·综述·

TLS和PD-1/PD-L1信号通路在肝细胞癌免疫治疗方面的研究进展

乔浩东，刘一璠，梁　泽，郭怀斌

河北省人民医院肝胆外科（石家庄 050051）

【摘要】肝细胞癌（hepatocellular carcinoma，HCC）是全球最常见的恶性肿瘤之一。近年来发现程序性死亡因子 1 及其受体（programmed cell death-1 and its ligand，PD-1/PD-L1）与 HCC 的产生和发展密切相关，为免疫治疗提供了一个新方向。然而，抗 PD-1/PD-L1 免疫治疗缺乏有效的生物标志物。最新研究发现，三级淋巴结构（tertiary lymphoid structures，TLS）对 HCC 的抗 PD-1/PD-L1 免疫治疗效果有一定的预测价值。本文对 TLS 和 PD-1/PD-L1 信号通路的发生过程，以及二者在肝细胞癌中的表达和临床中的具体研究进展作一综述，以期为 TLS 和 PD-1/PD-L1 信号通路在肝细胞癌中的应用前景提供新的参考。

【关键词】肝细胞癌；免疫治疗；PD-1/PD-L1 信号通路；三级淋巴结构

Current perspectives on tertiary lymphoid structures and PD-1/PD-L1 signaling pathway in the immunotherapy of hepatocellular carcinoma

Hao-Dong QIAO, Yi-Fan LIU, Ze LIANG, Huai-Bin GUO

Department of Hepatobiliary Surgery, Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051, China
Corresponding author: Huai-Bin GUO, Email: doctor-guo@163.com

【Abstract】In the entire world, hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most prevalent cancers. The discovery that HCC is intimately linked to programmed cell death-1 and its ligand (PD-1/PD-L1) in recent years has opened up new possibilities for immunotherapy. However, there are no reliable biomarkers for anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy. The latest research has found that tertiary lymphoid structures (TLS) have certain predictive value for the anti PD-1/PD-L1 immunotherapy effect of HCC.This paper analyzes the potential of TLS and PD-1/PD-L1 signaling pathway in hepatocellular carcinoma and covers the mechanism of TLS and PD-1/PD-L1 signaling route, their expression in hepatocellular carcinoma, and particular research developments in the clinic.

【Keywords】Hepatocellular carcinoma; Immunotherapy; PD-1/PD-L1 signaling pathway; Tertiary lymphoid structures

肝细胞癌（hepatocellular carcinoma，HCC）是全球最常见的恶性肿瘤之一，亚洲尤其严重，据世界卫生组织调查显示，2020 年亚洲 HCC 新增人数占全球 72.5%，相关死亡人数占全球 73.3%[1]。现代医学手术和介入相结合的疗法对部分 HCC 患者产生了不错的疗效[2-5]。但大多数患

DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202210003
基金项目：河北省医学适用技术跟踪项目（GZ2021033）
通信作者：郭怀斌，博士，主任医师，副教授，硕士研究生导师，Email：doctor-guo@163.com

者发现 HCC 时已经出现转移，无法进行手术[6]。近年来，免疫疗法尤其是抗程序性死亡因子 1 及其受体（programmed cell death-1 and its ligand，PD-1/PD-L1）通路治疗对部分晚期 HCC 的预后有所改善[7-9]，但该疗法的预后缺乏可靠的预测指标[9]。如何筛选出适合 PD-1/PD-L1 的优势人群，从而节约医疗资源，降低患者医疗费用，已成为目前免疫治疗的热点。最新研究表明，三级淋巴结构（tertiary lymphoid structures，TLS）对 HCC 免疫治疗的预后有一定的指导作用。本文阐述了 TLS 和 PD-1/PD-L1 信号通路在 HCC 治疗中的最新进展及 TLS 对抗 PD-1/PD-L1 预后的预测价值。

1 TLS与HCC及其免疫治疗

1.1 TLS的基本结构

TLS 是在非造血器官中形成的淋巴聚集物，该结构最初在黑色素瘤和非小细胞肺癌中发现，之后在多种肿瘤组织中被证实[10-11]。基本结构由生发中心、B 细胞区和 T 细胞区构成，其中生发中心由成熟 B 淋巴细胞、树突状细胞（dendritic cell，DC）构成，B 细胞区由 B 淋巴细胞构成，T 细胞区由 T 淋巴细胞构成。成熟 TLS 的生发中心较大，T 细胞区较小[12]。

1.2 TLS的形成机制

C-X-C 趋化因子配体 13（C-X-C chemokine ligand 13，CXCL13）及其受体 C-X-C 趋化因子受体 5（C-X-C chemokine receptor 5，CXCR5）与肺癌、结直肠癌、皮肤黑色素瘤及口腔癌等多种肿瘤的 TLS 形成有关[13-15]（具体机制详见图 1）。此外，凋亡外泌体样囊泡可通过促进淋巴毒素和炎症因子的释放从而促进 TLS 形成[16]（具体机制详见图 2）；有研究发现 CXCL13 会促进淋巴毒素分泌[16-17]，这可能是其产生和发展 TLS 的途径；Suematsu 等人发现趋化因子与 DC 可促进 TLS 中淋巴细胞簇的形成，且趋化因子起主导作用，DC 起增强作用[18]；Finkin 等人发现与同月龄 Alb-cre 小鼠相比，IKK-β（EE）Hep 小鼠（该小鼠能持续表达 IKKB 及 NF-κB 转录活性）肝脏中 TLS 较多[19]，说明 IKK-NF-κB 信号通路是肝脏 TLS 产生的重要途径。

