

肝细胞癌的免疫治疗

胡佳慧 陈念平^{通讯作者}

广东医科大学附属肝胆外科 广东湛江 524000

【摘要】原发性肝癌严重危害世界人民生命安全。免疫治疗改变了肝细胞肝癌的治疗格局。肿瘤区域存在免疫抑制性微环境,缺氧、肠肝轴可影响免疫治疗的效果。本文介绍了免疫检查点抑制剂、靶向肿瘤相关抗原、过继细胞疗法、肿瘤疫苗以及免疫的联合疗法。

【关键词】肝细胞癌;免疫治疗;免疫抑制

【中图分类号】R735.7

【文献标识码】A

【文章编号】2095-9753 (2023) 10-173-03

原发性肝癌(Primary Liver Cancer, PLC)是全球第六大常见癌症,每年新发病例数居恶性肿瘤第五位,死亡率居第三位。肝癌已严重危害世界人民的生命安全。

PLC是慢性肝炎病毒感染、黄曲霉毒素、饮酒过量等多种致癌因素作用下,原癌基因激活,抑癌基因被抑制,随后细胞生长调控严重紊乱的结果。PLC最常见的病理类型为肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)。HCC的治疗由多学科参与,存在多种治疗方式,常见方法有外科手术治疗、消融、TACE、放疗、系统抗肿瘤治疗等。免疫治疗属于系统抗肿瘤治疗,是晚期或不可切除肝癌的治疗手段之一,在过去十年改变了癌症治疗,并在近年快速发展,为肝癌治疗开辟了新纪元。

肝脏80%为实质细胞,20%为非实质细胞,其中肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells, LSEC)占50%,DC占25%,KC占20%^[1]。LSEC形成肝窦血管壁,不同于毛细血管,LSEC间有可随NO、缺氧等因素改变直径的窗孔,由此肝细胞间直接通信并从血液中获得氧、微量及宏量营养素。LSEC有优于DC、粒细胞、单核-巨噬细胞的高内吞能力,可清除胃肠道来源的抗原复合物,经加工后可通过抗原交叉将细胞外源肽段呈递给CD⁸T细胞^[2]。HCC进展期间,肝窦窗孔减少,出现基底膜,LSEC上细胞间粘附分子表达降低,较正常LSEC具备更高的增殖能力^[3]。LSEC参与HCC发展中肿瘤血管的形成,也可通过PD-1/PD-L1和CTLA-4/B7-1、2的结合抑制T细胞的适应性免疫,其中LSEC与CD⁸T细胞的抗原特异性相互作用上调LSEC上PD-L1的表达,使T细胞耐受,还抑制相邻抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)诱导T细胞免疫。体外共培养时LSEC可损害DC对CD8⁺T的激活,即使加入促炎信号如脂多糖、 γ 干扰素(interferon, IFN)也未能恢复。在LSEC诱导下,幼稚CD4⁺T细胞可分化为Treg致使肿瘤的免疫耐受。DC和KC均为专职性APC,属于固有免疫,对肿瘤细胞均有非特异吞噬作用。在高IL-10和低IL-12的情况下,成熟DC可诱导Th转化为Treg细胞。KC是粘附于肝血窦上的单核-巨噬系细胞。活化M1型巨噬细胞可分泌TNF- α 、NO等物质及刺激细胞毒性T细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)行抗肿瘤效应;M2型产生肿瘤生长因子(如IL-6)、血管生成因子、免疫抑制因子(如IL-10、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β))促进肿瘤。KCs与调节性T细胞(Tregs)相互作用促进Tregs分泌IL-10,促进免疫耐受^[1]。

一、免疫抑制性TME

肿瘤微环境(Tumor microenvironment, TME)与肿瘤发生密切相关,包括免疫细胞、癌症相关成纤维细胞、炎症细胞、细胞外基质、分泌分子、血液和淋巴管网络等^[4]。HCC免疫细胞的浸润常提示更好的预后。免疫抑制性TME可能是Treg、骨髓来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)、M2型肿瘤相关巨噬细胞(tumour-associated macrophages, TAM)等因素单独或相互作用的结果^[5]。MDSC、TAM是缺氧TME的重要组成部分。

