

肝细胞癌中表观遗传改变对免疫治疗的影响

张丹眉, 石春霞, 龚作炯

(武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

摘要: 肝细胞癌是最常见的恶性肿瘤之一, 早期诊断困难, 致死率高, 相对于其他恶性肿瘤而言欠缺有效的治疗方法。近年来, 表观遗传机制被广泛研究, 与基因突变不同, 表观遗传改变是动态的、可靶向修正的, 且表观遗传失调对肿瘤免疫也产生影响。靶向修正表观遗传能够改善肿瘤免疫, 增强免疫治疗效果, 为探索新型联合治疗带来希望。全文主要讨论肝细胞癌发生发展过程中表观遗传的主要变化以及表观遗传对肿瘤免疫的影响, 探索联合靶向表观遗传和免疫治疗新疗法。

关键词: 肝细胞癌; 表观遗传; 免疫治疗; 联合治疗; 肿瘤免疫

中图分类号: R753.7 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2022)11-0929-07

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2022.11.A013

Effects of Epigenetic Changes on Immunotherapy in Hepatocellular Carcinoma

ZHANG Dan-mei, SHI Chun-xia, GONG Zuo-jiong

(Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignant tumors. It is difficult to diagnose at the early stage and has a high mortality rate and lack of effective treatment methods compared with other malignant tumors. In recent years, epigenetic mechanisms have been extensively studied. Unlike gene mutations, epigenetic changes are dynamic and targetable, and epigenetic dysregulation also affects tumor immunity. Targeted modification of epigenetics can improve tumor immunity and enhance the effects of immunotherapy, bringing hope for the exploration of new combination therapies. This article reviews the main changes of epigenetics during the occurrence and development of HCC and the impact of epigenetics on tumor immunity, and explores new therapies that combine targeting epigenetics and immunotherapy.

Key words: hepatocellular carcinoma; epigenetics; immunotherapy; combination therapy; tumor immunity

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是原发性肝癌最主要的类型, 约占其 90%, 是全球第 3 大致死性恶性肿瘤。尽管肝移植、手术和消融术等根治性治疗措施是早期肝细胞癌有效的治疗措施, 但绝大多数 HCC 患者在进展期才得以诊断^[1]。系统治疗方法如靶向治疗和免疫治疗等单用或联合使用可改善肿瘤进展, 但由于大多数 HCC 是在肝硬化、肝脏炎症的基础上进展, 限制了靶向药物如多激酶抑制剂 (索拉菲尼) 等药物的应用^[2]。近年来, 多种免

疫治疗药物如抗细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4) 的替西木单抗 (Tremelimumab)、抗 PD-1 的纳武抗体 (Nivolumab) 等纳入临床治疗^[3], 但无论是应用于 HCC 还是其他肿瘤, 仍有部分患者对治疗应答率较低, 没有达到预期治疗效果。因此, 为提高药物疗效, 使更多 HCC 患者获益, 仍需探索更有效的新的治疗方法。

随着基因测序技术不断发展, 近年来表观遗传机制引起广泛关注。表观遗传是在不改变 DNA 序列的情况下调节基因表达, 维持遗传稳定, 其中包括 DNA 甲基化、组蛋白翻译后修饰、染色质重塑等, 与细胞分化、基因印记、X 染色体失活等生理功能密切

收稿日期: 2022-03-31; 修回日期: 2022-05-19

基金项目: 国家自然科学基金 (82070609)

通信作者: 龚作炯, E-mail: zjgong@163.com

相关。越来越多的证据表明,表观遗传修饰,尤其是DNA甲基化修饰在肿瘤发生中起着关键作用,是肿瘤发生的早期改变^[4]。与基因突变不同,表观遗传修饰是动态、可逆的,可为有效治疗HCC提供靶点。此外,修正表观遗传在逆转异常表观的同时还能影响机体免疫功能,提高免疫治疗效果。