1.3 TLS的测量和分级方法

目前临床上采用 HE 染色或 HE 染色联合免疫组化判定 HCC 组织中 TLS 的存在。HE 染色切片中 TLS 的特征是成熟 DC 位于 T 细胞区并邻近生发中心[20]。TLS 常见免疫组化标志物为 CD21、CD20 、CD3、CD8 和 CD208[21-22]。

在 HCC 的 TLS 分级方面，目前缺乏统一的分级标准。近年来比较有影响力的分级方法是 Julien Calderaro 等人的方法：①淋巴细胞聚集体型 TLS：模糊、定义不清的淋巴细胞簇；②初级淋巴滤泡型 TLS：无生发中心形成的圆形淋巴细胞簇；③次级淋巴滤泡型 TLS：含有生发中心的

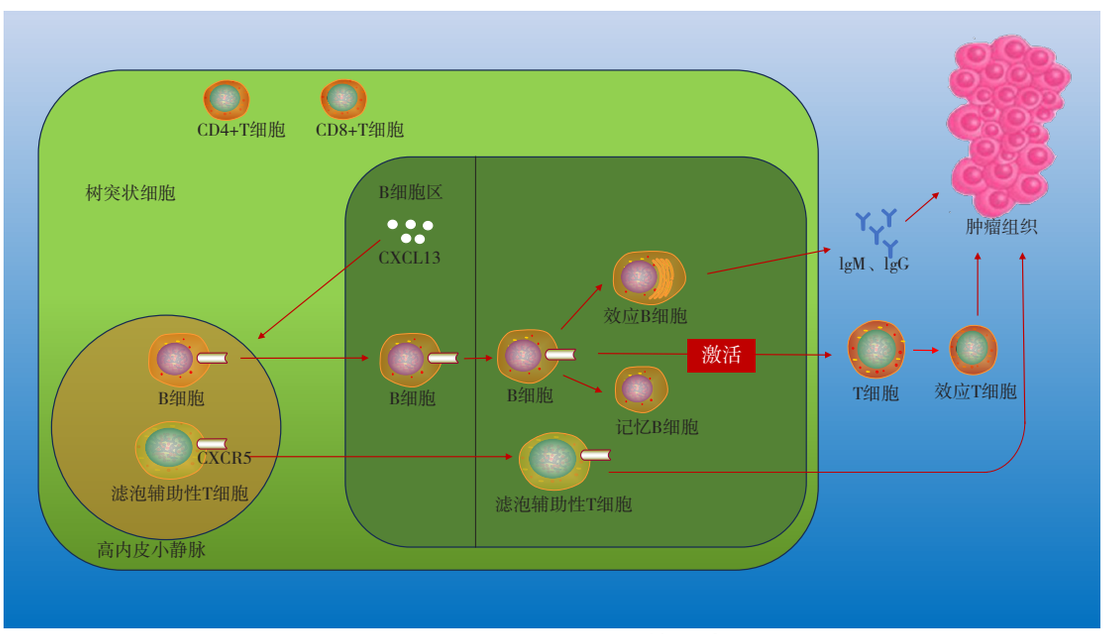

图1 CXCL13促进TLS的形成

Figure 1. CXCL13 promotes the initiation of tertiary lymphoid structure development

