and Zhu, A.X. (2014) Immune Checkpoint Blockade in Hepatocellular Carcinoma. Current Progress and Future Directions. *Hepatology*, **60**, 1776-1782. <https://doi.org/10.1002/hep.27246>
 - [12] Ruf, B., Heinrich, B. and Greten, T.F. (2021) Immunobiology and Immunotherapy of HCC. Spotlight on Innate and Innate-Like Immune Cells. *Cellular & Molecular Immunology*, **18**, 112-127. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00572-w>
 - [13] Lu, C., Rong, D., Zhang, B., Zheng, W., Wang, X., Chen, Z., *et al.* (2019) Current Perspectives on the Immunosuppressive Tumor Microenvironment in Hepatocellular Carcinoma: Challenges and Opportunities. *Molecular Cancer*, **18**, Article No. 130. <https://doi.org/10.1186/s12943-019-1047-6>
 - [14] Shen, Y.C., Hsu, C.L., Jeng, Y.M., Ho, M.C., Ho, C.M., Yeh, C.P., *et al.* (2020) Reliability of a Single-Region Sample to Evaluate Tumor Immune Microenvironment in Hepatocellular Carcinoma. *Journal of Hepatology*, **72**, 489-497. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.09.032>
 - [15] Kim, E. and Viatour, P. (2020) Hepatocellular Carcinoma: Old Friends and New Tricks. *Experimental & Molecular Medicine*, **52**, 1898-1907. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-00527-1>
 - [16] Zhai, Y., Moosavi, R. and Chen, M. (2021) Immune Checkpoints, a Novel Class of Therapeutic Targets for Autoimmune Diseases. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article ID: 645699. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.645699>
 - [17] Pisibon, C., Ouertani, A., Bertolotto, C., Ballotti, R. and Cheli, Y. (2021) Immune Checkpoints in Cancers: From Signaling to the Clinic. *Cancers*, **13**, Article No. 4573. <https://doi.org/10.3390/cancers13184573>
 - [18] Jacquelot, N., Ghaedi, M., Warner, K., Chung, D.C., Crome, S.Q. and Ohashi, P.S. (2021) Immune Checkpoints and Innate Lymphoid Cells-New Avenues for Cancer Immunotherapy. *Cancers*, **13**, Article No. 5967. <https://doi.org/10.3390/cancers13235967>
 - [19] Jansson, A., Barnes, E., Klenerman, P., Harlén, M., Sørensen, P., Davis, S.J., *et al.* (2005) A Theoretical Framework for Quantitative Analysis of the Molecular Basis of Costimulation. *The Journal of Immunology*, **175**, 1575-1585. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.3.1575>
 - [20] Zou, W., Wolchok, J.D. and Chen, L. (2016) PD-L1 (B7-H1) and PD-1 Pathway Blockade for Cancer Therapy: Mechanisms, Response Biomarkers, and Combinations. *Science Translational Medicine*, **8**, 328rv4. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aad7118>
 - [21] Zhou, Q., Xiao, H., Liu, Y., Peng, Y., Hong, Y., Yagita, H., *et al.* (2010) Blockade of Programmed Death-1 Pathway Rescues the Effector Function of Tumor-Infiltrating T Cells and Enhances the Antitumor Efficacy of Lentivector Immunization. *The Journal of Immunology*, **185**, 5082-5092. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001821>
 - [22] Anderson, A.C., Joller, N. and Kuchroo, V.K. (2016) Lag-3, Tim-3, and TIGIT: Co-Inhibitory Receptors with Specialized Functions in Immune Regulation. *Immunity*, **44**, 989-1004. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2016.05.001>
 - [23] Toor, S.M., Sasidharan Nair, V., Decock, J. and Elkord, E. (2020) Immune Checkpoints in the Tumor Microenvironment. *Seminars in Cancer Biology*, **65**, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.06.021>
 - [24] Crocenzi, T., Meyer, T., Melero, I., Yau, T., Hsu, C., Kudo, M., *et al.* (2018) Tu1483-Hepatic Safety and Biomarker Assessments in Sorafenib experienced Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma Treated with Nivolumab in the Checkmate-040 Study. *Gastroenterology*, **154**, S-1234. [https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(18\)34061-7](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(18)34061-7)
 - [25] El-Khoueiry, A.B., Sangro, B., Yau, T., Crocenzi, T.S., Kudo, M., Hsu, C., *et al.* (2017) Nivolumab in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma (CheckMate 040): An Open-Label, Non-Comparative, Phase 1/2 Dose Escalation and Expansion Trial. *The Lancet*, **389**, 2492-2502. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31046-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31046-2)

-
- [26] Adcock, C.S., Punekey, L.V. and Campbell, G.S. (2019) Favorable Response of Metastatic Hepatocellular Carcinoma to Treatment with Trans-Arterial Radioembolization Followed by Sorafenib and Nivolumab. *Cureus*, **11**, e4083. <https://doi.org/10.7759/cureus.4083>
- [27] Zhu, A.X., Finn, R.S., Edeline, J., Cattani, S., Ogasawara, S., Palmer, D., *et al.* (2018) Pembrolizumab in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma Previously Treated with Sorafenib (KEYNOTE-224): A Non-Randomised, Open-Label Phase 2 Trial. *The Lancet Oncology*, **19**, 940-952. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30351-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30351-6)
- [28] Finn, R.S., Ryoo, B.Y., Merle, P., Kudo, M., Bouattour, M., Lim, H.Y., *et al.* (2020) Pembrolizumab as Second-Line Therapy in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma in KEYNOTE-240: A Randomized, Double-Blind, Phase III Trial. *Journal of Clinical Oncology*, **38**, 193-202. <https://doi.org/10.1200/JCO.19.01307>
- [29] Lee, H.T., Lee, J.Y., Lim, H., Lee, S.H., Moon, Y.J., Pyo, H.J., *et al.* (2017) Molecular Mechanism of PD-1/PD-L1 Blockade via Anti-PD-L1 Antibodies Atezolizumab and Durvalumab. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 5532. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06002-8>
- [30] Tan, S., Liu, K., Chai, Y., Zhang, C.W., Gao, S., Gao, G.F., *et al.* (2018) Distinct PD-L1 Binding Characteristics of Therapeutic Monoclonal Antibody Durvalumab. *Protein & Cell*, **9**, 135-139. <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0412-8>
- [31] Kelley, R.K., Sangro, B., Harris, W., Ikeda, M., Okusaka, T., Kang, Y.K., *et al.* (2021) Safety, Efficacy, and Pharmacodynamics of Tremelimumab Plus Durvalumab for Patients with Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Randomized Expansion of a Phase I/II Study. *Journal of Clinical Oncology*, **39**, 2991-3001. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.03555>