

УДК 61:578.7; 616.006

©Коллектив авторов

ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ ВИРУСЫ В ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ

А.О. Сосновцева^{1}, Н.Ф. Гриненко², А.В. Липатова³, П.М. Чумаков³, В.П. Чехонин^{1,2}*

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1; эл. почта: aososnovtceva@gmail.com

²Федеральный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского, Москва

³Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

Эффективное лечение злокачественных опухолей головного мозга до сих пор остаётся нерешённой задачей. Локализация опухоли в жизненно важных областях головного мозга значительно ограничивает возможности хирургического лечения. Применение химиолучевой терапии осложняется повышенной устойчивостью опухолевых стволовых клеток к облучению и противоопухолевым препаратам, что обуславливает высокую частоту рецидивов заболевания. Совершенствование технологий биоселекции и получения рекомбинантных вирусов позволили создать штаммы вирусов, обладающих мощными онколитическими свойствами в отношении глиальных опухолей. Для многих штаммов показано практическое отсутствие цитотоксичности и высокая безопасность их применения в терапии, в том числе и в ходе клинических испытаний. В то же время получение впечатляющих результатов у отдельных больных сочетается с отсутствием каких-либо положительных эффектов вирусной терапии у других пациентов, что указывает на необходимость дальнейшего совершенствования методов онколитической виро-терапии. Чрезвычайная разнородность глиальных опухолевых клеток, даже в пределах одной опухоли, обуславливает различия в индивидуальной чувствительности клеток и опухолей к онколитическим вирусам. В данной работе проведён анализ наиболее успешных штаммов онколитических вирусов, в том числе дошедших до клинических испытаний, и обсуждаются перспективы новых подходов к виро-терапии глиом.

Ключевые слова: онколитические вирусы, злокачественные глиомы, виро-терапия, противоопухолевая терапия

DOI 10.18097/PBMC20166204376

ВВЕДЕНИЕ

Злокачественные глиомы являются наиболее распространенными первичными опухолями головного мозга человека (30% от всех первичных опухолей центральной нервной системы у взрослых) и наиболее трудно поддающимися лечению [1, 2]. Различают несколько типов глиом: глиобластомы (~70% случаев), анапластические астроцитомы (~15%), анапластические олигодендроглиомы и анапластические олигоастроцитомы (~10%) [1]. Глиомы являются высокоагрессивными опухолями и имеют высокий инвазивный потенциал. Прогноз злокачественных глиом является крайне неблагоприятным, заболевание характеризуется местным рецидивированием опухоли, вызывая неврологические нарушения и, в конечном итоге, смерть [1]. В настоящее время, для лечения глиом используют мультимодальный комплексный подход, который включает в себя хирургическое удаление опухоли, радио- и химиотерапию. Локализация глиальных опухолей в функционально важных областях головного мозга, инфильтративный характер роста, полиморфность и чрезвычайная пластичность генома опухолевых клеток делает традиционное лечение глиом малоэффективным [2]. Медиана выживаемости пациентов мало изменилась за последние несколько десятилетий, несмотря на внедрение в лечебную практику новейших цитостатических препаратов и эффективных способов их доставки в ткани опухоли [3].

В среднем, выживаемость пациентов с глиобластомой при использовании мультимодального комплексного лечения составляет примерно 14 месяцев с момента постановки диагноза и около 30 недель с момента рецидива [4, 5]. Таким образом, лечение злокачественных глиом по-прежнему остаётся сложной актуальной задачей. Последние достижения в молекулярной биологии опухолей головного мозга привели к разработке новых терапевтических подходов [6], одним из которых является онколитическая виро-терапия [2, 7-9].

Первые описания онколитических эффектов вирусов относятся к началу 20 века, когда были зафиксированы случаи ремиссии опухолевых заболеваний после вирусной инфекции или вакцинации ослабленными штаммами вирусов [10]. В 1950-70-х годах в ряде работ предложена потенциальная возможность использования различных онколитических вирусов (OV) в терапии рака, в том числе глиальных опухолей [11]. В настоящее время в качестве потенциальных терапевтических агентов исследуют ряд вирусов, обладающих онколитической активностью. Исследуемые вирусы-кандидаты можно разделить на несколько групп по уровню безопасности:

1. вакцинные штаммы вирусов, безопасность применения которых подтверждена многолетним опытом их использования;

2. непатогенные или слабопатогенные для человека вирусы, вызывающие незначительные нарушения;

3. вирусы, поражающие животных, но непатогенные для человека;

4. генномодифицированные вирусы на основе патогенных для человека вирусов.

Противоопухолевое действие ОВ реализуется в первую очередь, за счёт прямого литического действия или путём индукции апоптотических процессов, возникающих в результате репликации вирусов в малигнизированных клетках [2, 7, 11]. Другой механизм – опосредованный, при котором онколитические вирусы, воздействуя на опухолевые клетки, индуцируют специфический или неспецифический противоопухолевый иммунный ответ [12].

В качестве перспективных терапевтических агентов рассматривают ряд ОВ, обладающих мощными онколитическими свойствами в отношении глиальных опухолей. Для многих вирусных штаммов показана высокая безопасность их использования в терапии, а некоторые штаммы проходят или уже прошли 1-ю и 2-ю стадии клинических испытаний. Несмотря на это, существует ряд проблем, которые требуется решить для повышения эффективности противоглиомной онколитической виротерапии, к ним относятся:

- 1) чрезвычайная гетерогенность популяции глиальных опухолевых клеток, которая обуславливает различия в чувствительности к ОВ;
- 2) индукция противовирусного иммунного ответа, препятствующего распространению ОВ;
- 3) необходимость стимуляции противоопухолевого иммунного ответа;
- 4) минимизация нейротоксичности вирусов с сохранением онколитической активности;
- 5) оптимизация режимов введения вирусов в организм с целью преодоления эффектов опухолевого микроокружения;
- 6) целевая доставка ОВ к клеткам, инициирующим опухоль (то есть к глиобластным стволовым клеткам) [9].

В данной работе будут рассмотрены потенциальные вирусы-кандидаты на роль векторов для терапии злокачественных глиом и перспективы новых подходов в виротерапии глиом.

1. ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ ВИРУСЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ТЕРАПИИ ГЛИОМ

1.1. ОВ на основе вакцинных штаммов

1.1.1. Вирус кори

Вирус кори (measles virus, MV) принадлежит к семейству *Paramyxoviridae* и является возбудителем острой инфекционной болезни у человека и некоторых приматов, которая в редких случаях приводит к энцефалиту [13]. Геном вируса представлен одноцепочечной РНК отрицательной полярности и содержит шесть генов, кодирующих восемь белков: белок нуклеокапсида (N), фосфопротеин (P), матричный белок (M), белок слияния (F),

гемагглютинин (H), большой белок (L) и два вспомогательных белка, С и В [14]. Проникновение вируса в клетку опосредуется взаимодействием вирусных белков Н и F с поверхностными клеточными рецепторами CD46 и SLAMF1 (signaling lymphocytic activation molecule 1). CD46 присутствует на мембране различных клеток и выступает в качестве кофактора, необходимого для активации сывороточного фактора 1, который инактивирует компоненты C3b и C4b системы комплемента путём их протеолитического расщепления. CD46 в избытке экспрессируется опухолевыми клетками (рисунок) [13-15] и защищает их от лизиса, опосредованного комплементом [15]. SLAMF1 является сигнальной молекулой активации лимфоцитов и главным образом экспрессируется на поверхности В- и Т-клеток [13].

Связывание вирусного белка Н с клеточным рецептором приводит к конформационным изменениям белка F, ведущим к слиянию вирусной и плазматической мембран и проникновению вируса в клетку. Инфицированные клетки экспрессируют на своей поверхности вирусные белки F и H. Распознавание вирусного рецептора соседней клеткой (как зараженной, так и незараженной) вызывает слияние клеток. Таким образом, типичным цитопатическим эффектом MV является образование гигантских агрегатов клеток – синцития [13, 15, 16].

MV-Edm является ослабленной разновидностью вируса кори, который в отличие от вируса дикого типа более эффективно связывается с рецептором CD46 [17]. MV-Edm убивает клетки, отличающиеся высокой экспрессией рецептора CD46, и не проявляет существенного цитопатического эффекта в отношении клеток с низким уровнем данного рецептора [14, 17]. В некоторых первичных и стандартных клеточных линиях глиом обнаруживался высокий или средний уровень экспрессии CD46 [18]. Показана потенциальная терапевтическая значимость высокоаттенуированного вируса MV-Edm в качестве онколитического агента для терапии глиом [19-23].

С помощью методов генной инженерии на основе MV-Edm создан вирус MV-CEA, экспрессирующий раковый эмбриональный антиген (carcinoembryonic antigen, CEA). В ходе репликации вируса в инфицированных клетках происходит синтез CEA. Количественное определение данного вирусного маркера в сыворотке больных предоставляет важную информацию о кинетике экспрессии вирусных генов [19]. Противоопухолевая активность MV-CEA показана в исследованиях *in vitro* на клеточных линиях глиом U87, U118 и U251 [19] и *in vivo* на ортотопических моделях глиом в иммунодефицитных мышах [19, 20], мышах, трансгенных по CD46 [24] и приматах [25]. Противоопухолевый эффект MV-CEA наблюдали и на глиомных стволовых клетках [20]. Сейчас MV-CEA проходит 1-ю фазу клинических испытаний для лечения глиобластомы (таблица) [23].