基于此,本文主要讨论HCC发生发展中表观遗传机制改变,探讨修正表观遗传后对免疫功能的影响,并探索靶向表观遗传联合免疫治疗新疗法。

1 肝细胞癌的表现遗传改变

表观基因组的信号是由特定的酶(writers)催化标记,再由含有特定结构的蛋白质(readers)识别这些标记及相应基因组的结构,发挥调节基因表达的功能,最终由酶(erasers)催化去除特征标记,维持表观基因组的动态平衡。到目前为止,有许多的研究探讨靶向以上表观遗传过程三类主要遗传蛋白,实现修正表观遗传,提高治疗效果的目的,其中靶向DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)以及组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDAC)的药物已被批准用于某些血液性肿瘤的治疗^[5]。在此主要探讨DNA甲基化和组蛋白乙酰化及甲基化在HCC中的改变以及部分治疗方法。

1.1 DNA甲基化改变

在哺乳动物中,DNA甲基化通常发生在胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤(CpG)二核苷酸中嘧啶环(C)的第五位碳原子上。肝细胞癌与其他大多数肿瘤相似,在肿瘤发生过程中,全基因组的甲基化水平降低,伴随着染色体结构稳定性下降,促进恶性转变^[6]。在局部,尤其是CpG岛,即胞嘧啶、鸟嘌呤二核苷酸重复序列,甲基化水平增加。70%的CpG岛位于启动子区域,启动子高甲基化下调肿瘤抑制基因表达,是肿瘤发生的早期事件。在一项研究中显示,编码细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子的*p16ink4a*启动子在正常肝组织、邻近非肝癌组织到肝结节非典型增生及肝癌组织中呈逐渐递增的甲基化状态^[7-8],提示细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子在肿瘤发生前即有所改变,并参与肿瘤发生发展。抑癌基因启动子区域的异常高甲基化与DNMT等表观基因组调控基因发生肿瘤驱动性突变密切相关^[9]。DNA甲基化序列

本身发生改变同样也能引起疾病进展,在肝硬化病变进展期间,许多CpG岛经历从5-羟甲基胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, 5hmC)到5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)的转换,而导致基因抑制,肿瘤发生^[10]。

针对DNA甲基化生成的DNMT抑制剂较先应用于临床。两种胞苷类似物阿扎替丁(5-azacytidine)和地西他滨(5-aza-2'-deoxycytidine)在2016年被美国食品和药物管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)批准用于多发性骨髓瘤、急性粒细胞白血病等治疗^[11]。与传统治疗方法相比,急性髓细胞白血病患者的应答率和总体生存率都有所提高,但这些药物的化学和代谢稳定性差、毒性高^[12]。基于这两种药物优缺点,改善之后的二代药物吉西他滨(SG-110)显示出更好的稳定性,且Ⅲ期试验的初步结果显示出更高的存活率^[13]。为避免产生核苷类似物的常见不良反应,近期开发的非核苷类似物能够直接针对DNMT酶的催化位点,被认为有很好的抗肿瘤效果,但仍需进一步的临床研究来评估其治疗的安全性及有效性^[14]。许多应用于HCC的DNMT抑制剂的临床前和临床研究正在广泛进行,研究地西他滨抗HCC机制的体外实验表明地西他滨通过逆转抑癌基因沉默,抑制肿瘤细胞增殖,促进凋亡^[15]。在体内肿瘤生长模型中,阿扎替丁显示出有效的肝癌细胞分化修复能力,在修复细胞中,肝细胞标志物的表达有所增加^[16]。

1.2 组蛋白转录后修饰改变

组蛋白转录后修饰包括组蛋白氨基酸残基的乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化等,最为常见的是组蛋白赖氨酸残基的乙酰化和甲基化。组蛋白修饰可以改变染色体结构,调节基因转录,但其对转录活性的调节受到特定组蛋白残基的影响,如组蛋白3第4位赖氨酸残基(lysine 4 on histone H3 protein subunit, H3K4)、H3K36或H3K79的甲基化通常是与转录活性强的常染色质相关;而H3K9、H3K37或H4K20的甲基化则与转录抑制的异染色质相关^[17]。

有研究通过对正常肝组织、癌旁病变和肝癌组织进行蛋白质组学分析,鉴定出肝癌组织中存在异常增加的乙酰化位点,其中两种重要的组蛋白乙酰转移酶p300和CREB结合蛋白(CREB-binding protein, CBP)过度乙酰化^[18],表达升高,异常修饰下

