

DOI: 10.13376/j.cblls/2018069

文章编号: 1004-0374(2018)05-0575-05

## 肝细胞癌靶向治疗最新研究进展

邱盛萍, 黄承浩\*

(厦门大学生命科学学院分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室,  
国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心, 厦门 361102)

**摘要:**近年来,随着肝细胞癌基础研究不断深入,分子靶向药物及免疫治疗药物的临床开发及应用为肝细胞癌的治疗带来了新的突破。肝细胞癌的靶向治疗药物具有较高的特异性,能够选择性地杀伤肿瘤细胞,尽可能减少对正常组织的损伤。目前,这些靶向治疗药物主要分为小分子靶向药物、肝细胞癌抗原特异性靶向药物和免疫检验点靶向药物3类。现就肝细胞癌靶向治疗药物的最新研究进展作简要综述。

**关键词:**肝细胞癌;靶向治疗;免疫检验点

中图分类号: R735.7; R979.1 文献标志码: A

## The latest research progress of targeted therapy for hepatocellular carcinoma

QIU Sheng-Ping, HUANG Cheng-Hao\*

(State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, National Institute of Diagnostics and Vaccine Development in Infectious Diseases, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

**Abstract:** In recent years, with the deepening of basic research of hepatocellular carcinoma (HCC), the clinical development and application of molecular targeted drugs and immunotherapeutic drugs have brought new breakthroughs in the treatment of hepatocellular carcinoma. Because of high specificity, targeted drugs can selectively kill tumor cells and as far as possibly reduce the damage to normal tissues. At present, targeted therapy drugs for HCC can be divided into three categories: small molecule targeted drugs, hepatocellular carcinoma antigen specific targeted drugs, and immune checkpoint targeted drugs. In this article, the latest progress of HCC targeted therapy was discussed.

**Key words:** hepatocellular carcinoma (HCC); targeted therapy; immune checkpoint

肝癌作为世界上最常见的二大致死性疾病之一,其5年存活率仅为7%<sup>[1]</sup>。肝癌早期没有症状,在晚期阶段明显,导致治疗效果不理想。全球范围内肝癌每年新发病例超过85万例,其中90%为肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)<sup>[1-2]</sup>。尤其在我国,由于乙型肝炎的高发,2015年我国肝细胞癌死亡人数约42.2万,占全球肝细胞癌死亡人数的57%<sup>[3]</sup>。目前,外科手术仍是提高肝细胞癌患者生存率的有效手段,但手术切除不彻底、复发率高和转移率高是影响肝细胞癌临床治疗疗效的主要问题<sup>[4-5]</sup>。近年来,随着肝细胞癌分子生物学研究的深入,分子靶向药物及免疫治疗药物的临床开发及

应用为肝细胞癌的治疗带来了新的突破,大大提高了肝细胞癌患者的诊疗效果,延长了肝细胞癌患者的生存期 and 提高了他们的生活质量<sup>[6-7]</sup>。然而,肝细胞癌的发病率和死亡率均未下降,仍呈逐年升高的趋势<sup>[1]</sup>。本文就近年来肝细胞癌靶向治疗最新研究进展作一简要综述,主要包括肝癌小分子靶向抑制剂、基于肝癌特异性抗原设计的靶向药物以及免疫检查点抑制剂的最新研究进展。

收稿日期: 2017-09-21; 修回日期: 2017-10-29

\*通信作者: E-mail: huangchenghao@xmu.edu.cn; Tel: 13625008303

## 1 小分子靶向药物

分子靶向治疗 (molecular targeted therapy, MTT) 是近年来发展迅速的新兴肿瘤治疗方式之一。相比传统的治疗手段, 分子靶向治疗具有更好的靶向性, 能特异性地杀伤肿瘤细胞, 减少对正常组织的损伤, 不易产生耐药, 安全性和耐受性较好。分子靶向治疗的原理是通过针对肿瘤发生发展过程中的关键基因和信号通路, 如血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板衍生生长因子 (platelet-derived growth factor, PDGF)、成纤维细胞生长因子受体 (fibroblast growth factor receptor, FGFR)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF)、HGF/c-MET 信号通路、PI3K/AKT/MTOR 通路、MAPK 信号通路、RAS/RAF/MEK/ERK 通路、Wnt- $\beta$ -catenin 通路、JAK/STAT 通路, 或原癌基因、抑癌基因与自杀基因等, 设计小分子抑制剂, 在分子水平上逆转肿瘤细胞的生物学行为, 从而抑制肿瘤细胞的增殖和转移。目前已经上市和正处在临床研究阶段的分子靶向药物多达数十种, 其中索拉非尼、瑞戈非尼、乐伐替尼等药物取得重大成效。