Для повышения селективности MV по отношению к клеткам глиом получен ряд рекомбинантных MV-Edm. Так, Cory Allen и соавторы [22] сконструировали вирус кори, экспрессирующий

Таблица. Онколитические вирусы кандидаты для терапии глиом

OV	Название штамма	Генетические манипуляции (Введение трансгена/ аттенуация)	Фаза исследований (доклинические/клинические)	Мишени для OV, обеспечивающие селективность	Ссылка
Вирус кори	MV-CEA	На основе вакцинного штамма MV-Edm, Введение CEA	КИ I фаза: NCT00390299, с 2006 г., США	Экспрессия CD46; пониженная экспрессия miR7	26, 27, 30
	MV-GFP-H _{AA} -IL-13	На основе вакцинного штамма MV-Edm, в белке Н 2 мутации: Y481A, R533A, введен IL13	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-мыши, i.t.-введение	Экспрессия α 1субъединицы рецептора IL13	29
	MV-GFP-HSNS-scEGFRvIII	На основе MV-Edm, в белке Н 3 мутации: V451S, Y481N, и A527S, введение AT против EGFRvIII	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные, i.t.-введение - ортотопическая модель, i.v. введение – модель подкожных ксенографтов	Экспрессия EGFRvIII	28, 132
Вирус оспы	VVdd	Удаление гена TK и VGF	ДИ <i>in vivo</i> , ИД и ИК-животные, ортотопическая модель, i.v.-введение, комбинированное лечение с рапамицином и циклофосфамидом	Экспрессия высокого уровня ТК	35
	GLV-1h68	Ген ТК и НА заменены на гены люциферазы, GFP и LacZ	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные, ортотопическая модель и модель подкожных ксенографтов, i.v.-введение, совместно с лучевой терапией	Экспрессия высокого уровня ТК	37
	JX-594	Введение GM-CSF и LacZ генов в регион гена ТК вируса	ДИ <i>in vivo</i> , ИК-животные, ортотопическая модель, i.t.- и i.v.-введение, совместно с рапамицином, BTICs – чувствительны <i>in vitro</i>	Экспрессия высокого уровня ТК	36
Полиовирус	PVS-RIPO	Замена IRES на IRES риновируса 2 типа	КИ I фаза: CT01491893, с 2012 г., США	Гиперэкспрессия CD155	2, 9, 40, 42-44
Реовирус	Реовирус	-	КИ I/II фазы, препарат Reolysin NCT00528684, с 2007 г. , США	Клетки с активированным Ras-путём	45-50
Вирус болезни Ньюкасла	NDV V4UPM	Аттенуированный NDV (слабая вирулентность)	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные, модель подкожных ксенографтов, i.t –введение	Клетки с активированным Ras-путём; клетки с активированным Rac 1; клетки с дефектами в IFN I-сигнальном пути	52, 58, 60, 133, 134
	MTH-68/H	Аттенуированный NDV (средняя вирулентность)	КИ II фаза, NCT00348842, с 2006 г., Израиль, приостановлено		52, 58, 62, 134
	NDV HUI	Аттенуированный NDV (слабая вирулентность)	КИ II фаза, NCT01174537, с 2010 г., Израиль, приостановлено		52, 58, 61, 134
Вирус миксомы	MYXV strain Lausanne	-	ДИ <i>in vivo</i> , ИД- и ИК-животные, ортотопическая модель, i.t.-введение, совместно с рапамицином, уничтожает BTIC <i>in vivo</i> при комбинировании терапии с рапамицином	Клетки с повышенным уровнем экспрессии Akt; клетки с дефектами в IFN I-сигнальном пути	64, 65, 67, 68

ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ ВИРУСЫ В ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ

Таблица. Онколитические вирусы кандидаты для терапии глиом (продолжение)

Вирус везикулярного стоматита	VSVΔM51	Делеция метионина-51 в белке М	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные, ортотопическая модель, i.v.-введение	Клетки с дефектами в IFN I-сигнальном пути; клетки с пониженным уровнем экспрессии miR7	70, 73, 74
	VSVrp30a	Адаптирован к заражению клеток глиом путём серийного пассирования	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные, ортотопическая модель, i.v.-введение	Клетки с дефектами в IFN I-сигнальном пути; клетки с пониженным уровнем экспрессии miR7	70, 74, 76
Парво-вирус	H1-PV	-	КИ I/IIa фазы, препарат ParvOryx, NCT01301430, с 2011 г., Германия	Клетки в S-фазе; PKR-дефектные клетки	78-85
Герпесвирус	hrR3	Мутация в гене U _L 39, вставка гена lacZ <i>Escherichia coli</i>	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные - модель подкожных ксенографтов, i.t.-введение, ИК-животные – ортотопическая модель, i.t.-введение, совместно с ганцикловиром	Клетки, экспрессирующие высокий уровень RR, p16-мутантные клетки	93, 135
	HSV-1716	Дефекты обеих копий гена в γ ₁ 34.5	КИ II фаза, NCT02031965, с 2014 г. ,США	Клетки с дефектами в PKR/IFN-пути	94, 98, 99
	G207	Делеция обеих копий гена γ ₁ 34.5 и вставка LacZ в локус U _L 39	КИ Ib/II фаза, NCT00028158, с 2001г., завершено. КИ I фаза совместно с лучевой терапией, NCT00157703, 2005-2008	Клетки с дефектами в PKR/IFN-пути, с высоким содержанием RR	89, 96, 97
	G47Δ	Делеция обеих копий гена γ ₁ 34.5, введение LacZ в локус U _L 39 и делеция гена α47	КИ I фаза: JPRN-UMIN000002661, с 2009 г., Япония	Клетки с дефектами в PKR/IFN-пути, с высоким содержанием RR	90, 99-101, 103
	HSV-1 rQNestin34.5	Инактивация одной копии гена γ ₁ 34.5, вторая под регуляцией промотера гена нестина	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные, ортотопическая модель и модель подкожных ксенографтов, i.t.-введение, совместно с циклофосфамидом	Клетки с дефектами в PKR/IFN-пути; клетки с активированным геном нестина	110
	M032	Делеция обеих копий гена γ ₁ 34.5, вставка IL-12	КИ I фаза: NCT02062827, с 2014 г., США	Клетки с дефектами в PKR/IFN-пути	107, 110
Аденовирус	Ad-Δ24	Инактивация гена E1A	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные, модель подкожных ксенографтов, i.t.-введение совместно с ингибиторами топоизомеразы I	Клетки с дефектами Rb, клетки экспрессирующие CAR	113-115, 118
	Ad-Δ24-RGD	Инактивация гена E1A и введение пептидного мотива RGD-4C	КИ I и II фазы, NCT00805376 и NCT01582516, с 2008-2015 гг., США. С 2013 I фаза совместно с темозоломидом, NCT01956734, Испания	Клетки с дефектами Rb, и клетки, экспрессирующие интегрины α _v β ₃ и α _v β ₅ , рецептор CAR	119, 120
	CRAAd-S-pk7	Ген E1A, находится под контролем промотера гена сурвивина и введение полилизинового участка pk7	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные, модель подкожных ксенографтов, i.t.-введение	Клетки с активным промотером гена сурвивина; клетки, несущие гепарансульфат	124, 125
	Ad-Δ24-hyCD	Инактивация гена E1A и введение гуманизированной формы дрожжевого гена цитозиндеаминазы	ДИ <i>in vivo</i> , ИД-животные, ортотопическая модель, i.t.-введение с 5-фторцитозин	Превращает пролекарство 5-фторцитозин в цитотоксический агент 5-фторурацил	121
	ONYX-015	Инактивация гена E1B	КИ I фаза	Клетки с дефектами p53	116, 117

Примечание: КИ – клинические исследования, ДИ – доклинические исследования, ИД – иммунодефицитные, ИК – иммунокомпетентные, i.v. – внутривенное, i.t. – интраопуховое.

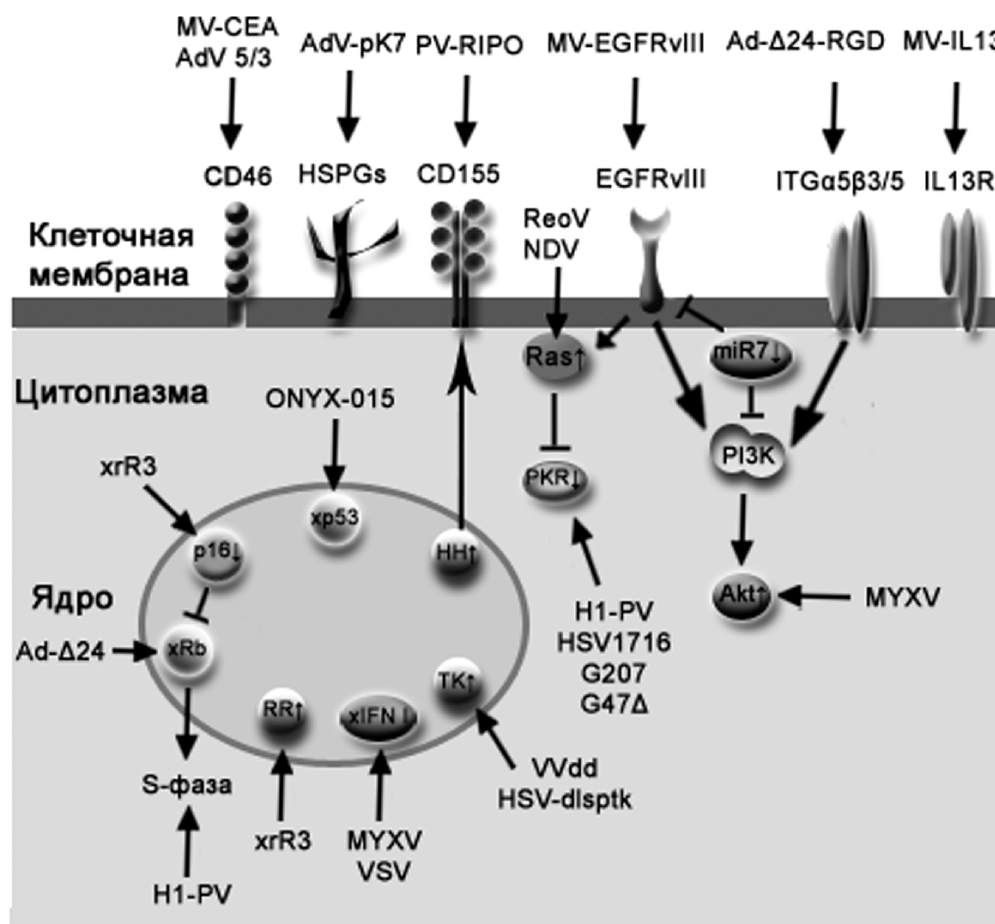


Рисунок. Дефекты сигнальных путей в клетках злокачественных глиом как мишени для онколитических вирусов. Клетки глиом характеризуются разнообразными дефектами в ключевых сигнальных путях, способствующими выживанию клеток, активной пролиферации, миграции и ангиогенезу. На данной схеме изображены те дефекты сигнальных путей, которые выступают в качестве мишеней для ОВ. |— — обозначено ингибирующее влияние; ← — обозначено активирующее влияние. Аббревиатуры: EGFR — рецептор эпидермального фактора роста, HSPG — гепарансульфат протеогликан, ITG — интегрин, Ras — белок, принадлежащий к семейству малых G-белков, miR — микроРНК, PKR — протеинкиназа R, PI3K — фосфоинозитид-3-киназа, HH — Hedgehog сигнальный путь, IFN I — сигнальная система интерферона I типа, Rb — Rb (retinoblastoma)-сигнальный путь, RR — рибонуклеотидредуктаза, TK — тимидинкиназа, Akt — протеинкиназа B. ↑ — обозначена активация, ↓ — обозначена супрессия, × — дефекты

интерлейкин-13 (таблица). Повышенная экспрессия α_1 -субъединицы рецептора интерлейкина-13 обнаружена в 80% глиобластом (рисунок), в то время как данный белок не экспрессируется в нормальной мозговой ткани. Таким образом, сконструированный вирус обладал высокой терапевтической эффективностью и специфичностью к опухолевым клеткам по сравнению с неизменённым вирусом кори в исследованиях *in vitro* и *in vivo* [22]. Ещё одним успешным примером рекомбинантного MV-Edm, предназначенного для таргетной терапии глиом, является MV, распознающий конститутивно экспрессирующуюся мутантную форму рецептора эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFRvIII) (таблица). Амплификация гена EGFR, наблюдается в 40% глиом и часто сопровождается экспрессией мутантных белков, таких как EGFRvIII. Мутантный рецептор EGFRvIII экспрессируется в 50-60% опухолей глиобластом, у которых происходит амплификация гена EGFR (рисунок) [21].