游靶点。在饮食诱导的小鼠模型中表达异常的 p300 直接上调转录因子碳水化合物反应原件结合蛋白 (carbohydrate response element binding protein, ChREBP) 促进肝脏脂肪变性和胰岛素抵抗, 促进非酒精性脂肪肝炎进展, 与 HCC 发生密切相关^[19]。

组蛋白的异常修饰也与肿瘤抑制基因的沉默相关, H3K9 的异常乙酰化或甲基化都会使视网膜母细胞瘤相互作用的锌指基因 (retinoblastoma protein-interacting zinc-finger gene 1, *RIZ1*) 沉默, 不利于肿瘤抑制^[20]。在非酒精性脂肪性肝炎患者中过表达的生脂转录因子 (sterol regulatory element binding transcription factor 1, SREBP-1) 会直接上调 HDAC8, 与组蛋白甲基转移酶 (histone-lysine N-methyltransferase, EZH2) 相互作用诱导 H4 去乙酰化和 H3K27 三甲基化, 抑制 WNT 通路拮抗剂的功能, 激活 β -catenin 依赖的细胞增殖, 抑制 P53/P21 介导的凋亡^[21]。

识别组蛋白修饰的蛋白异常同样在肿瘤发生中发挥作用, 含溴结构域 (bromodomain, BRD) 蛋白是关键的一组蛋白乙酰化识别结合蛋白家族, 在 HCC 组织中高度表达, 与肿瘤分级、免疫细胞浸润相关^[22]。

靶向组蛋白修饰的药物因修饰不同、靶向修饰机制酶或结构不同而种类繁多复杂。其中针对 HDAC 抑制剂的研究较为深入, 是目前为止被 FDA 批准应用最多的一类药物, 其中包括伏立宁 (SAHA)、罗米迪菌素 (FK228)、贝力诺 (PXD101) 和潘诺平 (LBH589)^[23], 用于治疗特定的血液系统恶性肿瘤。近年来, 多种具有选择特异性的靶向药物正在经历临床前和临床试验研究。其中 HDAC8 在多种恶性肿瘤中高度表达, 被认为是新的靶向标志, 特异性选择靶向 HDAC8 的抑制剂 PCI-30451 对 HDAC8 有高度亲和性, 并在多种肿瘤治疗中有良好的促进肿瘤细胞凋亡的能力^[14]。

2 表观遗传与免疫治疗

2.1 HCC 的肿瘤免疫及治疗

肝脏因具有动脉和门静脉的双重血供的特征而暴露于肠道病原体之下, 为适应抗原暴露的独特环境, 肝脏呈现固有免疫耐受。HCC 主要是由肝硬化发展而来, HCC 发生后, 肝硬化阶段大量炎症反应引起免疫失调加剧, 大量淋巴细胞浸润, 但 CD4/

CD8 比例增高, 自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞) 功能下降, 不足以控制肿瘤增长^[24]。此外髓系来源的抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC) 以及调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 扩增, 增强免疫逃逸。此外, 多种化学因子分泌促进免疫抑制性肿瘤微环境形成^[25]。

现存的免疫治疗主要从两个方面起作用: 一是激活现有免疫; 二是激发新的或不同的免疫。应用最早的是免疫检查点抑制剂, 在 HCC 组织中, 常见的免疫检查点分子如 CTLA-4、PD-1/PD-L1 等表达上调, 通过直接或间接干扰 T 细胞功能而抑制肿瘤免疫。因此抑制免疫检查点分子表达或功能, 可能相应提高肿瘤免疫^[26]。在 2017 年, FDA 首次批准抗 PD-1 单抗, 纳武单抗单药治疗由靶向药物索拉菲尼 (Sorafenib) 或索拉菲尼不耐受的 HCC 患者, 关键的临床试验中 55% 的患者有超过 12 个月的持续应答时间^[27]。在 2020 年 10 月, FDA 批准纳武单抗联合使用抗 CTLA-4 单抗, 伊匹单抗 (Ipilimumab) 治疗既往应用过索拉菲尼的进展期 HCC 患者^[28]。在 Check-Mate 459 III 期临床试验中纳武单抗对比索拉菲尼治疗具有更好的安全性、应答率和耐受性, 并在 2021 年取消纳武单抗的适应证, 使其应用更为广泛^[29]。第一个获得批准的治疗 HCC 的一线方案是 PD-L1 抗体, 阿特殊单抗联合抗血管内皮生长因子, 贝伐单抗 (Bevacizumab), 用于尚未使用的系统治疗的 HCC 患者^[30], 在 III 期临床试验中具有较优的生存时间以及应答率。其他药物如 Tislelizumab (抗 PD-1)、Camrelizumab (抗 PD-1)、Tremelimumab (抗 CTLA-4) 等也在进行 III 期试验评价其疗效与安全性^[31]。

