

Inmunoterapia en hepatocarcinoma

MANUEL DE LA TORRE¹, PALOMA SANGRO¹, DELIA D'AVOLA^{1,2}, BRUNO SANGRO^{1,2}

¹Unidad de Hepatología. Clínica Universidad de Navarra. Madrid. ²Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas

RESUMEN

El hepatocarcinoma o carcinoma hepatocelular es un tumor de alta prevalencia a nivel mundial y cuando se encuentra en un estadio avanzado, son pocos los tratamientos sistémicos disponibles para mejorar la supervivencia de estos pacientes. Sin embargo, el mayor conocimiento del microambiente tumoral y el papel del sistema inmune en el control de la progresión del tumor ha permitido desarrollar tratamientos dirigidos contra los puntos de control inmunológico o *immune check-points*, que permiten conseguir tasas de respuesta tumoral notables y supervivencias prolongadas. Aunque la mayor parte de estos tratamientos son bien tolerados, hasta un 20 % de los pacientes puede experimentar efectos secundarios derivados de estimulación no específica del sistema inmune. Por ello, la investigación continuada en el uso de estas nuevas terapias nos permitirá conocer mejor el perfil de pacientes que más se beneficiarán de las mismas.

PALABRAS CLAVE: Carcinoma hepatocelular. PDL-1. PD-1. CTLA-4. Respuesta inmune. Microambiente inmune.

INTRODUCCIÓN

El cáncer de hígado es el sexto cáncer más frecuente a nivel mundial con más de 850 000 nuevos casos cada año (1). Además, constituye la cuarta causa de muerte relacionada con cáncer después del cáncer de pulmón, el cáncer colorrectal y el cáncer gástrico (2). Dentro del cáncer de hígado, el hepatocarcinoma (carcinoma hepatocelular, CHC) es el tumor más frecuente (75-85 %),

ABSTRACT

Hepatocellular carcinoma is a highly prevalent tumor worldwide and when it reaches an advanced stage, few systemic treatments are available to improve the survival of these patients. However, the greater knowledge about the tumor microenvironment and the role of the immune system in the control of tumor progression has allowed the development of treatments targeting immune check-points, which result in encouraging tumor response rates and prolonged overall patient survival. Although most of these treatments are well tolerated, up to 20 % of patients may experience side effects derived from non-specific stimulation of the immune system. Therefore, continuous investigation on the use of these new therapies will allow us to better understand the profile of patients who will benefit most from them.

KEYWORDS: Liver cancer. PDL-1. PD-1. CTLA-4. Immune response. Immune microenvironment.

seguido del colangiocarcinoma intrahepático (10-15 %) y otros subtipos más raros (3). Independientemente de la región, tanto la incidencia como la mortalidad son mayores en hombres que en mujeres, probablemente por acumulación de factores de riesgo y cierto efecto protector de los estrógenos (4). La edad media de diagnóstico del CHC se sitúa en torno a 55-59 años en China mientras que en Europa o en América del Norte se sitúa

en torno a 65 años (5). En Estados Unidos, la incidencia está disminuyendo en los grupos de población con edad inferior a 60 años mientras que aumenta en los grupos de más edad (6). La incidencia y la mortalidad están condicionadas por la exposición a los factores de riesgo para el desarrollo del CHC como son la fibrosis hepática avanzada o cirrosis causadas por el virus de la hepatitis B (VHB), el virus de la hepatitis C (VHC), la ingesta sostenida de alcohol o el síndrome metabólico (7).

Al diagnóstico, especialmente si no se produce en el contexto de un programa de cribado, el CHC es frecuentemente multinodular debido a carcinogénesis sincrónica o a diseminación intrahepática precoz y no es raro encontrar invasión vascular portal o de venas hepáticas (7). Para el diagnóstico, nos apoyamos en pruebas de imagen con contraste si el paciente es cirrótico y se cumplen criterios estrictos (realce precoz y lavado tardío del contraste intravenoso en tumores mayores de 1 cm); o en la biopsia con aguja cuando el paciente no es cirrótico o no se cumplen esos criterios (8). En países de economías avanzadas, hasta un 40-50 % de los pacientes con CHC son diagnosticados en estadios precoces (8,9). En estos casos en los que el tumor se encuentra localizado en el hígado se pueden plantear terapias loco-regionales con intención de ablación completa, como la resección hepática, la ablación percutánea, la quimioembolización (TACE), la radioembolización (TARE o SIRT) e incluso el trasplante hepático. La elección de uno u otro tratamiento depende de la carga tumoral, la localización de las lesiones y las comorbilidades del paciente (8,10,11). Es esencial en este proceso la discusión de los casos en un equipo multidisciplinar en el que participen hepatólogos, oncólogos, cirujanos, radiólogos intervencionistas y diagnósticos, y patólogos (12). En ausencia de un equipo multidisciplinar de este tipo debe contarse siempre con la valoración por un equipo de cirugía hepática, ya que la valoración de la resecabilidad es multifactorial y exige experiencia.

Sin embargo, cuando el tumor está diseminado u otras terapias han fracasado, a diferencia de otros tipos de tumores, la quimioterapia citotóxica convencional no prolonga la supervivencia de los pacientes debido a la fuerte resistencia que muestra el CHC a la misma. Hasta 2017, sorafenib -un inhibidor de tirosin-kinasa (TKI)-era el único tratamiento sistémico capaz de producir un aumento de la supervivencia de los pacientes con CHC avanzado y función hepática preservada (13). Desde entonces, otros TKI han demostrado su eficacia, como lenvatinib (14), que mostró ser no inferior a sorafenib en primera línea de tratamiento; o regorafenib (15) y cabozantinib (16), que prolongan la supervivencia en segunda línea de tratamiento comparado con placebo, el primero solo en pacientes que toleran bien dosis estables y relevantes de sorafenib. Ramucirumab, un inhibidor del receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), también ha mostrado eficacia en segunda línea en pacientes con niveles de alfa-fetoproteína (AFP)

superiores a 400 ng/mL (17). En base a estos datos, estos cuatro fármacos han sido aprobados por la Agencia Europea del Medicamento, pero solo lenvatinib lo ha sido por la Agencia Española del Medicamento, lo que cercena el tratamiento de segunda línea a los pacientes en nuestro país en el momento actual.

La necesidad de contar con tratamientos sistémicos de mayor eficacia y mejor tolerabilidad ha llevado a la comunidad científica a profundizar en un mayor conocimiento de la genética y el microambiente del tumor para encontrar nuevas dianas terapéuticas.

INMUNIDAD Y HEPATOCARCINOMA

El sistema inmune, tanto el sistema innato como el adaptativo, juega un papel muy importante en el control de la progresión del cáncer. Sin embargo, se ha demostrado que el CHC, como otros tumores, puede evadir esa respuesta inmunológica a través de la creación de un microambiente tumoral inmunosupresor o porque tenga lugar un reconocimiento deficiente de los antígenos tumorales por parte de las células inmunes. Una revisión actualizada del papel del microambiente tumoral en el CHC se puede encontrar el artículo de Sangro B y cols. (18).