1. Treg

T细胞在肝癌适应性免疫应答中发挥主要作用,分为CTL、Th、Treg。CTL、Th行抗肿瘤作用。越往肿瘤中心CTL的浸润越少,而抑制肿瘤免疫的Treg的浸润增多。活化的Treg通过PD-1、CTLA-4及其配体间的接触依赖作用抑制不同的免疫细胞亚群。另外,Treg分泌TGF- β 诱导常规T细胞Foxp3的表达;IL-10削弱DC功能,诱导Treg,最终下调免疫应答。Treg也可由MDSC诱导产生^[6]。

2. MDSC

MDSC是未成熟的处于不同分化阶段的骨髓来源抑制细胞,可分为多形核髓系(polymorphonuclear, PMN)MDSC和单核髓源性(monocytic, M)MDSC,前者主要位于外周淋巴器官,后者主要位于肿瘤区域。PMN-MDSC在调节肿瘤特异性免疫反应中发挥重要作用,最终可致肿瘤特异性T细胞耐受;M-MDSC癌变时向M、DC分化受抑制,且可快速分化为TAM,因此M-MDSC更具免疫抑制作用。缺氧时的缺氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)-1 α 使TME中包括MDSC、M、DC、肿瘤细胞上PD-L1表达上调,使肿瘤MDSC更具抑制活性。

3. TAM

TAM由癌细胞分泌的趋化因子募集的单核细胞分化而成,具有2型巨噬细胞促肿瘤作用。TAM可产生CCL-17、18、22将Treg募集至肿瘤区,阻碍CTL活化。TAM产生VEGF、血小板衍生生长因子、表皮生长因子促进肿瘤增殖,TGF- β 等抑制免疫;表达基质金属蛋白酶诱导血管生成。缺氧时所致HIF-1 α 增多,使浸润的TAM并分化为M2型,同时乳酸在TME中的堆积使PH<7,不利于正常细胞的生长及免疫应答。

二、肠肝轴

肝脏75%的血液由门静脉供应,窦状毛细血管显著减慢肝脏血液速度,使肝脏持续并充分地暴露于肠源性分子,有助于代谢物的清除及免疫监视^[7]。在小鼠实验中肠肝轴可通过影响LSEC来影响抗肿瘤作用。肝细胞分泌的初级胆汁酸

在结肠 G^+ 菌环境中转化为次级胆汁酸，不同于初级胆汁酸促进 LSEC 分泌 CXCL-16，次级胆汁酸起抑制作用，致募集的能分泌 $IFN-\gamma$ 的恒定自然杀伤 T 细胞减少，抗肿瘤作用下降。在小鼠中肠道菌群还可影响免疫检查点抑制剂 (immune checkpoint inhibitors, ICI) 对实体瘤的疗效。

三、HCC 的免疫治疗

现 HCC 常见免疫治疗有 ICI、靶向肿瘤相关抗原的免疫治疗、过继细胞疗法、肿瘤疫苗和免疫的联合疗法。

1. ICI

免疫检查点是免疫抑制分子，可通过共刺激或共抑制作用调整 T 细胞杀伤肿瘤细胞的活性，表达于 T 细胞、APC、肿瘤细胞等表面。ICI 是治疗类单克隆抗体。在 HCC 的免疫治疗中，针对 PD-1、CTLA-4 共抑制分子的 ICI 应用较广泛，抗 PD-1 药物的自身免疫副作用通常比 CTLA-4 更温和且更不频繁。LAG3 和 TIM-3 等也是 HCC 免疫治疗有潜力的靶点。

2. 靶向肿瘤相关抗原的免疫治疗

正常细胞癌变过程可出现新抗原，癌细胞也可异常或过度表达某些抗原，这些抗原即为肿瘤相关抗原 (tumor associated antigen, TAA)。肿瘤抗原可激活 B 细胞，分泌抗肿瘤作用抗体。肿瘤的免疫原性较弱，难以诱导机体产生特异性免疫应答。免疫功能不全宿主中出现的肿瘤通常免疫原性较差。由于 AFP 曾在胚胎期出现，机体已产生免疫耐受，很难引起机体的免疫应答。黑素瘤相关抗原 3、磷脂酰肌醇蛋白聚糖 3 (GPC-3) 也在 HCC 中异常再活化，单克隆抗体及双特异性抗体在临床中的疗效仍需进一步评估。