除了免疫检查点抑制剂, 其他免疫治疗方法也在不断发展中。针对抗肿瘤疫苗的早期研究中, 一些疫苗已经被证实具有较好的安全性以及初步的疗效。有研究者尝试开发针对磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 (glypican-3, GPC3) 的多肽疫苗, 其在一项 I 期临床试验中耐受性良好, 并呈现较好的病情稳定性^[31]。现阶段虽尚未呈现较为明显抗肿瘤效果, 但随着研究不断深入, 抗肿瘤疫苗将展现巨大的发展潜力^[32]。

细胞因子诱导的杀伤细胞 (cytokine-induced killer cells, CIK) 共表达 CD3、CD56, 并通过 γ -干扰素 (interferon gamma, IFN- γ) 诱导扩增外周血单核细胞, 是过继细胞疗法之一。CIK 通过白细胞功能相关

抗原-1 及其配体之间亲和力以及其他途径如 Fas 信号通路,对易感肿瘤细胞产生细胞毒性作用,从而导致肿瘤凋亡。在接受切除肝癌的患者进行 CIK 复制治疗的一项 III 期临床试验中,细胞疗法组呈现较长的中位无复发生存期^[33]。对于过继细胞疗法的临床前和临床试验正在不断进行,辅助性联合局部疗法如射频消融等也表现出较好的生存时间。

2.2 表观遗传机制调节 HCC 免疫治疗效应

在免疫治疗研究不断发展的同时,对表观遗传治疗方式也在不断深入探索,并发现靶向修正表观遗传改变,可以促进肿瘤免疫功能,辅助提升免疫治疗效应,同时也能增强自身作用效果。

2.2.1 表观遗传调节肿瘤免疫微环境

肿瘤微环境是由多种类型的细胞及细胞外基质组成。除了肿瘤细胞外,还包含血管上皮细胞、正常实质细胞、免疫相关细胞和肝细胞等,分泌多种生长因子、细胞因子和趋化因子,支持肿瘤生长^[34]。在 HCC 中过表达 EZH2 以及 DNMT1 能够分别介导 H3K37 三甲基化和 DNA 甲基化而减少 1 型辅助性 T 淋巴细胞(T helper cell 1, TH1)分泌趋化因子(C-X-C motif chemokine ligand 9/10, CXCL9/10),从而抑制效应 T 细胞浸润、NK 细胞迁移^[35],促进免疫逃逸。值得注意的是,HCC 中依赖于 MDSC 建立的抑制性免疫微环境的建立与 EZH2 信号传导密切相关^[36]。肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated, TAM)是肿瘤微环境中重要的固有免疫细胞,调节肿瘤免疫。TAM 的表达极化受表观遗传机制的调节,在肝细胞癌小鼠模型中,miR-144/miR451a 可以促进肿瘤相关巨噬细胞向抗肿瘤效应的 M1 型转化,抑制肿瘤生长,但在其编码基因启动子区域 H3K27 三甲基化和远端增强子 DNA 甲基化的共同作用下沉默下调而抑制巨噬细胞极化^[37]。组蛋白去乙酰化酶抑制剂 Belinostat 和抗 CTLA-4 抗体联合治疗异体移植肝癌的完全免疫小鼠过程中,抗体治疗能够增强 Belinostat 促进 M1 巨噬细胞极化功能,体现联合治疗的相互协同效应^[38]。