El propio hígado sano tiene un microambiente anti-inflamatorio, al que colaboran las células de Kupffer y las células endoteliales sinusoidales hepáticas, para tolerar antígenos ajenos (19). El microambiente tumoral inmunosupresor es mucho más complejo y contribuyen a él: a) el acúmulo de células inmunitarias con actividad reguladora negativa, como las células T reguladoras (Treg) o las células supresoras derivadas de células mieloides (MDSC); b) el aumento de los niveles de enzimas tolerogénicas, como indolamina 2,3-dioxigenasa-1 o arginasa-1; c) la potenciación de señales inhibitorias en los linfocitos T, consecuencia de la activación de los “puntos de control inmunológico (PCI)” o *immune check-points*; d) la reducción de la opsonización mediada por inmunoglobulinas; o e) la presencia de metabolitos tóxicos para las células inmunes (18) (Fig. 1).

Por otro lado, el déficit de reconocimiento de los antígenos tumorales puede ocurrir por alteración en la maquinaria de presentación de antígenos o de procesamiento de proteínas, o por silenciamiento epigenético y postranscripcional (20). De hecho, el primer paso para que se desarrolle una respuesta inmunológica es la expresión de antígenos por parte del tumor. Estos pueden ser antígenos compartidos, generalmente proteínas que no se expresan en la vida adulta y se sobreexpresan en los tumores como alfa-fetoproteína (AFP), glypican 3 (GPC3) o gen 1 asociado a melanoma; o antígenos privativos también llamados neoantígenos, derivados de mutaciones en genes que dan lugar a proteínas o péptidos con capacidad para ser reconocidos como extraños (21).

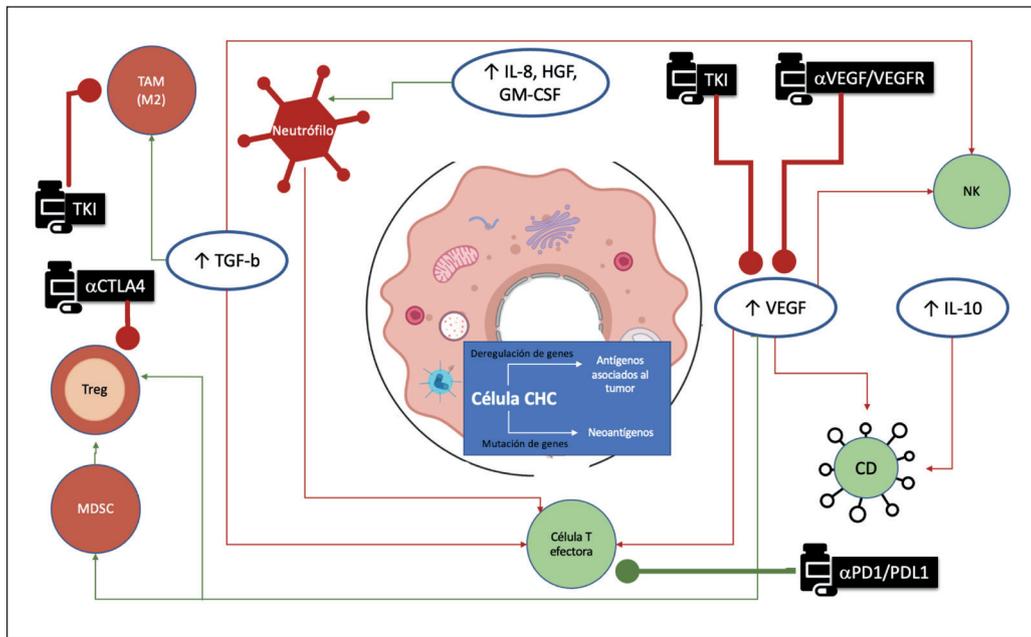


Fig. 1. Microambiente tumoral y dianas de la inmunoterapia. Las células de color rojo ejercen una acción negativa y las células de color verde ejercen una acción positiva. Las flechas de color rojo (—) traducen una acción supresora contra el sistema inmune y las flechas de color verde (—) traducen una acción promotora sobre el sistema inmune. —•: sitio de acción de cada fármaco. α PD1/PDL1: anti-programmed cell death protein 1. α CTLA-4: anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. α VEGF/VEGFR: anti-vascular endothelial growth factor. CD: célula dendrítica. GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos. HGF: hepatocyte growth factor. IL-10: interleuquina 10. MDSC: células supresoras derivadas de células mieloides. NK: células Natural Killer. TGF β : transforming growth factor- β . TAM M2: macrófagos asociados al tumor. TKI: inhibidor de tirosin-quinasa. Treg: células T reguladoras (modificado de cita 18).

Los PCI son moléculas que le proporcionan autocontrol al sistema inmune para evitar una activación excesiva de su propia respuesta. Entre las células que están involucradas en estas señales se encuentran los linfocitos B, los linfocitos T, las células *natural killer* (NK) células dendríticas, macrófagos asociados al tumor, monocitos y MDSC. Estas células se encargan de evitar una activación perpetuada de los linfocitos T efectoras tras una estimulación inicial y así limitar el daño colateral tisular. Por tanto, los PCI tienen cierta función inmunosupresora de la que los tumores se aprovechan expresando los ligandos correspondientes en sus células tumorales o en su estroma para evadir la respuesta inmune (18).

Los PCI más estudiados en cáncer y en CHC son: CTLA-4, PD-1, LAG-3 y TIM-3 (22). CTLA-4 se expresa en células T activadas y su estimulación conlleva una disminución de la activación de las células efectoras después de la presentación del antígeno. Las Treg también expresan CTLA-4 en su membrana e inhiben la respuesta inmune a través de varios mecanismos que incluyen el agotamiento de IL-2 y la secreción de factores inmunosupresores como TGF- β o IL-10 (23). PD-1 es un factor clave en la fase efectora de la respuesta inmune y lo expresan los linfocitos B, linfocitos T CD8+ y CD4+ activados, NK, Treg, MDSC, monocitos y células dendríticas. PD-L1 y PD-L2 son los ligandos de PD-1.

PD-L1 se expresa en diferentes tipos de células parenquimatosas y en células hematopoyéticas, incluidas células presentadoras de antígenos y MDSC. Por otro lado, PD-L2 se expresa en células hematopoyéticas. La unión de los ligandos con el receptor desencadena una inhibición de la activación de linfocitos T CD8+ y CD4+, entre otros. Ambos ligandos pueden ser expresados por las células tumorales pudiendo por tanto utilizar este mecanismo para escapar de la vigilancia del sistema inmune. La expresión de los ligandos por las células tumorales puede modificarse por diferentes citoquinas y en particular por la expresión de IFN- γ producido en situaciones de hipoxia, algo muy característico de los tumores. Esa exposición crónica a IFN- γ y por tanto una unión perpetuada de PD-1 (linfocitos T) y PD-L1 (células tumorales) produce finalmente una situación conocida como “agotamiento de los linfocitos T” y consigue esa evasión inmune (24) (Fig. 1). LAG-3, que se expresa en células T activadas, células B y NK y dendríticas, es una proteína de membrana que se une con alta afinidad a moléculas del complejo de histocompatibilidad mayor de clase II, reduciendo la activación de las células T de forma similar a PD-1. Además, actúa sinérgicamente con PD-1 para promover la evasión inmune del cáncer (25). TIM-3 es una proteína transmembrana expresada en células del sistema inmunológico que interactúa con

varios ligandos, incluida la galectina-9 que es una proteína producida por el hígado que regula la diferenciación celular, la adhesión y la muerte celular. La galectina-9 al unirse con TIM-3 suprime las respuestas de las células T. Además, la vía de TIM-3 puede cooperar con la vía PD-1 ya que en modelos animales las células T CD8+ que coexpresan PD-1 y TIM-3 presentan mayores defectos en la progresión celular (26).

