

## • 生物工程与大健康 •

**杨昭** 北京化工大学生命科学与技术学院副教授，硕士生导师。中国生物工程学会青年工作委员会委员，北京肿瘤病理精准诊断研究会常委。2010年获吉林大学学士学位，2015年获中国科学院生物物理研究所博士学位。致力于肿瘤干细胞和肿瘤免疫治疗研究，国际上首次证明了膀胱癌干细胞起源于正常膀胱干细胞或膀胱癌非干细胞，相关研究成果发表在 *European Urology*、*Cell Research*、*Journal of Experimental Medicine*、*Cancer Research*、*Clinical Cancer Research* 和 *Molecular Cancer* 等国际权威学术期刊。



# 肝癌免疫治疗的研究进展

沈宗毅，李卯晨，白素杭，杨庆坤，张富涵，唐茂，郭疆瑜，杨昭

北京化工大学 生命科学与技术学院，北京 100029

沈宗毅，李卯晨，白素杭，等. 肝癌免疫治疗的研究进展. 生物工程学报, 2019, 35(12): 2326–2338.

Shen ZY, Li MC, Bai SH, et al. Progress in immunotherapy for hepatocellular carcinoma. Chin J Biotech, 2019, 35(12): 2326–2338.

**摘要:** 肝细胞肝癌是全球发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一，发病率和死亡率呈逐年上升趋势。我国是肝癌大国，每年肝癌的死亡病例数位居全球第一。免疫治疗是继手术、化疗和放疗之后新兴的癌症治疗手段，其通过解除肿瘤微环境对免疫细胞的抑制作用并激活机体免疫功能，实现控制和杀伤肿瘤细胞。常用的免疫治疗的方法有免疫检查点治疗、过继免疫治疗和肿瘤疫苗治疗等。与传统治疗手段相比，免疫治疗因具有增强机体免疫功能、延缓肿瘤进展、延长患者生存时间等优点，逐渐成为基础和临床研究的热点。文中就免疫治疗在肝癌领域的研究进展作一综述。

**关键词:** 肝细胞肝癌，免疫治疗，免疫检查点治疗，过继免疫治疗，肿瘤疫苗

## Progress in immunotherapy for hepatocellular carcinoma

Zongyi Shen, Maochen Li, Suhang Bai, Qingkun Yang, Fuhuan Zhang, Mao Tang, Jiangyu Guo, and Zhao Yang

College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

**Abstract:** Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the malignant tumors with the highest morbidity and mortality in the

**Received:** July 27, 2019; **Accepted:** September 9, 2019

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (No. 81602644), Basic Scientific Research Operating Expenses for Central Universities (No. buctrc201910), National Key Research and Development Program (No. 2017YFA0105900).

**Corresponding authors:** Zhao Yang. Tel: +86-10-64438058; E-mail: yangzhao@mail.buct.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 81602644)，中央高校基本科研业务费 (No. buctrc201910)，国家重点研发计划 (No. 2017YFA0105900) 资助。

world. The morbidity and mortality of HCC are increasing every year. Liver cancer is a serious threat to public health in China and the death rate of patients with liver cancer in China is the highest in the world. Beyond surgery, chemotherapy and radiotherapy, immunotherapy is an emerging treatment for cancer, which could control and kill tumor cells by relieving the inhibitory status of immune cells in the tumor microenvironment and activating the immune function of the body. Immune checkpoint inhibitors, adoptive immunotherapy and tumor vaccine are the major treatments of immunotherapy. Compared with traditional therapy methods, immunotherapy could enhance immune function, delay tumor progression, prolong the survival time of patients, and becomes a hotspot in the basic and clinical cancer research. This article reviews the research progress of immunotherapy for liver cancer.

**Keywords:** hepatocellular carcinoma, immunotherapy, immune checkpoint treatment, adoptive immunotherapy, tumor vaccine

肝细胞癌 (Hepatocellular carcinoma, HCC) 是严重威胁全球人类健康的恶性肿瘤之一, 占有原发性肝癌的 90% 以上。世界卫生组织 2018 年癌症统计结果显示, 全球约有 84.1 万肝癌新增病例和 78.1 万肝癌死亡病例。肝癌死亡率高达 8.2%, 仅次于肺癌位居世界第二<sup>[1]</sup>。在我国, 每年约有 46.6 万肝癌新增病例, 约 38.3 万人死于肝癌, 占全球肝癌死亡病例数的 51%<sup>[2]</sup>。对我国肝癌患者病例研究发现, 肝癌发生的主要因素有病毒性肝炎感染和长期饮酒、吸烟等不健康的生活方式<sup>[3]</sup>。

临床上, 肝癌的主要治疗手段是手术切除、肝移植和局部消融, 但是绝大多数肝癌患者发病隐匿, 早期诊断困难, 大多数患者在确诊时已是晚期或者发生了转移, 失去了根治性治疗的机会, 并且病情发展迅速, 预后极差, 死亡率高, 即使采取一些放疗或者化疗手段, 疗效依旧不理想, 易造成耐药和复发<sup>[4]</sup>, 存活率仍然较低。

肿瘤微环境是肿瘤发生、发展和转移过程中所处的内环境, 大体上可分为免疫细胞为主的免疫微环境和成纤维细胞为主的非免疫微环境。免疫细胞在肿瘤微环境中成分复杂多样, 包括 T 淋巴细胞 (70%–80%)、B 淋巴细胞 (10%–20%)、巨噬细胞 (5%–10%)、自然杀伤细胞 (<5%) 和发挥抗原呈递作用的树突状细胞<sup>[5]</sup>。肿瘤微环境中免疫细胞的组成和比例的改变, 对肝癌的发生和发展发挥关键作用。苗同国等<sup>[6]</sup>对 40 位均有乙型肝炎

炎 (HBV) 病史的原发性肝癌患者和 40 位健康人的外周血进行检测, 发现肝癌患者中的 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 细胞亚群的数量显著低于健康对照组, 但 CD8<sup>+</sup>、Treg 细胞数量明显高于健康对照组。不仅如此, 肝癌患者血清中 IL-2、IFN- $\gamma$  和 TNF- $\alpha$  的表达量也显著低于健康对照组。上述研究表明, 肝癌患者的细胞免疫系统紊乱, 免疫功能受到明显抑制。细胞的免疫功能低下和免疫抑制正是肝癌难治愈、易转移、易复发的重要因素。另一方面, 肝癌细胞能对自身表面抗原进行修饰使得肿瘤细胞逃脱免疫系统的识别和清除, 或是通过某些机制下调机体的抗肿瘤免疫应答, 抑制免疫细胞的功能并诱导免疫细胞的凋亡, 逃避宿主免疫系统攻击<sup>[7]</sup>。此外, 调节性 T 细胞 (Regulatory T cells, Tregs) 和肿瘤细胞相关的巨噬细胞 (Tumor-associated macrophages, TAMs) 通过参与免疫抑制反应, 为肿瘤免疫逃逸发生和发展提供条件。Tan 等<sup>[8]</sup>发现 Tregs 能有效削弱自身抗原引起的抗肿瘤免疫, 促进肿瘤细胞的增殖和转移。在免疫缺陷的小鼠体内, 回输人源 CD3<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T 细胞可阻止卵巢癌细胞生长, 但同时回输人源 Tregs 则会促进卵巢癌细胞的生长。肿瘤相关巨噬细胞是肿瘤浸润免疫细胞的主要成分, 肿瘤微环境中多种刺激因子可招募巨噬细胞在肿瘤处聚集, 巨噬细胞通过诱发炎症反应或改变肿瘤细胞对药物敏感性, 促进肿瘤的发生和发展<sup>[9]</sup>。Zhu 等<sup>[10]</sup>发现低密度 TAMs 的原发性肝癌

