

免疫检查点抑制剂治疗晚期肝细胞癌的临床研究进展

吴素素,冯雁,罗小玲

(广西医科大学附属肿瘤医院,广西 南宁 530021)

摘要:肝细胞癌(HCC)是发病率最高的恶性肿瘤之一,也是癌症相关死亡的主要原因。免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor,ICI)用于肿瘤治疗近年来发展迅速。多项临床研究已经显示以PD-1/PD-L1和CTLA-4抑制剂为代表的ICIs在晚期HCC中有良好的治疗效果。然而,近年来的临床研究证明并非所有患者都能从ICIs中获益。全文针对ICIs在治疗晚期HCC的临床研究及优势人群的筛选研究进展进行综述。

关键词:肝细胞癌;免疫治疗;免疫检查点抑制剂

中图分类号:R735.7 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2019)10-0780-06

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2019.10.A011

Progress in Clinical Research of Immunological Checkpoint Inhibitors in Treatment of Advanced Hepatocellular Carcinoma

WU Su-su, FENG Yan, LUO Xiao-ling

(Guangxi Medical University Cancer Hospital, Nanning, 530021, China)

Abstract: Globally, hepatocellular carcinoma(HCC) is one of the most common malignancies and the leading causes of cancer-related deaths. Immunological checkpoint inhibitors(ICI) have developed rapidly in recent years. Several ongoing clinical studies have proved the effect of ICIs including PD-1/PD-L1 and CTLA-4 inhibitors in treatment of advanced HCC. However, these studies also revealed that not all patients could be benefited from ICIs treatment. This article summarizes the recent progress of clinical researches on ICIs in treatment of advanced HCC patients and the biomarkers for screening of patients who may be benefited from ICI therapy.

Key words: hepatocellular carcinoma; immunotherapy; immunological checkpoint inhibitor

以肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)为主的原发性肝癌是全球第六大恶性肿瘤,癌症相关死亡率全球排名第4,年新发病例约782 000例,死亡近746 000例^[1]。我国是HCC高发国,发病例数约占全球肝癌死亡总数的一半以上^[2]。肝细胞癌恶性程度高,进展迅速,预后差,易复发,病死率高^[3]。因早期症状隐匿,确诊时即为进展期或晚期HCC。而针对无法切除的晚期HCC可供选择的治疗方法却非常有限^[4]。免疫治疗近年以程序性死亡受体-1

(programmed death receptor 1, PD-1)/程序性死亡受体-配体1(programmed death ligand 1, PD-L1)和细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白-4(cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTLA-4)为代表的免疫检查点抑制剂(immune checkpoint inhibitor, ICI)发展最为迅速,在晚期HCC治疗中也显示出良好的应用前景。ICIs已被中国临床肿瘤学会(CSCO)指南作为晚期HCC的二线治疗方案。然而,临床结果显示并非所有晚期患者都能从免疫治疗中获益,同时免疫治疗过程中出现的副作用对其应用也产生了限制,因此筛选优势人群十分必要。本文针对PD-1/PD-L1和CTLA-4为主的ICIs在晚期HCC治疗中的应用及免疫治疗优势人群筛选的研究进展进行综述如下。

收稿日期:2019-06-02;修回日期:2019-08-05

基金项目:国家自然科学基金(81560493, 81860504);广西自然科学基金(2015GXNSFDA139024);广西自然科学基金青年基金(2018GXNSFBFA138033)

通信作者:罗小玲, E-mail: Luoxiaoling67@126.com

1 PD-1/PD-L1 抑制剂在晚期 HCC 治疗中的研究进展

PD-1 主要表达在活化的 T 细胞、B 细胞和巨噬细胞表面。PD-1 通过与其配体 PD-L1 和 PD-L2 结合抑制抗原特异性 T 细胞活化^[5]。在肿瘤细胞中 PD-L1 表达上调,PD-1/PD-L1 信号通路激活可使肿瘤微环境对 T 细胞的免疫反应能力下降,削弱 T 细胞对肿瘤的杀伤,导致肿瘤免疫逃逸^[6]。PD-1/PD-L1 抑制剂主要通过阻断 PD-1 和 PD-L1 的结合,抑制下游信号通路,促进 T 细胞识别和杀伤肿瘤细胞。已上市的 PD-1 抑制剂包括纳武单抗(Nivolumab,商品名 Opdivo)、帕博利珠单抗(Pembrolizumab,商品名 Keytruda)、信迪利单抗(IBI308)、特瑞普利单抗(JS001)和卡瑞利珠单抗(Camrelizumab-rwlc,SHR-1210)和 PD-L1 抑制剂 Durvalumab(商品名 Imfinzi)、Avelumab(商品名 Bavencio)和阿特珠单抗(Atezolizumab,商品名 Tecentriq),但仅有部分 PD-1/PD-L1 抑制剂针对 HCC 进行了临床研究。