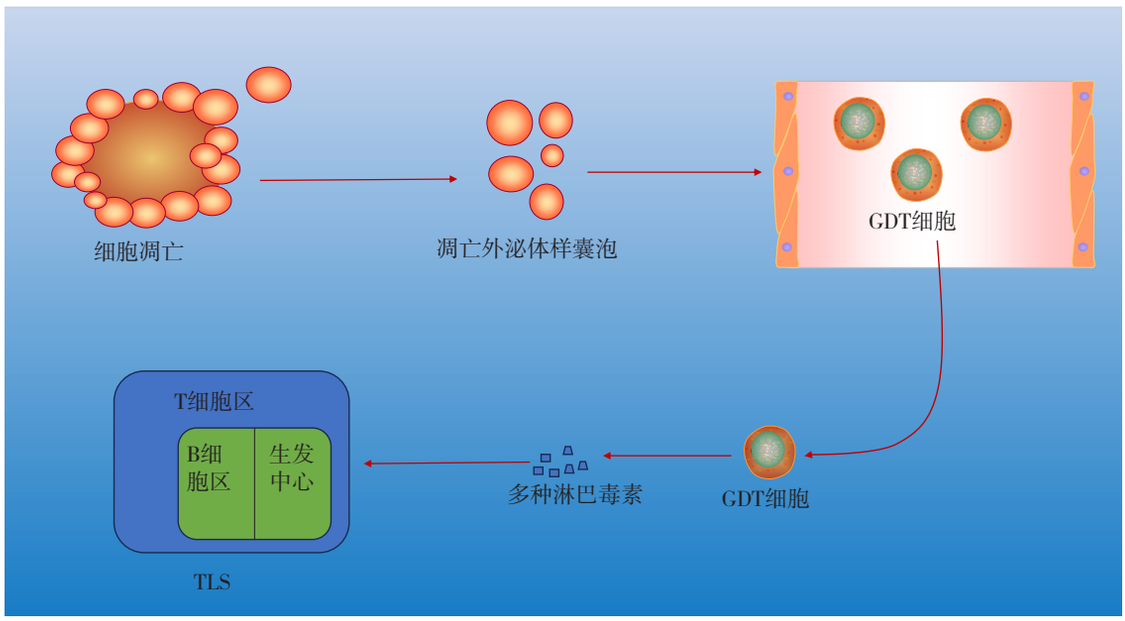

图2 细胞凋亡促进TLS形成

Figure 2. Apoptosis promotes the initiation of tertiary lymphoid structure development

滤泡[19, 23–24]。此外，Nie 等人根据成熟度将 TLS 分为聚集体（肿瘤样本仅显示聚集体而无淋巴滤泡）和淋巴滤泡型 TLS（肿瘤样本显示至少一个淋巴滤泡或生发中心，有无聚集体均可）[22]。而在非小细胞肺癌的 TLS 相关研究中，Devi-Marulkar 等人提出可以根据 TLS 内部免疫细胞比例的不同，如调节性 T 细胞（Treg）/B 细胞和 γδT 细胞等对 TLS 进一步划分，优化分级方法[25]。

1.4 诱导TLS形成的方法

目前大多数研究表明，TLS 对 HCC 的预后起到积极作用，可考虑人工诱导 TLS 的形成以改善 HCC 预后。Suematsu 等人研究将表达 LTα 或趋化因子的细胞系和 DC 嵌入到海绵状胶原支架并移植到小鼠的肾包膜下进行培养，成功构建出了人工 TLS，并且证实了其结构和功能与一般 TLS 存在相似性[18, 26]。此外，Aoyama 等人根据 TLS 的形成条件，总结了目前可能作为人工 TLS 支架的构建材料，如胶原基质、水凝胶、介孔二氧化硅棒和聚酰胺纤维[27]。

1.5 TLS对HCC免疫的影响

肿瘤相关 TLS 有助于肿瘤浸润淋巴细胞产生抗肿瘤免疫应答，从而改善肿瘤预后[28]。作为淋巴细胞产生局部免疫的“前沿堡垒”和“传导体”，淋巴细胞产生的多种抗肿瘤免疫作用需通过 TLS 启动和维持，包括 T 细胞免疫、B 细胞体液免疫、DC 抗原呈递或其他结构的作用。Lin 等人发现 TLS 通过产生中枢记忆 T 淋巴细胞和浆细胞，在抗肿瘤特异性免疫反应中发挥关键作用[29]。Sautès-Fridman 等人通过泛癌分析制作了 T- 分布随机邻域嵌入图，发现 HCC 组织中，肿瘤内 TLS 成熟度的增加则提示机体产生了长期的抗肿瘤免疫[30]。Wen 等人通过单因素比例风险回归分析发现 TLS 内中性粒细胞 / 淋巴细胞比值与 HCC 总生存率呈正相关[21]。El-Rebey 等人的研究表明 HCC 肿瘤 TLS 内的 CD8+T、CD4+T 和 NK 等免疫细胞发挥抗肿瘤作用[31]。Li 等人通过对 HCC 患者的肿瘤组织进行免疫荧光和免疫组化染色，也发现 TLS 内 CD20+B 细胞和 CD8+T 细胞的数量与 HCC 患者总生存期呈明显正相关关系，CD3+T 细胞和 LAMP3+DCs 的数量与患者无进展生存期显著正相关[32]。

然而，在 HCC 中，局部免疫不仅产生抗肿瘤作用，也具有加速肿瘤恶性程度进展的作用。这是因为在长期抗 HBV 的免疫过程中，免疫抑制介质例如肝脏驻留的 Kupffer 细胞分泌的白细胞介素 -10，作用于 HBV 特异性 CD8+T 细胞，使其数量减少或活性丧失，导致免疫系统无法根除 HBV 感染[33–34]。但其他免疫细胞如 CD4+T 细胞仍然继续分泌细胞因子和生长因子，刺激肝脏持续产生炎症，导致肝损伤和肝细胞再生的重复循环，进而加速肿瘤进展。Finkin 等人通过分析 82 例进行过肝切除的 HCC 患者的临床资料、组织学切片和肝 TLS 相关基因，发现 TLS 与 HCC 预