患者 5 年后的总生存率为 61%，无进展生存率为 61%，而高密度 TAMs 的 HCC 患者则分别为 20% 和 15%，结果表明肿瘤周围 TAMs 的密度与 HCC 术后预后密切相关，即肝癌患者的 TAMs 密度越高，预后越差。

肿瘤相关成纤维细胞 (Cancer-associated fibroblasts, CAFs) 是实体肿瘤微环境中最丰富的宿主细胞，是构成非免疫微环境的主要细胞亚群，在肿瘤发生、发展、转移和复发过程中发挥重要作用。Olumi 等<sup>[11]</sup>在体内实验中证实，前列腺癌细胞单独或者与正常成纤维细胞共接种均不具备致瘤性，而与 CAFs 联合接种则能形成巨大的实体瘤，揭示了 CAFs 主导的肿瘤微环境对肿瘤生长具有促进作用。此外，Liu 等<sup>[12]</sup>发现肿瘤相关的成纤维细胞相比于正常纤维细胞分泌更多的趋化因子 CCL2、CCL5、CCL7 和 CXCL16。四种趋化因子通过诱导 HCC 细胞 hedgehog (Hh) 途径和 transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 途径来促进肝癌细胞的转移。

肝脏中免疫微环境和非免疫微环境共同参与 HCC 的免疫耐受及应答，影响肝癌的发展与患者预后。传统的 HCC 治疗方案由于未对免疫耐受环境产生影响，免疫系统对药物的敏感性不足，疗效常不理想。因此，临床医师应充分了解 HCC 免疫微环境，完善治疗策略提高 HCC 的治疗效果。

肿瘤免疫治疗是通过激发机体的免疫功能，增强肿瘤微环境抗肿瘤免疫力，从而控制和杀伤肿瘤细胞的治疗手段。与传统肝癌治疗手段相比，免疫治疗发生严重毒性反应的概率更低，患者耐受性更好，可有效增强机体的免疫反应，延缓肿瘤的进展，一定程度上延长患者的生存时间。近年来，肝癌免疫治疗逐渐成为目前研究的热点，并在临床上取得了积极的效果，部分病人在接受免疫治疗后生存周期延长，复发率降低。常用的免疫治疗的方法有免疫检查点抑制剂治疗

(CTLA-4 单抗、PD-1/PD-L1 单抗等)、过继免疫治疗 (细胞因子诱导的杀伤细胞、嵌合抗原受体 T 细胞免疫、肿瘤浸润淋巴细胞等) 和肿瘤疫苗治疗 (树突状细胞疫苗、溶瘤病毒疫苗等) (图 1)，本文对近年来肝癌免疫治疗的研究进展作一综述。

## 1 免疫检查点抑制剂治疗

参与抗肿瘤免疫反应的 T 细胞在活化后，其表面多种抑制性受体表达上调，与肿瘤细胞表面相应配体结合产生免疫抑制作用，促使肿瘤相关免疫反应的强度下调。这些在免疫反应过程中具有抑制性免疫调节作用的位点，被称为免疫检查点。目前许多研究都致力于揭示免疫机制以及肿瘤相关的免疫调节通路并取得了突破性进展。2018 年诺贝尔生理学或医学奖分别授予了美国德州大学安德森癌症中心詹姆斯·P·艾利森 (James P. Allison) 和日本免疫学家本庶佑 (Tasuku Honjo)，以表彰他们发现了 CTLA-4 和 PD-1/PD-L1 免疫负调控癌症疗法。

### 1.1 CTLA-4 单抗

细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4) 是一种白细胞分化抗原，属于 T 细胞上的一种跨膜受体，它的表达与 T 细胞活化存在密切联系。T 细胞表面分子 CD28 通过与抗原呈递细胞表面配体 CD80/CD86 结合激活免疫细胞完成免疫反应，但由于 CTLA-4 与 CD28 分子存在相互竞争关系，而 CTLA-4 与 CD80/CD86 具有更好的亲和性使得 CTLA-4 更易结合两个配体，抑制 T 细胞的活性 (图 2)<sup>[13]</sup>。

阻断 CTLA-4 与其配体的结合可刺激免疫细胞的活化、增殖从而诱导或增强免疫反应。Hodi 等<sup>[14]</sup>对 III/IV 期黑色素瘤患者分别进行抗 CTLA-4 单克隆抗体 Ipilimumab (IgG 1 $\kappa$ ) 或糖蛋白 100 (Glycoprotein 100, gp100) 治疗。结果表明，接