EXPERIENCIA CLÍNICA CON INMUNOTERAPIA EN HEPATOCARCINOMA

Como hemos mencionado previamente, los pacientes con CHC avanzado han tenido pocas opciones de tratamiento sistémico y durante más de 10 años sorafenib ha sido el único tratamiento aprobado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) para estos pacientes, con una mediana de supervivencia de 10,7 meses (IC95 % 9,4-13,3; HR 0,69 [0,55-0,87]) en el ensayo clínico SHARP (13). Dado que los pacientes con CHC avanzado son fundamentalmente pacientes con cirrosis, el tratamiento sistémico debe tener muy en cuenta una cuidadosa valoración de la función hepática (27). La inmunoterapia basada en inhibidores de PCI (IPCI) ha demostrado tener eficacia y un buen perfil de seguridad en pacientes con CHC y hepatopatía crónica, hasta el punto de haberse convertido hoy en día en la base del tratamiento de la enfermedad en estadios avanzados. En las tablas I y II se recopilan los resultados de los principales ensayos clínicos que han evaluado la inmunoterapia en pacientes con CHC.

TRATAMIENTO EN MONOTERAPIA

Cuatro años después de la publicación de un ensayo clínico piloto que mostró por primera vez que el bloqueo de CTLA-4 con tremelimumab podía inducir una remisión objetiva duradera en pacientes con CHC y VHC (28), un inhibidor de PD-1 (nivolumab) obtuvo la aprobación por la Food and Drug Administration (FDA) en los Estados Unidos para el tratamiento de pacientes con CHC como segunda línea tras progresión a sorafenib. Esta aprobación se basó en los resultados del ensayo en fase 2 (29) que mostró una excelente tolerancia y una tasa de respuesta en torno al 15-20 %, respuestas que eran duraderas y asociadas a una larga supervivencia.

Los resultados de los ensayos en fase 3 de pembrolizumab (30) y nivolumab (31), comparados respectivamente con placebo en segunda línea y con sorafenib en primera línea, no confirmaron las expectativas iniciales. A pesar de mostrar una mayor tasa de respuesta y otros objetivos secundarios, ninguno de los ensayos confirmó inequívocamente el objetivo principal de prolongar la supervivencia global de los pacientes, aunque esta fue

numéricamente mayor en los pacientes tratados con IPCI que en los controles. El ensayo KeyNote 240 (30), que randomizó 413 pacientes con CHC que habían recibido previamente sorafenib a recibir pembrolizumab o placebo, mostró una mejoría de la supervivencia libre de progresión en los pacientes tratados con pembrolizumab (mediana de 3 y 2,8 meses, respectivamente), y una tendencia a una mayor supervivencia global (mediana de 13,9 y 10,6 meses; HR 0,78; $p = 0,024$). Casi el 20 % de los pacientes que recibieron pembrolizumab tuvieron una respuesta duradera durante más de un año. El ensayo CheckMate 459 (31), randomizó 743 pacientes sin tratamiento previo con agentes sistémicos a recibir nivolumab o sorafenib. Nuevamente, los pacientes tuvieron una mayor supervivencia global después de recibir nivolumab que sorafenib pero la diferencia no alcanzó el nivel predeterminado de significación estadística (medianas de 16,4 y 14,7 meses, HR 0,85; $p = 0,07$). Las tasas de supervivencia a 33 meses fueron del 29 % para nivolumab y 21 % para sorafenib y el tratamiento fue mejor tolerado, con menos eventos adversos relacionados con el tratamiento de grado 3 o 4 (22 % *versus* 49 %), menos eventos que condujeron a la interrupción del tratamiento y una mejor calidad de vida relacionada con la salud (31).

A pesar de que los IPCI basados en la inhibición de PD1, PDL1 y CTLA-4 vertebran el tratamiento de inmunoterapia en CHC, existen otros potenciales ligandos que están siendo evaluados en los pacientes que no han respondido a inhibidores de PCI clásicos como son TIM3 o LAG3. Los datos preclínicos brindan apoyo a la investigación de inhibidores de LAG3 (relatlimab) y TIM3 (cobolimab) en CHC en combinación con bloqueo de PD1 y PDL1 (32-34).

TRATAMIENTO EN COMBINACIÓN

Los datos de combinación de IPCI con otros IPCI, TKI u otros antiangiogénicos tienen en común un aumento en la tasa de respuesta y en la supervivencia global. Sin embargo y como es obvio, las combinaciones también aumentan el número de eventos adversos relacionados con el tratamiento de alto grado y efectos adversos graves o que conllevan a la interrupción del tratamiento.

Combinación de dos IPCI

Ipilimumab + nivolumab

En el ensayo CheckMate 040, una cohorte comparó de forma randomizada la eficacia y seguridad de tres regímenes de combinación con dosis variables de los dos fármacos en pacientes que habían progresado a sorafenib (35).

RESULTADOS DE ENSAYOS CLÍNICOS NO ALEATORIZADOS DE INMUNOTERAPIA CON INHIBIDORES DE CHECK-POINT INMUNOLÓGICOS EN CHC

TABLA I.

Tratamiento	Línea de tratamiento	Pacientes (n)	Invasión portal (%)	Enfermedad extrahepática (%)	AFP > 400 ng/ml (%)	Supervivencia global en meses. Mediana (IC95 %)
<i>Monoterapia de inhibidores de check-point inmunológicos</i>						
Nivolumab (29)	Segunda	145	28	71	38	13,8 (11,5-16,6)
Pembrolizumab (47)	Segunda	104	17	64	57 ^a	12,9 (9,7-15,5)
Camrelizumab (52)	Segunda	217	12	82	51	13,8 (11,5-16,6)
Durvalumab (36)	Varias	104	30	63	39	13,6 (8,7-17,6)
Tremelimumab (36)	Varias	69	17	31	33	15,1 (11,3-20,5)
<i>Combinación de dos inhibidores de check-point inmunológicos</i>						
Durvalumab + tremelimumab (dosis única) (36)	Varias	75	21	71	47	18,7 (10,8-27,2)
Durvalumab + tremelimumab (dosis múltiples) (36)	Varias	84	24	57	41	11,3 (8,4-14,9)
Nivolumab 1 + ipilimumab 3 (1) (35)	Segunda	50	36	80	50	22,8 (9,4-ND)
Nivolumab 3 + ipilimumab 1 (2) (35)	Segunda	49	27	82	37	12,5 (7,6-16,4)
Nivolumab 3 + ipilimumab 1 (3) (35)	Segunda	49	39	86	45	12,7 (7,4-33)
<i>Combinación de inhibidor de check-point inmunológicos e inhibidor de tirosin-kinasa</i>						
Pembrolizumab + lenvatinib (38)	Primera	67	19	51	ND	20,4 (11-ND)
Nivolumab + cabozantinib (40)	Varias	36	39	47	39	21,5 (13,1-ND)
Nivolumab + ipilimumab + cabozantinib (40)	Varias	35	43	66	49	NE (15,1-ND)
<i>Combinación de un inhibidor de check point inmunológicos e inhibidores de VEGF</i>						
Atezolizumab + bevacizumab (41)	Primera	104	53	71	36	17,1 (13,8-ND)

ND: no disponible. (1) nivolumab 1 mg/kg + ipilimumab 3 mg/kg cada 3 semanas x 4 dosis, seguido de nivolumab 240 mg cada 2 semanas; (2) nivolumab 3 mg/kg + ipilimumab 1 mg/kg cada 3 semanas x 4 dosis, seguido de nivolumab 240 mg cada 2 semanas; (3) nivolumab 3 mg/kg cada 2 semanas + ipilimumab 1 mg/kg cada 6 semanas. ^aAlfa-fetoproteína > 200 mg/dl.

