

免疫療法： 治癒慢性 B 型肝炎的新契機

廖泓鈞 劉士任

國家衛生研究院 感染症與疫苗研究所

前 言

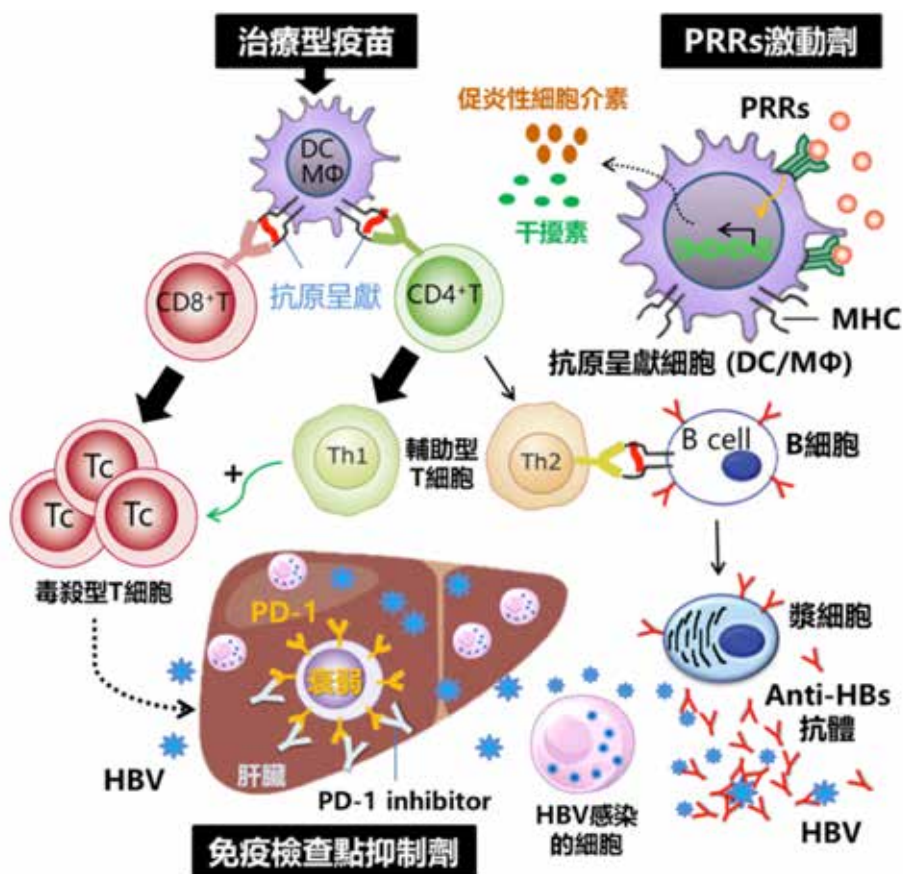
B 型肝炎病毒 (Hepatitis B virus, HBV) 的慢性感染，為台灣淪為肝病盛行地區的主要成因，雖然台灣在 1986 年開始全面施打預防型的 B 肝疫苗後，年輕世代患有 HBV 慢性感染成為帶原者 (病毒表面抗原存在體內超過 6 個月) 的比例已被控制到低於 1%；但現今國內仍然有高達 300 萬個 HBV 帶原者，現齡 34 歲以上的帶原者占 90% 以上[1]。其中有 15~25% 的帶原者可能演進為肝纖維化、肝硬化甚至肝癌。此外 B 型肝炎的疫情並不僅限於台灣，根據世界衛生組織 (WHO) 在 2017 年發表的全球肝炎報告，估計全球有超過 20 億人口曾感染 HBV，2.57 億人成為 HBV 慢性感染的帶原者，且每年約 78 萬人死於 B 型肝炎引起的併發症[2]。HBV 造成的危害已成為一個影響全球衛生安全的重大課題。現行