1.1 纳武单抗

纳武单抗是第一种抗 PD-1 的全人源化 IgG4 型单克隆抗体。2017 年美国食品和药物管理局(food and drug administration,FDA) 批准用于索拉非尼治疗后复发或不耐受的晚期 HCC 患者。纳武单抗被纳入 HCC 治疗主要依据 CheckMate 040 研究^[7]。该研究是一项单臂治疗晚期 HCC 的 I/II 期剂量爬坡和剂量扩增临床试验,评估了纳武单抗对经索拉非尼治疗(n=182)或未经索拉非尼治疗(n=80)晚期 HCC 患者的疗效。结果表明纳武单抗可大幅改善晚期 HCC 患者的总生存期(overall survival,OS)。其中,未经索拉非尼治疗患者的一线治疗中位总生存期(median overall survival,mOS)可达 28.6 个月,客观缓解率(objective response rate,ORR)为 20%左右。索拉非尼二线治疗中,患者的 mOS 为 15.6 个月,ORR 为 15%左右,剂量爬坡组和扩增组的 mOS 和 ORR 分别是 15 个月:15.6 个月和 15%:20%,效果显著优于 SHARP 研究索拉非尼初治患者(mOS 索拉非尼组:安慰剂组,10.7 个月:7.9 个月)^[8]。剂量爬坡阶段 3mg/kg 作为纳武单抗治疗晚期 HCC 的最佳剂量。CheckMate 040 研究还发现,20%的 HCV 感染的

肝癌患者出现 HCV RNA 短暂性降低,5% HBV 感染的肝癌患者的定量 HBsAg 水平有所降低。HBV 与 HCV 感染患者 mOS 均为 14.8 个月,且 HBV 患者的 2 年生存率同样能达到 34%。此外,入组患者中包括中国在内的亚洲患者占比近 50%,亚洲患者与总人群的 2 年生存率分别为 34.5%和 33.6%^[9]。因此,CheckMate 040 研究结果显示不同病毒感染状态及不同 PD-L1 表达水平的患者均能从纳武单抗治疗中获益,且东西方人群疗效一致。然而,最新发表的纳武单抗头对头对比索拉非尼一线治疗晚期 HCC 的 CheckMate 459 III 期临床研究未能到达主要终点,纳武单抗治疗组 OS 比索拉非尼组有明显延长趋势,但没有统计学意义上的显著性差异。纳武单抗是否用于晚期 HCC 一线治疗及其优势人群尚有待进一步研究。

1.2 帕博利珠单抗

帕博利珠单抗是一种靶向抑制 PD-1 信号的人源化的 IgG4 型单克隆抗体,被 FDA 批准用于转移性黑色素瘤、化疗失败的复发或转移性头颈部鳞癌^[10]和 PD-1 高表达(>50%)的非小细胞肺癌^[11]。Truong 等^[12]对一位转移性 HCC 患者接受索拉非尼治疗失败后,改用帕博利珠单抗治疗发现患者肿瘤大小及甲胎蛋白均明显减小和下降,提示帕博利珠单抗有望成为晚期 HCC 患者索拉非尼治疗失败后的二线治疗药物。随后,非随机、单臂 II 期 KEYNOTE-224^[13]临床研究证明了索拉非尼治疗后的帕博利珠单抗二线治疗的有效性和耐受性,其中疾病控制率(disease control rate,DCR)达 62%,mOS 为 12.9 个月。

另一项对比帕博利珠单抗与安慰剂二线治疗晚期 HCC 的 III 期临床试验 KEYNOTE-240^[14]研究显示尽管 OS 和无进展生存期 PFS(progress free survival)都未达到预先设定的统计学标准,但帕博利珠单抗使晚期 HCC 患者的死亡风险降低了 22%,同时改善了患者的 PFS 和患者的总体生存率。该研究结果与 KEYNOTE-224 共同支持帕博利珠单抗应用于晚期 HCC 二线治疗方案。