3. 过继细胞疗法

过继细胞疗法属被动免疫治疗，将体外培养增强功能后的非特异肿瘤杀伤的细胞 (细胞因子诱导杀伤细胞 (cytokine-induced killer, CIK)、NK 细胞) 或特异肿瘤杀伤细胞 (DC-CIK、肿瘤浸润 T 细胞、嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)) 输入患者体内，从而针对性消灭肿瘤细胞。13 例 GPC 的晚期 HCC 患者接受针对 GPC-3 的 CAR-T 疗法，就细胞因子释放征这一不良反应，仅 1 例患者为 5 级，8 例患者为 2 级及以下且可逆，其余不良反应为发热、淋巴数下降；0.5 年、1 年、3 年生存率分别为 50.3%、42%、10.5%；按 RECIST 评估 2 例部分缓解，其中一例存活期为 44.2 (月)，初步证明了 CAR-T 疗法的安全、有效^[8]。

4. 肿瘤疫苗

肿瘤疫苗属主动免疫，使用抗原激活机体的免疫系统，从而针对性控制肿瘤。在外科或 RFA 术后预防复发的纳入 41 名患者的研究中，25 名 GPC+ 患者接受手术联合疫苗治疗，21 名 GPC+ 患者单纯手术治疗，联合治疗组 1 年复发率显著降低，且有统计学意义，分别为 24% vs 52.4%；联合治疗组 3 级及以上不良反应发生率为 22.86%，联合治疗改善了肝癌的复发率。

5. 免疫的联合疗法

5.1 双抗

PD-1/PD-L1 和 CTLA-4 抗肿瘤机制不同，联合双抗可改善不可切除 HCC 治疗。HIMALAYA 试验显示联合替西木和度伐单抗优于索拉非尼。联合治疗安全且延长生存期，降低三级以上不良反应。双抗已获美国批准用于不可切除 HCC 治疗^[9]。联合治疗可延长生存期并降低不良反应。

5.2 联合靶向

靶向药物抑制 VEGF 及其受体结合，可改变肿瘤细胞分泌

的 VEGF 引起的免疫耐受微环境。靶向药物有助于血管正常化和药物扩散，同时抑制 Treg、MDSC、TAM，增加 CTL 活性和 DC 成熟，与 ICI 联合使用有协同效应。靶向药物可导致局部缺氧，释放免疫抑制因子如 IL-10、TGF- β 。针对未接受靶向免疫治疗或初诊的不可切除 HCC 患者，国外的阿替利珠联合贝伐珠 (T+A) 优于索拉非尼，国内的信迪利单抗联合贝伐珠类似物优于索拉非尼，国内的帕博利珠联合仑伐替尼也有良好的结果，显示靶向免疫联合治疗的有效性，但需注意肝功能衰竭、高血压等不良反应。

5.3 联合局部区域治疗

局部区域治疗 (Locoregional therapy, LRT) 包括介入、消融、放疗等。LRT 通过物理或化学方式使肿瘤区域细胞坏死，释放肿瘤原位抗原，促进全身免疫，但效果不足以完全控制肿瘤，治疗后仍有较高的复发率或转移可能性；治疗不完全时，LRT 可诱导产生免疫抑制因子及 Treg 的蓄积，最终致肿瘤进展。LRT 与 ICI 的联合治疗具有协同效应。

5.3.1 联合 TACE

TACE 通过栓塞肿瘤的供血动脉使肿瘤缺血、坏死，TARE 将含放射性微球释放至肿瘤供血动脉。一项样本量为 60 的研究中，术前接受 TARE (n=12) 较 TACE (n=16) 或无治疗 (n=32) 患者在术后病理有更多 TIL、CD4、CD8 的浸润，提示对肝癌的免疫联合，TARE 比 TACE 更适合。