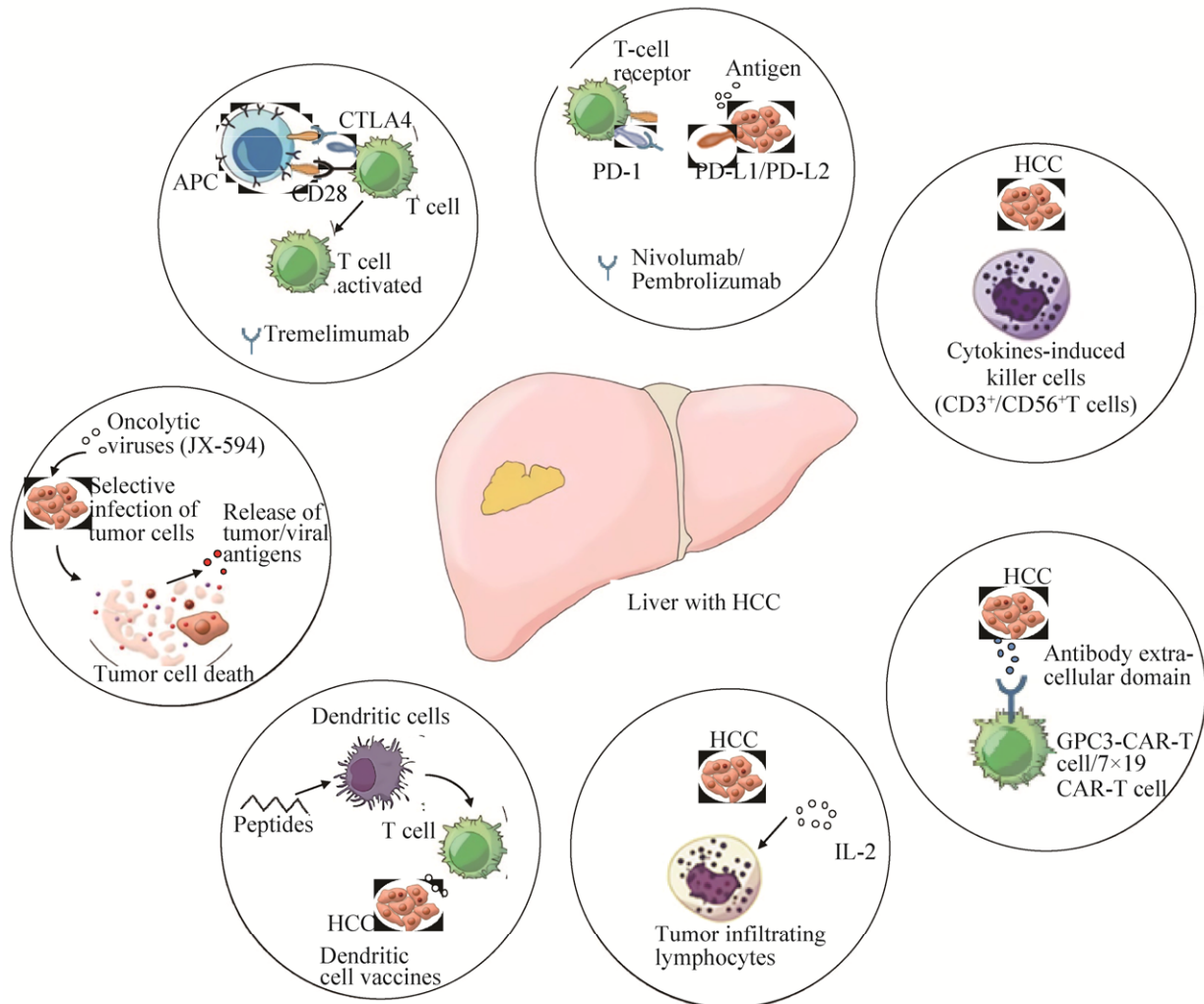


图 1 肝癌免疫治疗方法

Fig. 1 Schematic representation of immunotherapy for liver cancer.

受 gp100 治疗的患者中位总生存期为 6.4 个月，而接受 Ipilimumab 治疗的患者中位总生存期为 10.1 个月，即 Ipilimumab 显著提高了黑色素瘤患者的术后生存期。因此，Ipilimumab 成为第一个获得 FDA 批准用于临床的免疫检查点抑制剂<sup>[15]</sup>。肾细胞癌、非小细胞肺癌、前列腺癌等利用 Ipilimumab 进行治疗时发现其疗效并没有黑色素瘤明显，还需更多试验结果确定能否利用 Ipilimumab 有效治疗其他癌症类型。

Tremelimumab 作为另一个阻断 CTLA-4 的单克隆抗体已用于肝癌、结直肠癌和转移性黑色素

瘤的治疗。目前已应用于肝癌临床治疗的药物有 Sorafenib<sup>[16]</sup>、Everolimus<sup>[17]</sup>和 Brivanib<sup>[18]</sup>，3 种药物对肝癌的疾病控制率为 44%–53%，肿瘤进展时间中位数为 2.7–5.5 个月。Sangro 等<sup>[19]</sup>对 HCC 和 HCV 患者共 17 例进行 Tremelimumab 治疗后，患者的客观反应率和疾病控制率分别是 17.6% 和 76.4%，肿瘤进展时间的中位数是 6.48 个月。Tremelimumab 与 Sorafenib、Everolimus 和 Brivanib 相比，表现出更好的治疗效果，但其安全性和抗肿瘤活性还需更多临床试验和数据分析来进一步评估。

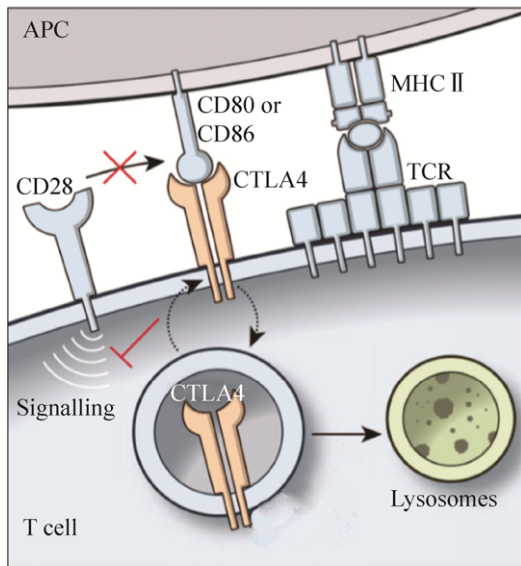


图2 CTLA-4介导的免疫抑制通路<sup>[13]</sup>

Fig. 2 Schematic representation of the CTLA-4 pathway<sup>[13]</sup>.

## 1.2 PD-1/PD-L1 单抗

程序性死亡受体 1 (Programmed cell death protein 1, PD-1) 属于 CD28 超家族成员, 其配体程序性死亡配体 1 (Programmed cell death-Ligand 1, PD-L1) 和程序性死亡配体 2 (Programmed cell death-Ligand 2, PD-L2) 都具有抑制 T 细胞活性功能。肿瘤细胞表面 PD-L1 分子表达上调后与 T 细胞和 B 细胞的 PD-1 结合, 使 PD-1 分子位于胞质区的 ITSM (Immunoreceptor tyrosine-based switch motif) 磷酸化, 细胞内的葡萄糖代谢受到抑制, T 细胞增殖能力和细胞因子分泌能力大大降低, 肿瘤细胞周围 T 细胞耗竭, 最终导致肿瘤细胞逃过免疫监控和清除<sup>[20]</sup>。

以 PD-1/PD-L1 作为靶点阻断 PD-L1 蛋白与 PD-1 受体的结合使 T 细胞发挥正常功效对抗肿瘤具有重要意义。2014 年 FDA 批准了人源 IgG 4κ 单克隆抗体 Nivolumab 作为第一个 PD-1 靶向黑色素瘤治疗药物。在一项三期临床实验中, 患者分别接受 Nivolumab 和达卡巴嗪治疗, 其客观反应率分别为 40.0% 和 13.9%, 无进展生存期分别为

5.1 个月和 2.2 个月, 一年总生存率分别为 72.9% 和 42.1%。可见, Nivolumab 对于黑色素瘤的治疗效果均优于达卡巴嗪<sup>[21]</sup>。2016 年, El-Khoueiry 等<sup>[22]</sup>公布了 Nivolumab 治疗晚期原发性肝癌 I/II 期非随机临床研究结果, 214 名患者接受 Nivolumab 静脉注射, 有 35 例患者出现应答 (16.3%), 其中 33 例部分应答 (94%), 2 例完全应答 (6%); 111 例患者 (52%) 在整个治疗过程中病情稳定。患者客观反应率为 16%, 疾病控制率达 68%, 6 个月生存率 82.5%, 9 个月生存率 70.8%。因此, Nivolumab 对晚期 HCC 患者表现出良好的安全性, 具备治疗晚期 HCC 患者的潜力。