1.3 卡瑞利珠单抗

除了纳武单抗、帕博利珠单抗,由我国制药企业自行研发的 PD-1/PD-L1 单抗药物信迪利单抗、特瑞普利单抗和卡瑞利珠单抗也先后获批上市。2018 年底,FDA 和我国国家药品监督管理局批准“SHR-

1210 联合阿帕替尼用于晚期肝癌一线治疗的全球多中心Ⅲ期研究”(NCT03764293)。2019 年 ASCO 会议上秦叔逵等人报道了卡瑞利珠单抗联合 FOLFOX4 方案 (氟尿嘧啶+亚叶酸钙+奥沙利铂) 或 GEMOX 方案 (吉西他滨+奥沙利铂) 作为一线方案治疗晚期 HCC 或胆管癌 (BTC) 的多中心Ⅱ期研究结果。其中, HCC 组中 34 例患者的 ORR 为 26.5%, DCR 达 79.4%, 尚未达到 mOS; 安全性方面, 3 级及以上治疗相关不良事件在 HCC 组发生率为 85.3%, 3 级及以上免疫相关不良事件在 HCC 患者中发生率仅为 5.9%, 表明卡瑞利珠单抗联合 FOLFOX4 或 GEMOX 化疗的耐受性好, 有望成为晚期 HCC 有效治疗方案。同时, 卡瑞利珠单抗联合 FOLFOX4 系统化疗一线治疗晚期 HCC 的随机对照、多中心的Ⅲ期临床研究即将开展 (NCT03605706)。

1.4 阿特殊单抗

阿特殊单抗是以 PD-L1 为靶点的单抗药物。阿特殊单抗和贝伐珠单抗联合治疗晚期初治 HCC 患者的Ⅰb 期临床研究显示, 68 例患者的 ORR 达到 34%, 并在所有临床相关患者中观察到有效性^[15]。截止 2019 年 7 月, 另一项阿特殊单抗联合贝伐珠单抗对比索拉非尼治疗局部晚期或转移性肝细胞癌患者的Ⅲ期试验 (NCT03434379) 处于患者招募阶段。

1.5 Durvalumab

Durvalumab 也是阻断 PD-L1 的人单克隆抗体药物。Durvalumab 联合抗 VEGF 靶向药物 Tivozanib 用于晚期 HCC 患者一线治疗的Ⅰb/Ⅱ期临床研究 (NCT03970616) 正在进行。

2 CTLA-4 抑制剂在晚期 HCC 治疗中的研究进展

CTLA-4 是 T 细胞上的一种跨膜受体, CTLA-4 与抗原呈递细胞上的 B7 分子结合后可使 T 细胞活性受到抑制, 从而促进肿瘤的发生发展^[16]。CTLA-4 抑制剂可以抑制 CTLA-4 与 B7 分子结合, 恢复 T 细胞活性从而提高机体抗肿瘤能力。已被 FDA 批准上市的 CTLA-4 抑制剂有易普利姆玛 (Ipilimumab, 商品名 Yervoy) 和 Tremelimumab。在一项小型Ⅱ期试验中纳入 21 例 HCV 感染的 HCC 患者^[17], Tremeli-

mumab 显示出抗肿瘤和抗病毒活性, 其 mOS 为 8.2 个月, DCR 为 76.4%, 部分缓解率 (partial response, PR) 为 17.6%, 疾病进展时间 (time to progress, TTP) 为 6.48 个月。该药物耐受性良好, 未出现治疗相关的死亡。Tremelimumab 联合射频消融/肝动脉栓塞与 Tremelimumab 单药治疗比较的Ⅰ期临床试验^[18], 显示联合局部治疗显著优于单药治疗。

3 PD-1 抑制剂联合 CTLA-4 抑制剂治疗 HCC 的研究进展

CTLA-4 和 PD-1 分别存在于淋巴结及外周组织中^[19]。联合阻断 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 可以在免疫应答早期诱导更多的 T 细胞增殖, 恢复 T 细胞活化能力^[20]。Postow 等^[21]发现纳武单抗联合易普利姆玛在黑色素瘤中联合治疗效果优于单一药物治疗。Kelley 等^[22]报道了 Tremelimumab+Duralumab 联合治疗在Ⅰ期试验结果, 全部 40 例患者的客观缓解率为 15%, 未感染 HBV 或 HCV 的 20 例肝癌患者中客观缓解率为 30%, 且联合用药有良好的安全性和耐受, 目前该试验正处于Ⅱ期研究阶段。