后呈负相关[19]。研究认为 IKK-β（EE）Hep 小鼠肝组织中 TLS 表达增多，HCC 发生率升高，而注射抗原 Thy-1.2 抗体（该种抗体通过消融 T 淋巴细胞和自然杀伤细胞减少了 TLS 的产生和发展）的小鼠 HCC 产生几率较低[19]。此外，TLS 周围的肝细胞最先恶化为肿瘤细胞并表达多种HCC祖细胞标志物。组织学检测证实这是因为 TLS 中的 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞通过分泌 LTα 等细胞因子，促使其周围的肝细胞向恶性肿瘤细胞转化并获得自分泌相同细胞因子的能力。Zhao 等人的研究发现 TLS 中 Tregs 产生促肿瘤作用，并会加速 HCC 的恶化[35]。

2 PD-1/PD-L1通路与HCC及其免疫治疗

2.1 PD-1/PD-L1通路与肿瘤免疫

PD-1 是一种在免疫细胞表面表达的抑制性跨膜蛋白，PD-L1 在多种组织类型的表面，而 PD-L2 大部分在造血细胞表面[36]。该信号可调节 T 淋巴细胞，在免疫稳态、消炎、耐受等方面具有重要作用。PD-1 在其胞质结构域中有两个酪氨酸基序，当与配体接合时，酪氨酸残基处被磷酸化，募集多种蛋白酪氨酸磷酸酶（protein tyrosine phosphatase，PTPs），如蛋白酪氨酸磷酸酶 Src 和同源蛋白 2 等。这些 PTPs 通过去磷酸化作用拮抗 T 细胞抗原受体（TCR）和 CD28 产生的阳性信号，从而影响 T 淋巴细胞的下游信号通路分子，例如磷酸肌醇 3 激酶（PI3K）-Akt、Ras、胞外信号调节激酶（ERK）、VAV 和磷脂酶 Cγ（PLCγ）、p27、p15[37-39]。

正常细胞表面表达 PD-L1，通过结合 PD-1 而抑制淋巴细胞功能。当组织损伤时，细胞表面的 PD-L1 表达量减少，出现免疫反应[40]。较大程度的免疫反应会产生炎症，促进 PD-L1 表达量增加，减少免疫系统对正常组织的损伤，形成负反馈循环，既保证了免疫系统能发挥作用，又减少了对正常组织的损伤。肿瘤细胞高度表达 PD-L1，通过 PD-1/PD-L1 通路减少淋巴细胞的杀伤作用和长期免疫作用，产生免疫逃逸[41]。阻断 PD-1/PD-L1 通路可以增强肿瘤免疫治疗效果[42]（图 3）。

2.2 PD-1/PD-L1免疫治疗的不足

目前分子靶向治疗和免疫治疗是晚期 HCC 唯一的治疗方案。免疫治疗，尤其是抗 PD-L1 联合抗血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）疗法显示出更高的缓解率（约 30%），并显著延长 HCC 患者生存期[43]，例如卡瑞利珠单抗、纳武单抗或帕博利珠单抗联合索拉非尼疗法[44-47]。尽管如此，大多数晚期 HCC 患者对靶向治疗反应仍不佳[48-49]。实际临床治疗中，抗 PD-1/PD-L1 药物应答率普遍较低，如纳武单抗的应答率仅 20%[45]。且有研究表明，抗 PD-1/PD-L1 治疗甚至会增加非酒精性脂肪肝所致 HCC 的恶性程度[50-51]。因此，在进行 PD-1/PD-L1 免疫治疗前需检测生物标志物预测治疗效果，以降低治疗成本并避免治疗相关不良事件。目前对抗 PD-1/PD-L1 免疫治疗 HCC 预后的评估指标——免疫组化、肿瘤突变负荷和微卫星不稳定状态的准确性均不足[9, 45, 47]。由于肝癌组织本身很少发生基因突变，因此后两项并不作为主要评判指标，尤其是肿瘤突变负荷，不仅尚未得到验证，甚至在 HCC 免疫治疗中的作用也未完全阐明[52-53]。虽然在多种肿瘤中，PD-L1 表达程度的增加与 PD-1 阻断治