Tabla II
 ENSAYOS CLÍNICOS ALEATORIZADOS DE INMUNOTERAPIA COMPARADOS CON EL TRATAMIENTO ESTÁNDAR

	Número de pacientes (n)	Invasión portal (%)	Enfermedad extrahepática (%)	Alfa-fetoproteína > 400 (%)	Supervivencia global en meses (mediana, IC95 %)	Hazard ratio
KEYNOTE 240 (2.ª línea) (30)						
Pembrolizumab	278	13	70	46	13,9 (11,6-16,0)	0,78
Placebo	135	12	69	43	10,6 (8,3-13,5)	
CHECKMATE 459 (1.ª línea) (31)						
Nivolumab	371	75	75	33	16,4 (14,0-18,5)	0,85
Sorafenib	372	70	70	38	14,8 (12,1-17,3)	
IMBRAVE 150 (1.ª línea) (53)						
Atezolizumab + bevacizumab	336	38	63	38	19,2 (17,0-23,7)	0,58
Sorafenib	165	43	56	37	13,4 (11,4-16,9)	
COSMIC-312 (1.ª línea) (39)						
Cabozantinib + atezolizumab	432	-	298	-	15,4	0,90
Sorafenib	217	-	150	-	15,5	
Cabozantinib	188	-	130	-	-	

ND: no disponible.

Se observaron los mejores resultados con la combinación de una dosis mayor de Ipilimumab (3 mg/kg) y una dosis menor de nivolumab (1 mg/kg) administradas cada 3 semanas hasta alcanzar 4 dosis, seguido de nivolumab a la dosis estándar de 240 mg cada 2 semanas. Con este tratamiento se observó una tasa de respuestas objetivas del 32 % y una mediana de supervivencia global de 22,8 meses. Estos resultados llevaron a la aprobación acelerada de esta combinación por la FDA para tratar pacientes con CHC después de haber recibido sorafenib. Actualmente está en marcha un ensayo clínico en fase 3 que compara dicha combinación con sorafenib o lenvatinib en primera línea (CHECKMATE-9DW; NCT04039607).

Tremelimumab + durvalumab

En el estudio 022 se evaluó de forma randomizada la eficacia y seguridad de la combinación de dos regímenes de combinación de tremelimumab y durvalumab y también ambos fármacos en monoterapia, en pacientes que habían progresado, rechazado o no tolerado el tratamiento con sorafenib (36). Con la combinación de una dosis única inicial de tremelimumab (300 mg) y durvalumab (1500 mg cada 4 semanas) se obtuvieron los mejores resultados, con una mediana de supervivencia global de 18 meses y un perfil de tolerancia aceptable. Esta combinación con una dosis alta inicial de tremelimumab provocó una expansión temprana de células T CD8+ proliferantes en sangre periférica, hallazgos que concuerdan con lo observado en el tratamiento del melanoma. Como en este y otros tumores, en el CHC también la actividad antitumoral de los inhibidores de CTLA-4 es dosis-dependiente. Una nota de prensa reciente ha comunicado que son positivos los resultados del ensayo clínico en fase 3 HIMALAYA en el que se compara esta combinación y la monoterapia de durvalumab con sorafenib en primera línea (37). La supervivencia global y libre de progresión son superiores con la combinación que con sorafenib, y la supervivencia global con durvalumab en monoterapia es no inferior a la de sorafenib, con una mejor tolerabilidad. Pendientes de la presentación de los resultados completos, esta probablemente será una nueva alternativa de primera línea.

Inmunoterapia asociada a TKI

Pembrolizumab + lenvatinib

La combinación de pembrolizumab con lenvatinib ha mostrado una doble tasa de respuesta en comparación con la observada con pembrolizumab como agente único, y una prometedora mediana de supervivencia global de 22 meses en 104 pacientes con CHC avanzado que no habían recibido tratamiento con TKI; aunque a costa de una mayor toxicidad (38). La tasa de respuesta en

estos pacientes fue de 46 % (IC95 %, 36,0 % a 56,3 %) según criterios RECIST modificados.

Atezolizumab + cabozantinib

La eficacia de combinación de atezolizumab con cabozantinib en primera línea para el tratamiento del CHC se está evaluando en el ensayo clínico fase III (COSMIC-321; NCT03755791) (39). Los datos preliminares mostrados en la ESMO Asia Virtual Oncology Week 2021 mostraron mejores datos en cuanto a progresión libre de enfermedad con la combinación que con sorafenib en monoterapia (HR 0,63; IC99 % (0,44-0,91); $p = 0,0012$). Sin embargo, el análisis de la supervivencia global no mostró beneficio de la combinación frente a la monoterapia con sorafenib (HR 0,90; IC96 % (0,69-1,18); $p = 0,438$).

Nivolumab + ipilimumab + cabozantinib

En una cohorte del ensayo CheckMate 040 (pacientes con CHC avanzado que habían recibido o no tratamiento con sorafenib previamente), se evaluó la seguridad de la combinación de nivolumab + ipilimumab + cabozantinib (35 pacientes) y la combinación de nivolumab + cabozantinib (36 pacientes) observando un aumento significativo de la tasa de respuesta comparado con nivolumab en monoterapia (tasa de respuesta de 17 % en los pacientes con nivolumab + cabozantinib y 26 % en los pacientes con nivolumab + ipilimumab + cabozantinib), pero con una mayor frecuencia y grado de toxicidad grave (efectos adversos graves en 42 % de los pacientes con nivolumab + cabozantinib y en 71 % con nivolumab + ipilimumab + cabozantinib) (40).

Inmunoterapia asociada a inhibidores de VEGF

Atezolizumab + bevacizumab

En el ensayo clínico IMbrave 150, 501 pacientes fueron randomizados en una proporción de 2:1 para recibir atezolizumab (1200 mg) y una dosis alta del inhibidor de VEGF bevacizumab (15 mg/kg) cada 3 semanas, o sorafenib. El estudio se detuvo en el primer análisis intermedio, después de una mediana de seguimiento de solo 8,6 meses, porque se objetivó una mejoría de la supervivencia global (HR 0,58; IC95 % (0,42-0,79); $p = 0,0006$) y la progresión libre de enfermedad (HR 0,59; IC95 % (0,47-0,76); $p < 0,0001$) en el brazo tratado con la combinación. La población de este estudio era comparable con la de otros, a excepción de una menor proporción de pacientes con metástasis a distancia y una mayor proporción de pacientes con infección por el virus de la hepatitis B. Después de un seguimiento más prolongado (mediana de 15,6 meses), la supervivencia global fue de 19,2 meses con la combinación *versus* 13,4 meses con sorafenib. Es importante destacar que la

calidad de vida relacionada con la salud también se conservó un tiempo significativamente mayor en el grupo de tratamiento combinado. La mediana del tiempo transcurrido hasta el deterioro de la calidad de vida informada por el paciente fue más prolongada con la combinación (11,2 *versus* 3,6 meses; HR 0,63; IC95 % [0,46-0,85]) y mucho más larga que la mediana de progresión libre de enfermedad en este mismo grupo (41). Actualmente, la combinación de estos dos fármacos se considera la primera opción para el tratamiento en primera línea del CHC avanzado no subsidiario de tratamientos locorreregionales.