5.3.2 联合 HAIC

HAIC 通过肝动脉对肿瘤持续灌注高浓度细胞毒性药物。相较于 TACE，HAIC 更具安全性，对于合并 Vp4 型及动静脉瘘的病人同样适用^[10]。在最大直径 ≥ 7 cm 的 III 期实验中，FOLFOX-HAIC 的 mOS、肿瘤应答率、mPFS 及安全性均优于 TACE 治疗。TRIPTYC 研究中针对晚期肝癌患者 FOLFOX-HAIC、阿帕替尼、卡瑞利珠的治疗方案 DCR 达 83.7%，0.5 年、1 年、1.5 年生存率分别为 93.1%、85.8%、65.8%，也有可观的治疗效果。

5.3.3 联合消融

射频消融 (Radiofrequency Ablation, RFA) 是最常用的消融方法，通过电流产热使肿瘤坏死。小鼠模型中 RFA 使细胞坏死或凋亡，不仅减少 Treg，增强 DC、NK、T 细胞对肿瘤的反应，还可上调 T 细胞、肿瘤细胞 PD-1 以及 PD-L1 的表达。

5.3.4 联合放疗

远隔效应是受照射及照射范围外的肿瘤消退的现象。香港玛丽大学 5 例肿瘤直径大于 5cm、肿瘤个数小于 3 个或存在肝内血管侵犯的患者接受 SBRT 联合纳武利单抗后 mPFS 为 14.9 个月，达到 ORR 为 100% 的研究终点，1 例患者出现 ≥ 3 级的毒性反应，半年内未出现放射性肝病或肝功能评分升高 2 分。NCT03316872、NCT04167293 等晚期肝癌放疗联合免疫的临床试验正在进行。

四、讨论

近年来免疫治疗在肝癌治疗取得进展，提高免疫治疗的疗效以及减少不良反应是未来的研究重点。未来研究仍需关注：一、肠道微生物群可通过肠肝轴影响肝癌的发生、发展。二、现肝癌的治疗方法有多种选择及多种联合治疗方式，药物也层出不穷，选择患者最适合且最有效的治疗方式是目前研究的方向。三、新的治疗技术及药物的开发可以提高疗效，降低不良反应。四、针对基因的治疗也许是最根本的解决办法。五、多学科合作有利于经验的整合，能最大程度发挥抗肿瘤、改善患者生活质量。

(下转第 176 页)

进入门槛高、教育支出大。在工作量上,大部分医生1周的平均工作时间,远高于其他行业,并且需要承担较大的工作压力和精神负担。在技术水平上,医生仅凭学校教育所获得的知识远不足以应对实际工作中的各种医学难题,还需要大量经验积累、研究学习,才能够促使自身的医疗技术达到相对成熟的状态。从医患信任方面来看也会对双向转诊的运行产生影响。医患信任是指在医患双方地位不对等的状况下,双方愿意信任对方,实现降低医疗风险的期望和态度。

2.2.2.3 信息化平台建设与人工智能

传统的手工转诊模式,存在信息传递不及时、不全面、不准确;患者来院后无专人接待,转诊安排不及时、不顺畅;上级医院、基层医院统计查询不便捷等问题,转诊效率低下。为了满足医疗机构间转诊需求,实现预约挂号、转门诊、转检查、转住院、转社区康复等五种转诊的信息化处理,帮助各级医疗机构之间实现“转诊过程标准化、转诊信息电子化、转诊服务精细化”,使转诊工作流程更加高效便捷。同时在医联体建设中,信息化平台的建设和统一有助于打破信息孤岛问题,使成员间协作更高效。

3 讨论

3.1 现有研究的局限性

3.1.1 双向转诊运行模式难以全面推广复制

受制于我国双轨制的管理运行体制,农村与城市间医疗卫生力度存在差异,欠发达地区与发达地区医疗卫生力度也存在着差异。一个城市究竟选择哪种模式或者哪种组合模式最合理,保覆盖、保公益是选择模式的优先出发点。我国东、中、西部城市社会经济发展不平衡,各地要根据自身的财政能力、市场化水平及卫生服务监管的法治化水平等来选择发展模式^[3-4]。政策能否行之有效,既需要发挥政策制定者的智慧,同时还需要加大宣传,离不开每个环节参与者(医疗机构、医务人员、患者、)的认知、选择和满意度。