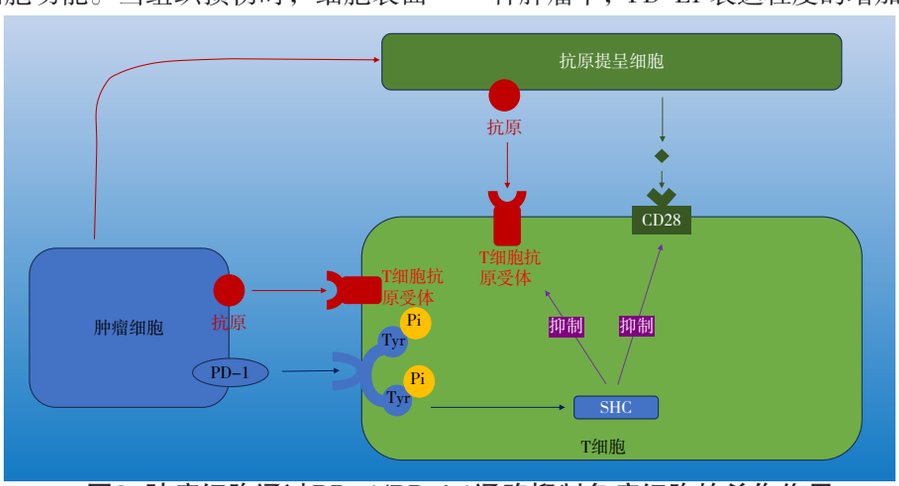

图3 肿瘤细胞通过PD-1/PD-L1通路抑制免疫细胞的杀伤作用

Figure 3. Tumor cells inhibit the killing effect of immune cells through PD-1/PD-L1 pathway

疗反应率的增加和肿瘤预后的改善有关[54–56]，但在HCC 免疫治疗中 PD–L1 的表达却不能准确预测疗效，例如在 KEYNOTE–224 以及 CheckMate 040 试验中，PD–L1 就不具有预测价值[45, 47]。Yan 等人在探索 HCC 免疫治疗生物标志物的研究中同样观察到 PD–L1 的表达程度不足以对 HCC 中抗 PD–1/PD–L1 免疫治疗效果进行准确预测[57]。因此，迫切需要开发更有效的生物标志物，以准确预测抗 PD–1/PD–L1 免疫治疗对晚期 HCC 患者的疗效。

3 TLS与HCC抗PD–1免疫治疗

TLS 作为肿瘤免疫环境的首要特征[58]，反映抗肿瘤免疫应答的程度[20, 59]，对抗 PD–1/PD–L1 免疫治疗效果有一定的预测价值[12, 59]。2020 年以来均有研究发现在多种肿瘤中，成熟 TLS 与免疫治疗的更好反应性有关[60–61]。Helmink 发现 TLS 中的 B 细胞可通过与其他免疫成分相互作用并分泌细胞因子（包括 TNF、IL–2、IL–6 和 IFNγ）激活和招募其他免疫细胞如 T 淋巴细胞，以增强肿瘤对免疫治疗的反应[62]。Clubb 等人也发现 TLS 形成与头颈癌抗 PD–1/PD–L1 免疫治疗有协同作用，这与 TLS 维持免疫反应微环境中的作用有关，并据此提出可通过诱导产生 TLS 或增加其成熟度以增强免疫治疗作用的观点[63]。此外，Li 等在 HCC 与 TLS 相关性的研究中发现，淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶作为通过调控细胞因子信号通路、趋化因子信号通路和 T 细胞活化参与 TLS 形成和成熟的分子，其表达水平与 HCC 患者对 HCC 免疫治疗的敏感性呈正相关[32]。Zhong 等以高密度 TLS 作为判断条件，对伴有门静脉瘤栓的 HCC 实行抗 PD–1 治疗联合索拉非尼，发现预测效果良好，表明 TLS 有作为预测免疫治疗反应指标的价值[64]。因此，在研究抗 PD–1/PD–L1 免疫治疗效果时，可考虑将 TLS 视为一个生物标志物。

4 结语

未来 HCC 免疫治疗的研究方向可能为：①从 TLS 入手，提出预测 HCC 术后复发的循证医学证据；②将导致 HCC、亚临床 HCC 和有恶化为 HCC 风险的肝脏疾病的病因作为一个考虑因素，评判 HCC 患者联合治疗时是否应当加入抑制 PD–1 通路的免疫治疗以及将其作为主要治疗方式或辅助治疗，可通过以上两点，更新 HCC 患者免疫治疗的评判量表，依据病情提出提升患者生存时间和生存质量的方案；③目前预测抗 PD–1/PD–L1 疗效的指标单一，将 TLS 及其密度、与肿瘤位置的远近、组成成分和成熟程度作为抗 PD–1/PD–L1 疗效的评判指标可提高预测准确度；④ HCC 中 TLS 存在及成熟度与抗 PD–1/PD–L1 疗效呈负相关，因此，诱导 TLS 形成或成熟可能成为提高 HCC 抗 PD–1/PD–L1 疗效的方法之一。

参考文献

1 Lotfollahzadeh S, Recio–Boiles A, Babiker HM. Liver cancer[M/OL]. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. [2022–09–04]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448337/.

2 Makary MS, Khandpur U, Cloyd JM, et al. Locoregional therapy approaches for hepatocellular carcinoma: recent advances and management strategies[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(7): 1914. DOI: 10.3390/cancers12071914.

3 Machairas N, Tsilimigras DI, Pawlik TM. State–of–the–art surgery for hepatocellular carcinoma[J]. Langenbecks Arch Surg, 2021, 406(7): 2151–2162. DOI: 10.1007/s00423–021–02298–3.

4 Chen L, Guo X, Chen S, et al. Comparison of the efficacy of pre–surgery and post–surgery radiotherapy in the treatment of hepatocellular carcinoma: a population–based study[J]. Am J Transl Res, 2021, 13(1): 360–371. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33527030/.