1.1.2. Вирус оспы

Вирус осповакцины (vaccinia virus, VV) — литический вирус, содержащий двухцепочечную ДНК и имеющий оболочку, принадлежит к семейству *Poxviridae* [26]. Уникальное свойство VV по сравнению с другими ДНК-содержащими вирусами заключается в том, что его репликация происходит исключительно в цитоплазме, а это сводит к минимуму риск интеграции вирусного генома в геном клетки-хозяина. Для создания вакцин были использованы различные штаммы VV. Наиболее аттенуированные штаммы обладают нарушенной репликацией и используются в качестве векторов в генной терапии. Менее ослабленные штаммы VV (Western Reserve, Lister и Copenhagen) использованы для создания ряда рекомбинантных онколитических вирусов [27]. Исследования показали повышенный тропизм VV к трансформированным клеткам вследствие более благоприятных условий для репликации вируса в опухолевых клетках [26-29].

VV имеет крупный геном, который позволяет встраивать в него большие участки чужеродной ДНК (до 2500 тысяч пар оснований, т.п.о.) без потери инфекционных свойств. Поэтому VV был использован для создания рекомбинантных вариантов OV путём встраивания различных трансгенов для усиления природных литических и онкоселективных свойств.

Удаление генов тимидинкиназы и фактора роста вируса (VGF) приводит к практически полному отсутствию репликации вируса в неделящихся клетках (рисунок). При этом эффективность разрушения раковых клеток вирусом с такой двойной делецией (VVdd) остается высокой. Клеточные линии глиомы крысы (RG2, F98, C6) и человека (A172, U87MG, U118) в тестах *in vitro* оказались чувствительными к VVdd (таблица) [28]. Введение двойных мутантов VVdd в сочетании с иммунодепрессантами удлиняло продолжительность жизни в моделях ортотопических глиом у грызунов [28].

Лечение иммунокомпетентных мышей и крыс с интракраниальной глиомой рекомбинантным вирусом осповакцины JX-594, экспрессирующим фактором, стимулирующий колонии гранулоцитов и макрофагов (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), приводило к значительному увеличению выживаемости животных, в среднем на 30,6 дней (таблица). Применение данного вируса в комбинации с иммунодепрессантом рапамицином увеличивало выживаемость животных до 55,3 дней [29].

Ещё одним рекомбинантным вирусом, используемым для терапии глиом *in vivo*, является GLV-1h68, сконструированный на основе штамма Lister, в котором вирусные гены тимидинкиназы и гемагглютинина заменены на три репортерных трансгена, кодирующих гибриды люциферазы *Renilla reniformis*, зелёный флуоресцентный белок (GFP) и β -галактозидазу (LacZ). Для GLV-1h68 была показана селективная репликация в опухолевых клетках. Системное введение GLV-1h68 безтимусным мышам с опухолью, индуцированной интракраниальной имплантацией клеток глиомы U87, в сочетании с локальной лучевой терапией приводило к задержке роста опухоли и увеличению продолжительности жизни животных (таблица) [30].

Использование VV показало его высокую эффективность для противоопухолевой терапии, возможность системного введения вируса и нивелирования негативных эффектов иммунной системы за счёт применения иммунодепрессантов, что делает данный вирус перспективным средством для лечения глиом.

1.1.3. Полиовирус

Полиовирус (poliovirus, PV), который является возбудителем полиомиелита, принадлежит к семейству *Picornaviridae*. Геном полиовируса (PV) представлен одноцепочечной РНК. Единственным клеточным рецептором для полиовирусов является гликопротеин CD155, относящийся к суперсемейству иммуноглобулинов [31]. Нейротоксичность PV определяется уровнем экспрессии CD155 на моторных нейронах. Важно отметить, что данный рецептор

также активно экспрессируется различными опухолевыми клетками, в том числе клетками глиобластомы человека (рисунок) [32]. Установлено, что фактор морфогенеза sonic hedgehog (Shh) и транскрипционные факторы Gli1 и Gli3 повышают экспрессию CD155 на поверхности многих опухолевых клеток [33]. В норме, Shh-зависимый сигнальный путь активен только в эмбриогенезе, однако для многих карцином характерна его патологическая активация [33]. Благодаря этому, гиперэкспрессия CD155 является опухолевым маркером для различных линий раковых клеток, в том числе для глиальных опухолей, и данный рецептор может быть использован в качестве потенциальной мишени для онколитических полиовирусов [34].

Для профилактики полиомиелита используют аттенуированные штаммы полиовируса серотипов I, II и III. В настоящее время с помощью генной инженерии на основе данных вакцинных штаммов создан ряд онкотерапевтических препаратов. Полиовирус может быть аттенуирован в результате мутации в последовательности внутреннего участка связывания рибосом (internal ribosome entry site, IRES), расположенного в 5'-нетранслируемой области вирусного генома [35]. Один из рекомбинантных вирусов PV-RIPO содержит последовательность IRES человеческого риновируса 2-го типа [35, 36]. Штамм PV-RIPO неспособен активно размножаться в здоровых клетках нейрального происхождения. В то же время, для данного штамма продемонстрирована высокая онколитическая активность в отношении опухолей центральной нервной системы и церебральных метастазов рака молочной железы [34, 36]. Для PV-RIPO показаны онколитические эффекты по отношению к различным стандартным клеточным линиям и первичным культурам клеток глиальных опухолей *in vitro*, а также увеличение выживаемости иммунодефицитных мышей с внутримозговыми опухолями злокачественных глиом человека D54-MG и HTB-15 [36]. Безопасность внутримозгового введения PV-RIPO была оценена на CD155-трансгенных мышах [32].

В настоящее время штамм PV-RIPO проходит I фазу клинических испытаний в качестве препарата для терапии злокачественных глиом (таблица) [2, 7].

1.2. Непатогенные или слабopatогенные для человека вирусы

1.2.1. Реовирус

Реовирусы принадлежат к семейству *Reoviridae*, которое включает в себя множество икосаэдрических вирусов без оболочки размером 60-85 нм. Реовирусный геном представлен двухцепочечной РНК, состоящей из 9-12 сегментов. Реовирусы обычно не вызывают серьезных заболеваний, но могут приводить к умеренным инфекциям желудочно-кишечного тракта и дыхательных путей [37].

Основным механизмом лизиса опухолевых клеток реовирусами является индукция апоптоза. Реовирус дикого типа преимущественно поражает опухоли

с активированным проонкогенным Ras-зависимым сигнальным путём [37, 38]. В нормальных клетках репликации реовируса ограничена активностью протеинкиназ R (PKR); в опухолевых клетках активация онкогена Ras ингибирует PKR, что делает эти клетки предпочтительными мишенями для реовируса (рисунок) [37]. Клетки, устойчивые к реовирусной инфекции, становятся восприимчивыми после их трансформации факторами-компонентами Ras-зависимого сигнального пути, такими как Sos или Ras [37].

Wilcox и соавторы оценивали онколитический потенциал реовируса серотипа 3 на панели стандартных и первичных клеточных линий злокачественных глиом человека [38]. К реовирусной инфекции были чувствительны 20 из 24 протестированных стандартных клеточных линий злокачественных глиом, а также 9 первичных культур, полученных от больных с опухолями мозга [38]. На иммунодефицитных мышях с подкожной и интракраниальной имплантацией клеток глиом U87 и U251N показано, что реовирусная терапия увеличивала выживаемость мышей в ортотопической модели и вызывала значительную циторедукцию и регрессию опухоли, вызванной подкожным введением клеток злокачественной глиомы. При этом, такого рода терапия иммунодефицитных мышей сопровождалась серьезными токсическими эффектами, вызванными введением реовируса, такими как некроз задних конечностей в области инъекции реовируса и смерть животного при интракраниальной инъекции вируса [38].

На основе реовируса 3 серотипа компанией Oncolytics Ltd (США) создан препарат OB Reolysin, который прошёл 1 и 2-ю фазы клинических исследований [39]. Лечение препаратом Reolysin 12-ти пациентов с рецидивирующей злокачественной глиомой III и IV степени злокачественности не оказало токсического действия [40]. У одного пациента наблюдали стабилизацию заболевания и выживаемость более 6 лет. Вторая фаза исследования была проведена на 18 пациентах. Стабилизацию или регрессию опухоли отмечали у 3 больных. На 3-й фазе исследований виротерапию проводили в сочетании с химиотерапией. 9 из 14 пациентов отвечали на лечение, а у одного пациента наблюдали полный ответ на терапию (таблица). При внутривенном введении Reolysin проникал через гематоэнцефалический барьер и инфицировал опухоли, локализованные в головном мозге.

1.3. Онколитические вирусы на основе вирусов животных

1.3.1. Вирус болезни Ньюкасла

Вирус болезни Ньюкасла (Newcastle disease virus, NDV) – парамиксовирус птиц типа 1, покрытый оболочкой. Геном вируса состоит из одноцепочечной РНК отрицательной полярности. Вирус болезни Ньюкасла широко распространён в различных регионах мира, поражает различные виды диких и домашних птиц. У птиц, инфицированных NDV, клинические симптомы

вирусного поражения варьируют в широких пределах – от крайне незначительных респираторных или кишечных заболеваний (авирулентные штаммы) до тяжёлой системной инфекции (вирулентные штаммы), приводящей к высокой смертности и характеризующейся высокой инвазивностью [41].

Существуют различные штаммы NDV, классифицированные как литические (MTH-68, 73-T, Roakin, PV701) и нелитические (Ulster) для клеток человека [42]. Хотя нелитические штаммы продуцируют неактивные варианты гемагглютининнейраминидазы и белка слияния, которые входят в состав внешней оболочки, они также могут разрушать клетки, хотя литические штаммы вызывают лизис клеток гораздо быстрее [43].