臨床上的治療策略為使用口服核酸類似物 (Nucleoside analogues, NAs)，患者必須持續服藥，但長期用藥可能產生抗藥性的問題，若貿然停藥則存在復發的風險。另一種選擇是定期使用針劑施打 α -干擾素 (Interferon- α , IFN- α)。目前這些抗病毒療法僅能達到功能性治癒 (Functional cure)，雖然能壓制病毒在體內的複製，降低慢性感染發展成癌症的機率，但是價格不斐、會產生副作用，而且無法有效徹底清除病毒。因此近些年，為了開發效率更高、副作用更小，甚至能達到完全治癒 (Complete cure) 的新藥。各國的科學界與大藥廠紛紛轉向從調節免疫功能的機制中，研究能增進患者自身免疫反應對抗 HBV 慢性感染的治療方法，其原理相似於已經在癌症治療領域大放異彩的免疫療法。本文將介紹一些開發中 B 型肝炎免疫療法新藥的設計原理，及其如何調節免疫反應的策略。

B 型肝炎病毒感染的免疫反應

人體對抗病原菌感染的免疫反應包含先天免疫 (Innate immunity) 與後天免疫 (Adaptive immunity)。抗原呈獻細胞 (Antigen presenting cells, APCs)，包括樹突細胞 (Dendritic cells, DCs)、巨噬細胞 (Macrophage, $M\Phi$) 與 B 細胞承擔第一線防疫工作，負責偵測入侵體內的病毒或細菌。一旦發生感染，APCs 被活化後便會釋放促炎性細胞介素 (Pro-inflammatory cytokines)、產生干擾

素、大量製造白血球進行攻擊，協助清除病原菌；同時連結後天免疫系統的發展。APCs 透過訊號傳遞的方式，活化具有抗原專一性的 T 細胞 (Antigen-specific T cell)。其中 $CD8+$ T 細胞進一步轉化成毒殺型 T 細胞 ($CD8+$ Cytotoxic T cell, Tc)，Tc 只針對受感染的細胞進行撲殺。另一方面可辨識特定抗原的 B 細胞會轉型成漿細胞 (Plasma cell)，負責生產針對特定抗原的抗體協同清理外來的致病原，並保留免疫反應的記憶，以便防範該致病原再次感染或入侵。



圖一 開發中 B 型肝炎免疫療法的作用原理

一般 HBV 感染進入人體後，在無特殊治療的狀況下，約 95% 的成人患者會發展成有侷限的急性感染，先天免疫系統會活化輔助型 T 細胞 (CD4+ helper T cell, Th)，分泌對抗病毒的促炎性細胞介素，協助誘導 Tc 的生成，清除已感染的細胞；以及誘導 B 細胞生產針對 HBV 表面抗原 (Surface antigen, HBsAg) 的抗體 (anti-HBs)，阻擋進一步感染的擴散。同時血清中出現可辨識核心抗原 (Core antigen, HBcAg) 的抗體 (anti-HBc IgM)。隨後待患者痊癒之後，HBsAg 與針對 HBcAg 的抗體也會跟著消失，而血清中持續存在 HBsAg 的抗體。但是在部分感染 HBV 的患者體內卻無法有效產生相應的免疫反應，其中包括缺乏能中和 HBsAg 的抗體；以及在清除病毒過程中最重要的抗原專一性 Th 與 Tc 細胞，經常數量稀少、異常衰落且功能失調。因此 HBV 無法被順利清除，病毒抗原長期存在體內循環，導致過度刺激而產生免疫耐受性 (Immune tolerance)，持續超過 6 個月後便發展為慢性感染。目前研究顯示，因為許多病毒跟宿主之間長期演化出複雜的調控機轉而導致免疫抑制的結果。HBV 慢性感染對免疫系統造成的干擾，主要是 (1) 減少 DCs 分泌抗病毒的干擾素 (IFN- α) 與促炎性細胞介素[3]；(2) APCs 傳遞抑制性訊號限制 Tc 細胞的毒殺能力；(3) T 細胞本身表現過多的細胞凋亡因子導致功能失調…