3.1.2 缺乏双向转诊的现状和效果深入研究

目前主要依据转诊人次比率来考核双向转诊的运行现状和实施效果,对医生层面的因素,患者的非医学影响因素以及医患在面对提出双向转诊建议时的二者之间的信任度等研究仍然较少^[5]。未来此方向的研究应该加多,从细节要素上

剖析双向转诊的现状和效果。

3.2 启示与建议

双向转诊建设是庞大而复杂的系统工程,涉及医疗运行机制创新、医保政策改革、基层人员培训、使用及激励制度构建、信息化平台建设等工作。需要从全局的观念出发,上下协调,统筹安排。

基层首诊是基础。将大部分患者留在基层社区卫生服务机构,构建患者与基层社区卫生服务机构的信任交互感。既能使社区卫生服务机构拥有稳定的病人来源,又能最大程度降低患者就医成本,缓解医疗资源有限的问题。

医生下沉是关键。优质的医疗资源充分下沉到基层,能很大程度从源头改变上转简单,下转困难的不正常流转现象。只有逐步完善人才培养机制和收入激励机制,打消医务人员的顾虑,才能做到愿意下沉,愿意留在基层。

双向转诊是核心。目前建立双向转诊为核心的分级诊疗体系是我国医疗资源有限和人民群众需求无限的必由之路。双向转诊的运行机制方面,从空间上和资源分配上,按照地区分情况选择适合自己的模式,财政收入充分的地区,发挥政府办管的主导优势,同时发挥市场的作用^[6]。

参考文献:

- [1] 彭雅睿,施楠,陶帅,张黎,倪紫菱,陶红兵.分级诊疗实施中家庭医生团队建设现状及对策研究[J].中国全科医学,2020,23(01):14-18.
- [2] 王晓菲,刘婉莹,牛仓林,薛镭.医联体运行效果评价分析——以北京市某区域为例[J].中国医药科学,2020,10(5):225-229.
- [3] 高鹏.上海区域医联体模式研究[D].上海工程大学,2019.
- [4] 黎宇岚.广州市公立医院分级诊疗存在的问题与对策研究[D].暨南大学,2020.
- [5] 刘曦,王政,谭霓霓.广西分级诊疗制度实施过程中存在的问题与对策研究[J].中国卫生产业,2021,18(8):58-61.
- [6] 王亚林.公立医院薪酬制度和绩效分配方案研究——评《公立医院薪酬制度与激励机制研究》[J].中国实验方剂学杂志,2022,28(07):133.

(上接第174页)

参考文献:

- [1] 徐细明.肝癌的免疫治疗进展[J].中国临床新医学,2019,12(04):347-353.
- [2] Schramm C. Bile Acids, the Microbiome, Immunity, and Liver Tumors. N Engl J Med. 2018;379(9):888-890.
- [3] Taskaeva I, Bgatova N. Microvasculature in hepatocellular carcinoma: An ultrastructural study. Microvasc Res. 2021;133:104094.
- [4] Bejarano L, Jordā o MJC, Joyce JA. Therapeutic Targeting of the Tumor Microenvironment. Cancer Discov. 2021;11(4):933-959.
- [5] Velcheti V, Schalper K. Basic Overview of Current Immunotherapy Approaches in Cancer. Am Soc Clin Oncol Educ

Book. 2016;35:298-308.

- [6] Knolle PA, Gerken G. Local control of the immune response in the liver. Immunol Rev. 2000;174:21-34.
- [7] 邹添添,覃伟,朱迎等.肝癌免疫微环境与免疫治疗:研究进展与发展趋势[J].中国普通外科杂志,2020,29(07):785-797.
- [8] Dai S, Jia R, Zhang X, Fang Q, Huang L. The PD-1/PD-Ls pathway and autoimmune diseases. Cell Immunol. 2014;290(1):72-79.
- [9] Keam SJ. Tremelimumab: First Approval. Drugs. 2023;83(1):93-102.
- [10] 中国抗癌协会肝癌专业委员会.肝动脉灌注化疗治疗肝细胞癌中国专家共识(2021版)[J].中华消化外科杂志,2021,20(7):754-759.