2.2.2 表观遗传改变肿瘤及免疫细胞表型

关键调节分子如 DNMT、HDAC、EZH2 等能够改变肿瘤抗原表达以及免疫细胞表型。在肝癌小鼠模型中,EZH2 能通过上调编码 PD-L1 的 CD274 启动子 H3K27 三甲基化水平,而抑制 PD-L1 受体表达^[39],

提示 EZH2 可以是辅助抗 PD-1/PD-L1 抗体治疗的靶点之一。联合使用组蛋白去乙酰化酶抑制剂 Belinostat 和抗 CTLA-4 抗体或抗 PD-L1 抗体治疗异体移植肝癌的完全免疫小鼠,联合抗 CTLA-4 抗体的治疗方法显示出更强的肿瘤抑制能力,同时促进 M1 型巨噬细胞的极化,使 PD-L1 表型上调,同时应用这三种药物的治疗可以得到完全抗肿瘤效应^[38]。此外,应用 EZH2 抑制剂 GSK126 和 DNMT 抑制剂 5-AZA-dc 联合抗 PD-L1 抗体,相较于单药治疗,联合用药有明显的肿瘤抑制、效应 T 细胞浸润以及相关肿瘤抗原的表达。但另一项使用 GSK126 与 5-AZA-dc 药物的临床前研究显示相反的结果,药物使用上调巨噬细胞分泌趋化因子 [(C-X-C motif chemokine receptor 3, CXCR3)/CXCL10] 而又到浆细胞极化为促进肿瘤进展浆细胞,但耗尽 B 细胞后,治疗重新呈现肿瘤抑制作用,提示肿瘤组织 B 细胞浸润程度是否可以作为能否使用联合治疗的指标之一^[40],联合治疗方法仍需充分的临床前研究确定适合治疗的肿瘤环境。

2.2.3 表观遗传影响免疫细胞分化

表观遗传机制在免疫细胞分化和功能形成中发挥重要作用,确保免疫细胞在不同组织环境中表达合适基因行使功能。CD4⁺T 细胞经不同转录因子调节分化成不同亚型 T 细胞,参与肿瘤免疫。表观遗传机制在 Th1 和 Th2 细胞分化和成熟过程中发挥重要作用,EZH2 介导的 H3K27 三甲基化与 Th1 细胞中白介素-4 (interleukin-4, IL-4) 和 *IL-13* 基因沉默,因子表达降低,功能减弱相关^[41]。使用 EZH2 抑制剂 DZNep 联合抗 PD-L1 抗体治疗肝细胞癌的动物实验中,联合治疗方法上调 Th1 趋化因子和相关肿瘤抗原的表达,促进效应 T 细胞浸润,促进抗肿瘤免疫^[42]。

表观遗传可调控机体获得和维持杀伤性 CD8⁺T 细胞以及记忆性 CD8⁺T 细胞功能^[41]。有研究认为,HDAC3 可以抑制与 CD8⁺T 细胞分化相关的遗传程序进而抑制其细胞毒性^[43],但快速而强大的记忆性 CD8⁺T 细胞功能与组蛋白乙酰化相关。分化成熟的记忆性 CD8⁺T 细胞在其启动子和第一个外显子区域对比幼稚记忆性 CD8⁺T 细胞有明显升高的 H3K9 的乙酰化水平^[44]。T 细胞耗竭状态被认为与染色体构象以及 DNA 甲基化水平失控有关,这种状态能够

影响 CD8⁺T 细胞功能,抑制肿瘤免疫。在小鼠模型中, DNMT 抑制剂治疗可以通过改善染色体构象和 DNA 甲基化水平而逆转这种状态的变化,同时增强免疫检查点抑制剂的治疗效果^[45]。

在一项初期的临床观察性试验中显示了表观遗传联合免疫治疗的潜力。在这项研究中,应用 DNMT 抑制剂和 HDAC 抑制剂联合治疗非小细胞肺癌患者后展现较好的客观反映,而在 5 例疾病进展的患者随后应用抗 PD-1 抗体治疗后表现良好的治疗效果^[46]。基于这项临床观察研究以及如前所述的临床前试验,大量联合应用表观遗传药物和免疫治疗的研究正在进行。一项研究阿扎替丁和 PD-1 抗体在急性髓细胞白血病患者中的 II 期试验显示,联合治疗是安全的,并产生了良好的客观应答率和总体生存率,这为联合治疗方法的推进带来希望^[47]。但对于表观遗传药物的安全性选择、应用条件等方面仍需深入研究。关于表观遗传治疗影响肿瘤免疫的研究仍需进一步深入。