### 1.1 索拉非尼(Sorafenib)

索拉非尼是一种可以抑制多种肿瘤细胞扩增、血管生成和促进肿瘤细胞凋亡的广谱小分子抑制剂。索拉非尼主要是靶向作用于丝氨酸/苏氨酸 (Raf) 激酶、血管内皮生长因子受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)、血小板生长因子受体 (platelet growth factor receptor, PDGFR- $\beta$ )、KIT、FLT3 以及 Ret 等多种受体酪氨酸激酶, 抑制肿瘤细胞增生及血管生成, 进而抑制肿瘤的生长。

Llovet 等<sup>[8]</sup>研究表明, 针对之前未接受过系统治疗的 602 位晚期 HCC 病例, 索拉非尼治疗组相比于安慰剂治疗组的中位生存期 (mOS) 延长了 2.8 个月 (44%), 索拉非尼治疗组相比于安慰剂治疗组具有显著差异。由此认为, 晚期肝细胞癌患者对索拉非尼有良好的耐受性, 索拉非尼可以作为一线药物治疗晚期肝细胞癌患者。

### 1.2 瑞格菲尼(Regorafenib)

瑞格菲尼和索拉非尼的分子结构极其相似, 其作用机制也和索拉非尼相似。但瑞格菲尼比索拉非尼有更高的生物学活性, 可广泛抑制与血管生成和肿瘤发生相关的激酶, 如血管内皮生长因子受体

1~3 (VEGFR1~3)、酪氨酸蛋白激酶受体 TIE 和 Ret、血小板衍生生长因子受体 (PDGFR- $\beta$ )、碱性成纤维母细胞生长因子受体 (FGFR-1)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 Raf 以及有丝分裂原活化蛋白激酶 p38 等, 从而发挥抗肿瘤作用。

Bruix 等<sup>[9]</sup>研究了瑞格菲尼作为二线药物的疗效。在 573 名接受过索拉非尼治疗的 HCC 患者中进行了试验, 其中 194 名接受安慰剂治疗。最终数据显示, 和安慰剂治疗组相比, 瑞格菲尼显著提高了患者的总生存期, 为 10.6 个月, 而服用安慰剂的患者生存期仅为 7.8 个月。在接受瑞格菲尼治疗的患者中, 有 2 例的肿瘤已经缩小到检测不到的状态。这些数据表明, 瑞格菲尼在接受过索拉非尼治疗的 HCC 患者中体现出良好的治疗效果。

### 1.3 乐伐替尼(Lenvatinib)

乐伐替尼是血管内皮生长因子受体 1~3 (VEGFR1~3)、纤维母细胞生长因子受体 1~4 (FGFR1~4)、血小板衍生生长因子受体  $\alpha$  (PDGFR- $\alpha$ ) 以及酪氨酸蛋白激酶受体 Ret、KIT 的抑制剂。2017 年 6 月, 美国临床肿瘤学会年会 (ASCO) 报告了乐伐替尼一线治疗手术不可切除的肝细胞肝癌的 III 期临床研究 (REFLECT 研究) 结果。954 例晚期/不可切除 HCC 患者以 1:1 随机分入乐伐替尼组 (478 例) 和索拉非尼组 (476 例), 乐伐替尼组的主要临床终点总生存时间 (overall survival, OS) 较索拉非尼组有延长的趋势 (13.6 个月 vs. 12.3 个月), 乐伐替尼组的次要临床终点也明显优于索拉非尼组, 包括无进展生存时间 PFS (7.4 个月 vs. 3.7 个月)、疾病进展时间 TTP (8.9 个月 vs. 3.7 个月) 和客观缓解率 ORR (24% vs. 9%)。虽然 REFLECT 研究中乐伐替尼治疗组与索拉非尼治疗组的主要临床终点 OS 未达到统计学差异, 但乐伐替尼组的 PFS 是索拉非尼组的 2 倍, TTP 更是延长接近索拉非尼的 3 倍。此外, REFLECT 研究的亚洲患者 (288 例) 中有 83% 为 HBV 感染患者, 在 HBV 相关 HCC 患者中乐伐替尼治疗组的有效率高达 21.5%, 是索拉非尼治疗组有效率 (8.3%) 的 2.6 倍, 乐伐替尼治疗组的中位总生存期 mOS (15.0 个月) 较索拉非尼治疗组 (10.2 个月) 整整延长了 5 个月, 并且乐伐替尼治疗组的中位无进展生存期 mPFS 和中位疾病进展时间 mTTP 也显著优于索拉非尼治疗组。研究证实, 乐伐替尼一线治疗晚期肝癌的效果不劣于索拉非尼, 尤其在针对 HBV 相关的 HCC 患者中体现出明显的优势。这一结果表明, 乐伐替尼对亚洲, 尤其是我国 HCC

