

ОБЕСПЕЧАТ ЛИ ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ ВИРУСЫ РЕВОЛЮЦИЮ В ОНКОЛОГИИ?

© 2019 г. П.М. Чумаков

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия
Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов
им. М.П. Чумакова РАН, Москва, Россия
E-mail: chumakovpm@yahoo.com*

Поступила в редакцию 03.12.2018 г.
Поступила после доработки 03.02.2019 г.
Принята к публикации 14.02.2019 г.

Несмотря на многолетнее масштабное изучение природы рака и разработку множества противоопухолевых препаратов, численность заболевших им продолжает расти, а пятилетняя выживаемость онкологических больных, имеющих распространённые метастазы, всё ещё остаётся на недопустимо низком уровне. Автором рассматриваются причины этих неудач, кроющиеся в самой природе злокачественных клеток: они способны адаптироваться и приобретать устойчивость практически к любым системным терапевтическим воздействиям. В этой связи немалые надежды возлагаются на онколитические вирусы, представляющие собой лекарственные средства нового типа и способные к комплексному воздействию на заболевание. Помимо способности напрямую вызывать избирательную гибель опухолевых клеток, онколитические вирусы стимулируют естественные иммунные процессы их распознавания и удаления, снимают иммунную супрессию опухолевого микроокружения и способствуют уничтожению опухолевых клеток, включая опухоль-инициирующие стволовые клетки, устойчивые к большинству существующих терапевтических средств. Для введения вирусной терапии рака в широкую медицинскую практику требуются активизация фундаментальных исследований механизмов вирусного онколиза, разработка новых терапевтических вирусных штаммов, тестов для их персонифицированного подбора, совершенствование методов локальной и системной доставки онколитических вирусов в опухолевые очаги. Потребуется и кардинальные изменения в практике испытаний терапевтических препаратов, ускоряющие внедрение новых вирусных штаммов в медицинскую практику. Достижения в этом направлении позволят преодолеть многие застарелые проблемы в лечении метастатических форм злокачественных заболеваний.

Ключевые слова: онколитические вирусы, вирусный онколиз, противоопухолевая терапия, иммунотерапия рака, ингибиторы контрольных иммунных точек, опухолевая прогрессия, устойчивость к терапии, опухолевые стволовые клетки, рецидивы онкологических заболеваний, персонифицированная терапия.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-5873895475-484>

Проблемы системной терапии злокачественных заболеваний. Блестящие успехи медицины в борьбе с инфекционными заболеваниями в середине прошлого века выдвинули на первый план проблему борьбы с раком. Наиболее эффективным подходом к его терапии было и остаётся радикальное хирургическое удаление опухоли, что позволяет в случае ранней постановки диагноза добиваться выздоровления. Однако если злокачественный процесс распространился

в виде метастазов, хирургическое лечение может оказать лишь паллиативное действие, а для эффективной терапии требуются специфические системные меры.

На поиск эффективных методов лечения рака за последние 70 лет были привлечены беспрецедентные интеллектуальные и материальные ресурсы. Проблемы рака стали основным двигателем и главной целью финансовых вложений в фундаментальные исследования в области биологии и медицины. За это время удалось изучить основы функционирования живых систем на молекулярном, клеточном и организменном уровнях. По мере выявления характерных особенностей раковых клеток, их фундаментального отличия от нормальных разрабатывались много-

ЧУМАКОВ Пётр Михайлович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией пролиферации клеток ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН, заведующий отделом инновационных иммунобиологических и биотехнологических препаратов ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН.

численные средства системной терапии как широкого спектра действия, так и воздействующие на уникальные мишени отдельных форм злокачественных заболеваний (таргетная терапия). В числе этих средств — цитотоксические химиопрепараты, лучевая терапия, гормоны и их ингибиторы, специфические химические ингибиторы метаболических процессов и моноклональные антитела.

Большие успехи были достигнуты и в разработке методов визуализации опухолевого процесса, определения характерных генетических молекулярных автографов опухолевых клеток, позволяющих проводить тонкую персонализированную оценку отдельных случаев заболевания, разделяя их на подгруппы, имеющие различия в прогнозе и реакции на терапию. Таким образом закладывались основы индивидуального подхода к лечению, повышающего эффективность системной терапии.

К сожалению, несмотря на все эти достижения, главный показатель, характеризующий эффективность терапии, — пятилетняя выживаемость пациентов — за последние 30 лет увеличился всего на 2–7% [1] в зависимости от формы рака. Заболеваемость продолжает расти даже в развитых странах с современной медицинской инфраструктурой, растёт и смертность. Особенно тревожен показатель пятилетней выживаемости пациентов, чей диагноз был поставлен уже на стадии метастатического распространения процесса. Например, в США рак лёгкого на этой стадии впервые выявляется в 57% случаев, причём пятилетняя выживаемость остаётся на уровне всего 4,3% [2].