Combinación con terapias locorreregionales

El tratamiento locorregeional mediante quimioembolización arterial (TACE) o radioembolización arterial (TARE o SIRT) es práctica habitual en los pacientes con CHC en estadio intermedio (tumores multinodulares sin invasión vascular ni metástasis extrahepáticas) (42) y, en el caso de la TARE, en pacientes seleccionados con invasión portal (43). Asimismo, las intervenciones guiadas por ecografía como terapias ablativas son también una opción indicada en los pacientes en un estadio más precoz cuando el nódulo de CHC tiene un tamaño inferior a 3 cm y la resección o el trasplante no son posibles. Este tipo de tratamiento puede

causar muerte celular inmunogénica o la generación local de patrones moleculares asociados a patógenos. La liberación de neoantígenos tumorales tras el tratamiento locorregeional puede producir una sinergia con los tratamientos basados en inmunoterapia y provocar respuestas mejores y más duraderas. El tratamiento con tremelimumab combinado con una ablación parcial del tumor mediante ablación por radiofrecuencia o TACE en pacientes con CHC avanzado dio como resultado una tasa de respuesta del 26 % en lesiones no sometidas a ablación y una tasa de control de la enfermedad del 89 %, con un 45 % de estabilizaciones que duraron más de 6 meses y una supervivencia global de 12,3 meses (44). Estos datos alentadores han impulsado los ensayos clínicos en los que se administran IPCI solos o en combinación con otros IPCI o bevacizumab en combinación con TACE o SIRT, o después de una ablación quirúrgica o percutánea completa (Tabla III). Actualmente estos ensayos clínicos están todavía en proceso de reclutamiento y no se dispone de resultados. Los resultados preliminares de un ensayo no controlado que evalúa la seguridad de SIRT en combinación con nivolumab (45) no han mostrado un aumento de la toxicidad de manera sinérgica y sí una tasa de respuesta objetiva en torno al 40 % con un tiempo a progresión prolongado (9,3 meses) y una supervivencia global de 20,9 meses. Otro ensayo similar en población asiática ha reportado resultados comparables (46).

TABLA III
ENSAYOS CLÍNICOS RANDOMIZADOS EN MARCHA QUE COMBINAN INMUNOTERAPIA Y TRATAMIENTOS LOCORREGIONALES

Ensayo	Tipo de ensayo	Terapias que compara	Participantes	Población diana
KEYNOTE-937 (NCT03867084)	Fase 3, doble ciego	A) Pembrolizumab B) Placebo	950	Pacientes que consiguen respuesta completa tras resección o ablación
CHECKMATE-9DX (NCT03383458)	Fase 3, doble ciego	A) Nivolumab B) Placebo	530	Pacientes que consiguen respuesta completa tras resección o ablación
EMERALD-2 (NCT03847428)	Fase 3, doble ciego	A) Durvalumab + bevacizumab B) Durvalumab + placebo C) Placebo	888	Pacientes que consiguen respuesta completa tras resección o ablación
IMBRAVE-050 (NCT04102098)	Fase 3	A) Atezolizumab + bevacizumab B) Seguimiento		Pacientes que consiguen respuesta completa tras resección o ablación
EMERALD-1 (NCT03778957)	Fase 3, doble ciego	A) TACE + durvalumab + bevacizumab B) TACE + durvalumab + placebo C) TACE + placebo	710	Candidatos a primera TACE
LEAP 012 (NCT04246177)	Fase 3, doble ciego	A) TACE + pembrolizumab + lenvatinib B) TACE + placebo	950	Candidatos a primera TACE
TACE-3 (NCT04268888)	Fase 2/3	A) DEB-TACE + nivolumab B) DEB-TACE	522	Candidatos a primera TACE

Con la evidencia obtenida hasta el momento, está claro que la inmunoterapia ha revolucionado el manejo del CHC. Sin embargo, también es evidente que no aporta beneficio a todos los pacientes y, por tanto, identificar a aquellos pacientes con resistencia intrínseca a la inmunoterapia es importante para evitar toxicidad innecesaria, no retrasar el acceso a otros tratamientos y ahorrar una cantidad sustancial de dinero y recursos de salud. Sin embargo, hasta la fecha no se dispone de marcadores que predigan esta resistencia. Para los inhibidores de PD-1 o PD-L1, la expresión de PD-L1 en las células tumorales (estudiada con nivolumab) o en el conjunto del microambiente tumoral incluyendo células tumorales y estromales (estudiada con pembrolizumab) se asocia a una mayor tasa de respuestas (29,47) pero no a un mayor beneficio terapéutico (31).

En algunos análisis de subgrupos se han objetivado diferencias que permiten formular hipótesis para futuros estudios, pero en ningún caso para tomar decisiones clínicas. Por ejemplo, recientemente se ha sugerido que los pacientes con etiología no viral (generalmente asociada al síndrome metabólico) podría tener un menor beneficio (48) pero el argumento es clínicamente débil y sólo cabe plantearlo como hipótesis de trabajo.

TOXICIDAD DE LA INMUNOTERAPIA

El gran número de ensayos clínicos realizados hasta la fecha en pacientes con CHC ha demostrado de manera consistente que la inmunoterapia es un tratamiento seguro y globalmente bien tolerado, por lo menos en pacientes sin disfunción hepática intensa. Entre el 5 y el 20 % de los pacientes tratados experimentan efectos secundarios que obligan a la suspensión del tratamiento. Los principales acontecimientos adversos relacionados con la inmunoterapia se deben a reacciones inflamatorias que resultan de la estimulación no específica del sistema inmune (*Immune-Related Adverse Events, IRAE*). Potencialmente cualquier órgano puede verse afectado por IRAE, pero la mayoría de los acontecimientos adversos se producen en la piel (10-40 %), el aparato digestivo (10-50 %), las glándulas endocrinas y el hígado (2-15 %) (48) (Tabla IV). Menos frecuentemente las reacciones inmunes afectan a otros órganos como el pulmón, el corazón, el riñón, el músculo y el sistema hematopoyético. La mayoría de los acontecimientos adversos (AE) son de grado leve y menos del 5 % de los AE reportados en los ensayos clínicos con inmunoterapia en CHC son de grado 3 o superior. La frecuencia de los AE y su intensidad aumentan en pacientes que reciben tratamientos de combinación con dos moduladores de la respuesta inmune o en aquellos que reciben combinación de inmunoterapia con un TKI. En pacientes tratados en monoterapia, la frecuencia de los AE es mayor con los inhibidores

de CTLA-4 respecto a los anti-PD-1 o PD-L1; y en el caso de los CTLA-4, tiene una relación directa con la dosis.