Известны три механизма цитотоксической активности NDV. Первый механизм заключается в прямом уничтожении опухолевых клеток литическими штаммами вируса в результате индукции митохондриального апоптотического пути. Вирус болезни Ньюкасла способствует высвобождению цитохрома c путём увеличения проницаемости митохондрий. Цитохром c, взаимодействуя с прокаспазой-9, индуцирует формирование апоптосомы, которая в дальнейшем активирует каспазу-9. Каспаза-9 затем индуцирует каскад протеолитических реакций, приводящих к апоптозу клетки. Второй механизм используют нелитические штаммы вируса, которые экспонируют на поверхности зараженных опухолевых клеток вирусные белки, вызывая вирус-специфичный иммунный ответ. Это приводит к повышению противоопухолевого цитотоксического потенциала Т-клеток, макрофагов и моноцитов. И, наконец, сам вирус может вызвать продукцию цитокинов (например, интерферона-α и фактора некроза опухоли) и хемокинов (например, RANTES), стимулирующих противоопухолевую активность иммунной системы [44].

Активация Ras-зависимого сигнального пути усиливает репликацию NDV [43, 44]; так как для глиом характерна активация Ras-зависимого пути (рисунок) [45], то NDV может рассматриваться в качестве перспективного кандидата для онколитической терапии глиом.

Авирулентный штамм NDV V4UPM снижал метаболическую активность клеток глиобластом DBTRG.05MG и U-87MG человека и индуцировал апоптоз [46]. У безтимусных мышей с привитыми подкожно опухолями U-87MG однократная внутритриопухолевая инъекция штамма V4UPM приводила к полной регрессии опухоли спустя 10 дней после введения вируса (таблица) [46].

Клинические испытания различных штаммов NDV показали безопасность его использования: отсутствие либо незначительное проявление побочных эффектов [47]. Среди 11 пациентов, завершивших курс лечения, у 1 пациента был получен полный ответ на терапию, а у трёх было отмечено значительное увеличение продолжительности жизни (таблица) [47].

Штамм NDV МТН-68/Н, обладающий средней вирулентностью, был использован при комбинированном лечении 14-летнего мальчика с рецидивом глиобластомы высокой степени злокачественности в течение более чем 3 лет препаратом МТН-68/Н в сочетании с химиотерапией [48]. У данного пациента наблюдали выраженную регрессию опухоли и существенное невралгическое улучшение. На следующем этапе введение МТН-68/Н 4 пациентам с рецидивирующей глиобластомой (1 взрослый и 3 детей) также привело к значительной регрессии опухоли и долгосрочному выживанию. Штамм МТН-68/Н в сочетании с вальпроевой кислотой был использован для лечения ребенка с анапластической астроцитомой; это привело к временной регрессии опухоли, сопровождавшейся массовым апоптозом опухолевых клеток [48]. Однако рост одного из очагов опухоли привел к смерти пациента (таблица).

1.3.2. Вирус миксомы

Вирус миксомы (mukhoma virus, MYXV) относится к семейству *Poxviridae*. MYXV имеет большой ДНК-геном, что позволяет встраивать протяжённые (до 25 т.п.о.) эукариотические гены [49]. Он поражает только кроликов, вызывая у них смертельную болезнь, называемую миксоматозом, и непатогенен для всех других видов позвоночных, включая человека [49-51]. Несмотря на чрезвычайно узкий круг хозяев, MYXV может инфицировать *in vitro* определённые клетки не кроличьего происхождения, включая фибробласты почки обезьяны (BGMK) и различные опухолевые клетки человека [49, 50]. MYXV способен реплицироваться в клетках с повышенным уровнем экспрессии сигнальной протеинкиназы Akt, характерным и для клеток глиомы [52] (рисунок).

MYXV обладает онколитической и цитотоксической активностями по отношению к клеткам различных перевиваемых линий злокачественных глиом человека и крысы в тестах *in vitro* и *in vivo*, а также по отношению к первичным культурам злокачественных глиом [49, 52]. Введение MYXV бестимусным мышам с глиомами, индуцированными пересадкой клеток U87 и U251, не вызывало воспалительной реакции; 12 из 13 животных, получивших MYXV, были живы после окончания эксперимента (>130 дней) [49]. В сочетании с рапамицином MYXV был эффективен в терапии экспериментальных глиом (RG2 и F98) на иммунокомпетентных крысах [50]. Рапамицин усиливал онколитический эффект MYXV за счёт подавления экспрессии интерферона I и воспаления, вызванного инфильтрацией опухолевой ткани натуральными киллерными клетками и микроглиальными макрофагами.

Совместное с рапамицином введение MYXV ведёт к гибели раковых стволовых клеток глиомы (GBM-SC) *in vitro* и *in vivo* [51]. Способность уничтожать GBM-SC путём запуска в них Вах-опосредованного апоптоза была показана для MYXV с удалённым геном, кодирующим структурный гомолог Bcl-2 – антиапоптотический белок [52]. Терапия опухолей у мышей, индуцированных введением GBM-SC,

полученным MYXV в комплексе с тимодалом значительно увеличивала продолжительность жизни животных. Всё это свидетельствует о значительном терапевтическом потенциале применения MYXV для лечения глиом (таблица).

1.1.3. Вирус везикулярного стоматита

Вирус везикулярного стоматита (vesicular stomatitis virus, VSV) – рабдовирус, геном которого представлен одноцепочечной РНК с отрицательной полярностью. VSV вызывает лёгкие заболевания у крупного рогатого скота, свиней и лошадей и является непатогенным для человека.

Репликация VSV чрезвычайно чувствительна к противовирусным эффектам интерферона. Поэтому клетки с дефектами в интерфероновом сигнальном пути (такие как опухолевые клетки) легко инфицируются VSV, который вызывает их лизис путём индукции апоптоза (рисунок) [53, 54]. Наличие белка оболочки vsv-g обеспечивает возможность VSV поражать различные опухолевые клетки, что важно в связи с высокой гетерогенностью популяции клеток злокачественных глиом. Широкий тропизм помогает VSV заражать и убивать клетки многочисленных клеточных линий злокачественных глиом человека и крысы [55].

Исследование вируса дикого типа на животных моделях глиом выявило значительную нейротоксичность VSV, которая в некоторых случаях приводила к смерти животного [56]. Для устранения нейротоксического действия VSV получен мутант VSVΔM51, несущий делецию метионина-51 в М-белке матрикса [55]. Одна из функций М-белка заключается в блокировании транспорта мРНК интерферона-β из ядра в цитоплазму, что приводит к ингибированию клеточного интерферонового ответа. Делеция метионина-51 в М-белке VSVΔM51 восстанавливает интерферон-зависимые ответы в инфицированных нормальных клетках. По сравнению с VSV дикого типа мутант VSVΔM51 является безопасным для нормальных клеток, но сохраняет такую же онколитическую активность. Системное введение полученного мутанта VSVΔM51 ингибировало прогресс инвазивной глиомы U87 у иммунодефицитных мышей (таблица) [55].

Ещё одним производным VSV дикого типа является специально адаптированный к заражению глиомных клеток VSVrp30a. Системное введение VSVrp30a иммунодефицитным мышам с ортотопической глиомой U87 или с церебральными метастазами аденокарциномы молочной железы мыши (4T1) приводило к регрессу опухоли (таблица) [57]. Таким образом, VSV и его различные производные полезны для создания новых терапевтических подходов при лечении глиом.

1.1.4. Парвовирус крыс H1

Парвовирус крыс H1 (H1-PV) принадлежит к семейству *Parvoviridae*. Вирус не имеет оболочки, его геном представлен линейной одноцепочечной ДНК [58]. Репликация вируса происходит в ядре клетки-хозяина и строго зависит от фазы клеточного цикла (репликация вируса возможна только

в S-фазе) [59]. Поскольку парвовирусы не способны индуцировать переход покоящейся клетки в S-фазу, их репликация возможна только в активно пролиферирующих клетках (рисунок). Репликация и завершение литического инфекционного цикла зависят от клеточных факторов, связанных с процессами пролиферации и дифференцировки. Белок NS1 играет существенную роль в инициации репликации и индукции цитотоксичности H1-PV [60]. Зависимость репликации H1-PV от клетки-хозяина объясняет тканевую специфичность, онкотропизм и онколитическую активность этого вируса.

H-1PV эффективно убивает опухолевые клетки, не нанося вред нормальным клеткам [59, 61]. Кроме того, H-1PV способен убивать клетки опухолей головного мозга, устойчивые к проапоптотическим агентам, таким как TRAIL, или химиотерапевтическим препаратам. Парвовирус H-1 вызывает гибель таких клеток, вызывая накопление протеаз катепсина В и L в цитоплазме инфицированных клеток в результате блокирования экспрессии ингибиторов катепсина – цистатинов В и С [62].

H-1PV показал высокую онколитическую активность как при местном, так и при системном введении на ортотопических моделях злокачественных глиом RG2 и U87. У большинства животных наблюдали частичную или полную регрессию опухоли. Также была продемонстрирована безопасность вируса для человека [61].

На основе парвовируса H-1 создан онколитический препарат ParvOryx (“Oryx GmbH & Co. KG Industry”, Германия) для проведения клинических испытаний на пациентах с рецидивирующей мультиформной глиобластомой [63]. В ходе исследований была доказана безопасность использования ParvOryx в клинике и показана способность парвовируса H-1 попадать в мозг, свободно проникая через гематоэнцефалический барьер пациентов со злокачественными глиомами, распространяться и реплицироваться внутри опухоли (таблица) [64].

1.4. OV на основе вирусов, патогенных для человека

1.4.1. Вирус простого герпеса типа 1

Герпесвирус 1-го типа (herpes simplex virus, HSV-1) имеет оболочку и принадлежит к семейству *Herpesviridae*. Его геном содержит двухцепочечную ДНК длиной около 152 т.п.о. и кодирует более 80 генов. Большой размер генома предоставляет широкие возможности для генетических манипуляций, в том числе для удаления генов, которые не являются существенными для репликации (по оценкам, около 30 т.п.о.). Удаление этих генов позволяет внедрять в вирус различные терапевтически важные трансгены. Способность HSV-1 оставаться в виде эписомы исключает возможность какого-либо инсерционного мутагенеза инфицированных клеток, а наличие эффективных противовирусных препаратов, способных контролировать вирусную репликацию, делает HSV-1 привлекательным вектором для терапевтического использования [2, 8]. В настоящее время HSV-1 широко используют в качестве базового вектора в генной терапии.

На его основе создаётся ряд онколитических вирусных штаммов для лечения различных опухолей, в том числе опухолей центральной нервной системы.