Становится очевидным, что вопрос об эффективном лечении метастатических форм рака по-прежнему открыт. Существующие схемы его системной терапии с направленным уничтожением опухолевых клеток по их отдельным специфическим свойствам, в том числе и с использованием таргетных препаратов, оказывают лишь краткосрочное действие, они, по сути, паллиативны. Рак, в случае, если заболевание вышло за пределы первичного органа, по-прежнему остаётся преимущественно неизлечимым заболеванием.

Разворот в сторону природоподобных подходов к терапии злокачественных заболеваний. Современная онкология находится на пороге качественных изменений в отношении стратегии терапии. Полученные в последние годы обширные знания о биологии нормальной и опухолевой клетки, системах контроля за генетической стабильностью клеток в многоклеточном организме, механизмах канцерогенеза и опухолевой прогрессии указывают на бесперспективность дальнейших попыток создания всё новых изо-

ранных и дорогостоящих таргетных препаратов. Они с неизбежностью окажутся не более действенными, чем уже существующие. Даже вызывая ремиссии различной продолжительности, эти препараты не вносят существенного вклада в повышение индекса пятилетней выживаемости, тем более полного выздоровления.

Настоятельно требуется переосмысление негативного опыта системной терапии рака, необходимо расстаться с прежними иллюзиями и выработать новые направления движения, дающие надежду на качественный прорыв. Неудачи терапии на основе уничтожения опухолевых клеток по характерным, порой уникальным признакам следуют из природы опухолевой клетки, обладающей колоссальной изменчивостью. Вместо настойчивого поиска новых таргетных препаратов следует обратиться к использованию механизмов противоопухолевой защиты, созданных самой природой. Эти механизмы охраняют нас на протяжении всей жизни, и только их ослабление создаёт условия для накопления критической массы изменённых клеток, запускающих процессы опухолевой прогрессии.

Онкологические заболевания не запрограммированы природой, а оказываются результатом сбоев, нарушений естественных механизмов, обеспечивающих сохранение здоровья на протяжении всей жизни. Поэтому изучение естественных механизмов противоопухолевой защиты может дать ключ к созданию эффективных средств борьбы с раком. В последние годы в онкологии наблюдается постепенный разворот в сторону биотерапии. Терапия будущего должна быть направлена на восстановление и усиление естественных механизмов распознавания и уничтожения патологических клеток, исключая возможность их накопления и формирования опухоли.

Причины низкой эффективности системной терапии злокачественных заболеваний. В отличие от нормальных клеток раковая клетка перестаёт быть частью организма, она перестаёт подчиняться сигналам, которые определяют её роль, место, функции и адекватное поведение. Это происходит в результате генетических или эпигенетических повреждений во внутриклеточной системе контроля, оценивающей поведение каждой клетки и принимающей решения о её дальнейшей судьбе. Центральный компонент этой системы — опухолевый супрессор p53 [3], функция которого заключается в интегрировании сигналов, поступающих от многочисленных процессов внутри и вне клетки, с последующим запуском судьбоносных решений, которые либо способствуют адаптации клетки к меняющимся условиям, либо запускают необратимые процессы клеточного самоубийства [4].

Система внутриклеточного контроля генетической стабильности надёжно охраняет клетки от приобретения генетических и эпигенетических изменений, гарантирует защиту от злокачественной трансформации. В случае же, если мутагенный процесс затрагивает компоненты самой р53-зависимой системы контроля, происходит катастрофа, приводящая к появлению клеток, вступающих на путь автономии и неограниченной эволюции внутри организма. Такие клетки, по сути, становятся самостоятельным паразитическим одноклеточным организмом, вступающим в конкурентную борьбу с нормальными клетками и другими клетками опухоли. Приобретая дополнительные мутации, опухолевая клетка стремится к экспансии, вырабатывает приёмы для обеспечения достаточного кровоснабжения, преодоления тканевых барьеров и действия иммунной системы. Как следствие, в составе опухоли формируется множество генетически различающихся субпопуляций клеток, которые могут по-разному реагировать на применяемую терапию, — под её воздействием происходит постоянная селекция наиболее устойчивых субпопуляций.

Дополнительная причина устойчивости к системной терапии — наличие в опухоли субпопуляции клеток, находящихся в особом физиологическом состоянии. Их обычно идентифицируют как стволовые клетки опухоли [5], поскольку они обладают рядом маркеров стволовых клеток и обладают способностью к асимметричному делению, когда одна дочерняя клетка сохраняет стволовые свойства, а другая далее может совершать обычные симметричные деления и не отличается от клеток основной массы опухоли. Стволовые клетки характеризуются особенностями метаболизма и чрезвычайно устойчивы к лучевой и цитотоксической терапии, лишены характерных мишеней, на которые могут воздействовать таргетные препараты. Такие клетки можно характеризовать как споры, способные обеспечивать выживаемость одноклеточного организма в неблагоприятных условиях. После успешного курса химиотерапии, когда большая масса опухоли погибает, часть стволовых клеток остаётся жизнеспособной, что впоследствии проявляется в виде рецидива заболевания.