患者具有较好的应用前景, 有望成为中晚期肝细胞癌治疗最新标准。

## 2 肝癌特异性抗原靶向药物

### 2.1 $\alpha$ -fetoprotein( $\alpha$ FP或AFP)靶向药物

AFP 是 HCC 敏感的血清标志物。日本慢性肝炎的临床研究表明, AFP 在 HCC 检测中的敏感性为 79%、截止值为 78 ng/mL、特异度为 78%。在小肝癌肿瘤中, AFP 的敏感性较低, 为 33%~65%<sup>[10]</sup>。血清中 AFP 水平的高低似乎与 HCC 的大小和分化有关。在相当数量的慢性肝病患者中, 经常出现 AFP (20~200 ng/mL) 显著增加。因此, AFP 早已被用于 HCC 的临床诊断。

随着研究的深入, 肿瘤免疫研究者对 AFP 的抗肿瘤免疫反应愈发感兴趣。一项临床 I/II 期试验采用 4 种 AFP 多肽激活的 DC (dendritic cell) 治疗 HCC 患者以测试 HCC 患者的免疫反应。通过 ELISPOT 验证发现, 接种至少一种 AFP 多肽后, 10 名受试者中有 6 名的 IFN- $\gamma$  增加, 产生了 AFP 特异性 T 细胞应答反应<sup>[11]</sup>。

Hanke 等<sup>[12]</sup> 研究发现, 在免疫健全的小鼠异位瘤模型中, AFP 特异性 DNA 疫苗是抑制表达 AFP 肿瘤的有效工具, 并且不会干扰小鼠的肝脏再生。Butterfeld 等<sup>[13]</sup> 研究表明, AFP-DNA 疫苗和腺病毒驱动免疫治疗的 2 名预处理的 AFP 阳性 HCC 患者的报告显示出预期的安全性和免疫原性 T 细胞应答。

### 2.2 Glypican-3 靶向药物

磷脂酰肌醇蛋白聚糖 -3 (phosphatidylinositol-3, GPC-3) 是一种通过糖基磷脂酰肌醇 (glycosylphosphatidylinositol, GPI) 锚定到细胞表面的硫酸肝素蛋白多糖。GPC-3 是一种癌胚抗原, 由于其在 HCC 中的特异性过表达 (在 81% 的患者中) 与预后差相关, 因此, 认为它可能成为 HCC 靶向治疗的理想靶标。

目前为止, 多个研究机构利用噬菌体展示和杂交瘤技术, 已经发明了 4 种针对 GPC-3 的高亲和力抗体 (GCC-3、HN3、HS20 和 YP7)。GCC3 的 I 期临床研究显示, GPC-3 高表达的进展期肝细胞癌患者应用 GCC-3 后无进展生存期显著高于 GPC-3 低表达的患者 ( $n = 20$ )<sup>[14]</sup>。Gao 等<sup>[15]</sup> 研究发现, HN3 和 YP7 可以和假单胞菌外毒素 A 的片段 (PE38) 融合产生免疫毒素, 单独使用 HN3-PE38 或联合化学疗法静脉给药可以消退小鼠 Hep3B 和 HepG2 异

位瘤。YP7-PE38 产生的免疫毒素较 HN3-PE38 产生的免疫毒素有更优异的抗肿瘤活性<sup>[16]</sup>。该研究使 GPC-3 有望成为 HCC 治疗的新型潜在靶标。