Мутантный вирус HSV-dlsptk, созданный на основе HSV-1 и дефектный по гену тимидинкиназы (TK) [65], эффективно инфицировал, реплицировался и убивал клетки человеческой глиобластомы U87 в условиях *in vitro* и *in vivo*, и был безопасен для непродлиферирующих клеток, таких как нейроны [66].

К настоящему времени создан целый спектр мутантных вирусов HSV (R3616, R4009, HSV-1716, rQNestin34.5, hrR3, G207, G47Δ и т.д.). При создании этих мутантов генетические манипуляции были направлены на снижение нейротоксичности с сохранением способности инфицирования активно пролиферирующих клеток [67]. Варианты R3616, R4009, HSV-1716 имеют делеции или стоп-кодона в обеих копиях вирусного гена γ 134.5. Продукт данного гена ингибирует PKR, вовлечённую в клеточный противовирусный ответ. Подавление этого гена блокирует патогенность и нейровирулентность вируса герпеса [62, 67]. Вирус hrR3 несёт мутацию в гене U_L39 (ICP6), которая ведёт к инактивации вирусной рибонуклеотидредуктазы [66]. G207 имеет делеции в обеих копиях гена γ 134.5, так и вставку LacZ в локусе U_L39 [68]. G47Δ, помимо дефектных генов γ 134.5 и U_L39 , имеет дополнительную делецию гена α 47 (ICP47). Делеция гена α 47 приводит к повышению экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости класса I (MHC-I) на поверхности инфицированных клеток и стимулирует инфильтрацию опухоли лимфоцитами. Делеция этого гена также приводит к сдвигу рамки считывания в гене US11, что приводит к укорочению цикла репликации вируса и увеличению выхода вирусного потомства (рисунок) [69]. Вышеперечисленные мутанты HSV были способны заражать и убивать глиальные опухолевые клетки при отсутствии нейровирулентности [62, 67, 70].

Доклинические исследования G207 выявили отсутствие нейротоксичности на мышах и приматах (*Aotus nancymae*), высокочувствительных к герпес-инфекции, а также эффективность данного вирусного штамма в терапии злокачественной глиомы человека U87 у мышей с ослабленным иммунитетом [71]. Противоопухолевая эффективность HSV-1716 показана на экспериментальных моделях опухолей мозга и церебральных метастазов меланомы на животных. Безопасность HSV-1716 была изучена при внутримозговом введении высоких концентраций HSV-1716 иммунодефицитным мышам, при котором не происходило инфицирование животных [70]. G207 и HSV-1716 успешно прошли 1-ю фазу клинических исследований на пациентах с глиомами. У части пациентов, получавших данные герпесвирусы, наблюдалось долгосрочное выживание (от 3-х до 5-ти лет) (таблица) [72-74].

Вирус G47Δ, который имеет дополнительную делецию гена α 47, убивает клетки глиомы U87, пересаженные иммунодефицитным мышам, быстрее, чем вирус G207 [69]. Применение варианта G47Δ также приводило к уменьшению среднего объёма

опухоли, увеличению выживаемости животных и количества полностью излеченных животных (таблица) [69].

Стволовые клетки глиобластом имеют большое значение в патогенезе глиобластом, а также в обеспечении высокой устойчивости опухолей к радио- и химиотерапии. GBM-SC рассматривают в качестве важной мишени для онколитической виротерапии глиом. Wakimoto и соавторы [74] показали способность мутантных герпесвирусов с дефектом в гене $UL39$ убивать GBM-SC с такой же эффективностью, как и HSV-1 дикого типа. Удаление гена γ_134 приводило к значительному ослаблению цитолитической активности вируса по отношению к GBM-SC из-за слабой репликации HSV-1. Однако делеция гена $\alpha 47$ восстанавливала онколитический потенциал герпесвируса. Новый генетический вариант вируса G47 Δ (γ_134^- , $UL39^-$, $\alpha 47^-$) обладал повышенной цитотоксичностью по отношению к GBM-SC, не только убивая, но и ингибируя их самообновление.

На мышинной модели высокоинвазивной глиомы, полученной путём пересадки опухолевых клеточных культур, обогащенных GBM-SC, в мозг иммунодефицитных животных, внутриопухолевая инъекция G47 Δ значительно увеличивала выживаемость животных [75]. Комбинированное использование штамма G47 Δ с противоопухолевыми агентами (этопозид и темозоламид) также приводило к успешному подавлению опухолей, вызванных пересадкой GBM-SC в мозг мышей [76]. Онколитическая эффективность вируса G47 Δ была усилена путём введения в его ДНК мышинового гена интерлейкина-12 (IL-12). При инъекции данного вируса мышам с опухолью, вызванной GBM-SC, локальная экспрессия IL-12 вызывала усиленную продукцию интерферона- γ и уменьшение количества внутриопухолевых регуляторных Т-клеток [77]. В 2009 году были начаты I/IIa фазы клинических испытаний G47 Δ на пациентах с рецидивирующей глиобластомой [78].

На основе описанных выше аттенуированных герпесвирусов были получены варианты, экспрессирующие различные трансгены (GM-CSF, IL-4 (интерлейкин-4), цитохром P450 CYP2B1) с целью усиления противоопухолевого эффекта. Использование данных рекомбинантных вирусов в терапии экспериментальных глиом усиливало инфильтрацию опухоли разными иммунными клетками, включая макрофаги, натуральные киллеры и CD4 $^+$ и CD8 $^+$ Т-лимфоциты [79-81]. Герпесвирусный вариант M032, содержащий ген IL-12 человека, успешно прошёл доклинические испытания и будет испытан в 1-й фазе клинических исследований (таблица) [82].

Вариант HSV-1 rRp450, экспрессирующий цитохром P450 CYP2B1, способен превращать пролекарства, такие как циклофосфамид и ифосфамид, в цитотоксические агенты. Введение данного вируса и циклофосфамида крысам с метастазирующими опухолями приводило к множественным положительным эффектам, включая усиление противоопухолевой активности OV,

за счёт подавления продукции противовирусных антител, и повышение выживаемости животных [83].

Kambara и соавторы [84] разработали рекомбинантный вирус HSV-1 rQNestin34.5, в котором одна копия гена $\gamma_134.5$, отвечающего за контроль репликации, остается инактивированной, в то время как экспрессия другой копии восстановлена в результате введения промоторного участка гена нестина. Нестин экспрессируется в эмбриональных нервных клетках, но не во взрослом мозге; в злокачественных глиомах происходит реактивация этого гена. Таким образом, rQNestin34.5 может специфически реплицироваться в опухолевых клетках, но не в нормальных клетках мозга. Испытание данного вируса на иммунодефицитных мышах со зрелой глиомой U87dEGFR на стадии проявления у мышей неврологических симптомов привело к значительному увеличению продолжительности жизни [84]: 7 из 9 мышей, получивших rQNestin34.5, жили более чем 90 дней, в то время как все из контрольных животных погибли спустя 21 день после индукции опухоли. Гистологический анализ мозга животных с долгосрочным выживанием выявил отсутствие опухолевого роста, хотя были обнаружены признаки глиоза (таблица) [84]. Таким образом, репликационно-компетентные HSV-1 мутанты могут рассматриваться как перспективные кандидаты для терапии злокачественных глиом.

1.4.2. Аденовирусы

Вирусы семейства *Adenoviridae* представляют собой икосаэдрические частицы без липидной мембраны, размером от 70 до 100 нм в диаметре. Геном аденовирусов представлен двухцепочечной ДНК длиной около 36 т.п.о. К сегодняшнему дню идентифицировано более 50 серотипов аденовируса (AdV) человека, однако большинство онколитических аденовирусов получено на основе вируса 5-го серотипа (Ad5) [85].

Гены E1A и E1B аденовируса стимулируют жизненный цикл инфицированной клетки путём инактивации супрессора клеточного цикла Rb [86] и антиапоптозного фактора p53 [87] соответственно. В опухолях с дефектами p53 или Rb гены E1 становятся “ненужными”, вследствие чего мутантные AdVs, лишённые этих генов, могут селективно реплицироваться в опухолевых клетках (рисунок).

ONYX-015 представляет собой условно-репликативный вариант аденовируса, полученный путём инактивации гена E1B и способный к селективной репликации в клетках с нефункциональным белком p53. ONYX-015 оказывал цитопатическое действие на клетки глиомы U373, мутантной по p53, но не на клетки глиомы U87, в которой p53 функционален [88]. Комбинирование ONYX-015 с облучением повышало эффективность противоопухолевой терапии иммунодефицитных мышей с глиомой IGRG88 с неактивным p53, вызывая регрессию опухоли у 90% животных за счёт ускорения онколитическим аденовирусом процесса фиброза опухоли, индуцированного радиацией (таблица) [88].

Однократное внутриопухолевое введение мышам вируса Ad-Δ24, полученного путём частичной делеции гена E1A, приводило к снижению роста глиомы D-54 MG на 66,3%, а многократное введение – на 83,8% [89]. Поскольку Ad-Δ24 может увеличивать экспрессию и активность топоизомеразы I в клетках глиомы, для усиления противоопухолевого действия данного вируса предложено его совместное использование с ингибиторами данного фермента (таблица) [86].

Инфицирование клеток AdV опосредуется клеточным рецептором вирусов Коксаки и аденовирусов (coxsackievirus and adenovirus receptor, CAR). Поскольку экспрессия CAR на опухолевых клетках злокачественных глиом значительно варьирует, для усиления инфицирования вирусом опухолевых клеток в состав генома Ad-Δ24 был введён пептидный мотив RGD-4C, позволяющий вирусу взаимодействовать с интегринами на поверхности клеток-мишеней (рисунок). Внутриопухолевые инъекции Ad-Δ24-RGD приводили к увеличению продолжительности жизни бестимусных мышей, поражённых глиомой U87, по сравнению с исходным вирусом Ad-Δ24. Выживаемость в группе мышей, получавших Ad-Δ24-RGD, составила 60%, тогда как в группе, которым вводили Ad-Δ24, только 15%. Совместное использование Ad-Δ24-RGD с лучевой терапией приводило к полной регрессии глиомы IGRG121 у мышей [90]. В I фазе клинических испытаний лечения Ad-Δ24-RG пациентов с рецидивирующей глиомой высокой степени злокачественности была показана способность вируса активно реплицироваться в опухоли, не вызывая опасных побочных эффектов. Полный ответ на терапию наблюдался у 3 пациентов (12%), у которых не проявлялись признаки заболевания от 2-х до 3-х лет на момент публикации (таблица) [91].