Подводя неутешительный итог описания существующего состояния системной терапии рака, можно констатировать, что опухолевые клетки, берущие начало в организме больного, наследуют практически неограниченный арсенал механизмов, комбинируя которые они могут адаптироваться для сохранения жизнеспособности и экспансии в любых условиях и при любых воздействиях.

Природные механизмы противоопухолевой защиты. В организме существует три уровня механизмов, обеспечивающих надёжную защиту от злокачественной патологии. На уровне клетки это уже упомянутая система, контролируемая опухолевым супрессором р53, которая эффективно останавливает или убивает появляющиеся патологические клетки. Помимо системы р53, действует и ряд других внутриклеточных механизмов, ограничивающих возможность автономного существования изменённых клеток.

Следующий уровень защиты связан с функцией врождённых (не адаптивных) механизмов иммунной системы. Их задача — постоянный иммунный надзор за появлением патологических клеток. Иммунные клетки, главным компонентом которых являются НК-клетки, способны распознавать повреждённые и изменённые клетки по характерным молекулярным автографам и уничтожать их на месте выявления в режиме реального времени.

В случае накопления изменённых (опухолевых) клеток подключается третий уровень защиты — адаптивная иммунная система, распознающая неоантигены опухолевых клеток, возникающие в результате генетических изменений или нарушений регуляции экспрессии генов. Против таких антигенов формируется Т-клеточный иммунный ответ, проявляющийся в атаке цитотоксических Т-лимфоцитов. В арсенале иммунных механизмов имеется и ряд вспомогательных факторов, представленных многочисленными цитокинами, которые обеспечивают координацию функционирования иммунных клеток, тканевых реакций и проявление цитотоксичности.

Роль опухолевого микроокружения в прогрессировании опухолевого процесса. Формирование злокачественной опухоли происходит в случае ослабления и сбоя защитных механизмов, что может быть связано с генетическими факторами, токсическими воздействиями, возрастными изменениями и хроническими патологиями. В возникшей опухоли начинают проявляться дополнительные механизмы, которые способствуют её развитию. Опухолевые клетки начинают формировать для себя благоприятное микроокружение, обеспечивающее приток питательных веществ, кислорода и защиту от атак иммунной системы [6]. Недостаток кислорода вынуждает опухолевые клетки секретировать ангиогенные факторы, способствующие формированию сети кровеносных сосудов. Выделяемые опухолевыми клетками хемокины привлекают незрелые миелоциты (миелоидные супрессорные клетки), которые обильно инфильтрируют опухоль, стимулируют клеточное деление и защищают от атаки иммунной системы.

Иммunosupрессивное микроокружение формируется опухолевыми клетками в том числе и за счёт способности экспрессировать на своей поверхности так называемые белки контрольных иммунных точек [7], являющихся частью физиологического механизма ослабления иммунной атаки цитотоксическими Т-лимфоцитами в очагах хронического воспаления. Так, опухолевые клетки начинают экспрессировать поверхностные белки, характерные для антиген-презентирующих клеток и способные понижать активность Т-клеток. Белки семейства B7 – CD80 и CD86, экспрессируемые на поверхности опухолевой клетки, взаимодействуют с рецептором CTLA-4 СВ8+ Т-лимфоцитов, а белок PD-L1 – с рецептором PD-1, в результате чего происходит блокировка сигналов активации, а также запуск запрограммированной смерти лимфоцита. Благодаря индуцированной опухолевыми клетками иммунной толерантности опухоль получает возможность развиваться и эволюционировать, закрепляя своё присутствие в организме вопреки противодействию иммунной системы.

Открытие механизма защиты опухолевых клеток от иммунной атаки, отмеченное Нобелевской премией 2018 г., представляется поворотным событием, позволяющим существенно повысить эффективность биотерапии рака за счёт реактивации естественных механизмов иммунной защиты. В настоящее время уже разработан ряд терапевтических моноклональных антител, блокирующих способность Т-клеток выключаться под действием иммуносупрессивных сигналов опухолевого микроокружения [8]. В отличие от большинства опухолевых средств эти препараты не токсичны для самих опухолевых клеток, но создают условия для их эффективного удаления за счёт естественных реакций иммунной системы.