5 Jiří T, Igor K, Mba. Hepatocellular carcinoma future treatment options[J]. Klin Onkol, 2020, 33(Supplementum 3): 26–29. DOI: 10.14735/amko20203S26.

6 Rodriguez De Santiago E, Téllez L, Guerrero A, et al. Hepatocellular carcinoma after fontan surgery: a systematic review[J]. Hepatol Res, 2021, 51(1): 116–134. DOI: 10.1111/hepr.13582.

7 Zhang Y, Zhang Z. The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor–infiltrating immune cells and their therapeutic implications[J]. Cell Mol Immunol, 2020, 17(8): 807–821. DOI: 10.1038/s41423–020–0488–6.

8 Zhong C, Li Y, Yang J, et al. Immunotherapy for hepatocellular carcinoma: current limits and prospects[J]. Front Oncol, 2021, 11: 589680. DOI: 10.3389/

fonc.2021.589680.

9 Davis AA, Patel VG. The role of PD-L1 expression as a predictive biomarker: an analysis of all US Food and Drug Administration (FDA) approvals of immune checkpoint inhibitors[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 278. DOI: 10.1186/s40425-019-0768-9.

10 Barmpoutis P, Di Capite M, Kayhanian H, et al. Tertiary lymphoid structures (TLS) identification and density assessment on H&E-stained digital slides of lung cancer[J]. PLoS One, 2021, 16(9): e0256907. DOI: 10.1371/journal.pone.0256907.

11 Zhang NN, Qu FJ, Liu H, et al. Prognostic impact of tertiary lymphoid structures in breast cancer prognosis: a systematic review and meta-analysis[J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1): 536. DOI: 10.1186/s12935-021-02242-x.

12 Vanhersecke L, Brunet M, Guégan JP, et al. Mature tertiary lymphoid structures predict immune checkpoint inhibitor efficacy in solid tumors independently of PD-L1 expression[J]. Nat Cancer, 2021, 2(8): 794-802. DOI: 10.1038/s43018-021-00232-6.

13 Gao SH, Liu SZ, Wang GZ, et al. CXCL13 in cancer and other diseases: biological functions, clinical significance, and therapeutic opportunities[J]. Life (Basel), 2021, 11(12): 1282. DOI: 10.3390/life11121282.

14 Cabrita R, Lauss M, Sanna A, et al. Tertiary lymphoid structures improve immunotherapy and survival in melanoma[J]. Nature, 2020, 577(7791): 561-565. DOI: 10.1038/s41586-019-1914-8.

15 Li K, Guo Q, Zhang X, et al. Oral cancer-associated tertiary lymphoid structures: gene expression profile and prognostic value[J]. Clin Exp Immunol, 2020, 199(2): 172-181. DOI: 10.1111/cei.13389.

16 Li Y, Tang L, Guo L, et al. CXCL13-mediated recruitment of intrahepatic $CXCR5^{+}CD8^{+}$ T cells favors viral control in chronic HBV infection[J]. J Hepatol, 2020, 72(3): 420-430. DOI: 10.1016/j.jhep.2019.09.031.

17 Li C, Kang D, Sun X, et al. The effect of C-X-C motif chemokine 13 on hepatocellular carcinoma associates with Wnt signaling[J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 345413. DOI: 10.1155/2015/345413.

18 Suematsu S, Watanabe T. Generation of a synthetic lymphoid tissue-like organoid in mice[J]. Nat Biotechnol, 2004, 22(12): 1539-1545. DOI: 10.1038/nbt1039.

19 Finkin S, Yuan D, Stein I, et al. Ectopic lymphoid structures function as microniches for tumor progenitor cells in hepatocellular carcinoma[J]. Nat Immunol, 2015, 16(12): 1235-1244. DOI: 10.1038/ni.3290.

20 Dieu-Nosjean MC, Giraldo NA, Kaplon H, et al. Tertiary lymphoid structures, drivers of the anti-tumor responses in human cancers[J]. Immunol Rev, 2016, 271(1): 260-275. DOI: 10.1111/imr.12405.

21 Wen S, Chen Y, Hu C, et al. Combination of tertiary lymphoid structure and neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma[J]. Front Immunol, 2022, 12: 788640. DOI: 10.3389/fimmu.2021.788640.

22 Nie Y, Fan H, Li J, et al. Tertiary lymphoid structures: associated multiple immune cells and analysis their formation in hepatocellular carcinoma[J]. FASEB J, 2022, 36(11): e22586. DOI: 10.1096/fj.202200269RR.

23 Murakami J, Shimizu Y, Kashii Y, et al. Functional B-cell response in intrahepatic lymphoid follicles in chronic hepatitis C[J]. Hepatology, 1999, 30(1): 143-150. DOI: 10.1002/hep.510300107.

24 Calderaro J, Petitprez F, Becht E, et al. Intra-tumoral tertiary lymphoid structures are associated with a low risk of early recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. J Hepatol, 2019, 70(1): 58-65. DOI: 10.1016/j.jhep.2018.09.003.