La toxicidad por inmunoterapia puede manifestarse en cualquier momento, aunque es más probable que ocurra en las primeras semanas/meses tras el comienzo del tratamiento. Los AE cutáneos tienden a aparecer más precozmente respecto a otros. La mayoría de los acontecimientos adversos se resuelven espontáneamente retrasando la administración de las siguientes dosis, mientras que otros requieren tratamiento con corticoides u otros inmunosupresores en los casos más graves. Desde el punto de vista clínico es importante diferenciar los IRAE de los síntomas y descompensaciones propios de la cirrosis o del CHC, para mejorar su manejo y para evitar modificaciones de la pauta del tratamiento con inmunoterapia que podrían ser innecesarias.

Con respecto a la *toxicidad cutánea* de la inmunoterapia, las principales manifestaciones son las erupciones cutáneas y el prurito. En la mayoría de los casos se trata de reacciones leves que pueden manejarse con cremas hidratantes, antihistamínicos o corticoides tópicos (triamcinolona 0,1 %) pero en los casos más graves pueden requerir biopsia cutánea y tratamiento sistémico con corticoides. La frecuencia de AE cutáneos de grado 3 o superior es inferior al 2 %, incluyendo un muy pequeño porcentaje de pacientes con reacciones cutáneas muy graves como síndrome DRESS, necrólisis epidérmica tóxica y síndrome de Stevens-Johnson (< 0,1 %).

Cabe mencionar que hasta el 50 % de los pacientes con enfermedad hepática crónica de cualquier origen (colestática y no colestática) pueden presentar prurito (49). Los pacientes con hepatopatía crónica especialmente las de origen viral y metabólico (hemocromatosis), además pueden presentar manifestaciones cutáneas relacionadas con su enfermedad como la porfiria cutánea tarda, el *lichen planus* y vasculitis leucocitoclásticas asociadas a crioglobulinemia. Estas condiciones deben de tenerse en consideración en la evaluación de los síntomas cutáneos durante la inmunoterapia.

El IRAE *digestivo* más común es la diarrea, que es más frecuente en pacientes tratados con inhibidores de CTLA-4 (hasta el 50 %) y menos en los tratados con anti-PD-L1 (25 %). Con menor frecuencia se observa colitis (diarrea con o sin rectorragia pero con signos de inflamación en pruebas radiológicas, endoscopia o biopsia). También es más común en pacientes tratados con anti-CTLA 4 (10 %) con respecto a anti-PD-L1 (< 2 %) y aumenta en los pacientes que reciben tratamientos de combinación. La toxicidad digestiva más intensa, grado 2 o superior, es poco frecuente y se observa en aproximadamente el 2-5 % de pacientes tratados con inmunoterapia especialmente en los pacientes que reciben tratamiento de combinación.

TABLA IV.
PRINCIPALES ACONTECIMIENTOS ADVERSOS DE BASE INMUNOLÓGICA (IRAE)

Ensayo clínico	Fármaco (dosis)	Toxicidad total (grado 3-4)*			
		Cutánea-rash	Digestiva-diarrea	Hepática-hepatitis	Endocrinológica
<i>Anti-CTLA4</i>					
Study 022 (36)	Tremelimumab	21,7 (2,9)	20,3 (8,7)	10,1 (4,3)**	2,9 (0)
<i>Anti-PD-1</i>					
Keynote 240 (30)	Pembrolizumab	11,5 (0,7)	1,4 (0,7)	1,8 (1,4)	10,4 (1,2)
Checkmate 040 (29)	Nivolumab (dosis 3 mg/kg)	20 (0)	10 (0)	20 (10)**	nr
<i>Combinaciones</i>					
Study 022 (36)	Durvalumab + tremelimumab (dosis única)	32,4 (2,7)	9,5 (1,4)	14,9 (4,1)**	16,2 (0)
Study 022 (36)	Durvalumab + tremelimumab (dosis múltiples)	13,4 (0)	12,2 (1,2)	9,8 (2,4)**	13,4 (1,2)
Imbrave 150 (41)	Atezolizumab + bevacizumab	12,5 (0)	18,8 (1,8)	14,0 (3,6)	nr
<i>Nivolumab + ipilimumab***</i>					
Checkmate 040 (35)	Brazo A	35 (6)	10 (6)	20 (20)	54 (4)
	Brazo B	29 (4)	2 (2)	12 (10)	32 (2)
	Brazo C	17 (0)	2 (2)	6 (6)	31 (2)

*Se expresa la toxicidad total y entre paréntesis la toxicidad grado 3-4; todo ello expresado en porcentaje de pacientes. **Hepatitis reportada como aumento de ALT (alanine aminotransferase). ***Brazo A: nivolumab 1 mg/kg + ipilimumab 3 mg/kg cada 3 semanas (4 dosis) seguido de nivolumab 240 mg cada 2 semanas; Brazo B: nivolumab 3 mg/kg + ipilimumab 1 mg/kg cada 3 semanas (4 dosis) seguido de nivolumab 240 mg cada 2 semanas; Brazo C: nivolumab 3 mg/kg cada 2 semanas + ipilimumab 1 mg/kg cada 6 semanas. nr: no recogido.

Los casos más leves (grado 1, incremento de 3 deposiciones al día sobre el número basal) pueden vigilarse sin modificación de tratamiento, pero en los casos en que la diarrea sea de mayor intensidad y persista durante más de 3 días se recomienda la suspensión de la inmunoterapia y el tratamiento con corticoides orales o intravenoso según la gravedad.

Ya que la diarrea es un síntoma frecuentemente reportado en pacientes con CHC y que una gran parte (> 40 %) los pacientes cirróticos presentan sobrecrecimiento bacteriano (50), en la evaluación de una diarrea en pacientes con inmunoterapia deben de tenerse en cuenta estas dos posibilidades diagnósticas alternativas.

La *toxicidad hepática* de la inmunoterapia merece ser discutida con más detalle ya que puede ser difícil de diferenciar de una elevación de pruebas de función hepática secundaria a progresión tumoral o de una simple fluctuación de las pruebas hepáticas dependiente de la enfermedad hepática subyacente. Con respecto a otros tumores, los pacientes con CHC experimentan más frecuentemente toxicidad hepática. Además, el patrón de toxicidad hepática puede ser distinto dependiendo del tipo de inmunoterapia, y es más común la hepatitis colestásica (hepatitis granulomatosa con endotelitis de la vena centrolobulillar) en los pacientes que reciben tratamiento con anti-CTLA-4 y la citólisis (hepatitis lobulillar) en pacientes que reciben tratamiento con anti-PD-L1 (51). La frecuencia de hepatitis grado 3 es inferior al 2 % en pacientes con CHC tratados con anti-PD-L1 en monoterapia, pero puede alcanzar el 20 % en pacientes que reciben tratamientos de combinación (35). Cualquier elevación de las pruebas de función hepáticas durante tratamiento con inmunoterapia precisa de una cuidadosa valoración hepatológica que incluya el despistaje de otras causas de hepatitis/reactivación de hepatopatía subyacente y debe tener en cuenta la posibilidad de una progresión tumoral. De acuerdo con la evolución clínica puede ser necesario realizar una biopsia hepática y, si la sospecha de hepatotoxicidad por inmunoterapia es elevada, en presencia de hipertransaminasemia progresiva e intensa, ictericia o descompensación hepática debe de empezarse tratamiento esteroideo oral. El uso de otros inmunosupresores y de bolus de corticoides debe de valorarse caso por caso en los casos más serios o cuando la respuesta al tratamiento inicial no es satisfactoria.