Перспективность использования OV, кодирующих трансгенный фермент, необходимый для активации пролекарства в опухолевой ткани, была отмечена выше (разд.1.4.1). Примером успешного применения данного подхода является разработка Ad-Δ24-hyCD, экспрессирующего гуманизированную форму дрожжевого гена цитозиндеаминазы [92]. Данный фермент катализирует превращение нетоксичного пролекарства 5-фторцитозина в цитотоксический агент 5-фторурацил, который подавляет пролиферацию клеток, благодаря блокированию синтеза ДНК и РНК. Внутриопухолевое введение Δ24-hyCD и 5-фторцитозина мышам с глиомой U87MG приводило к значительному увеличению продолжительности жизни животных. Гистологический анализ опухолей выявил, что репликация Ad-Δ24-hyCD сопровождалась прогрессивным усилением онколиза и лекарственно-индуцированным некрозом. Данные результаты свидетельствуют о том, терапия Ad-Δ24-hyCD совместно с системным введением 5-фторцитозина является многообещающей и перспективной стратегией лечения экспериментальных глиом (таблица) [92].

Для повышения специфичности в отношении опухолевых клеток в геном аденовирусов

включают опухоль-специфические промоторы. Таким образом был сконструирован вирус CRAd-survivin, репликация которого контролируется встроенным промотором гена сурвивина. Сурвивин ингибирует апоптоз и, как правило, экспрессируется в эмбриональных тканях. Ионизирующее излучение стимулирует активность промотора сурвивина. Поэтому для повышения терапевтического эффекта данного класса аденовирусов применяют лучевую терапию [93]. Другим опухоль-специфическим промотором, использованным для модификации AdV, является промотор гена хемокинового рецептора 4 (C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4), гиперпродукция которого отмечена в клетках человеческих глиом [94]. Также для улучшения опухолевой специфичности аденовирусов в состав вируслентного фактора аденовирусов (adenovirus fiber protein) включён полилизиновый участок, позволяющий AdV инфицировать клетки глиом, экспрессирующие гепарансульфат, который является основным компонентом внеклеточного матрикса, окружающего глиомные клетки [95].

В составе рекомбинантного аденовирусного варианта CRAD-S-pk7 ген фактора E1A находится под контролем промотора сурвивина человека, а также кодирует встроенный полилизиновый участок (pk7). Это позволяет CRAD-S-pk7 инфицировать широкий круг первичных культур опухолевых клеток, получаемых из хирургических образцов глиом. Инъекция CRAD-S-PK7 приводила к ингибированию роста глиомы U-87 MG, а для 67% бестимусных мышей, которым был введен данный вирус, было отмечено долгосрочное выживание (110 дней). В опухолевой ткани наблюдали снижение пролиферации и апоптоз опухолевых клеток, вызванные аденовирусом (таблица) [96].

Предложено использование нейральных стволовых клеток (NSC) в качестве носителей для адресной доставки OV в опухоль за счёт присущей данным клеткам тропности к опухоли и высокой миграционной способности. Доставка онколитического вируса CRAD-S-pk7 с помощью NSC в ткани глиомы U87 приводила к подавлению роста опухоли и к увеличению средней выживаемости примерно в 1,5 раза по сравнению с мышами, получавшими свободный CRAD-S-pk7 [96, 97].

В качестве другого перспективного клеточного носителя OV могут выступать мезенхимальные стволовые клетки человека (hMSC), отличающиеся повышенными онкотропными свойствами. Для оценки эффективности доставки hMSCs были помечены зеленым флуоресцентным белком и инфицированы аденовирусом Δ24-RGD. Данную клеточную линию (получившую название hMSC-Δ24) вводили мышам с глиомами U87MG или U251-V121. Клетки hMSC-Δ24 избирательно мигрировали в опухолевую ткань, где они высвобождали Δ24-RGD. Показаны антиопухолевые эффекты клеток hMSC-Δ24, приводившие к торможению опухолевого роста и активной гибели клеток глиомы. Более того, отмечено удлинение медианы выживаемости в 1,7 раза у животных, которым вводили

hMSC-Δ24 [98]. Таким образом, использование нейральных и мезенхимальных стволовых клеток для адресной доставки онковирусов в опухоли мозга является перспективным направлением в разработке эффективных стратегий онколитической вирусной терапии.

2. ФАКТОРЫ, СНИЖАЮЩИЕ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОНКОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ

Первоначальные разработки по созданию ОВ были направлены на обеспечение безопасности онколитических штаммов вирусов для человека. На сегодняшний день для большинства ОВ доказана их безопасность на моделях животных. Для некоторых ОВ, проходящих клинические испытания, показано отсутствие токсичности и серьёзных побочных эффектов для человека [23, 39, 40, 48, 64, 72-74, 78, 82]. Но с другой стороны, аттенуация многих вирусов снизила их онколитический потенциал. Например, делеция гена γ_{134} привела к уменьшению репликативной способности HSV-1, а HSV-1 с делецией генов $UL39$ и γ_{134} утратили способность к лизису GBM-SC [75].

Для многих ОВ достигнуты впечатляющие результаты в доклинических исследованиях [22, 29, 36, 38, 46, 49, 57, 61]. Для данных вирусов показана высокая противоопухолевая активность, сопровождающаяся увеличением выживаемости животных, частичной и даже полной регрессией опухолей. Но эффективность онколитической терапии злокачественных глиобластом в клинических испытаниях остается низкой, хотя отмечены отдельные успешные случаи. Рассмотрим основные факторы, снижающие эффективность онколитической терапии и возможные пути их решения.

2.1. Гетерогенность глиальных опухолей

Высокая пластичность генома злокачественных клеток глиобластом и присутствие GBM-SC приводит к высокой гетерогенности клеточной популяции глиальных опухолей. В последние десятилетия проводятся активные исследования молекулярно-биологических особенностей глиом. К настоящему времени изучено множество наследственных и соматических мутаций и опосредованных ими изменений в ключевых сигнальных путях (например, активация проонкогенного сигнального пути EGFR/Ras/PI3K/AKT, нарушения антионкогенного p53-зависимого сигнального механизма и т.д.) [21, 38, 88, 99]. Полученные данные открывают широкие перспективы для разработки таргетной онколитической терапии. Уже разработано большое количество вариантов ОВ, направленных на определённые нарушения молекулярных механизмов запуска апоптоза, противовирусной защиты в клетках глиом (рисунк).

GBM-SC, играют исключительную роль в индукции опухолевого роста, механизмах устойчивости к химио- и радиотерапии и способности к рецидивированию. Поэтому разработка ОВ,

способных убивать GBM-SC, является весьма важной задачей в онколитической терапии глиом.

2.2. Влияние иммунной системы

Существенным препятствием к эффективному распространению вируса в опухоли является противовирусный иммунный ответ. При внутри-сосудистом введении онколитических препаратов противовирусный иммунный ответ может инактивировать вирус ещё до попадания в опухоль или ограничивать репликацию вируса в опухолевых клетках [12]. Поэтому доклинические испытания вируса необходимо проводить не только на иммунодефицитных животных, но и на иммунокомпетентных животных для максимального приближения условий экспериментальной терапии к реальным условиям. На иммунокомпетентных животных можно изучать взаимодействие вируса с иммунной системой животного-реципиента, а полученные данные использовать для оптимизации схем лечения онколитическими препаратами. Так, для снижения ингибирующего влияния иммунной системы на распространение и инфицирование вирусом опухолевых клеток могут быть использованы различные подходы: применение лучевой и иммуносупрессивной терапии, использование различных клеточных носителей (нейральные или мезенхимальные стволовые клетки) для доставки вируса, изменение способов введения препаратов (например, введение непосредственно в опухоль).

Комбинированная терапия с использованием ОВ с химиотерапевтическими препаратами [25, 28, 29, 49, 51, 72] или лучевой терапией [30, 88, 90, 93], а также доставка ОВ нейральными [125, 126] или мезенхимальными стволовыми клетками [98] в доклинических исследованиях значительно увеличивает эффективность терапии глиом.

2.3. Микроокружение глиом

Микроокружение глиомы, включая наличие развитого внеклеточного матрикса, внутриопухолевых областей гипоксии и высокого интерстициального давления, препятствует проникновению и распространению вирусной инфекции. Структурные компоненты внеклеточного матрикса включают в себя протеогликаны, гиалуроновую кислоту, коллаген, эластин, фибронектин и ламинин. Эти компоненты могут препятствовать распространению вирусной инфекции, выступая в качестве ловушки для вирусных частиц путём их адсорбции [9]. Существует ряд подходов для преодоления данных барьеров, включая предварительную обработку глиомы протеолитическими ферментами (гиалуронидазой или коллагеназой), которые частично деградируют белки матрикса и облегчают проникновение вирусов в опухолевые клетки. Подобным действием обладает AdV, экспрессирующий многофункциональный фактор релаксин, под действием которого происходит ремоделирование внеклеточного матрикса и возрастает доступ вируса к опухолевым клеткам [100].

Опухолевые клетки живут при значительно более низких уровнях кислорода, чем нормальные клетки. Как следствие, в гипоксических клетках снижены функции, требующие повышенных затрат энергии (синтез белка и т.д.). Вирусы являются облигатными внутриклеточными паразитами и используют синтетический аппарат клеток для репликации. Гипоксия тормозит вирусную репликацию, поскольку данный процесс требует большого количества кислорода [9]. Некоторые исследователи использовали наличие гипоксии в опухолевых клетках для создания вирусов, содержащих промоторные участки, активирующиеся в условиях гипоксии, что увеличило противоопухолевую эффективность рекомбинантных вирусов [101].