25 Devi-Marulkar P, Kaplon H, Dieu-Nosjean MC, et al. Designed methods for the sorting of tertiary lymphoid structure-immune cell populations[J]. Methods Mol Biol, 2018, 1845: 189-204. DOI: 10.1007/978-1-4939-8709-2_11.

26 Zhu G, Nemoto S, Mailloux AW, et al. Induction of tertiary lymphoid structures with antitumor function by a lymph node-derived stromal cell line[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1609. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01609.

27 Aoyama S, Nakagawa R, Mulé JJ, et al. Inducible tertiary lymphoid structures: promise and challenges for translating a new class of immunotherapy[J]. Front Immunol, 2021, 12: 675538. DOI: 10.3389/fimmu.2021.675538.

28 Teillaud JL, Dieu-Nosjean MC. Tertiary lymphoid structures: an anti-tumor school for adaptive immune cells and an antibody factory to fight cancer?[J]. Front Immunol, 2017, 8: 830. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00830.

29 Lin Q, Tao P, Wang J, et al. Tumor-associated tertiary lymphoid structure predicts postoperative outcomes

in patients with primary gastrointestinal stromal tumors[J]. Oncoimmunology, 2020, 9(1): 1747339. DOI: 10.1080/2162402X.2020.1747339.

30 Sautès-Fridman C, Petitprez F, Calderaro J, et al. Tertiary lymphoid structures in the era of cancer immunotherapy[J]. Nat Rev Cancer, 2019, 19(6): 307-325. DOI: 10.1038/s41568-019-0144-6.

31 El-Rebey HS, Abdou AG, Sultan MM, et al. The profile and role of tumor-infiltrating lymphocytes in hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study[J]. Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology: AIMM, 2021, 29(3): 188-200. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000865.

32 Li J, Nie Y, Jia W, et al. Effect of tertiary lymphoid structures on prognosis of patients with hepatocellular carcinoma and preliminary exploration of its formation mechanism[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(20): 5157. DOI: 10.3390/cancers14205157.

33 Li M, Sun R, Xu L, et al. Kupffer cells support hepatitis B virus-mediated $CD8^+$ T cell exhaustion via hepatitis B core antigen-TLR2 interactions in mice[J]. J Immunol, 2015, 195(7): 3100-3109. DOI: 10.4049/jimmunol.1500839.

34 Xu L, Yin W, Sun R, et al. Kupffer cell-derived IL-10 plays a key role in maintaining humoral immune tolerance in hepatitis B virus-persistent mice[J]. Hepatology, 2014, 59(2): 443-452. DOI: 10.1002/hep.26668.

35 Zhao HQ. Roles of tregs in development of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(24): 7971-7978. DOI: 10.3748/wjg.v20.i24.7971.

36 Vaddepally RK, Kharel P, Pandey R, et al. Review of indications of FDA-approved immune checkpoint inhibitors per NCCN guidelines with the level of evidence[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(3): 738. DOI: 10.3390/cancers12030738.

37 Riley JL. PD-1 signaling in primary T cells[J]. Immunol Rev, 2009, 229(1): 114-125. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2009.00767.x.

38 Tekguc M, Wing JB, Osaki M, et al. Treg-expressed CTLA-4 depletes CD80/CD86 by trogocytosis, releasing free PD-L1 on antigen-presenting cells[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2021, 118(30): e2023739118. DOI: 10.1073/pnas.2023739118.

39 Patsoukis N, Brown J, Petkova V, et al. Selective effects of PD-1 on Akt and Ras pathways regulate molecular components of the cell cycle and inhibit T cell proliferation[J]. Sci Signal, 2012, 5(230): ra46. DOI: 10.1126/scisignal.2002796.

40 Ghosh C, Luong G, Sun Y. A snapshot of the PD-1/PD-L1 pathway[J]. J Cancer, 2021, 12(9): 2735-2746. DOI: 10.7150/jca.57334.

41 Han Y, Liu D, Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer[J]. Am J Cancer Res, 2020, 10(3): 727-742. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32266087/.

42 Sharpe AH, Pauken KE. The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway[J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(3): 153-167. DOI: 10.1038/nri.2017.108.

43 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. DOI: 10.1056/NEJMoa1915745.

44 Qin S, Ren Z, Meng Z, et al. Camrelizumab in patients with previously treated advanced hepatocellular carcinoma: a multicentre, open-label, parallel-group, randomised, phase 2 trial[J]. Lancet Oncol, 2020, 21(4): 571-580. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30011-5.

45 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. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31046-2.

46 Finn RS, Ryoo BY, Merle P, et al. Pembrolizumab as second-line therapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma in KEYNOTE-240: a randomized, double-blind, phase III trial[J]. J Clin Oncol, 2020, 38(3): 193-202. DOI: 10.1200/JCO.19.01307.

47 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. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30351-6.