La disfunción tiroidea es el IRAE *endocrinológico* más comúnmente observado en pacientes tratados con inmunoterapia, pudiendo observarse en hasta el 40 % de los pacientes, y más frecuentemente en pacientes tratados con anti-PD-L1 (39 %) que con anti-CTLA-4 (24 %). Puede presentarse como hiper o hipotiroidismo y, en casos muy ocasionales, puede acompañarse de la detección de anticuerpos antitiroideos. En general, el manejo de la disfunción tiroidea secundaria a inmunoterapia no presenta dificultades añadidas con respecto al paciente que no recibe inmunoterapia y se maneja de

manera similar. Casi nunca requiere modificaciones de la pauta del tratamiento oncológico, salvo en los casos de hipertiroidismo intenso, en que la suspensión temporal o el tratamiento esteroideo pueden estar justificados. Menos frecuentemente pueden presentarse hipofisitis y disfunción suprarrenal cuyo manejo es parecido al de los pacientes sin cáncer hepático.

La *neumonitis* es un IRAE poco frecuente, pudiendo afectar aproximadamente al 1 % de los pacientes tratados en monoterapia y hasta al 10 % de los pacientes tratados con tratamientos de combinación. Puede requerir una evaluación por el especialista, con broncoscopia para el diagnóstico diferencial con otras patologías respiratorias. Su manejo depende de la gravedad de los síntomas y puede ir desde el simple retraso de la dosis hasta tratamiento con inmunosupresores y soporte respiratorio. En la evaluación de los AE respiratorios debe de tenerse en cuenta la posibilidad de una enfermedad pulmonar relacionada con la cirrosis, como el síndrome hepatopulmonar y la hipertensión portopulmonar; ambas condiciones pueden producir disnea e hipoxemia y pueden diferenciarse de la neumonitis inmunomediada a través de una evaluación clínica exhaustiva y a través de la realización de pruebas radiológicas y ecocardiograma doppler.

La *toxicidad cardíaca* es un raro pero temible efecto secundario de la inmunoterapia, e incluye un amplio espectro de disfunciones cardíacas pudiendo afectar el miocardio, el pericardio y el tejido de conducción cardíaco. Aunque rara (< 0,1 %), requiere una identificación precoz ya que puede amenazar la vida del paciente. Tanto la neumonitis grado 3-4 como la miocarditis normalmente obligan a la interrupción permanente del tratamiento con inmunoterapia. Lo mismo ocurre en la toxicidad neurológica, que, aunque rara, puede amenazar la vida del paciente.

La toxicidad *hematológica* (citopenia), musculoesquelética y la *nefrotoxicidad* no son frecuentes y normalmente no limitan el mantenimiento del tratamiento con inmunoterapia.

Autoría: Manuel de la Torre y Paloma Sangro contribuyen por igual al trabajo.

Conflictos de interés: BS ha recibido honorarios de asesoría o consultoría de Adaptimmune, Astra Zeneca, Bayer, BMS, BTG, Eli Lilly, Ipsen, Novartis, Merck, Roche, Sirtex Medical y Terumo, honorarios de ponencias de Astra Zeneca, Bayer, BMS, BTG, Eli Lilly, Ipsen, Novartis, Merck, Roche, Sirtex Medical, Terumo BMS and Sirtex Medical; y becas institucionales de BMS y Sirtex Medical.

CORRESPONDENCIA:

Bruno Sangro
Unidad de Hepatología
Clínica Universidad de Navarra
C/ Marqués de Sta. Marta, 1
28027 Madrid
e-mail: bsangro@unav.es

BIBLIOGRAFÍA

1. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-tieulent J, Jemal A. Global Cancer Statistics, 2012. *CA a cancer J Clin* [Internet] 2015;65(2):87-108.
2. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. 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.
3. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015;136(5):E359-86.
4. Yang D, Hanna DL, Usher J, LoCoco J, Chaudhari P, Lenz HJ, et al. Impact of sex on the survival of patients with hepatocellular carcinoma: A surveillance, epidemiology, and end results analysis. *Cancer* 2014;120(23):3707-16.
5. El-Serag HB. Epidemiology of Viral Hepatitis and Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology* [Internet] 2012;142(6):1264-73.e1.
6. Rich NE, Yopp AC, Singal AG, Murphy CC. Hepatocellular carcinoma incidence is decreasing among younger adults in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2020;18(1):242-8.
7. Llovet JM, Zuñiga-Rossi J, Pikarsky E, Sangro B, Schwartz M, Sherman M, et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers* 2016;2:16018.
8. Galle PR, Forner A, Llovet JM, Mazzaferro V, Piscaglia F, Raoul JL, et al. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* [Internet] 2018;69(1):182-236.
9. Gurusamy KS, Tsochatzis E, Thorburn D, Davidson BR. Management of people with early or very early stage hepatocellular carcinoma: A network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;2015(4).
10. Vogel A, Cervantes A, Chau I, Daniele B, Llovet J, Meyer T, et al. Hepatocellular carcinoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2018;29(Suppl. 4):iv238-55.
11. Marrero JA, Kulik LM, Sirlin CB, Zhu AX, Finn RS, Abecassis MM, et al. Diagnosis, Staging, and Management of Hepatocellular Carcinoma: 2018 Practice Guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology* 2018;68(2):723-50.
12. Reig M, Forner A, Ávila MA, Ayuso C, Mínguez B, Varela M, et al. Diagnóstico y tratamiento del carcinoma hepatocelular. Actualización del documento de consenso de la AEEH, AEC, SEOM, SERAM, SERVEI y SETH. *Med Clin (Barc)* 2021;156(9):463.e1-463.e30.
13. Copur MS. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008;359(23):2498.
14. Kudo M, Finn RS, Qin S, Han KH, Ikeda K, Piscaglia F, et al. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2018;391(10126):1163-73.
15. Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2017;389(10064):56-66.
16. Abou-Alfa GK, Meyer T, Cheng A-L, El-Khoueiry AB, Rimassa L, Ryoo B-Y, et al. Cabozantinib in Patients with Advanced and Progressing Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med* 2018;379(1):54-63.
17. Zhu AX, Kang YK, Yen CJ, Finn RS, Galle PR, Llovet JM, et al. Ramucirumab after sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma and increased α -fetoprotein concentrations (REACH-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2019;20(2):282-96.
18. Sangro B, Sarobe P, Hervás-Stubbs S, Melero I. Advances in immunotherapy for hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2021;18(8):525-43.
19. Crispe IN. The liver as a lymphoid organ. *Annu Rev Immunol* 2009;27(February):147-63.
20. Cai L, Michelakos T, Yamada T, Fan S, Wang X, Schwab JH, et al. Defective HLA class I antigen processing machinery in cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2018;67(6):999-1009.
21. Yarchoan M, Johnson BA, Lutz ER, Laheru DA, Jaffee EM. Targeting neoantigens to augment antitumour immunity. *Nat Rev Cancer* 2017;17(4):209-22.
22. Greten TF, Sangro B. Targets for immunotherapy of liver cancer. *J Hepatol* 2018;68(1):157-66.
23. Han Y, Chen Z, Yang Y, Jiang Z, Gu Y, Liu Y, et al. Human CD14+CTLA-4+ regulatory dendritic cells suppress T-cell response by cytotoxic T-lymphocyte antigen-4-dependent IL-10 and indoleamine-2,3-dioxygenase production in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2014;59(2):567-79.
24. Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* 2006;439(7077):682-7.
25. Nguyen LT, Ohashi PS. Clinical blockade of PD1 and LAG3-potential mechanisms of action. *Nat Rev Immunol* 2015;15(1):45-56.
26. Anderson AC. Tim-3: An emerging target in the cancer immunotherapy landscape. *Cancer Immunol Res* 2014;2(5):393-8.
27. D'Avola D, Granito A, De la Torre-Aláez M, Piscaglia F. The importance of liver functional reserve in the non-surgical treatment of Hepatocellular Carcinoma. *J Hepatol* 2021;S0168-8278(21)02185-1.
28. Sangro B, Gomez-Martin C, de la Mata M, Iñárraiaegui M, Garralda E, Barrera P, 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):81-8.
29. El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, Crocenzi TS, Kudo M, Hsu C, 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):2492-502.
30. Finn RS, Ryoo BY, Merle P, Kudo M, Bouattour M, Lim HY, et al. Pembrolizumab As Second-Line Therapy in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma in KEYNOTE-240: A Randomized, Double-Blind, Phase III Trial. *J Clin Oncol* 2020;38(3):193-202.
31. Yau T, Park J-W, Finn RS, Cheng A-L, Mathurin P, Edeline J, et al. Nivolumab Versus Sorafenib Treatment in Advanced Hepatocellular Carcinoma (CheckMate 459): A Randomised, Multicentre, Open-Label, Phase 3 Trial. *SSRN Electron J* 2021;2045(CheckMate 459):1-14.
32. Li Z, Li N, Li F, Zhou Z, Sang J, Chen Y, Han Q, Lv Y, Liu Z. Immune checkpoint proteins PD-1 and TIM-3 are both highly expressed in liver tissues and correlate with their gene polymorphisms in patients with HBV-related hepatocellular carcinoma. *Medicine (Baltimore)* 2016;95(52):e5749.
33. Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG, Vignali DAA. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. *Immunol Rev* 2017;276(1):80-96.
34. Zhou G, Sprengers D, Boor PPC, Doukas M, Schutz H, Mancham S, et al. Antibodies Against Immune Checkpoint Molecules Restore Functions of Tumor-Infiltrating T Cells in Hepatocellular Carcinomas. *Gastroenterology* 2017;153(4):1107-19.e10.
35. Yau T, Kang YK, Kim TY, El-Khoueiry AB, Santoro A, Sangro B, et al. Efficacy and Safety of Nivolumab Plus Ipilimumab in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma Previously Treated With Sorafenib: The CheckMate 040 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 2020;6(11):e204564.
36. Kelley RK, Sangro B, Harris W, Ikeda M, Okusaka T, Kang YK, et al. Safety, Efficacy, and Pharmacodynamics of Tremelimumab Plus Durvalumab for Patients with Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Randomized Expansion of a Phase I/II Study. *J Clin Oncol* 2021;39(27):2991-3001.
37. Kemp A. Imfinzi plus tremelimumab significantly improved overall survival in HIMALAYA Phase III trial in 1st-line unresectable liver cancer. 2021 Oct.