2019 年 ASCO 会议上公布了Ⅰ/Ⅱ期 Check-Mate 040 临床研究中纳武单抗与易普利姆玛联合作为二线方案治疗晚期 HCC 的研究进展。结果发现纳武单抗和易普利姆玛联合用药的三种不同给药方案组均观察到获益, 三组总体 ORR 为 31%。其中 A 组方案 (纳武单抗 1mg/kg 联合易普利姆玛 3mg/kg 治疗, 每 3 周 1 次, 连续用药 4 个周期后, 序贯纳武单抗 240mg, 每 2 周 1 次), OS 最高, 达到 22.8 个月。不同 PD-L1 表达水平的患者均能观察到客观缓解。

目前尚有多项 ICI 联合放化疗和靶向治疗研究正在进行, 包括比较索拉非尼与 Durvalumab±Tremelimumab 一线治疗无法切除的 HCC 患者的Ⅲ期 HIMALAYA 试验、中期 HCC 患者经动脉化学栓塞 (DEB-TACE) 治疗后联合 Durvalumab 和 Tremelimumab 阻断的Ⅱ期试验 (NCT03638141)、Durvalumab 和 Tremelimumab 及放疗在肝细胞癌和胆道癌中的Ⅱ期临床试验 (NCT03482102) 和旨在评估 Durvalumab±Tremelimumab 或 Bevacizumab 治疗晚期 HCC 的Ⅱ期临床研究 (NCT02519348)。

4 免疫治疗优势人群筛选

尽管免疫治疗在 HCC 治疗中取得了很好的效果,但从上述的研究来看免疫阻断治疗的总反应率仍然只有 20%^[7]。如果能通过预测标志物筛选获益人群或许能够更好地发挥 ICI 的优势。目前,已知的 ICI 疗效预测标志物中包括患者肿瘤突变负荷(tumor mutational burden,TMB),PD-L1 表达水平,微卫星不稳定(microsatellite instability,MSI),肿瘤 T 淋巴细胞浸润等。

TMB 是 ICI 治疗反应的重要标志物之一。TMB 是指外显子区域平均 1Mb 碱基出现的体细胞基因编码错误、碱基替换、基因插入或缺失错误的总数。TMB 作为生物标志物对肺癌、黑色素瘤、泌尿系等恶性肿瘤的免疫治疗均有预测作用^[23]。多项研究^[24-26]认为 TMB 水平越高,PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 的免疫阻断治疗效果越好。CheckMate 026、CheckMate-227 和 CheckMate 568^[27-29]等临床研究结果都证实 TMB 高的非小细胞肺癌患者 PFS 更长。Singal 等^[30]通过对 28 998 例患者临床结局—基因图谱关联研究证实 TMB 对免疫治疗预测作用。Samstein 等^[31]发现 TMB 高的癌症患者生存率改善主要归功于 ICI 而非靶向药物。Shrestha 等^[32]分析 cBioportal 数据库里后将以 HCC 患者样本中 TMB 突变数量高于平均值一个标准差定义为高水平 TMB,发现高表达 TMB 比低表达 TMB 的患者总生存和进展期明显较差,可利用 TMB 作为预测标志物对免疫治疗优势人群筛选的靶点。Ang 等^[33]在 751 例 HCC 患者中发现整个队列的 TMB 中位数是 4 个突变/Mb,95%的病例 TMB<10 个突变/Mb,仅有 6 例患者 TMB 高表达,但以此分组方式未发现 TMB 高或低分组在免疫治疗反应率存在差异。因此可用于肝癌患者的 ICI 疗效预测的 TMB 阈值仍需要进一步研究界定。

TMB 用于预测 ICI 疗效也存在一定缺陷。例如 EGFR 突变的患者进行靶向治疗^[34]或者术后做辅助化疗^[35],均对 TMB 预测免疫治疗效果产生影响。另一方面,由于 TMB 检测依赖基因测序,成本高于 PD-L1,现有的 TMB 的检测标准不统一和处理样本方法不同也会影响 TMB 的结果判断。