等，進而使得對抗病毒的免疫力低落 [4]。

慢性 B 型肝炎免疫療法的新藥開發

現今市售的 HBV 預防型疫苗，是使用 DNA 重組技術表現生產的 HBsAg，經過純化後的 HBsAg 可聚集形成類病毒顆粒 (virus-like particle, VLP)，以鋁鹽當作佐劑搭配使用，可在人體內有效誘發 B 細胞產生抗體 (anti-HBs)，使人體對於 HBV 的感染形成保護力。但是目前已知因個體差異，在健康人群中約有 1~3% 的人施打此款疫苗後不會產生抗體。而在 HBV 慢性感染的患者身上也會發生同樣的情況，因體內長期存在 HBsAg 的刺激，免疫系統早已對 HBsAg 產生耐受性。目前許多研究的實驗證據表明，誘發後天免疫系統產生強而有力的 HBV 抗原專一性 Tc 細胞，才是徹底清除病毒完全治癒 HBV 慢性感染的關鍵。免疫系統產生具抗原專一性毒殺型 Tc 細胞的過程，主要有幾個關鍵步驟。首先 APC 接受抗原而活化後，透過主要組織相容性複合體 (Major histocompatibility complex, MHC) 將抗原決定位 (epitopes) 呈獻給 CD4+ 與 CD8+T 細胞，CD4+T 細胞分化成 Th 細胞，而 CD8+T 細胞活化成 Tc 細胞的過程除了 APCs 也需要 Th 細胞的協助。為促進免疫反應產生 Tc 細胞的過程在患者體內順利發生，目前已開發出以

下幾種透過免疫調節的治療策略，並已經有相關的產品申請進入臨床試驗階段。

一、PRRs 激動劑

先天免疫細胞偵測病原菌的策略是透過模式識別受體 (pattern recognition receptors, PRRs)，鎖定微生物特有的分子並將其視為危險訊號，這些分子被統稱為病原相關分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMP)。而作為配體的 PAMP 與 PRR 之間的結合具有特異性，因此可識別侵入體內的致病原，同時啟動受體下游一連串的訊息傳遞，可調控相關基因的表現，促進 APC 分化成熟、呈獻抗原給 T 細胞、及分泌干擾素與促炎性細胞介素，進而激活先天免疫系統展開抵禦的反應。類鐸受體 (Toll-like receptors, TLRs) 屬於其中一類的 PRR，TLR 家族成員都是穿膜型的受體。目前已在人體中發現 11 種不同的 TLR，分別為 TLR1~11，各自辨認不同的 PAMP 作為相應的配體。例如，TLR2/1 和 TLR2/6 形成的二聚體 (dimer) 可辨認細菌外膜上的脂蛋白 (lipoprotein)。成對的 TLR4 和 TLR5 於細胞膜表面，可分別辨認細菌脂多醣 (lipopolysaccharide, LPS) 及鞭毛 (flagellin)；而 TLR3、7/8 及 9 則表現於胞內體的膜 (endosome membrane) 上，可分別辨認來自病毒的遺傳物質 dsRNA、ssRNA 及細菌的未甲基化

CpG DNA (unmethylated CpG DNA) 序列。許多證據顯示，HBV 慢性感染會使 APCs 的 TLR 表現量下降，或干擾其他 PRRs 激活免疫反應必需的訊息傳遞，藉此逃脫肝臟內免疫細胞的偵察[5]。因此利用小分子化合物所形成的立體結構，專一性地與特定的 PRRs 進行結合。即可以在沒有致病原感染的情況下，利用小分子化合物模擬成來自致病原的 PAMP，偽造危險訊號加以誘發 PRRs 下游訊息傳遞，而迫使受抑制的免疫系統再次被激活。而這類能正向調節免疫反應的分子，又被稱為激動劑 (agonist)。

目前已經有幾款這類型的 B 型肝炎新藥，已在動物實驗被驗證能降低病毒量，獲得申請進入人體臨床試驗 (表一)。預期這類小分子化合物透過口服的方式進入小腸吸收後，有很大機會進入循環系統到達肝臟，結合到特定的 PRR 後，激活 DCs 或 M Φ 從而提高干擾素的產量，促進後天免疫反應，增強抵抗病毒的效果[11]。其中 AIC649 雖然也是透過激活先天免疫的途徑取得抗病毒的療效，但有別於化學合成的小分子藥，AIC649 的成分是使用去活化的病毒顆粒 (iPPVO)，而 iPPVO 已被證實可透過結合 TLR9 激活 DCs [12]。