38. Finn RS, Ikeda M, Zhu AX, Sung MW, Baron AD, Kudo M, et al. Phase Ib study of lenvatinib plus pembrolizumab in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2020;38(26):2960-70.
39. Kelley RK, Yau T, Cheng AL, Kaseb A, Qin S, Zhu AX, et al. VP10-2021: Cabozantinib (C) plus atezolizumab (A) versus sorafenib (S) as first-line systemic treatment for advanced hepatocellular carcinoma (aHCC): Results from the randomized phase III COSMIC-312 trial. 2021 Nov.
40. Yau T, Zagonel V, Santoro A, Acosta-Rivera M, Choo SP. Nivolumab (NIVO) + ipilimumab (IPI) + cabozantinib (CABO) combination therapy in patients (pts) with advanced hepatocellular carcinoma (aHCC): Results from CheckMate 040. *J Clin Oncol* 2020;38(4 Suppl.):478.
41. Finn RS, Qin S, Ikeda M, Galle PR, Ducreux M, Kim T-Y, et al. Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med* 2020;382(20):1894-905.
42. Bolondi L, Burroughs A, Dufour JF, Galle PR, Mazzaferro V, Piscaglia F, et al. Heterogeneity of patients with intermediate (BCLC B) hepatocellular carcinoma: Proposal for a subclassification to facilitate treatment decisions. *Semin Liver Dis* 2012;32(4):348-59.
43. de la Torre MA, Buades-Mateu J, de la Rosa PA, Lué A, Bustamante FJ, Serrano MT, et al. A comparison of survival in patients with hepatocellular carcinoma and portal vein invasion treated by radioembolization or sorafenib. *Liver Int* 2016;36(8):1206-12.
44. Duffy AG, Ulahannan S V., Makorova-Rusher O, Rahma O, Wedemeyer H, Pratt D, et al. Tremelimumab in combination with ablation in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2017;66(3):545-51.
45. De la Torre-Alález M, Matilla A, Varela M, Iñarrairaegui M, Reig M, Lledó JL, et al. A Preliminary Analysis of Early Liver Adverse Events (LAE) In Patients with Hepatocellular Carcinoma Treated with Selective Internal Radiation Therapy (SIRT) And Nivolumab. In: *ILCA2019*. 2019.
46. Tai D, Loke K, Googna A, Kaya N, Huey Tan S. Radioembolisation with Y90-resin microspheres followed by nivolumab for advanced hepatocellular carcinoma (CA 209-678): a single arm, single centre, phase 2 trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2021;0(0):1025-35.
47. Zhu AX, Finn RS, Edeline J, Cattani S, Ogasawara S, Palmer D, 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):940-52.
48. Heikenwaelder M et al. NASH limits anti-tumour surveillance in immunotherapy-treated HCC. Vol. 17. 2021.
49. Yoshikawa S, Asano T, Morino M, Matsumoto K, Kashima H, Koito Y, et al. Pruritus is common in patients with chronic liver disease and is improved by nalfurafine hydrochloride. *Sci Rep* 2021;11(1):1-8.
50. Pande C, Kumar A, Sarin SK. Small-intestinal bacterial overgrowth in cirrhosis is related to the severity of liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;29(12):1273-81.
51. De Martin E, Michot JM, Papouin B, Champiat S, Mateus C, Lambotte O, et al. Characterization of liver injury induced by cancer immunotherapy using immune checkpoint inhibitors. *J Hepatol* 2018;68(6):1181-90.
52. Qin S, Ren Z, Meng Z, Chen Z, Chai X, Xiong J, et al. Camrelizumab in patients with previously treated advanced hepatocellular carcinoma: a multicentre, open-label, parallel-group, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2020;21(4):571-80.
53. Cheng AL, Qin S, Ikeda M, Galle PR, Ducreux M, Kim TY, et al. Updated efficacy and safety data from IMbrave150: atezolizumab plus bevacizumab vs. sorafenib for unresectable hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2021:S0168-8278(21)02241-8.