48 Cai H, Zhang L, Li N, et al. Lenvatinib versus sorafenib for unresectable hepatocellular carcinoma: a cost - effectiveness analysis[J]. J Comp Eff Res, 2020, 9(8): 553-562. DOI: 10.2217/cer-2020-0041.

49 Kuzuya T, Ishigami M, Ito T, et al. Sorafenib vs. lenvatinib as first-line therapy for advanced hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombosis[J]. Anticancer Res, 2020, 40(4): 2283-2290. DOI: 10.21873/anticanres.14193.

50 Pfister D, Núñez NG, Pinyol R, et al. NASH limits anti-tumour surveillance in immunotherapy-treated HCC[J]. Nature, 2021, 592(7854): 450-456. DOI: 10.1038/s41586-021-03362-0.

51 Peng Y, Wong CC, Yu J. The paradox of immunotherapy in NASH-HCC[J]. Signal Transduct Target Ther, 2021, 6(1): 228. DOI: 10.1038/s41392-021-00654-9.

52 Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types[J]. Nat Genet, 2019, 51(2): 202-206. DOI: 10.1038/s41588-018-0312-8.

53 Shrestha R, Prithviraj P, Anaka M, et al. Monitoring immune checkpoint regulators as predictive biomarkers in hepatocellular carcinoma[J]. Front Oncol, 2018, 8: 269. DOI: 10.3389/fonc.2018.00269.

54 Apolo AB, Infante JR, Balmanoukian A, et al. Avelumab, an anti-programmed death-ligand 1 antibody, in patients with refractory metastatic urothelial carcinoma: results from a multicenter, phase Ib study[J]. J Clin Oncol, 2017, 35(19): 2117-2124. DOI: 10.1200/JCO.2016.71.6795.

55 Chow LQM, Haddad R, Gupta S, et al. Antitumor activity of pembrolizumab in biomarker-unselected patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma: results from the phase Ib KEYNOTE-012 expansion cohort[J]. Clin Oncol, 2016, 34(32): 3838-3845. DOI: 10.1200/JCO.2016.68.1478.

56 Sul J, Blumenthal GM, Jiang X, et al. FDA approval summary: pembrolizumab for the treatment of patients with metastatic non-small cell lung cancer whose tumors express programmed death-ligand 1[J]. Oncologist, 2016, 21(5): 643-650. DOI: 10.1634/theoncologist.2015-0498.

57 Yan Y, Zheng L, Du Q, et al. Interferon-γ/irf-1 pathway regulatory mechanisms of pd-l1 expression and relevance for immune checkpoint blockade in hepatocellular carcinoma (hcc)[J]. Oncotarget, 2021, 12(23): 2316. DOI: 10.18632/oncotarget.27995.

58 Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, et al. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome[J]. Nat Rev Cancer, 2012, 12(4): 298-306. DOI: 10.1038/nrc3245.

59 Sautès-Fridman C, Lawand M, Giraldo NA, et al. Tertiary lymphoid structures in cancers: prognostic value, regulation, and manipulation for therapeutic intervention[J]. Front Immunol, 2016, 7: 407. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00407.

60 Cabrita R, Lauss M, Sanna A, et al. Tertiary lymphoid structures improve immunotherapy and survival in melanoma[J]. Nature, 2020, 577(7791): 561-565. DOI: 10.1038/s41586-019-1914-8.

61 Petitprez F, De Reyniès A, Keung EZ, et al. B cells are associated with survival and immunotherapy response in sarcoma[J]. Nature, 2020, 577(7791): 556-560. DOI: 10.1038/s41586-019-1906-8.

62 Helmink BA, Reddy SM, Gao J, et al. B cells and tertiary lymphoid structures promote immunotherapy response[J]. Nature, 2020, 577(7791): 549-555. DOI: 10.1038/s41586-019-1922-8.

63 Clubb JHA, Kudling TV, Heiniö C, et al. Adenovirus encoding tumor necrosis factor alpha and interleukin 2 induces a tertiary lymphoid structure signature in immune checkpoint inhibitor refractory head and neck cancer[J]. Front Immunol, 2022, 13: 794251. DOI: 10.3389/fimmu.2022.794251.

64 Zhong K, Xu Y, Cheng Y, et al. Case report: primary hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus characterized by active tumor immune microenvironment achieving a complete response following treatment of combined immunotherapy[J]. Front Immunol, 2022, 13: 999763. DOI: 10.3389/fimmu.2022.999763.

收稿日期：2022 年 11 月 10 日 修回日期：2023 年 07 月 04 日
本文编辑：任 炼 曹 越

引用本文：乔浩东, 刘一璠, 梁泽, 等. TLS和PD-1/PD-L1信号通路在肝细胞癌免疫治疗方面的研究进展[J]. 医学新知, 2023, 33(5): 373-380. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202210003
Qiao HD, Liu YF, Liang Z, et al. Current perspectives on tertiary lymphoid structures and PD-1/PD-L1 signaling pathway in the immunotherapy of hepatocellular carcinoma[J]. Yixue Xinzhi Zazhi, 2023, 33(5): 373-380. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202210003