二、治療型疫苗

預防型疫苗的功效是讓尚未被感染的健康人體產生具保護效果的抗體，相較之下治療型疫苗研發難度

表一、目前已進入臨床試驗用於治療慢性B型肝炎的激動劑

類型	代號/藥名	成分	使用方式	公司	臨床試驗	參考文獻
TLR7激動劑	GS-9620	小分子化合物	口服	Gilead, 美國	II期	[7]
	RG7795	小分子化合物	口服	Roche, 瑞士	II期	
TLR8激動劑	GS-9688	小分子化合物	口服	Gilead, 美國	I期	[8]
TLR9激動劑	AIC649	iPPVO	靜脈注射	AiCuris, 德國	I期	[9]
RIG-I/NOD2 激動劑	SB9200 (Inarigivir)	小分子化合物	口服	Spring Bank Pharma, 美國	II期	[10]

iPPVO : 去活化的羊傳染性化膿性病毒 Gehring, A. J. and U. Protzer (2019). *Gastroenterology* [6]

較高，因為多數帶原者都是在胎兒或幼童時期接觸到 HBV 的感染，在免疫系統尚未成熟的階段體內就已存在 HBV 抗原，所以免疫系統容易將 HBV 抗原也視為自身的抗原而產生耐受性，不易引起針對 HBV 抗原進

行攻擊的反應。因此為了突破在帶原者體內已形成的耐受性，治療型疫苗的設計則以佐劑或利用其他方式加強 HBV 抗原的免疫源性。目前處於臨床試驗階段的治療型疫苗有以下幾種類型(表二)。

表二、目前已進入臨床試驗階段的B型肝炎治療型疫苗

類型	代號/藥名	抗原	佐劑	公司	臨床試驗	參考文獻
蛋白質疫苗	ABX-203 (HeberNasvac)	S,Core	無	ABIVAX, 法國	II/III期 (已終止)	[13]
	Vaxine's HBV	S,Core	無	Vaxine, 澳洲	I期	[14]
	DV-601 (Theravax)	S,Core	ISCOMATRIX*	Dynvax, 美國	Ib期	[15]
DNA疫苗	HB-110	S,Core,Pol	電脈衝穿孔	Genexine, 韓國	I期	[16]
	INO-1800	PreS1/PreS2 /S,Core	電脈衝穿孔 IL-12	Inovio, 美國	I期	[17]
	JNJ-64300535		電脈衝穿孔	Janssen, 比利時	I期	[18]
	HB02 VAC-ADN	PreS2/S	電脈衝穿孔	INSERM, 法國	I/II期	[19]
病毒載體疫苗	TG-1050	S,Core,Pol	腺病毒載體	Transgene, 法國	I期	[20]
胜肽疫苗	FP-02.2 (HepTcell)	T cell epitopes	IC31(ODN1a)	Altimmune, 美國	I期	[21]

S : HBV表面抗原 ; Core : HBV核心抗原 ; Pol : DNA轉錄酶 ; IL-12 : 介白素-12 ; ODN : 寡脫氧核苷酸

Kosinska, A. D., et al. (2017). *Curr Opin Virol* [22]

(一) 蛋白質疫苗

目前這類型已進入臨床試驗的產品，主要包含兩個重組蛋白質作為抗原，一個是由酵母菌生產的 HBsAg，另一個是利用大腸桿菌表現取得的 HBcAg。兩個源自 HBV 的抗原都屬於結構蛋白質，功能是組裝後形成完整病毒顆粒的元件。因此經過純化後的 HBsAg 或 HBcAg 天然俱備同一蛋白質之間互相堆疊的特性，只要條件適當可自然聚集形成類病毒顆粒 (VLP) 的結構。而利用 HBc-VLP 對於 HBsAg 具有佐劑效果的特性，把兩者混和後經由鼻腔吸入，透過黏膜免疫反應可誘發 HBs 專一性的 Tc 細胞[14]。或是搭配經臨床試驗驗證有效的佐劑 ISCOMATRIX [23]，藉此提升兩種抗原進入 DCs 進行抗原呈獻的效率[15]。