3 小 结

随着基于表观遗传对 HCC 发生发展和治疗方法的研究不断深入,表观遗传标志有望成为临床肿瘤诊断及治疗的新型靶点。由于其动态变化,且调控因子易于靶向,为靶向修正表观遗传带来可能。近年来,免疫治疗发展迅速,被批准的药物及方法不断应用,但因个体差异,仍有部分患者效果欠佳,针对 HCC 患者的治疗方法需进一步完善,探索新的治疗方式或整合原有疗法,使更多 HCC 患者受益。表观遗传通过调控基因转录而控制细胞分化与功能,对肿瘤的系统治疗如免疫治疗起着调节作用,增强治疗效果。联合靶向表观遗传与免疫治疗方法,在修正表观遗传的同时也能调节肿瘤免疫反应,克服肿瘤异质性。但联合治疗的临床前及临床试验仍需不断推进,其安全性和有效性需进一步提高,为患者提供更安全有效的治疗方法。

参 考 文 献:

[1] Huang A, Yang XR, Chung WY, et al. Targeted therapy for hepatocellular carcinoma [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 146.
[2] Xu F, Jin T, Zhu Y, et al. Immune checkpoint therapy in

liver cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1):110.

- [3] Lake AC. Hepatitis B reactivation in a long-term nonprogressor due to nivolumab therapy[J]. *Aids*, 2017, 31(15): 2115–2118.
- [4] Jones PA, Gonzalvo ML. Altered DNA methylation and genome instability: a new pathway to cancer?[J]. *PNAS*, 1997, 94(6):2103–2105.
- [5] Yousef MH, El-Fawal HAN, Abdelnaser A. Hepigenetics: a review of epigenetic modulators and potential therapies in hepatocellular carcinoma[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:9593254.
- [6] Jung G, Hernández-Illán E, Moreira L, et al. Epigenetics of colorectal cancer: biomarker and therapeutic potential [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2020, 17(2): 111–130.
- [7] Ye W, Siwko S, Tsai RYL. Sex and race-related DNA methylation changes in hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(8):3820.
- [8] Hernsandez-Meza G, Von Felden J, Gonzalez-Kozlova EE, et al. DNA methylation profiling of human hepatocarcinogenesis[J]. *Hepatology*, 2021, 74(1): 183–199.
- [9] Mekky MA, Salama RH, Abdel-Aal MF, et al. Studying the frequency of aberrant DNA methylation of APC, P14, and E-cadherin genes in HCV-related hepatocarcinogenesis[J]. *Cancer Biomark*, 2018, 22(3):503–509.
- [10] Hlady RA, Sathyanarayan A, Thompson JJ, et al. Integrating the epigenome to identify drivers of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2019, 69(2):639–652.
- [11] Dhillon S. Decitabine/cedazuridine: first approval[J]. *Drugs*, 2020, 80(13):1373–1378.
- [12] Dombret H, Seymour JF, Butrym A, et al. International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with >30% blasts[J]. *Blood*, 2015, 126(3):291–299.
- [13] Daher-Reyes GS, Merchan BM, Yee KWL. Guadecitabine (SGI-110): an investigational drug for the treatment of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2019, 28(10):835–849.
- [14] Feng S, De Carvalho DD. Clinical advances in targeting epigenetics for cancer therapy[J]. *FEBS J*, 2022, 289(5): 1214–1239.
- [15] Sanaei M, Kavooosi F, Pourahmadi M. Effect of decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine, 5-aza-CdR) in comparison with vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) on DNMT1, DNMT3a and DNMT3b, HDAC 1-3, SOCS 1, SOCS 3, JAK2, and STAT3 gene expression in hepatocel-