另外一个靶向抑制 PD-1 通路的单克隆抗体是 Pembrolizumab, 并且已被 FDA 批准用于一线 PD-1 过表达的非小细胞肺癌和转移性黑色素瘤的治疗。一项多中心 II 期临床试验 KEYNOTE-224 研究 Pembrolizumab 在晚期 HCC 患者中的安全性和有效性。该研究招募了 104 名患者每 3 周对其进行 200 mg 的 Pembrolizumab 静脉注射, 104 名参与者中有 84 名 (81%) 死亡或疾病进展, 疾病进展中位时间为 4.9 个月, 无进展生存期中位时间为 4.9 个月。104 名参与者中有 60 名 (58%) 死亡, 中位总生存期为 12.9 个月。研究进行到 12 个月时, 29 名患者存活且无进展, 12 个月无进展生存率为 28%, 56 名患者仍然存活, 12 个月总生存率为 54%<sup>[23]</sup>。另外两项关键临床 III 期试验 KEYNOTE-240 和 KEYNOTE-394 评估 Keytruda 单药二线治疗 HCC 的疗效和安全性仍在进行中。

PD-1/PD-L1 除了运用于肿瘤治疗还可作为术后的预测因子。Gao 等<sup>[24]</sup>通过蛋白质印迹实验测试 125 名 HCC 患者 PD-L1 表达量以研究 PD-L1 与病人预后相关性, 发现 PD-L1 阴性患者 (低表达) 中位总生存期为 59.4 个月而 PD-L1 阳性患者 (高表达) 是 29.6 个月, 此外, PD-L1 阳性患者复发率是阴性患者 1.71 倍, PD-L1 阳性患者的预后



明显差于低表达患者。因此, PD-L1 可作为 HCC 免疫疗法的靶标和表征患者预后的潜在标志物。

### 1.3 PD-1/PD-L1 联合 CTLA-4

单一的免疫检查点抑制剂在 HCC 治疗中表现出较好疗效, 但对晚期实体瘤疗效有限, 免疫检查点抑制剂的联合运用有望产生协同作用获得更好疗效。Stein 等<sup>[25]</sup>将 PD-L1 单抗 Atezolizumab 联合 Bevacizumab 治疗晚期 HCC 患者 (NCT02715531)。在 43 位接受治疗的患者中有 14 名晚期 HCC 患者瘤体缩小 30%, 5 名晚期患者疾病稳定控制率达到 83%。联合方案优于单药治疗有效率达到 65%。Hellmann 等<sup>[26]</sup>针对不同非小细胞肺癌患者评估 Nivolumab 治疗方案 (CHECKMATE 227)。试验以 1:1:1 的比例分别对患者进行 Nivolumab 和 Ipilimumab 联合用药治疗、Nivolumab 单一药物治疗和化疗。Nivolumab 和 Ipilimumab 联合用药的一年无进展生存率为 42.6%, 化疗的为 13.2%, 中位无进展生存期分别为 7.2 个月和 5.5 个月。Nivolumab 加 Ipilimumab 的客观反应率为 45.3%, 化疗的为 26.9%。结果表明 Nivolumab 加 Ipilimumab 的无进展生存率、无进展生存期和客观反应率均优于化疗。对比 Nivolumab 和化疗发现 Nivolumab 的中位无进展生存期为 4.2 个月, 化疗为 5.6 个月, 两个治疗组无进展存活率没有显著差异。这些结果表明 Nivolumab 加 Ipilimumab 联合用药在非小细胞肺癌患者治疗中优于化疗, Nivolumab 加 Ipilimumab 联合用药可以作为非小细胞肺癌的有效一线治疗药物。联合治疗方案相比单药治疗也引起相对较多的副作用。除了免疫治疗出现的副作用发烧、咳嗽、皮疹和乏力等之外也有其他症状出现, 所以还需根据病人临床数据指标对治疗策略作进一步优化。

尽管关于免疫检查点抑制剂报道结果表现出很好的疗效, 但免疫检查点抑制剂仍存在潜在的严重不良反应。例如, PD-1 抑制剂在阻断 PD-1

与 PD-L1 相互作用的同时存在抑制 T 细胞与抗原呈递细胞的作用<sup>[27]</sup>。PD-1/PD-L1 单抗仅能解除位于肿瘤细胞边缘 T 细胞的束缚, 不能够促使 T 细胞攻击肿瘤细胞, 因而仅对部分患者有效, 部分患者在接受治疗后病情反而恶化, 因此还需要针对晚期肝细胞癌的治疗策略进行优化<sup>[28]</sup>。对新型免疫检查点的鉴定和治疗效果的探究, 是未来免疫治疗领域的研究重点。

## 2 过继免疫治疗

目前过继免疫治疗有两个治疗方向: 一是给患者回输能在体内激发患者的特异性抗肿瘤免疫反应的细胞如树突状细胞, 属于主动细胞免疫治疗。二是通过对自身的细胞在体外进行刺激后产生大量的特异性细胞, 再将特异性细胞回输到人体内调动和激活人体内的细胞因子和具有细胞毒性的免疫细胞, 调整免疫杀伤性反应, 实现杀伤肿瘤效果, 属于被动细胞免疫治疗。肝癌的过继免疫治疗对抑制肝癌的复发、延长生存期都具有重要的作用, 特别是作为术后辅助治疗手段取得了较好疗效, 这也推动了许多与该疗法相关 III 期临床试验的进行。

### 2.1 细胞因子诱导的杀伤细胞 (Cytokines-induced killer, CIK)

细胞因子诱导的杀伤细胞是一种非 MHC 限制性的新型免疫活性细胞, 其增殖能力强、抗肿瘤活性高、副作用小, 优于淋巴因子激活的杀伤细胞 (Lymphokine activated killer cells, LAK), 对提高患者自身抗肿瘤免疫能力有重要作用<sup>[29]</sup>。CIK 是 T 淋巴细胞的细胞群, 主要包括 CD3<sup>+</sup>/CD56<sup>-</sup> 细胞、CD3<sup>-</sup>/CD56<sup>+</sup>NK 细胞、CD3<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>T 细胞等。CD3<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>T 细胞是主要的效应细胞, 它们具有很强的增殖能力, 对肿瘤细胞具有特异性, 并且具备 T 细胞和 NK 细胞双重抗肿瘤能力且对正常细胞毒性较小。早期临床研究显示 CIK 细胞

对各种肿瘤均具有抗癌活性。

临床前试验表明, CIK 细胞在体外具有较高的抗肝癌细胞活性, 在荷瘤裸鼠模型中对肝癌细胞生长的抑制作用均强于 LAK 和 PBMC<sup>[30]</sup>。Pan 等<sup>[31]</sup>对肝切除后 HCC 患者进行 CIK 细胞免疫辅助治疗, 研究辅助治疗对患者的总生存期和无复发生存期的影响。单独肝切除患者的中位总生存率和无复发生存期分别为 28 个月和 12 个月, 肝切除后接受 CIK 细胞免疫治疗的患者中位总生存率和无复发生存期分别为 41 个月和 16 个月。因此, CIK 免疫辅助治疗可显著提高总生存期和无复发生存期。