(二) DNA 疫苗

DNA 疫苗的原理是把 HBV 抗原的基因構築在 DNA 質體 (plasmid) 中，在特定部位將 DNA 質體遞送進入細胞後表現抗原，模擬病毒感染的過程，藉此誘發 HBV 專一性抗體與 T 細胞反應。但是如何讓質體高效率地進入細胞，並提升抗原的免疫源性，是一個有待克服的難題。電脈衝穿孔術 (Electroporation) 是目前認為簡單有效的遞送方式，伴隨著局部組織發炎還能增強免疫反應。DNA 疫苗的優點是製備方便，可以加入更多的抗原，便於設計涵蓋多種不同血清

型的抗原。而且不易受溫度影響、方便保存與運送，因此可大幅降低成本，更適合使用於貧困落後的地區。

(三) 病毒載體疫苗

病毒載體疫苗的原理是利用病毒高效遞送 DNA 進入細胞的特性。透過基因工程製備重組病毒，結構上保留完整的病毒顆粒，內部挾帶病毒的基因組，其中包含一段抗原的基因序列。重組病毒感染後把目標基因送入細胞核內，使細胞能穩定表現目標基因，而病毒本身不會再進行複製或產生更多病毒顆粒。這類利用重組病毒載體技術研發的 B 型肝炎治療型疫苗，目前只有一款產品 TG-1050 已經進入 I 期臨床試驗。TG-1050 以人類腺病毒 (Ad5) 作為載體，攜帶三個 HBV 抗原 (S, Core, & Pol) 的 DNA 序列。臨床前的動物實驗顯示，僅施打一劑 TG-1050，即可在 HLA-A2 轉基因鼠的體內誘發分別針對三種抗原的專一性 Tc 細胞[20]。

(四) 胜肽疫苗

蛋白質抗原的一級結構由 20 種胺基酸連續鏈接數十到數百而成，T 細胞抗原決定位 (T cell epitope) 指的是其中的一小段胺基酸序列，可以與 MHC 分子結合後被運送到 APCs 的表面，提供給 T 細胞進行辨識，確認此短片段的蛋白質 (又稱胜肽) 是否來自於外來抗原。每種抗原都含有很多個 T 細胞抗原決定位，但僅有少數

幾個被呈獻給 T 細胞後，能誘導抗原專一性的 T 細胞增生與活化。胜肽疫苗 (Peptide vaccine) 的策略就是先確定抗原決定位的胺基酸組合後，透過化學合成的方式，製備長度約 20 至 30 個胺基酸所組成的胜肽，其中就包含能刺激 T 細胞活化的抗原決定位。相較於蛋白質疫苗，開發胜肽疫苗的優點是製備方便、成本較低，適合設計涵蓋多種不同血清型的抗原決定位。缺點是因分子量太小，沒有複雜的立體構型，而免疫源性較弱，需要搭配足夠強效的佐劑。

三、免疫檢查點抑制劑

肝臟是負責代謝營養與毒物的重要器官，同時也是免疫系統中的一環。肝臟透過肝門靜脈回收來自腸道的血液，之中除了富含營養成分、代謝產物和一些有毒物質，也包含來自腸道細菌的代謝物及抗原，甚至是病原菌。因此肝臟中存在許多先天免疫細胞，協助清理外來抗原與病原菌。但是先天免疫系統頻繁地接收刺激而經常被活化，當然也會持續呈獻抗原與分泌細胞介素，聯繫後天免疫系統產生抗原專一性的 T 細胞。然而為了避免毒殺型 Tc 細胞過度攻擊肝臟細胞，進而造成肝損傷或肝炎，存在肝臟裡的 T 細胞會表現一些具有負調控功能的分子 (例如：PD-1, CTLA-4, Tim-3 等)。這些分子又被稱為免疫檢查點 (Immune checkpoint)，以受體 (Receptor) 的形式位於 Tc 細胞表面，