PD-L1 表达早期也被用于 ICI 疗效预测标志物,然而,近年来研究发现,不同 PD-L1 表达水平的

患者都可能从 ICI 中获益^[36]。PD-L1 表达水平的检测结果可能受检测方法、肿瘤异质性等多种原因影响,PD-L1 的表达也受到肿瘤组织周围微环境、化疗、放疗干扰^[37-38]。以上因素可能均影响 PD-L1 用于 ICI 疗效预测的准确性。另外,Shrestha 等^[32]报道 751 例 HCC 患者中只有 65 例有 PD-L1 表达。因此 PD-L1 表达是否能用于 HCC 患者 ICI 疗效预测仍需进一步研究。

肿瘤细胞中,人类错配修复基因功能缺失(defective mismatch repair,dMMR)导致微卫星不稳定(microsatellite instability,MSI)^[39]。如果患者的肿瘤组织病灶检测为高度微卫星不稳定(high MSI,MSI-H)或者 dMMR 时,肿瘤可表达更多新抗原,使之更易被免疫系统识别。Le 等^[40]对 86 例 MSI 阳性的 12 种实体瘤(不含肝癌)行 PD-1 抗体治疗,发现 MSI 阳性患者的 ORR 达 53%,其中完全缓解率(complete response,CR)为 21%,77%的患者疾病得到控制。因此,2017 年 FDA 批准帕博利珠单抗用于确定有 MSI-H 或 dMMR 的晚期或转移性实体瘤患者。然而,Ang 等^[33]在 542 例肝癌患者中评估 MSI 水平,只有 1 例可确定为 MSI-H,MSI 对于肝癌的治疗预后价值仍有待评估。

肿瘤 T 细胞浸润程度也是免疫治疗疗效预后指标。当肿瘤组织中存在丰富的浸润 T 细胞时,肿瘤组织对免疫疗法的响应度也会增加^[41]。KEYNOTE 028 研究^[42]中发现,T 细胞炎性基因表达谱(GEP)可作为 T 细胞炎性肿瘤微环境的炎性标志物,TMB 和 GEP 仅表现出适度的相关性,并且能独立地预测患者临床反应。GEP 评分高、PD-L1 表达水平高和/或 TMB 高的患者具有更好的临床效果。最新研究^[43]发现,阻断免疫细胞内的一个蛋白簇 CARMA1-BCL10-MALT1(CBM)信号转导体复合物可使肿瘤浸润的抑制性调节性 T 细胞转化为分泌 IFN- γ 的炎症细胞,提高肿瘤对免疫治疗的反应性。一项 Meta 的亚组分析显示在亚洲人群中 Foxp3+T 淋巴细胞和 D3+TIL 浸润率高的 HCC 患者 OS 较差,CD8+TILs 浸润率高的患者具有更好的 OS,并且发现 PD-L1 淋巴细胞浸润与 OS 没有统计学意义^[44]。由于 T 细胞亚群的复杂性,可适用于晚期 HCC 的 T 淋巴细胞浸润的指标还需要更多研究进行探讨和分析。

ICI 作用于靶点 CTLA-4、PD-1/PD-L1 的过程可

能会对一些器官产生炎性副作用出现免疫相关不良事件。系统性综述和荟萃分析^[45]中共纳入了125项临床试验评估了PD-1和PD-L1抑制剂治疗相关不良事件的发生率,全级毒性效应发生率约为66%,但3级或更高的不良事件(adverse event,AE)发生率约为15%,免疫相关AE的发生率为7%~10%。《CSCO免疫检查点抑制剂毒性管理指南》指出免疫检查点抑制剂相关不良反应常见皮肤反应、脏器炎症等,但与化疗药物相比,毒副反应发生率低,致死率较少见。然而,用于预测免疫相关不良事件的生物标志物尚未有明确报道。

5 小 结

综上所述,ICIs已经发展成为晚期HCC最有前景的治疗选择之一,特别针对一线索拉非尼治疗失败或不耐受的患者,但免疫治疗是否可成为晚期HCC患者的一线治疗还有待研究。另一方面免疫阻断治疗效果的标志物的发现及运用,将有助于临床医生有效地筛选出从ICIs治疗中获益的患者,使个体化治疗更趋于精准。然而,目前针对HCC的ICIs优势人群筛选的标志物还需要研究人员进行更深入的探索和研究。

参考文献:

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] Wang FS, Fan JG, Zhang Z, et al. The global burden of liver disease: the major impact of China [J]. *Hepatology*, 2014, 60(6): 2099-2108.
- [3] Bureau of Medical Administration, National Health and Family Planning Commission of the PRC. Standardization of diagnosis and treatment for hepatocellular carcinoma (2017 edition)[J]. *Chinese Journal of Digestive Surgery*, 2017, 16(7): 635-647. [中华人民共和国卫生和计划生育委员会医政医管局. 原发性肝癌诊疗规范 (2017年版)[J]. *中华消化外科杂志*, 2017, 16(7): 635-647.]
- [4] Zhang JL, Zhai B, Fang TS, et al. Progress of treatments in advanced or recurrent hepatocellular carcinoma[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2016, 16(2): 358-361. [张金梁, 翟博, 方泰石, 等. 晚期肝癌和复发性肝癌治疗的研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(2): 358-361.]
- [5] Liang SC, Latchman YE, Buhlmann JE, et al. Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses [J]. *Eur Journal Immunol*, 2003, 33(10): 2706-2716.
- [6] Radziewicz H, Ibegbu CC, Fernandez ML, et al. Liver-infiltrating lymphocytes in chronic human hepatitis C virus infection display an exhausted phenotype with high levels of PD-1 and low levels of CD127 expression [J]. *J Virol*, 2007, 81(6): 2545-2553.
- [7] 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[J]. *Lancet*, 2017, 389(10088): 2492-2502.
- [8] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma[J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(4): 378-390.
- [9] Yau T, Hsu C, Kim TY, et al. Nivolumab in advanced hepatocellular carcinoma: sorafenib-experienced asian cohort analysis[J]. *J Hepatol*, 2019. [Epub ahead of print]
- [10] Dogan V, Rieckmann T, Münscher A, et al. Current studies of immunotherapy in head and neck cancer[J]. *Clin Otolaryngol*, 2018, 43(1): 13-21.
- [11] Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer[J]. *N Eng J Med*, 2016, 375(19): 1823-1833.
- [12] Truong P, Rahal A, Kallail KJ. Metastatic hepatocellular carcinoma responsive to pembrolizumab[J]. *Cureus*, 2016, 8(6): e631.
- [13] Zhu AX, Finn RS, Edeline J, et al. Pembrolizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma previously treated with sorafenib (KEYNOTE-224): a non-randomised, open-label phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2018, 19(7): 940-952.
- [14] Finn RS, Chan SL, Zhu AX, et al. KEYNOTE-240: randomized phase III study of pembrolizumab versus best supportive care for second-line advanced hepatocellular carcinoma (abstract)[J]. *Clin Oncol*, 2017, 35(Suppl 4S): TPS503.
- [15] Ikeda M, Sung MW, Kudo M, et al. A phase 1b trial of lenvatinib (LEN) plus pembrolizumab (PEM) in patients (pts) with unresectable hepatocellular carcinoma (uHCC) [J]. *Front Oncol*, 2018, 8: 269.
- [16] Cao YQ, Jin X, Sui SN, et al. Advance of chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy combined with immune checkpoint inhibitors in malignancies therapy [J]. *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2018, 45(9): 472-476. [曹雅青, 金鑫, 隋松男, 等. 嵌合抗原受体T细胞联合免疫检查点抑制剂治疗恶性肿瘤的研究进展[J]. *中国肿瘤临床*, 2018, 45(9): 472-476.]
- [17] 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]. *J Hepatol*, 2013, 59(1):81–88.
- [18] Duffy AG, Pratt D, Kleiner DE, et al. Tremelimumab: a monoclonal antibody against CTLA-4—in combination with radiofrequency ablation (RFA) in patients with biliary tract carcinoma (BTC)[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(4 Suppl):316.
 - [19] Buchbinder EI, Desai A. CTLA-4 and PD-1 pathways: similarities, differences, and implications of their inhibition [J]. *Am J Clin Oncol*, 2016, 39(1):98–106.
 - [20] Fife BT, Bluestone JA. Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways[J]. *Immunol Rev*, 2008, 224(1):166–182.
 - [21] Postow MA, Chesney J, Pavlick A C, et al. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(21):2006–2017.
 - [22] Kelley RK, Abou-Alfa GK, Bendell JC, et al. Phase I/II study of durvalumab and tremelimumab in patients with unresectable hepatocellular carcinoma(HCC):phase I safety and efficacy analyses[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35(15 Suppl):4073.