在另一项研究 CIK 细胞免疫治疗功效和安全性的 III 期临床试验中, 17% 的患者出现与 CIK 细胞因子相关的不良反应, 如发热、寒战、肌痛和疲劳, 但它们的严重程度尚在可控范围内<sup>[29]</sup>。因此, CIK 细胞免疫治疗的安全性仍需更多临床试验作进一步研究。

为了达到更好的治疗效果, 将树突状细胞 (Dendritic cell, DC) 与 CIK 细胞联合运用作为新的治疗策略。树突状细胞主要分布在淋巴系和髓系, 是已发现的最强的抗原呈递细胞, 能有效激活 T 细胞诱导机体发生抗肿瘤免疫反应。DC-CIK 细胞免疫已在多种实体瘤临床研究中取得了令人可喜的结果。肝癌手术后配合 DC-CIK 辅助治疗可以提高机体免疫功能, 为患者提供了一种安全有效的治疗策略。已有研究证实 DC-CIK 细胞疗法能用于增强术后经导管动脉化疗栓塞 (POTACE) 的 HCC 癌患者的抗肿瘤免疫能力。Zhang 等<sup>[32]</sup>研究分析 DC-CIK 细胞治疗对接受 POTACE 的 HBV 感染的 HCC 患者的临床疗效。对照组 (仅 POTACE) 与实验组 (POTACE 加 DC-CIK 细胞疗法) HCC 患者的中位总生存时间分别为 26.7 个月和 38.7 个月, 实验组明显长于对照组。除此之外, 试验还对患者的血清甲胎蛋白 (AFP) 表达水平进行测试, AFP 是用于诊断原发

性癌症和 HCC 肿瘤复发的特异性标记物, 在健康人血清中 AFP 维持在较低水平, 而在恶性肿瘤中因受到相应刺激使得 AFP 表达水平上升。在接受 POTACE 加 DC-CIK 细胞疗法之前, 对照组和实验组 AFP 表达量分别为  $(332.4 \pm 668.5)$  ng/mL 和  $(236.1 \pm 389)$  ng/mL, AFP 水平无显著性差异。治疗之后对照组与实验组分别为  $(50.3 \pm 105.7)$  ng/mL 和  $(603 \pm 1161.7)$  ng/mL, 实验组 AFP 水平与对照组相比明显降低。研究结果表明, DC-CIK 细胞疗法在延长患者中位总生存时间、降低 HCC 患者外周血中的 AFP 水平、改善 HCC 患者预后都起到了重要的作用。

尽管关于 CIK 疗法已经开展了很多工作, 但是由于存在免疫逃逸机制和缺乏特定肿瘤抗原, 只有一部分 T 细胞可以发挥完整的抗肿瘤功能。如何进一步提高 CIK 疗法的有效性有待进一步研究。

## 2.2 嵌合抗原受体 T 细胞免疫 (Chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)

嵌合抗原受体修饰 T 细胞是近年来迅速发展的肿瘤过继免疫新疗法, 其原理是利用经嵌合抗原受体修饰的 T 细胞特异性地识别肿瘤相关抗原, 提高效应 T 细胞的靶向性、杀伤活性和持久性, 克服抑制性肿瘤局部免疫微环境并打破宿主免疫耐受性。

CAR-T 细胞到目前为止已经开发到了第 4 代, 基于前 3 代的基础上 T 细胞的持续增殖、细胞因子的分泌和杀伤肿瘤的能力都得到了较大的提高。目前被广泛应用的 CAR 结构由单链抗体、细胞外铰链区 (Extracellular hinge region)、跨膜结构域和细胞内结构域组成<sup>[33]</sup>。CAR-T 免疫治疗在白血病<sup>[34]</sup>、淋巴瘤<sup>[35]</sup>中取得了较好的疗效。2017 年 FDA 批准 Kymriah 和 Yescarta 两种 CAR-T 治疗产品用于淋巴细胞白血病和淋巴瘤的治疗。

CAR-T 细胞免疫虽然在实体瘤的应用上已经成为了研究的热点, 但是关于 HCC 在临床上的研究还没有报道, 更多仍处于基础研究阶段<sup>[36]</sup>, 其

技术关键点在于肿瘤特异性抗原的选择。磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 (Glypican-3, GPC3) 是硫酸乙酰肝素糖蛋白家族中的一员, 属于一种跨膜糖蛋白, 在细胞的增殖、分化和转移中具有重要的作用。Gao 等<sup>[37]</sup>发现 GPC3<sup>+</sup>肿瘤细胞能有效地被 GPC3 靶向的 T 细胞裂解, 并且裂解的肿瘤细胞数量和肿瘤中 GPC3 表达量呈正比。体内实验结果表明, GPC3-CAR-T 细胞可有效杀伤肝癌细胞抑制 HCC 肿瘤形成。

除了对 CAR-T 细胞修饰抗原受体以外, 还能将 CAR-T 定向改造表达所需的细胞因子辅助免疫治疗。Adachi 等<sup>[38]</sup>将 IL-7 和 CCL19 基因转染到 CAR-T 细胞以表达 IL-7 和 CCL19 (7×19 CAR-T 细胞)。IL-7 是一种细胞因子可促进 T 细胞增殖提高存活率, CCL19 作为引诱因子可吸引 T 细胞和树突状细胞到达肿瘤部位。传统的 CAR-T 细胞存活率仅有 30%, 而接受 7×19 CAR-T 细胞治疗的 DBA/2 小鼠的存活率达到 100%。利用免疫荧光技术发现 7×19 CAR-T 细胞可以有效促进浸润性 T 细胞和树突状细胞向肿瘤组织的转移。IL-7 和 CCL19 两者的结合既增强免疫细胞增殖能力又促进免疫细胞向肿瘤细胞转移, 类似上述具备两种或多种功能的 CAR-T 细胞将会为今后免疫治疗提供一种新的治疗策略。

随着 CAR-T 细胞在临床的不断应用, CAR-T 细胞存在的安全性问题开始受到了人们的关注, 在输注大量的 CAR-T 细胞后机体会分泌大量的细胞因子导致细胞因子风暴引发多器官功能衰竭, 同时 CAR-T 细胞的免疫排斥反应和脱靶效应等其他安全性问题也亟待解决, 未来还需要对 CAR-T 细胞结构逐渐优化来克服上述安全性问题。