若能與特定的配體 (Ligand) 結合，便會產生抑制性的訊號，限制 Tc 細胞增生與毒殺的效能，甚至讓 Tc 細胞走向凋亡。而位於肝臟的許多先天免疫細胞 (例如：DCs, MΦ 等) 或非淋巴細胞，也會維持高水平地表現免疫檢查點的配體 (例如：PD-L1, PD-L2 等) 在細胞表面，便於約束 Tc 細胞的功能，維持肝臟內的生理平衡[24]。因此，肝臟天然地對外來抗原容易形成免疫耐受性，是免疫反應普遍受到抑制的部位。也有研究顯示，正在進行抗病毒藥物治療中的 HBV 帶原者體內，仍有 T 細胞疲乏的狀況與 PD-1/PD-L1 的高表現量相關[25]，部分解釋為何服用抗病毒藥物難以提升完全治癒的機率。由臨床前實驗結果驗證，使用針對 PD-1 的單株抗體作為抑制劑 (PD-1 inhibitor)，阻斷與配體之間的結合，可以減少限制 T 細胞活化的訊號，恢復對抗 HBV 的 T 細胞反應[26]。在臨床試驗的安全性評估方面，將一款名為 Nivolumab 的 PD-1 inhibitor 給予 HBV 慢性感染的病患，並沒有發生引起肝臟損傷或過度發炎的案例[27]。目前尚未有其他免疫檢查點應用於治療 HBV 慢性感染的研究，這種類型的治療策略未來還有很多發展的機會。

結語

免疫療法透過調整自身免疫系統的策略可用於治療許多疾病，在癌

症治療領域發展地比較早，已經取得一些重要的突破。在慢性病毒感染方面，免疫療法用於 HIV 與 HCV 患者也都是一些比較成功的案例。B 型肝炎免疫療法的新藥開發面臨一個難題是，慢性 B 型肝炎發生的病理機轉複雜，臨床前試驗缺乏適當的動物模型，因此無法準確地預測在人體的療效。目前初步的試驗結果顯示，使用單一藥物的免疫治療尚未出現能顯著達到完全治癒的成效。然而，現在認為可行的策略是，先減少患者體內病毒抗原的濃度，降低抗原的免疫耐受性，再進一步誘發抗原專一性的 T 細胞反應。因此未來的發展趨勢是採用組合式的治療方案，結合多種藥物的療效。雖然，距離成功克服 B 型肝炎還有一段路要走，但已並非遙不可及。

參考文獻

1. Hu YC, Yeh CC, Chen RY, et al: Seroprevalence of hepatitis B virus in Taiwan 30 years after the commencement of the national vaccination program. *PeerJ* 2018;6:e4297.
2. Global Hepatitis Report 2017. Geneva: World Health Organization; 2017.
3. Gehring AJ, Ann D'Angelo J: Dissecting the dendritic cell controversy in chronic hepatitis B virus infection. *Cell Mol Immunol* 2015;12:283-91.
4. Maini MK, Pallett LJ: Defective T-cell immunity in hepatitis B virus infection: why therapeutic vaccination needs a helping hand. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2018;3:192-202.
5. Ma Z, Cao Q, Xiong Y, et al: Interaction between Hepatitis B Virus and Toll-Like Receptors: Current Status and Potential Therapeutic Use for Chronic Hepatitis B. *Vaccines (Basel)* 2018;6.
6. Ma Z, Zhang E, Yang D, et al: Contribution of Toll-like receptors to the control of hepatitis B virus infection by initiating antiviral innate responses and promoting specific adaptive immune responses. *Cell Mol Immunol* 2015;12:273-82.
7. Boni C, Vecchi A, Rossi M, et al: TLR7 Agonist Increases Responses of Hepatitis B Virus-Specific T Cells and Natural Killer Cells in Patients With Chronic Hepatitis B Treated With Nucleos (T) Ide Analogues. *Gastroenterology* 2018;154:1764-77 e7.
8. Jules Levin, (2018) Safety, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of Oral TLR8 Agonist GS-9688 in Patients With Chronic Hepatitis B: a Randomized, Placebo-Controlled, Double-blind Phase 1b Study. *Conference Reports for NATAP*
9. Paulsen D, Weber O, Ruebsamen-Schaeff H, et al: AIC649 Induces a Bi-Phasic Treatment Response in the Woodchuck Model of Chronic Hepatitis B. *PLoS One* 2015;10:e0144383.
10. Korolowicz KE, Iyer RP, Czerwinski S, et al: Antiviral Efficacy and Host Innate Immunity Associated with SB 9200 Treatment in the Woodchuck Model of Chronic Hepatitis B. *PLoS One* 2016;11:e0161313.
11. Gehring AJ, Protzer U: Targeting Innate and Adaptive Immune Responses to Cure Chronic HBV Infection. *Gastroenterology* 2019;156:325-337.
12. von Buttlar H, Siegemund S, Buttner M, et al: Identification of Toll-like receptor 9 as parapoxvirus ovis-sensing receptor in plasmacytoid dendritic cells. *PLoS One* 2014;9:e106188.
13. H. Wedemeyer H, Hui AJ, Sukeepaisarnjaroen W, et al: Therapeutic vaccination of chronic hepatitis B patients with ABX203 (NASVAC) to prevent relapse after stopping NUCs: contrasting timing rebound between tenofovir and entecavir. *Journal of Hepatology* 2017 Volume 66, Issue 1, Supplement, Page S101
14. Aguilar JC, Lobaina Y, Muzio V, et al: Development of a nasal vaccine for chronic hepatitis B infection that uses the ability of hepatitis B core antigen to stimulate a strong Th1 response against hepatitis B surface antigen.