- lular carcinoma HLE and LCL-PI 11 cell lines [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2021, 22(7): 2089–2098.
- [16] Gailhouse L, Liew LC, Yasukawa K, et al. Differentiation therapy by epigenetic reconditioning exerts antitumor effects on liver cancer cells[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(7): 1840–1854.
- [17] Tian Y, Wong VW, Chan HL, et al. Epigenetic regulation of hepatocellular carcinoma in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Semin Cancer Biol*, 2013, 23(6 Pt B): 471–482.
- [18] Chai X, Guo J, Dong R, et al. Quantitative acetylome analysis reveals histone modifications that may predict prognosis in hepatitis B-related hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Transl Med*, 2021, 11(3): e313.
- [19] Bricambert J, Miranda J, Benhamed F, et al. Salt-inducible kinase 2 links transcriptional coactivator p300 phosphorylation to the prevention of ChREBP-dependent hepatic steatosis in mice[J]. *J Clin Invest*, 2010, 120(12): 4316–4331.
- [20] Zhang C, Li H, Wang Y, et al. Epigenetic inactivation of the tumor suppressor gene RIZ1 in hepatocellular carcinoma involves both DNA methylation and histone modifications[J]. *J Hepatol*, 2010, 53(5): 889–895.
- [21] Tian Y, Wong VW, Wong GL, et al. Histone deacetylase HDAC8 promotes insulin resistance and β -catenin activation in NAFLD-associated hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(22): 4803–4816.
- [22] Chen YR, Ouyang SS, Chen YL, et al. BRD4/8/9 are prognostic biomarkers and associated with immune infiltrates in hepatocellular carcinoma [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(17): 17541–17567.
- [23] Romero D. HDAC inhibitors tested in phase III trial[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(8): 465.
- [24] Pinato DJ, Guerra N, Fessas P, et al. Immune-based therapies for hepatocellular carcinoma [J]. *Oncogene*, 2020, 39(18): 3620–3637.
- [25] Fabregat I, Moreno-Cúceres J, Sánchez A, et al. TGF- β signalling and liver disease [J]. *FEBS J*, 2016, 283(12): 2219–2232.
- [26] Pinter M, Scheiner B, Peck-Radosavljevic M. Immunotherapy for advanced hepatocellular carcinoma: a focus on special subgroups[J]. *Gut*, 2021, 70(1): 204–214.
- [27] 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.
- [28] Finn RS, Qin S, Ikeda M, et al. Atezolizumab plus bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(20): 1894–1905.
- [29] Yau T, Park J, Finn R, et al. CheckMate 459: a randomized, multi-center phase III study of nivolumab (NIVO) vs sorafenib (SOR) as first-line (1L) treatment in patients (pts) with advanced hepatocellular carcinoma (aHCC) [J]. *Ann Oncol*, 2019, 30: v874–v875.
- [30] Greten TF, Abou-Alfa GK, Cheng AL, et al. Society for Immunotherapy of Cancer (SITC) clinical practice guideline on immunotherapy for the treatment of hepatocellular carcinoma [J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(9): e002794.
- [31] Sawada Y, Yohikawa T, Nobuoka D, et al. Phase I trial of a glypican-3-derived peptide vaccine for advanced hepatocellular carcinoma: immunologic evidence and potential for improving overall survival [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(13): 3686–3696.
- [32] Sawada Y, Yoshikawa T, Ofuji K, et al. Phase II study of the GPC3-derived peptide vaccine as an adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma patients [J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(5): e1129483.
- [33] Lee JH, Lee JH, Lim YS, et al. Adjuvant immunotherapy with autologous cytokine-induced killer cells for hepatocellular carcinoma [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(7): 1383–1391. e6.
- [34] Larionova I, Kazakova E, Patysheva M, et al. Transcriptional, epigenetic and metabolic programming of tumor-associated macrophages [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(6): 1411.
- [35] Bugide S, Gupta R, Green MR, et al. EZH2 inhibits NK cell-mediated antitumor immunity by suppressing CXCL10 expression in an HDAC10-dependent manner [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(30): e2102718118.
- [36] Zhou J, Liu M, Sun H, et al. Hepatoma-intrinsic CCRK inhibition diminishes myeloid-derived suppressor cell immunosuppression and enhances immune-checkpoint blockade efficacy [J]. *Gut*, 2018, 67(5): 931–944.
- [37] Zhao J, Li H, Zhao S, et al. Epigenetic silencing of miR-144/451a cluster contributes to HCC progression via paracrine HGF/MIF-mediated TAM remodeling [J]. *Mol Cancer*, 2021, 20(1): 46.
- [38] Llopiz D, Ruiz M, Villanueva L, et al. Enhanced anti-tumor efficacy of checkpoint inhibitors in combination with the histone deacetylase inhibitor Belinostat in a murine hepatocellular carcinoma model [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68(3): 379–393.
- [39] Xiao G, Jin LL, Liu CQ, et al. EZH2 negatively regulates PD-L1 expression in hepatocellular carcinoma [J]. *J Im-*