 - [23] Luo MJ, Peng KW, You CX. Prediction of tumor mutation burden for the curative effect of immunecheckpoint blockade and its clinical application[J]. *Tumor*, 2018, 38(11):1077–1081.[罗漫君, 彭昆伟, 尤长宣. 肿瘤突变负荷在免疫检查点抑制剂中的疗效预测作用及临床应用进展[J]. *肿瘤*, 2018, 38(11):1077–1081.]
 - [24] Snyder A, Makarov V, Merghoub T, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(20):1984.
 - [25] Van Allen EM, Miao D, Schilling B, et al. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma[J]. *Science*, 2015, 350(6257):207–211.
 - [26] Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer[J]. *Science*, 2015, 348(6230):124–128.
 - [27] Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, et al. First-line nivolumab in stage IV or recurrent non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(25):2415–2426.
 - [28] Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(22):2093–2104.
 - [29] Ready N, Hellmann MD, Awad MM, et al. First-line nivolumab plus ipilimumab in advanced non-Small-cell lung cancer(CheckMate 568): outcomes by programmed death ligand 1 and tumor mutational burden as biomarkers [J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(12):992–1000.
 - [30] Singal G, Miller PG, Agarwala V, et al. Association of patient characteristics and tumor genomics with clinical outcomes among patients with non-small cell lung cancer using a clinicogenomic database[J]. *JAMA*, 2019, 321(14):1391–1399.
 - [31] Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types[J]. *N Genet*, 2019, 51(2):202–206.
 - [32] Shrestha R, Prithviraj P, Anaka M, et al. Monitoring immune checkpoint regulators as predictive biomarkers in hepatocellular carcinoma[J]. *Front Oncol*, 2018, 8:269.
 - [33] Ang C, Klempner SJ, Ali SM, et al. Prevalence of established and emerging biomarkers of immune checkpoint inhibitor response in advanced hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2019, 10(40):4018–4025.
 - [34] Offin M, Rizvi H, Tenet M, et al. Tumor mutation burden and efficacy of EGFR-tyrosine kinase inhibitors in patients with EGFR-mutant lung cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(3):1063–1069.
 - [35] Devarakonda S, Rotolo F, Tsao MS, et al. Tumor mutation burden as a biomarker in resected non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36:2995–3006.
 - [36] Shen X, Zhao B. Efficacy of PD-1 or PD-L1 inhibitors and PD-L1 expression status in cancer:meta-analysis[J]. *BMJ*, 2018, 362:k3529.
 - [37] Tsai TF, Lin JF, Lin YC, et al. Cisplatin contributes to programmed death-ligand 1 (PD-L1) expression in bladder cancer through ERK1/2-AP-1 signaling pathway [J]. *Bio-science Reports*, 2019:BSR20190362.
 - [38] Tominaga T, Akiyoshi T, Yamamoto N, et al. Clinical significance of soluble programmed cell death-1 and soluble programmed cell death-ligand 1 in patients with locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant chemoradiotherapy[J]. *PLoS One*, 2019, 14(2):e0212978.
 - [39] Dudley JC, Lin MT, Le DT, et al. Microsatellite instability as a biomarker for PD-1 blockade [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(4):813–820.
 - [40] Le DT, Durham JN, Smith KN, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade [J]. *Science*, 2017, 357(6349):409–413.
 - [41] Schmid P, Park YH, Munoz-Couselo E, et al. Pembrolizumab (pembro)+ chemotherapy (chemo) as neoadjuvant treatment for triple negative breast cancer (TNBC):preliminary results from KEYNOTE-173[J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35:556.
 - [42] Ott PA, Bang YJ, Piha-Paul SA, et al. T-cell-inflamed gene-expression profile, programmed death ligand 1 expression, and tumor mutational burden predict efficacy in patients treated with pembrolizumab across 20 cancers: KEYNOTE-028[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(4):318–327.
 - [43] Di Pilato M, Kim EY, Cadilha BL, et al. Targeting the CBM complex causes Treg cells to prime tumours for immune checkpoint therapy[J]. *Nature*, 2019, 570(7759):112–116.
 - [44] Ding W, Xu X, Qian Y, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. *Medicine*, 2018, 97(50):e13301.
 - [45] Wang DY, Salem JE, Cohen JV, et al. Fatal toxic effects associated with immune checkpoint inhibitors: a systematic review and meta-analysis [J]. *JAMA Oncol*, 2018, 4(12):1721–1728.