- Immunol Cell Biol 2004;82:539-46.
15. Buchmann P, Dembek C, Kuklick L, et al: A novel therapeutic hepatitis B vaccine induces cellular and humoral immune responses and breaks tolerance in hepatitis B virus (HBV) transgenic mice. *Vaccine* 2013;31:1197-203.
 16. Kim CY, Kang ES, Kim SB, et al: Increased in vivo immunological potency of HB-110, a novel therapeutic HBV DNA vaccine, by electroporation. *Exp Mol Med* 2008;40:669-76.
 17. Obeng-Adjei N, Hutnick NA, Yan J, et al: DNA vaccine cocktail expressing genotype A and C HBV surface and consensus core antigens generates robust cytotoxic and antibody responses in mice and Rhesus macaques. *Cancer Gene Ther* 2013;20:652-62.
 18. Ichor Medical Systems, Inc. (Jun 4, 2018) Ichor Medical Systems Announces First in Human Administration with Its Next Generation TriGrid System of a DNA Vaccine for Chronic Hepatitis B in Development. SAN DIEGO--(BUSINESS WIRE)
 19. Mancini-Bourguine M, Fontaine H, Brechot C, et al: Immunogenicity of a hepatitis B DNA vaccine administered to chronic HBV carriers. *Vaccine* 2006;24:4482-9.
 20. Martin P, Dubois C, Jacquier E, et al: TG1050, an immunotherapeutic to treat chronic hepatitis B, induces robust T cells and exerts an antiviral effect in HBV-persistent mice. *Gut* 2015;64:1961-71.
 21. Altimmune, Inc. (2019) Altimmune Announces Presentation of HepTcell Phase 1 Results at The International Liver Congress™ in Vienna, Austria © 2019 GlobeNewswire, Inc. All Rights Reserved.
 22. Kosinska AD, Bauer T, Protzer U: Therapeutic vaccination for chronic hepatitis B. *Curr Opin Virol* 2017;23:75-81.
 23. Morelli AB, Becher D, Koernig S, et al: ISCOMATRIX: a novel adjuvant for use in prophylactic and therapeutic vaccines against infectious diseases. *J Med Microbiol* 2012;61:935-43.
 24. Protzer U, Maini MK, Knolle PA: Living in the liver: hepatic infections. *Nat Rev Immunol* 2012;12:201-13.
 25. Xie DY, Lin BL, Chen FJ, et al: [Programmed death-1 (PD-1) and PD-L1 expression during antiviral treatment of chronic hepatitis B]. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2010;18:646-50.
 26. Fasicaro P, Valdatta C, Massari M, et al: Antiviral intrahepatic T-cell responses can be restored by blocking programmed death-1 pathway in chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2010;138:682-93, 693 e1-4.
 27. El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, et al: Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet* 2017;389:2492-502.