### 2.3 肿瘤浸润淋巴细胞 (Tumor infiltrating lymphocytes, TIL)

肿瘤浸润淋巴细胞本身也作为一种免疫疗法。手术切除的肿瘤组织大部分是肿瘤细胞但仍

有少部分淋巴细胞。TIL 治疗原理是从肿瘤组织中分离淋巴细胞在体外进行扩增, 经 IL-2 培养得到足够多肿瘤浸润淋巴细胞回输到患者体内发挥抗癌作用。先前的研究表明在 HCC 中 TIL 数量稀少, 但对肿瘤病人的复发有重要的影响<sup>[39]</sup>。经过 TIL 治疗的肝癌患者与对照组相比复发率减少 38.6%, 5 年生存率提高了 34.9%。在另外一项随机临床试验中, 76 例 HCC 患者 (HBV 感染患者占 20%, HCV 感染患者占 66%) 在肝切除后利用 IL-2 体外激活淋巴细胞进行过继免疫治疗后相比于对照组其复发率降低 18%<sup>[40]</sup>。虽然 TIL 有明显的治疗效果, 但是目前存在的困难是 TIL 难以从 HCC 患者中分离并进行体外扩大培养, 并且仅有少部分 TIL 细胞对肿瘤抗原敏感<sup>[33]</sup>。Rosenberg 等<sup>[41]</sup>发现在 CD8<sup>+</sup> TIL 细胞中只有少量对肿瘤抗原敏感, 其他大量 TIL 对肿瘤细胞不敏感, 其原因是在 CD8<sup>+</sup> TIL 细胞中存在 CD39 表达差异。CD39 是一种与慢性免疫细胞刺激有关的分子, 在多种恶性实体瘤中存在高表达的情况。研究发现 CD8<sup>+</sup>CD39<sup>+</sup>的 TIL 具有潜在的抗肿瘤能力但其活性受到抑制, PD-1/PD-L1 抑制剂可以解除该类抑制。所以能对 PD-1/PD-L1 与 CD39 之间作用机制作进一步研究, 便于今后临床上将 CD39 表达量作为指标确定 PD-1/PD-L1 治疗策略。

### 2.4 淋巴因子激活杀伤细胞 (Lymphokine-activated killer, LAK)

淋巴因子激活杀伤细胞是用高浓度 IL-2 激活肿瘤患者自体或正常捐赠者的外周血单核细胞, 激活之后体外有广谱抗肿瘤的活性, 可直接溶解、杀伤肿瘤细胞。Takeda 等<sup>[42]</sup>报道了 LAK 细胞治疗多发 HCC 的有效性和实用性, 但是这种方法存在肿瘤细胞自体回输风险, 所以临床报道不多。

## 3 肿瘤疫苗治疗

肿瘤疫苗治疗具有高效性和低毒性, 其目的



就是启动机体产生持续的抗肿瘤免疫反应，避免损伤自体组织细胞。肝癌疫苗就是利用肝癌细胞或者抗原诱导机体特异性免疫应答达到消灭肿瘤的目的。肿瘤疫苗主要包括多肽疫苗、树突状细胞疫苗和溶瘤病毒疫苗等。

### 3.1 多肽疫苗

目前报道较多的多肽疫苗是甲胎蛋白 (AFP) 多肽疫苗。甲胎蛋白 (AFP) 是一种糖蛋白，属于白蛋白家族。甲胎蛋白在胎儿血液中含有丰富，出生后含量逐渐降低，在健康成年人血清中维持较低水平。在肝脏、胃和胰腺等恶性肿瘤中因受到相应的刺激，重新获得合成 AFP 的能力出现了甲胎蛋白含量升高的情况。检查血清中的甲胎蛋白含量结合一些影像学检查能方便快捷地对肝癌进行临床诊断。

甲胎蛋白因在胚胎时期就已经出现，机体对其已产生免疫耐受性，甲胎蛋白再次在肝脏中合成时难以产生有效的免疫应答，无法对肝癌细胞进行杀伤，所以甲胎蛋白也可作为肝癌免疫治疗的潜在靶点。基于甲胎蛋白作为靶点的临床试验已经开展。利用 AFP 抗原决定簇肽制备肝癌疫苗进行小鼠实验，测定小鼠肿瘤大小和细胞因子 (IL-2、IL-10、IFN- $\gamma$ ) 发现对照组肿瘤直径为 (12.28 $\pm$ 3.49) mm，经 AFP 肝癌疫苗治疗的小鼠其肿瘤直径为 (8.87 $\pm$ 3.49) mm，实验结果说明 AFP 肝癌疫苗能有效抑制肿瘤的生长；实验组小鼠血清中细胞因子相比于对照组存在不同程度的上调，而淋巴细胞活化负调控因子 IL-10 表现出显著的抑制作用<sup>[43]</sup>。

AFP 特异性多肽疫苗表现出来的显著抗癌活性能为今后肝癌的临床治疗提供实验依据，但是 AFP 多肽疫苗也存在一定的局限性，它只针对 AFP 特异性的免疫反应，而肝癌细胞 AFP 抗原的表达存在一定的异质性，临床上存在 1/3 的肝癌患者的甲胎蛋白水平并未明显升高的情况，这会

影响患者的临床诊断延误疾病的治疗。

### 3.2 树突状细胞疫苗

树突状细胞 (DC) 是人体内抗原递呈能力最强的细胞，通常情况下人体内的 DC 细胞数量很少，只有抗原递呈细胞发挥正常呈递功能时身体才能有效识别病原，激活免疫系统产生免疫反应。肿瘤疫苗通常是利用肿瘤抗原物质诱导机体产生特异性免疫反应达到治疗肿瘤的目的。树突状细胞疫苗是体外培养病人单核细胞诱导生成 DC 细胞，负载相应的肿瘤抗原制成含肿瘤抗原的树突状细胞，再将细胞回输到病人体内激活毒性 T 淋巴细胞增殖实现杀伤肿瘤的作用。2010 年 4 月 FDA 批准了第一个抗肿瘤树突状细胞疫苗 Provenge 用于治疗前列腺癌，但是疗效并不理想。为提高抗肿瘤树突状细胞疫苗疗效需要对其进行改进，有研究团队将疫苗与免疫检查点抑制剂相结合以提高药物疗效。Wilgenhof 等<sup>[44]</sup>将特异性疫苗和免疫检查点 CTLA-4 抑制剂两者相结合用于晚期黑色素瘤 II 期临床研究。39 名黑色素瘤病人在接受树突状细胞疫苗和 Ipilimumab 联合治疗之后，6 个月疾病控制率为 51%，整体肿瘤反应率为 38%，其中完全反应 8 例，部分反应 7 例。1 年和 2 年生存率分别为 59% 和 38%。O'Day 等<sup>[45]</sup>利用 Ipilimumab 单药治疗晚期黑色素瘤患者其 1 年和 2 年的生存率分别为 47.2% 和 32.8%。实验结果表明肿瘤疫苗与免疫检查点联用与单一药物治疗相比具有显著优势。上述临床结果为肿瘤疫苗与免疫检查点联合使用提供临床数据支持，两者相结合的治疗策略具有很好的发展前景。

200 项临床试验已经表明 DC 疫苗安全可靠能高效激活病人产生抗肿瘤免疫反应。未来 DC 疫苗还将运用到肝癌、肺癌等其他癌症疾病。基于 DC 疫苗与免疫检查点抑制剂联用等新的治疗策略会被开发并运用到更多临床试验中<sup>[46]</sup>。