- munother Cancer,2019,7(1):300.
- [40] Wei Y,Lao XM,Xiao X,et al. Plasma cell polarization to the immunoglobulin G phenotype in hepatocellular carcinomas involves epigenetic alterations and promotes hepatoma progression in mice [J]. Gastroenterology,2019,156(6):1890-1904,e16.
- [41] Dai E,Zhu Z,Wahed S,et al. Epigenetic modulation of antitumor immunity for improved cancer immunotherapy [J]. Mol Cancer,2021,20(1):171.
- [42] Hong YK,Li Y,Pandit H,et al. Epigenetic modulation enhances immunotherapy for hepatocellular carcinoma [J]. Cell Immunol,2019,336:66-74.
- [43] Tay RE,Olawoyin O,Cejas P,et al. Hdac3 is an epigenetic inhibitor of the cytotoxicity program in CD8 T cells[J]. J Exp Med,2020,217(7):e20191453.
- [44] Araki Y,Fann M,Wersto R,et al. Histone acetylation facilitates rapid and robust memory CD8 T cell response through differential expression of effector molecules(eomesodermin and its targets: perforin and granzyme B)[J]. J Immunol,2008,180(12):8102-8108.
- [45] Topper MJ,Vaz M,Marrone KA,et al. The emerging role of epigenetic therapeutics in immuno-oncology[J]. Nat Rev Clin Oncol,2020,17(2):75-90.
- [46] Juergens RA,Wrangle J,Vendetti FP,et al. Combination epigenetic therapy has efficacy in patients with refractory advanced non-small cell lung cancer [J]. Cancer Discov,2011,1(7):598-607.
- [47] Daver N,Garcia-Manero G,Basu S,et al. Efficacy,safety, and biomarkers of response to Azacitidine and Nivolumab in relapsed/refractory acute myeloid leukemia: a nonrandomized,open-label,phase II study [J]. Cancer Discov,2019,9(3):370-383.

《中国肿瘤》关于伦理审查的要求

根据《世界医学协会赫尔辛基宣言》和我国《涉及人的生物医学研究伦理审查办法》等的相关规定以及国际通行的动物福利和伦理准则,为进一步规范医学领域研究程序,保护研究对象的合法权益,本刊对相关论文的投稿提出如下要求:

(1)当论文的主体是以人为研究对象时(包括前瞻性研究、横断面研究、回顾性研究等),作者应当说明是否经所在单位或地区伦理学委员会的批准,是否取得研究对象或其家属的知情同意,并提供该委员会的批准文件复印件以及研究对象或其家属的知情同意书复印件。除此之外,凡涉及临床试验研究(前瞻性研究),作者原则上均应在WHO国际临床试验注册中心(<https://www.who.int/ictrp/en/>)或中国临床试验注册中心(<http://www.chictr.org.cn/index.aspx>)进行注册,并在论文中标注临床试验注册号。

(2)涉及实验动物的研究性论文,需遵守《实验动物管理条例》《实验动物质量管理办法》《善待实验动物指导性意见》的相关规定,并提供该项研究的伦理审查通过证明复印件及相应的动物合格证号。文中需注明所用动物的品种、品系、性别、日龄或月龄、体质量、数量、饲养条件、建模方法和时间、实验起点和终点、处死方法等必要信息。

(3)本刊伦理内容规范书写格式如下:(供参考)

本研究方案经***医院伦理委员会(或实验动物伦理委员会)审批(编号:XXXX),在*** (临床试验注册机构)注册(注册号:XXXX),患者均签署知情同意书(或符合实验室动物管理与使用准则)。