Для преодоления высокого интерстициального давления внутри опухолей, мешающего эффективному распространению вирусов, предпочтительнее использовать OV на основе NDV и MV или рекомбинантные OV, несущие на своей поверхности фузогенные белки оболочки NDV или MV, которые облегчают распространение и помогают преодолеть интерстициальное давление [9, 16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день нет универсального онколитического вируса, способного инфицировать и убивать все опухолевые клетки, и перспективы его создания, в свете всего вышесказанного, пока неясны. Наиболее вероятным представляется создание онколитической терапии, в основу которой должны лечь принципы персонифицированной медицины. Необходимо разработка и использование широкой панели онколитических вирусов, нацеленных на различные опухолевые маркеры, а также предварительное тестирование пациентов по данным маркерам. Это позволит индивидуально подбирать оптимальную терапию для каждого онкологического больного.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (грант №14-14-00882) и Министерства Образования и Науки РФ в рамках Соглашения о предоставлении субсидии № 14.607.21.0067, уникальный идентификатор проекта – RFMEFI60714X0067

ЛИТЕРАТУРА

1. Wen P.Y., Kesari S. (2008) NEngl. J. Med., **359**, 492-507.
2. Wollmann G., Ozduman K., van den Pol A.N. (2012) Cancer J., **18**(1), 69-81.
3. Davis F.G., Freels S., Grutsc J., Barla S., Brem S. (1998) J. Neurosurg., **88**(1), 1-10.
4. Wong E.T., Hess K.R., Gleason M.J., Jaeckle K.A., Kyritsis A.P., Prados M.D., Levin V.A., Yung W.A. (1999) J. Clin. Oncol., **17**(8), 2572-2572.
5. Vredenburgh J.J., Desjardins A., Herndon II J.E., Dowell J.M., Reardon D.A., Quinn J.A., Rich J.N., Sathornsumetee S., Gururangan S., Wagner M., Bigner D.D., Friedman A.H., Friedman H.S. (2007) Clin. Cancer Res., **13**(4), 1253-1259.
6. Sathornsumetee S., Reardon D.A., Desjardins A., Quinn J.A., Vredenburgh J.J., Rich J.N. (2007) Cancer, **110**(1), 13-24.
7. Liu T.C., Kinn D. (2008) Gene Therapy, **15** (12), 877-884.
8. Shah A.C., Benos D., Gillespie G.Y., Markert J.M. (2003) J. Neurooncol., **65**(3), 203-226.
9. Zemp F.J., Corredor J.C., Lun X., Muruve D.A., Forsyth P.A. (2010) Cytokine Growth Factor Rev., **21**(2), 103-117.
10. Kelly E., Russell S.J. (2007) Mol. Ther., **15**(4), 651-659.
11. Уласов И.В., Каверина Н.В., Кадагидзе З.Г., Барышников А.Ю. (2014) Росс. биотерапевт. журнал, **2**(13), 11-19.
12. Melcher A., Parato K., Rooney C.M., Bell J.C. (2011) Mol. Ther., **19**(6), 1008-1016.
13. Nakamura T., Peng K.W., Harvey M.M., Greiner S., Lorimer I.A., James C.D., Russell S.J. (2005) Nat. Biotechnol., **23**, 209-214.
14. Msaouel P., Dispenzieri A., Galanis E. (2009) Curr. Opin. Mol. Ther., **11**(1), 43-53.
15. Naniche D., Varior-Krishnan G., Cervoni F., Wild T.F., Rossi B., Rabourdin-Combe C., Gerlier D. (1993) J. Virol., **67**(10), 6025-6032.
16. Wild T.F., Malvoisin E.T., Buckland R. (1991) J. Gen. Virol., **72**(2), 439-442.
17. Anderson B.D., Nakamura T., Russell S.J., Peng K.W. (2004) Cancer Res., **64**(14), 4919-4926.
18. Ulasov I.V., Tyler M.A., Zheng S., Han Y., Lesniak M.S. (2006) Human Gene Ther., **17**(5), 556-564.
19. Phuong L.K., Allen C., Peng K.W., Giannini C., Greiner S., TenEyck C.J., Mishra P.K., Macura S.I., Russell S.J., Galanis E.C. (2003) Cancer Res., **63**(10), 2462-2469.
20. Allen C., Opyrchal M., Aderca I., Schroeder M.A., Sarkaria J.N., Domingo E., Federspiel M.J., Galanis E. (2013) Gene Ther., **20**(4), 444-449.
21. Allen C., Vongpunsawad S., Nakamura T., James C.D., Schroeder M., Cattaneo R., Giannini C., Krempski J., Peng K.-W., Goble J.M., Uhm J.H., Russell S.J., Galanis E. (2006) Cancer Res., **66**(24), 11840-11850.
22. Allen C., Paraskevakiou G., Iankov I., Giannini C., Schroeder M., Sarkaria J., Schroeder M., Puri R.K., Russell S.J., Galanis E. (2008) Mol. Ther., **16**(9), 1556-1564.
23. Myers R., Harvey M., Kaufmann T.J., Greiner S.M., Krempski J.W., Raffel C., Shelton S.E., Soeffker D., Zollman P., Federspiel M.J., Blanco M., Galanis E. (2008) Human Gene Ther., **19**(7), 690-698.
24. Mrkic B., Pavlovic J., Rolicke T., Volpe P., Buchholz C.J., Hourcade D., Atkinson J.P., Aguzzi A., Cattaneo R. (1998) J. Virol., **72** (9) 7420-7427.
25. Driesse M.J., Vincent A.J., Sillevs S.P., Kros J.M., Hoogerbrugge P.M., Avezaat C.J., Valerio D., Bout A. (1998) Gene Ther., **5**(8), 1122-1129.
26. McCart J.A., Ward J.M., Lee J., Hu Y., Alexander H.R., Libutt S.K., Moss B., Bartlett D.L. (2001) Cancer Res., **61**(24), 8751-8757.
27. Guse K., Cerullo V., Hemminki A. (2011) Expert Opin. Biological Ther., **11**(5), 595-608.
28. Lun X.Q., Jang J.H., Tang N., Deng H., Head R., Bell J.C., Stojdl D.F., Nutt C.L., Senger D.L., Forsyth P.A., McCart J.A. (2009) Clin. Cancer Res., **15**(8), 2777-2788.
29. Lun X.Q., Chan J., Zhou H., Sun B., Kelly J.J., Stechishin O.O., Bell J.C., Parato K., Hu K., Vaillant D. et al. (2010) Mol. Ther., **18**(11), 1927-1936.
30. Advani S.J., Buckel L., Chen N.G., Scanderbeg D.J., Geissinger U., Zhang Q., Yu Y.A., Aguilar R.J., Mundt A.J., Szalay A.A. (2012) Clin. Cancer Res., **18**(9), 2579-2590.
31. Ren R., Costantini F., Gorgacz E.J., Lee J.J., Racaniello V.R. (1990) Cell, **63**(2), 353-362.

32. Cello J., Toyoda H., DeJesus N., Dobrikova E.Y., Gromeier M., Wimmer E. (2008) J. Med. Virol., **80**(2), 352-359.
33. Solecki D.J., Gromeier M., Mueller S., Bernhardt G., Wimmer E. (2002) J. Biol. Chem., **277**(28), 25697-25702.
34. Merrill M.K., Bernhardt G., Sampson J.H., Wikstrand C.J., Bigner D.D., Gromeier M. (2004) Neuro-oncology, **6**(3), 208-217.
35. Gromeier M., Alexander L., Wimmer E. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **93**(6), 2370-2375.
36. Gromeier M., Gromeier M., Lachmann S., Rosenfeld M.R., Gutin P.H., Wimmer E. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **97**(12), 6803-6808.
37. Norman K.L., Norman K.L., Hirasawa K., Yang A.D., Shields M.A., Lee P.W. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **101**(30), 11099-11104.
38. Wilcox M.E., Yang W., Senger D., Rewcastle N.B., Morris D.G., Brasher P.M., Shi Z.Q., Johnston R.N., Nishikawa S., Lee P.W.K., Forsyth P.A. (2001) J. Natl. Cancer Inst., **93**(12), 903-912.
39. Thompson B. (2015) Melanoma Management, **2**(2), 105-107.
40. Jebar A., West E., Scott K., Thomson S., Corns R., Mathew R., SivaKumar G., Coffey M., Nuovo G., Rose A. et al. (2014) Neuro-oncology, **16**(6), art.no. P12, p.6.
41. Силко Н.Ю., Шестопалов А.М., Шестопалова Л.В. (2009) Казанская наука: сборник статей, **1**, 13-19.
42. Кешелава В.В. (2007) Эпидемиология и вакцинопрофилактика, **3**, 23-28.
43. Reichard K.W., Lorence R.M., Cascino C.J., Peeples M.E., Walter R.J., Fernando M.B., Reyes H.M., Greager J.A. (1992) J. Surg. Res., **52**(5), 448-453.
44. Schulze W., Kemmner J., Weitz K.-D., Schirrmacher V., Schlag P.M. (2009) Cancer Immunol. Immunother., **58**, 61-69.
45. Jeuken J., van den Broecke C., Gijzen S., Boots-Sprenger S., Wesseling P. (2007) Acta Neuropathologica, **114**(2), 121-133.
46. Zulkifli M.M., Ibrahim R., Ali A.M., Aini I., Jaafar H., Hilda S.S., Alitheen N.B., Abdullah J.M. (2009) Neurol. Res., **31**, 3-10.
47. Freeman A.I., Zakay-Rones Z., Gomori J.M., Linetsky E., Rasooly L., Greenbaum E., Rozenman-Yair S., Panet A., Libson E., Irving C.S., Galun E., Siegal T. (2006) Mol. Ther., **13**(1), 221-228.
48. Csatory L.K., Gosztanyi G., Szeberenyi J., Fabian Z., Liszka V., Bodey B., Csatory C.M. (2004) J. Neuro-oncol., **67**(1-2), 83-93.
49. Lun X., Yang W., Alain T., Shi Z.Q., Muzik H., Barrett J.W., Forsyth P.A. (2005) Cancer Res., **65**(21), 9982-9990.
50. Lun X.Q., Alain T., Zemp F.J., Zhou H., Rahman M.M., Hamilton M.G., McFadden J., Bell J., Senger D., Forsyth P.A. (2010) Cancer Res., **70**(2), 598-608.
51. Zemp F.J., Lun X., McKenzie B.A., Zhou H., Maxwell L., Sun B., Kelly J.P., Stechishin O., Luchman A., Weiss S. et al. (2013) Neuro-oncology, **15**(7), 904-920.
52. Pisklakova A., McKenzie B., Kenchappa R., McFadden G., Forsyth P. (2014) Neuro-oncology, **16**(5), art.no. E46, p 89.
53. Wollmann G., Robek M.D., van den Pol A.N. (2007) J. Virol., **81**(3), 1479-1491.
54. Mahoney D.J., Stojdl D.F. (2013) Clin. Cancer Res., **19**(4), 758-763.
55. Lun X.Q., Senger D.L., Alain T., Oprea A., Parato K., Stojdl D., Lichty B., Power A., Johnston R.N., Hamilton M., Parney I., Bell C. Jr., Forsyth P.A. (2006) J. Natl. Cancer Inst., **98**(21), 1546-1557.
56. van den Pol A.N., Dalton K.P., Rose J.K. (2002) J. Virol., **76**(3), 1309-1327.
57. Özduman K., Wollmann G., Piepmeier J.M., Van den Pol A.N. (2008) J. Neurosci., **28**(8), 1882-1893.
58. Cornelis J.J., Chen Y.Q., Spruyt N., Duponchel N., Cotmore S.F., Tattersall P., Rommelaere J. (1990) J. Virol., **64**(6), 2537-2544.
59. Rommelaere J., Geletneky K., Angelova A.L., Daeffler L., Dinsart C., Kiprianova I., Schlehofer J.R., Raykov Z. (2010) Cytokine Growth Factor Rev., **21**, 185-195.
60. Ventoso I., Berlanga J.J., Almendral J.M. (2010) J. Virol., **84**, 5043-5051.
61. Geletneky K., Kiprianova I., Ayache A. (2010) Neuro-oncology, **12**(8), 804-814.
62. Di Piazza M., Mader C., Geletneky K., Calle M.H., Weber E., Schlehofer J., Deleu L., Rommelaere J. (2007) J. Virol., **81**(8), 4186-4198.
63. Geletneky K., Huesing J., Rommelaere J., Schlehofer J.R., Leuchs B., Dahm M., Krebs O., von Knebel D.M., Huber B., Hajda J. (2012) BMC Cancer, **12**(1), 99-107.
64. Geletneky K., Angelova A., Leuchs B., Bhat R., Just A., Capper D., Krebs O., Dahm M., Huber B., Unterberg A., Hajda J., Rommelaere J. (2014) Neuro-oncology, **16**(5), art. no. ET21, p 83-84.
65. Martuza R.L., Malick A., Markert J.M., Ruffner K.L., Coen D.M. (1991) Science, **252**(5007), 854-856.
66. Coen D.M., Kosz-Vnenchak M., Jacobson J.G., Leib D.A., Bogard C.L., Schaffer P.A., Tyler K.L., Knipe D.M. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **86**(12), 4736-4740.
67. Smith K.D., Mezhir J.J., Bickenbach K., Veerapong J., Charron J., Posner M.C., Roizman B., Weichselbaum R.R. (2006) J. Virol., **80**(3), 1110-1120.
68. Mineta T., Rabkin S.D., Yazaki T., Hunter W.D., Martuza R.L. (1995) Nat. Med., **1**(9), 938-943.
69. Todo T., Martuza R.L., Rabkin S.D., Johnson P.A. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**(11), 6396-6401.
70. Kesari S., Randazzo B.P., Valyi-Nagy T., Huang Q.S., Brown S.M., MacLean A.R., Lee V.M., Trojanowski J.Q., Fraser N.W. (1995) Laboratory Investigation, **73**(5), 636-648.
71. Sundaresan P., Hunter W.D., Martuza R.L., Rabkin S.D. (2000) J. Virol., **74**(8), 3832-3841.
72. Markert J.M., Medlock M.D., Rabkin S.D., Gillespie G.Y., Todo T., Hunter W.D., Palmer C.A., Feigenbaum F., Tornatore C., Tufaro F., Martuza R.L. (2000) Gene Ther., **7**(10), 867-874.
73. Harrow S., Papanastassiou V., Harland J., Mabbs R., Petty R., Fraser M., Hadley D., Patterson J., Brown S.M., Rampling R. (2004) Gene Ther., **11**(22), 1648-1658.
74. Rampling R., Cruickshank G., Papanastassiou V., Nicoll J., Hadley D., Brennan D., Petty R., MacLean A., Harland J., McKie E., Mabbs R., Brown M. (2000) Gene Ther., **7**(10), 859-866.
75. Wakimoto H., Kesari S., Farrell C.J., Curry W.T., Zaupa C., Aghi M., Kuroda T., Stemmer-Rachamimov A., Shah K., Ta-Chiang Liu, Jeyaretna D.S., Debasitis J., Pruszk J., Martuza R.L., Rabkin S.D. (2009) Cancer Res., **69**(8), 3472-3481.
76. Cheema T.A., Kanai R., Kim G.W., Wakimoto H., Passer B., Rabkin S.D., Martuza R.L. (2011) Clin. Cancer Res., **17**(23), 7383-7393.
77. Cheema T.A., Wakimoto H., Fecci P.E., Ning J., Kuroda T., Jeyaretna D.S., Martuza R.L., Rabkin S.D. (2013) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **110**(29), 12006-12011.
78. Todo T., Tanaka M., Ito M., Ito H., Ino Y. (2014) Neuro-oncology, **16**(3), pp. 52.
79. Todo T. (2007) Front. Biosci., **13**, 2060-2064.