### 3.3 溶瘤病毒疫苗

溶瘤病毒通过感染癌细胞引起病毒性细胞病变并诱发宿主抗肿瘤免疫反应,从而选择性杀死癌细胞。2015年美国FDA和欧洲药物管理局(EMA)批准了经基因工程改造的单纯疱疹病毒I型(HSV-1)命名为Imlygic用于治疗黑色素瘤。Imlygic直接注射到肿瘤组织能高效感染肿瘤细胞引起肿瘤细胞裂解,裂解的肿瘤细胞释放出肿瘤相关的抗原,在人粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)作用下,激发机体抗肿瘤的免疫反应<sup>[47]</sup>。除了HSV-1外,尚有许多不同类型的病毒已经进入临床试验以评估其生物安全性和抗肿瘤疗效,主要包括腺病毒、痘病毒、麻疹病毒和呼肠孤病毒等。Heo等利用JX-594痘苗病毒以确定晚期肝癌患者的最佳JX-594剂量。随机对处在II期的30名患者进行试验,受试者中有16名患者(HBV感染患者占37%,HCV感染患者占19%)注射高剂量JX-594,而14名患者(HBV感染患者占43%,HCV感染患者占21%,酒精相关肝癌患者占14%)则注射低剂量,两种剂量中位生存期分别为14.1个月和6.7个月,高剂量组的生存期明显高于低剂量组,结果表明受试者生存期和剂量存在一定的相关性<sup>[48]</sup>。

采用溶瘤病毒与免疫检查点抑制剂相结合治疗策略能实现更好的治疗效果。在一项1b期临床试验中,Ribas等<sup>[49]</sup>将溶瘤病毒与抗PD-1抗体Pembrolizumab联用评估其安全性。使用Pembrolizumab单药进行PD-1阻断治疗可使转移性黑色素瘤患者客观反应率达33%<sup>[50]</sup>,病人在接受溶瘤病毒与Pembrolizumab联合用药后其客观反应率达62%,完全缓解的占33%。患者体内CD8<sup>+</sup>T细胞数增加,IFN- $\gamma$ 基因出现过度表达。试验结果表明溶瘤病毒与Pembrolizumab联用疗效优于PD-1单一抗体,但是由于研究人数有限,还需要更多的临床试验进一步证明溶瘤病毒与免

疫检查点抑制剂联用优于单药治疗。目前,治疗晚期肝癌的瘤苗病毒项目(临床试验登记号NCT02562755)尚在临床III期,预期2019年10月完成研究,但是截止至12月相关研究机构还未公布临床结果。

溶瘤病毒作为肿瘤免疫治疗方法虽然许多仍处于临床研究早期阶段,但是因其具有杀伤肿瘤和激活肿瘤免疫的双重功效使得它一直备受关注,其抗肿瘤活性和疫苗自身稳定性都将会是未来研究的热点。

## 4 展望

免疫治疗是目前肝癌治疗方法中的重要研究方向,并且在肝癌的治疗中取得了令人可喜的结果,越来越多的医疗机构将免疫治疗作为一种常规的手段运用到临床,但是仍然存在着研发难度大、临床试验缺乏等不足,在未来可从以下4个方向进一步挖掘。一是新的肿瘤细胞表面免疫治疗标志物的发现。医生可以根据患者的各项标志物指标选取最优的治疗方案,做到早期发现、早期诊断、早期根治。二是各种治疗方法的联合运用。对比不同治疗方案的优缺点取长补短,治疗方案相互协调,提高免疫治疗的效能和特异性。三是对肝癌免疫病理和分子病理进行更加系统全面的研究。由慢性病毒感染(乙肝、丙肝)引发的肝癌和酒精肝、药物/诱变剂引发的肝癌在分子病理、免疫应答方面均有所不同,对不同肝癌致病因素的研究有助于阐述肝癌发生病因和发病机理,为新型肝癌免疫治疗方法的开发奠定理论基础。四是新型治疗策略的开发。将免疫治疗药物与高分子纳米材料或者生物载体相结合以提高药物的载药量和靶向性。

随着对分子生物学和分子免疫学研究的深入,肿瘤微环境中T细胞对肿瘤免疫具有重要的影响,不同T细胞亚群发挥不同的功能,对肿瘤

微环境中免疫细胞亚群的鉴定及其变化可作为肿瘤预后的检测指标之一。作用于免疫检查点PD-1/PD-L1和CTLA-4的部分药物在多种肿瘤中均有优异的表现,但是获益人群有限,临床上仍无法获得满意的结果,新型免疫检查点的鉴定及其与免疫细胞亚群所介导的新型免疫疗法将会为肝癌的免疫治疗提供更多新的思路,改进目前免疫治疗存在的不足,对改善肝癌患者的生存质量、延长生存期、降低复发率都有着重要的作用。

## REFERENCES

- [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. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394–424.
- [2] Hou J, Hong ZX, Feng F, et al. A novel chemotherapeutic sensitivity-testing system based on collagen gel droplet embedded 3D-culture methods for hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 729.
- [3] Goma AL, Khan SA, Toledano MB, et al. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, risk factors and pathogenesis. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(27): 4300–4308.
- [4] Iñárraigui M, Melero I, Sangro B. Immunotherapy of hepatocellular carcinoma: facts and hopes. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(7): 1518–1524.
- [5] Chen XM, Song EW. The role of tumor microenvironment in cancer immunotherapy. *Prog Biochem Biophys*, 2017, 44(8): 641–648 (in Chinese).  
陈雪曼, 宋尔卫. 肿瘤微环境与免疫治疗研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2017, 44(8): 641–648.
- [6] Miao TG, Wang LJ, Ma LW, et al. Influence of radio frequency ablation on T lymphocyte subsets in patients with primary liver cancer. *Chin J Min Inv Surg*, 2016, 16(6): 538–540, 543 (in Chinese).  
苗同国, 王立静, 马立伟, 等. 射频消融治疗对原发性肝癌患者T细胞免疫功能的影响. *中国微创外科杂志*, 2016, 16(6): 538–540, 543.
- [7] Flynn MJ, Sayed AA, Sharma R, et al. Challenges and opportunities in the clinical development of immune checkpoint inhibitors for hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 2019, 69(5): 2258–2270.
- [8] Tan W, Zhang WZ, Strasner A, et al. Tumour-infiltrating regulatory T cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signalling. *Nature*, 2011, 470(7335): 548–553.
- [9] Mantovani A, Allavena P. The interaction of anticancer therapies with tumor-associated macrophages. *J Exp Med*, 2015, 212(4): 435–445.
- [10] Zhu XD, Zhang JB, Zhuang PY, et al. High expression of macrophage colony-stimulating factor in peritumoral liver tissue is associated with poor survival after curative resection of hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol*, 2008, 26(16): 2707–2716.
- [11] Olumi AF, Grossfeld GD, Hayward SW, et al. Carcinoma-associated fibroblasts direct tumor progression of initiated human prostatic epithelium. *Cancer Res*, 1999, 59(19): 5002–5011.
- [12] Liu J, Chen S, Wang W, et al. Cancer-associated fibroblasts promote hepatocellular carcinoma metastasis through chemokine-activated hedgehog and TGF- $\beta$  pathways. *Cancer Lett*, 2016, 379(1): 49–59.
- [13] Lo B, Fritz JM, Su HC, et al. CHAI and LATAIE: new genetic diseases of CTLA-4 checkpoint insufficiency. *Blood*, 2016, 128(8): 1037–1042.
- [14] Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*, 2010, 363(8): 711–723.
- [15] Hargadon KM, Johnson CE, Williams CJ. Immune checkpoint blockade therapy for cancer: an overview of FDA-approved immune checkpoint inhibitors. *Int Immunopharmacol*, 2018, 62: 29–39.
- [16] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med*, 2008, 359(4): 378–390.
- [17] Zhu AX, Abrams TA, Miksad R, et al. Phase 1/2 study of everolimus in advanced hepatocellular