## 3 免疫检查点靶向药物

免疫检查点阻断疗法最近已经成为一种有希望用于包括 HCC 等多种恶性肿瘤在内的治疗方法。现阶段研究最多的免疫检查点受体有细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)、程序性死亡受体 1 (programmed cell death protein 1, PD-1)、T 细胞免疫球蛋白结构域和黏蛋白结构域 3 (T cell immunoglobulin domain and mucin domain-3, TIM-3)、B/T 淋巴细胞衰减因子 (B and T lymphocyte attenuator, BTLA) 等。阻断以上几种负调控的免疫调节靶点可显著提高患者的中位总生存期 (mOS) 和响应率, 改善了黑色素瘤、肾癌和非小细胞肺癌等多种恶性肿瘤患者的治疗前景<sup>[17]</sup>。CTLA-4 和 PD-1/PDL1 的阻断单克隆抗体已被 FDA 批准用于治疗黑色素瘤。

### 3.1 CTLA-4 靶向药物

CTLA-4 表达在活化的 T 细胞和 Treg 细胞上, 也可能低水平表达在初始 T 细胞上<sup>[18-20]</sup>。相比于 CD28, CTLA-4 结合 CD80 和 CD86 的亲和力更高<sup>[21]</sup>, 因此, CTLA-4 可以拮抗 CD28 和 CD80、CD86 之间的结合, 从而抑制 T 细胞活化。CTLA-4 信号还可能刺激 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ )<sup>[22]</sup>。另外, 抑制 CD28 与抗原递呈细胞 (antigen-presenting cells, APC) 中 CD80 和 CD86 的结合可以导致 T 细胞活化降低。特异性敲除或阻断 CTLA-4 抑制 CTLA-4 的免疫负调节作用, 可以活化自身免疫反应和提高抗癌免疫的能力<sup>[23-24]</sup>。

2011 年, 美国 FDA 批准 Ipilimumab 用于治疗黑色素瘤的随机 III 期临床试验的结果表明, 患者的整体生存期得到改善<sup>[25-26]</sup>。其作为单药疗法或与其他药物联合用药已经用于包括肝细胞癌等多种肿瘤类型在内的治疗。

针对 HCC 患者的 Tremelimumab I 期临床试验 (NCT01008358) 表明, 21 位不适合经皮消融或经肝动脉栓塞术的肝硬化晚期肝癌患者 (肝功能分级为 Child-Pugh A 或 B 级) 对 Tremelimumab 的耐受性良好, 没有治疗相关的死亡病例。几乎一半患者表现 3/4 级程度的 AST 升高, 但这与肝脏功能障碍无关。17.6% 的患者出现部分反应, 有 45% 患者病情稳定时间超过 6 个月。有趣的是, 治疗期间 IFN- $\gamma$

保持在稳定水平的患者相比于 IFN- $\gamma$  减少的患者产生了更好的治疗反应,这一结果表明,IFN- $\gamma$  保持稳定的患者产生了主动抗肿瘤免疫。应用 Tremelimumab 于经射频消融 (RFA) 或经动脉治疗的患者的 I 期临床试验正在进行之中 (NCT01853618)<sup>[27]</sup>。另一项应用 Tremelimumab 治疗晚期 HCC 患者 (其中大多索拉非尼治疗失败) 的 II 期临床 (NCT01649024) 表明,17 例可评价病例中有 3 例肿瘤部分缓解,10 例肿瘤控制稳定,疾病控制率高达 76.4%,无疾病进展时间中位数达 6.5 个月,高于既往临床研究的晚期 HCC 患者<sup>[28]</sup>。

### 3.2 PD-1 靶向药物

程序性死亡受体 (PD-1) 作为 CD28 超家族成员首先由日本京都大学本庶佑教授于 1992 年发现。现如今 PD-1 作为极具免疫治疗意义的靶点在肿瘤靶向治疗的研究领域引起广泛关注。

PD-1 主要表达在 CD8<sup>+</sup> T 细胞上,但也可以在 Treg 细胞和骨髓衍生抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 上检测到<sup>[29]</sup>。PD-1 不仅介导 Treg 的分化和增殖,也调节外周血耐受和自身免疫<sup>[30]</sup>。长期抗原暴露导致 PD-1 在 T 细胞中过度表达,从而引起 T 细胞耗竭或无应答。肿瘤细胞可以通过表达 PD-L1 或 PD-L2 来活化肿瘤浸润性淋巴细保中的 PD1 表达,从而逃逸免疫监视。