80. Andreansky S., He B., van Cott J., McGhee J., Markert J.M., Gillespie G.Y., Roizman B., Whitley R.J. (1998) *Gene Ther.*, **5**(1), 121-130.
81. Parker J.N., Gillespie G.Y., Love C.E., Randall S., Whitley R.J., Markert J.M. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 2208-2213.
82. Hellums E.K., Markert J.M., Parker J.N., He B., Perbal B., Roizman B., Whitley R.J., Langford C.P., Bharara S., Gillespie G.Y. (2005) *Neuro-oncology*, **7**(3), 213-224.
83. Pawlik T.M., Nakamura H., Mullen J.T., Kasuya H., Yoon S.S., Chandrasekhar S., Chiocca E.A., Tanabe K.K. (2002) *Cancer*, **95**(5), 1171-1181.
84. Kambara H., Okano H., Chiocca E.A., Saeki Y. (2005) *Cancer Res.*, **65**(7), 2832-2839.
85. Sonabend A.M., Ulasov I.V., Lesniak M.S. (2006) *Rev. Med. Virol.*, **6**(2), 99-115.
86. Parker J.N., Bauer D.F., Cody J.J., Markert J.M. (2009) *Neurotherapy*, **6**, 558-569.
87. Georger B., Grill J., Opolon P., Morizet J., Aubert G., Terrier-Lacombe M.J., Bressac de-Paillerets B., Barrois M., Feunteun J., Kirn D.H., Vassal G. (2002) *Cancer Res.*, **62**(3), 764-772.
88. Georger B., Grill J., Opolon P., Morizet J., Aubert G., Lecluse Y., van Beusechem V.W., Gerritsen W.R., Kirn D.H., Vassal G. (2003) *Br J. Cancer*, **89**(3), 577-584.
89. Fueyo J., Gomez-Manzano C., Alemany R., Lee P.S., McDonnell T.J., Mitlianga P., Shi Y.-X., Levin V.A., Yung W.K.A., Kyritsis A.P. (2000) *Oncogene*, **19**, 2-12.
90. Lamfers M.L., Grill J., Dirven C.M., van Beusechem V.W., Georger B., van den Berg J., Alemany R., Fueyo J., Curiel D.T., Vassal G., Pinedo H.M., Vandertop W.P., Gerritsen W.R. (2002) *Cancer Res.*, **62**(20), 5736-5742.
91. Lang F.F., Conrad C., Gomez-Manzano C., Tufaro F., Sawaya R., Weinberg J., Prabhu S., Fuller G. (2014) *Neuro-oncology*, **16**(5), art. no. NT18, pp. 162.
92. Conrad C., Miller C.R., Ji Y., Gomez-Manzano C., Bharara S., McMurray J.S., Lang F.F., Wong F., Sawaya R., Yung W.K.A., Fueyo J. (2005) *Cancer Gene Ther.*, **12**(3), 284-294.
93. Ulasov I.V., Zhu Z.B., Tyler M.A., Han Y., Rivera A.A., Khramtsov A., Curiel D.T., Lesniak M.S. (2007) *Human Gene Ther.*, **18**(7), 589-602.
94. Ulasov I.V., Rivera A.A., Sonabend A.M., Sonabend A.M., Wang M., Zhu Z.B., Lesniak M.S., Rivera L.B. (2007) *Cancer Biol. Ther.*, **6**(5), 679-685.
95. Phillips J.J., Huillard E., Robinson A.E., Ward A., Lum D.H., Polley M.Y., Rosen S.D., Rowitch D.H., Werb Z. (2012) *J. Clin. Invest.*, **122**(3), 911-922.
96. Tyler M.A., Ulasov I.V., Sonabend A.M., Nandi S., Han Y., Marler S., Roth J., Lesniak M.S. (2009) *Gene Ther.*, **16**(2), 262-278.
97. Ahmed A.U., Thaci B., Alexiades N.G., Han Y., Qian S., Liu F., Balyasnikov I.V., Ulasov I.V., Aboody K.S., Lesniak M.S. (2011) *Mol. Ther.*, **19**(9), 1714-1726.
98. Yong R.L., Shinojima N., Fueyo J., Gumin J., Vecil G.G., Marini F.C., Bogler O., Andreeff M., Lang F.F. (2009) *Cancer Res.*, **69**(23), 8932-8940.
99. Giannini C., et Sarkaria J.N., Saito A., Uhm J.H., Galanis E., Carlson B.L., Schroeder M., James C.D. (2005) *Neuro-oncology*, **7**(2), 164.
100. Ganesh S., Gonzalez Edick M., Idamakanti N., Abramova M., Vanroey M., Robinson M., Yun C.-O., Jooss K. (2007) *Cancer Res.*, **67**, 4399-4407.
101. Cho W.K., Seong Y.R., Lee Y.H., Kim M.J., Hwang K.S., Yoo J., Choi S., Jung C.-R., Im D.S. (2004) *Mol. Ther.*, **10**(5), 938-949.

Поступила: 18. 11. 2015.
Принята к печати: 18. 03. 2016.

ONCOLYTIC VIRUSES FOR THERAPY OF MALIGNANT GLIOMA

A.O. Sosnovtceva¹, N.F. Grinenko², A.V. Lipatova³, P.M. Chumakov³, V.P. Chekhonin^{1,2}

¹Pirogov Russian National Research Medical University,

1 Ostrovityanova str., Moscow, 117997 Russia; e-mail: aososnovtceva@gmail.com

²Serbsky Federal Medical Research Center for Narcology and Psychiatry, Moscow, Russia

³Engelhardt institute of molecular biology RAS, Moscow, Russia

Effective treatment of malignant brain tumors is still an open problem. Location of tumor in vital areas of the brain significantly limits capacities of surgical treatment. The presence of tumor stem cells resistant to radiation and anticancer drugs in brain tumor complicates use of chemoradiotherapy and causes a high rate of disease recurrence. A technological improvement in bioselection and production of recombinant resulted in creation of viruses with potent oncolytic properties against glial tumors. Recent studies, including clinical trials, showed, that majority of oncolytic viruses are safe. Despite the impressive results of the viral therapy in some patients, the treatment of other patients is not effective; therefore, further improvement of the methods of oncolytic virotherapy is necessary. High genetic heterogeneity of glial tumor cells even within a single tumor determines differences in individual sensitivity of tumor cells to oncolytic viruses. This review analyses the most successful oncolytic virus strains, including those which had reached clinical trials, and discusses the prospects for new approaches to virotherapy of gliomas.

Key words: oncolytic virus, malignant glioma, virotherapy, antitumor therapy