- carcinoma. *Cancer*, 2011, 117(22): 5094–5102.
- [18] Garcia JA, Roberts LR. Phase II, open-label study of brivanib as first-line therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 2012, 56(2): 486–487.
- [19] 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(1): 81–88.
- [20] Karwacz K, Bricogne C, MacDonald D, et al. PD-L1 co-stimulation contributes to ligand-induced T cell receptor down-modulation on CD8<sup>+</sup> T cells. *EMBO Mol Med*, 2011, 3(10): 581–592.
- [21] Robert C, Long GV, Brady B, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med*, 2015, 372(4): 320–330.
- [22] 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(10088): 2492–2502.
- [23] 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. *Lancet Oncol*, 2018, 19(7): 940–952.
- [24] 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(3): 971–979.
- [25] Stein S, Pishvaian MJ, Lee MS, et al. Safety and clinical activity of 1L atezolizumab + bevacizumab in a phase Ib study in hepatocellular carcinoma (HCC). *J Clin Oncol*, 2018, 36(15S): 4074.
- [26] Hellmann MD, Ciuleanu TE, Pluzanski A, et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden. *N Engl J Med*, 2018, 378(22): 2093–2104.
- [27] Baxi S, Yang AN, Gennarelli RL, et al. Immune-related adverse events for anti-PD-1 and anti-PD-L1 drugs: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 2018, 360: k793.
- [28] Moslehi JJ, Salem JE, Sosman JA, et al. Increased reporting of fatal immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis. *Lancet*, 2018, 391(10124): 933.
- [29] Lee JH, Lee JH, Lim YS, et al. Adjuvant immunotherapy with autologous cytokine-induced killer cells for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 2015, 148(7): 1383–1391.e6.
- [30] Wang FS, Liu MX, Zhang B, et al. Antitumor activities of human autologous cytokine-induced killer (CIK) cells against hepatocellular carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. *World J Gastroenterol*, 2002, 8(3): 464–468.
- [31] Pan QZ, Wang QJ, Dan JQ, et al. A nomogram for predicting the benefit of adjuvant cytokine-induced killer cell immunotherapy in patients with hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*, 2015, 5: 9202.
- [32] Zhang J, Li HZ, Gao DZ, et al. A prognosis and impact factor analysis of DC-CIK cell therapy for patients with hepatocellular carcinoma undergoing postoperative TACE. *Cancer Biol Ther*, 2018, 19(6): 475–483.
- [33] Zhang RY, Zhang Z, Liu ZK, et al. Adoptive cell transfer therapy for hepatocellular carcinoma. *Front Med*, 2019, 13(1): 3–11.
- [34] Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet*, 2015, 385(9967): 517–528.
- [35] Hartmann J, Schüßler-Lenz M, Bondanza A, et al. Clinical development of CAR T cells-challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO Mol Med*, 2017, 9(9): 1183–1197.
- [36] Jiang ZW, Jiang XF, Chen SM, et al. Anti-GPC3-CAR T cells suppress the growth of tumor cells in patient-derived xenografts of hepatocellular carcinoma. *Front Immunol*, 2016, 7: 690.
- [37] Gao HP, Li KS, Tu H, et al. Development of T cells redirected to glypican-3 for the treatment of

- hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(24): 6418–6428.
- [38] Adachi K, Kano Y, Nagai T, et al. IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(4): 346–351.
- [39] Jochems C, Schlom J. Tumor-infiltrating immune cells and prognosis: the potential link between conventional cancer therapy and immunity. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2011, 236(5): 567–579.
- [40] Takayama T, Sekine T, Makuuchi M, et al. Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma: a randomised trial. *Lancet*, 2000, 356(9232): 802–807.
- [41] Simoni Y, Becht E, Fehlings M, et al. Bystander CD8<sup>+</sup> T cells are abundant and phenotypically distinct in human tumour infiltrates. *Nature*, 2018, 557(7706): 575–579.
- [42] Takeda T, Watanabe M, Umeshita K, et al. Long-term prognosis of hepatocellular carcinoma patients treated with adoptive immunotherapy. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2004, 31(11): 1646–1648.
- [43] Liu Y, Wang YR, Wang L, et al. Alpha fetal protein-specific hepatocellular carcinoma vaccines inhibit hepatocellular carcinoma growth in nude mice bearing human hepatocellular carcinoma. *Chin J Exp Surg*, 2014, 31(1): 77–80 (in Chinese).  
刘扬, 王跃如, 王龙, 等. 甲胎蛋白特异性肝癌疫苗体内杀伤肝癌细胞. *中华实验外科杂志*, 2014, 31(1): 77–80.
- [44] Wilgenhof S, Corthals J, Heirman C, et al. Phase II study of autologous monocyte-derived mRNA electroporated dendritic cells (TriMixDC-MEL) plus ipilimumab in patients with pretreated advanced melanoma. *J Clin Oncol*, 2016, 34(12): 1330–1338.
- [45] O'Day SJ, Maio M, Chiarion-Sileni V, et al. Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a multicenter single-arm phase II study. *Ann Oncol*, 2010, 21(8): 1712–1717.
- [46] Santos PM, Butterfield LH. Dendritic cell-based cancer vaccines. *J Immunol*, 2018, 200(2): 443–449.
- [47] Twumasi-Boateng K, Pettigrew JL, Kwok YYE, et al. Oncolytic viruses as engineering platforms for combination immunotherapy. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(7): 419–432.
- [48] Heo J, Reid T, Ruo L, et al. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer. *Nat Med*, 2013, 19(3): 329–336.
- [49] Ribas A, Dummer R, Puzanov I, et al. Oncolytic virotherapy promotes intratumoral T cell infiltration and improves anti-PD-1 immunotherapy. *Cell*, 2017, 170(6): 1109–1119.E10.
- [50] Ribas A, Hamid O, Daud A, et al. Association of pembrolizumab with tumor response and survival among patients with advanced melanoma. *JAMA*, 2016, 315(15): 1600–1609.

(本文责编 陈宏宇)