转化临床研究结果表明,PD-1/PDL-1 通路可能诱导 HCC 免疫耐受;同时,肿瘤细胞 PD-1 和 PD-L1 的表达水平和 HCC 的发展阶段、局部复发率及预后差紧密相关<sup>[31-34]</sup>。类似地,PD-1<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 细胞在肿瘤内的水平与 HCC 进展和术后复发相关<sup>[35]</sup>。另外,在接受过冷冻消融的 HBV 阳性 HCC 患者中,循环肿瘤细胞上表达 PD-1 和 PD-L1 的患者预后差<sup>[36]</sup>。最后,在体外实验中,同时消耗来自 HCC 晚期患者外周血中的 Treg 细胞、MDSCs 和 PD-1<sup>+</sup> T 细胞可恢复 CD8<sup>+</sup> T 细胞的活化。

2017 年,El-Khoueiry 等<sup>[37]</sup> 发布了 PD-1 抑制剂 Nivolumab 治疗晚期 HCC 患者的最新数据:2012 年 11 月 26 日至 2016 年 8 月 8 日期间,共有 262 名合适的患者接受治疗 (剂量递增阶段为 48 例,剂量延伸阶段为 214 例)。262 例患者中有 202 例 (77%) 完成治疗,随访正在进行。在剂量递增阶段,Nivolumab 显示出易于管理的安全性,包括可接受的耐受性。治疗相关不良事件的发生率似乎与剂量无关,也没有达到最大耐受剂量。在剂量延伸阶段,42 例患者 (20%) 观察到客观反应,96 例 (45%) 患

者观察到稳定性疾病,138 例 (64%) 患者观察到疾病控制,42 例有反应的患者中有 28 例 (67%) 有持续的反应,中位反应时间为 9.9 个月。大多数疾病稳定持续至少 6 个月,138 例患者中有 79 例 (57%) 有疾病控制。在剂量延伸阶段,中位进展时间为 4.1 个月,6 个月的总体生存率为 83%,9 个月的总体生存率为 74%。6 个月无进展生存率为 37%,9 个月无进展生存率为 28%。近日,Nivolumab 静脉注射剂已经获得美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于经索拉非尼治疗失败后的晚期 HCC 患者。

## 4 结语

到目前为止,只有索拉非尼和瑞格菲尼在晚期 HCC 中显示出治疗效果。近几年,PD1 抗体取得的巨大成效进一步推进了各种靶向免疫检验点的药物在肝细胞癌上的应用和研究,而且靶向免疫检验点的肝癌治疗方式已经初见曙光。尽管目前晚期肝癌的治疗手段层出不穷,但单一给药的治疗方式都差强人意。因此,需要加大开发新型靶向药物的同时,应推进靶向药物联合其他治疗方式,或多种靶向药物相互联合的治疗方式的研究和应用,如靶向治疗联合手术切除、放疗、化疗、介入治疗和免疫治疗,乃至联合细胞治疗、基因治疗等常规或新兴肝癌治疗手段,将有利于提高肝癌患者的生存质量,降低复发率,延长生存时间。随着研究的不断深入,靶向治疗将充分发挥其特异性高、治疗效果好、持续时间长、不良反应少的优点。

### [参 考 文 献]

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65: 87-108
- [2] Llovet JM, Zucman-Rossi J, Pikarsky E, et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16018
- [3] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115-32
- [4] Matsuda T, Saika K. Trends in liver cancer mortality rates in Japan, USA, UK, France and Korea based on the WHO mortality database. *Jpn J Clin Oncol*, 2012, 42: 360-1
- [5] Sintra SN, Tomé L, Cipriano MA, et al. Long-term outcome of the first 150 liver transplant recipients: a single-center experience. *Trans Proc*, 2013, 45: 1119-21
- [6] Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. *Gut*, 2014, 63: 844-55
- [7] Bruix J, Han KH, Gores G, et al. Liver cancer: approaching a personalized care. *J Hepatol*, 2015, 62: S144-S56
- [8] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in

- advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2008, 359: 378-90
- [9] Bruix J, Qin S, Merle P, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*, 2017, 389: 56-66
- [10] Taketa K.  $\alpha$ -fetoprotein: reevaluation in hepatology. *Hepatology*, 1990, 12: 1420-32
- [11] Butterfield LH, Ribas A, Dissette VB, et al. A phase I/II trial testing immunization of hepatocellular carcinoma patients with dendritic cells pulsed with four  $\alpha$ -fetoprotein peptides. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 2817-25
- [12] Hanke P, Serwe M, Dombrowski F, et al. DNA vaccination with AFP-encoding plasmid DNA prevents growth of subcutaneous AFP-expressing tumors and does not interfere with liver regeneration in mice. *Cancer Gene Therapy*, 2002, 9: 346-55
- [13] Butterfield LH, Economou JS, Gamblin TC, et al. Alpha fetoprotein DNA prime and adenovirus boost immunization of two hepatocellular cancer patients. *J Trans Med*, 2014, 12: 86
- [14] Zhu AX, Gold PJ, El-Khoueiry AB, et al. First-in-man phase I study of GC33, a novel recombinant humanized antibody against glypican-3, in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2013, 19: 920-8
- [15] Gao W, Tang Z, Zhang YF, et al. Immunotoxin targeting glypican-3 regresses liver cancer via dual inhibition of Wnt signalling and protein synthesis. *Nat Commun*, 2015; 6: 6536
- [16] Gao H, Li K, Tu H, et al. Development of T cells redirected to glypican-3 for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2014, 20: 6418-28
- [17] Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD. Immune checkpoint blockade in cancer therapy. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 1974-82
- [18] Manzotti CN, Liu MK, Burke F, et al. Integration of CD28 and CTLA-4 function results in differential responses of T cells to CD80 and CD86. *Eur J Immunol*, 2006, 36: 1413-22
- [19] Wu Y, Borde M, Heissmeyer V, et al. FOXP3 controls regulatory T cell function through cooperation with NFAT. *Cell*, 2006, 126: 375-87
- [20] Gavin MA, Rasmussen JP, Fontenot JD, et al. Foxp3-dependent programme of regulatory T-cell differentiation. *Nature*, 2007, 445: 771-5
- [21] Collins AV, Brodie DW, Gilbert RJ, et al. The interaction properties of costimulatory molecules revisited. *Immunity*, 2002, 17: 201-10
- [22] Chen W, Jin W, Wahl SM. Engagement of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) induces transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) production by murine CD4<sup>+</sup> T cells. *J Exp Med*, 1998, 188: 1849-57
- [23] Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, et al. CTLA-4 control over Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell function. *Science*, 2008, 322: 271-5
- [24] Peggs KS, Quezada SA, Chambers CA, et al. Blockade of CTLA-4 on both effector and regulatory T cell compartments contributes to the antitumor activity of anti-CTLA-4 antibodies. *J Exp Med*, 2009, 206: 1717-25
- [25] Hodi FS, O'day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*, 2010, 363: 711-23
- [26] Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med*, 2011, 364: 2517-26
- [27] Sangro B, Gomez-Martin C, de la Mata M, et al. A clinical trial of CTLA-4 blockade with tremelimumab in patients with hepatocellular carcinoma and chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 2013, 59: 81-8
- [28] Calabrò L, Morra A, Fonsatti E, et al. Tremelimumab for patients with chemotherapy-resistant advanced malignant mesothelioma: an open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol*, 2013, 14: 1104-11
- [29] Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med*, 2009, 206: 3015-29
- [30] Nikolova M, Lelievre JD, Carriere M, et al. Regulatory T cells differentially modulate the maturation and apoptosis of human CD8<sup>+</sup> T-cell subsets. *Blood*, 2009, 113: 4556-65
- [31] Gao Q, Wang XY, Qiu SJ, et al. Overexpression of PD-L1 significantly associates with tumor aggressiveness and postoperative recurrence in human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2009, 15: 971-9
- [32] Umemoto Y, Okano S, Matsumoto Y, et al. Prognostic impact of programmed cell death 1 ligand 1 expression in human leukocyte antigen class I-positive hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy. *J Gastroenterol*, 2015, 50: 65-75
- [33] Gehring AJ, Ho ZZ, Tan AT, et al. Profile of tumor antigen-specific CD8 T cells in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 2009, 137: 682-90
- [34] Hamid O, Robert C, Daud A, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med*, 2013, 369: 134-44
- [35] Shi F, Shi M, Zeng Z, et al. PD-1 and PD-L1 upregulation promotes CD8<sup>+</sup> T cell apoptosis and postoperative recurrence in hepatocellular carcinoma patients. *Int J cancer*, 2011, 128: 887-96
- [36] Zeng Z, Shi F, Zhou L, et al. Upregulation of circulating PD-L1/PD-1 is associated with poor post-cryoablation prognosis in patients with HBV-related hepatocellular carcinoma. *PLoS One*, 2011, 6: e23621
- [37] El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet*, 2017, 389: 2492-502