Появление ингибиторов контрольных точек можно рассматривать как историческую веху на пути к эффективной терапии, важный компонент будущих терапевтических схем. Синергизм терапевтического действия ожидается, например, при включении ингибиторов контрольных точек в схемы с использованием противоопухолевых вакцин на основе иммунных клеток и адаптивной иммунотерапии с применением химерных антигенных рецепторов (CAR) [9]. Уже сейчас ингибиторы контрольных точек в ряде случаев демонстрируют впечатляющие результаты как при монотерапии, так и в сочетании с традиционными химиотерапевтическими и антиангиогенными препаратами.

Вирусы как потенциальные противоопухолевые средства. Способность вирусов уничтожать опухолевые клетки известна ещё с начала прошлого века. В 1904 г. было опубликовано наблюдение

о ремиссии лейкемии после перенесённого гриппа [10]. Позже появилось ещё несколько сообщений о связи вирусных заболеваний с улучшением состояния онкологических больных. В 1920-е годы выяснилось, что опухолевые клетки могут использоваться для размножения и наработки вирусов. Первые попытки использовать способность вирусов уничтожать раковые клетки были предприняты вскоре после завершения Второй мировой войны. Все известные в то время вирусы являлись возбудителями болезней, поэтому использование патогенов для терапии рака сопровождалось серьёзными осложнениями и на долгие годы сформировало негативное отношение врачей и общества к самой идее вирусной терапии [11]. Интерес к вирусному онколизу стал возрождаться после появления вакцинных аттенуированных вирусных штаммов, установления противоопухолевой активности вирусов животных и открытия природнонепатогенных вирусов человека. В СССР подобные исследования проводились с использованием непатогенных энтеровирусов человека, выделенных из кишечника здоровых детей и разрабатываемых в качестве живых энтеровирусных вакцин для неспецифической профилактики сезонных вирусных инфекций. Испытания этих вирусов демонстрировали случаи длительных ремиссий онкологических заболеваний у некоторых пациентов [12]. Однако недостаток знаний о фундаментальных механизмах вирусного онколиза и непредсказуемость терапевтического действия вирусов привели к временному прекращению исследований в этом направлении.

Систематические и масштабные исследования вирусного онколиза на современном этапе возобновились на основе полученных в последние годы знаний о природе вирусов, причин их патогенности, а также о фундаментальных различиях между нормальными и опухолевыми клетками. Стали возможными искусственные модификации вирусного генома, приводящие к потере патогенности и приобретению избирательности в отношении опухолевых клеток. С начала 1990-х годов были созданы и испытаны десятки штаммов онколитических вирусов, установлены основные механизмы их терапевтического действия [13]. В настоящее время три препарата на базе онколитических вирусов уже одобрены к клиническому использованию в разных странах и ещё несколько находятся на заключительных стадиях клинических испытаний [14]. Испытания в клинике в ряде случаев демонстрируют примеры поразительной эффективности, приводящей к длительным ремиссиям и даже полному излечению больных, страдавших ранее абсолютно смертельными заболеваниями, например мультиформной глио-

бластомой [15, 16]. Всё это указывает на безусловную перспективность вирусной терапии рака. Однако на пути широкого использования вирусов в клинике ещё множество проблем, требующих изучения.

Вирусы как противоопухолевые средства принципиально нового типа. Вирусы являются живыми организмами и потому их использование в терапии принципиально отличается от использования всех других лекарственных средств. Поскольку вирусы способны к репликации в организме пациента, для них крайне условно понятие максимально допустимой дозы. Оптимальная доза должна обеспечить проникновение онколитического вируса в опухолевые клетки, и превышение её не столь опасно, как при введении обычных терапевтических средств. Попав в клетку, вирус реплицируется, и его доза может существенно возрастать, обеспечивая желаемое лечебное воздействие.

Вирус оказывает сложное и комплексное влияние на организм больного. Ранее считалось, что терапевтический эффект основан преимущественно на способности вируса избирательно реплицироваться в опухолевых клетках и вызывать их гибель. Однако в ходе дальнейших исследований выяснилась не менее важная роль вирусной инфекции в стимулировании процессов противоопухолевого иммунитета, а также воздействия на микроокружение внутри опухоли, устраняющие иммунную супрессию. Чтобы лучше понять механизмы терапевтического действия онколитических вирусов, рассмотрим их в отдельности.

Механизмы вирусного онколиза. В процессе опухолевой прогрессии опухолевые клетки претерпевают эволюцию в направлении увеличения автономии, устранения контроля со стороны организма, ускорения делений и приобретения способности к распространению. Хотя это способствует развитию заболевания, одновременно многие изменения приводят к приобретению повышенной чувствительности к вирусам, опухолевые клетки становятся более доступными для их проникновения [17]. Нарушаются многие тканевые барьеры, в норме препятствующие распространению вирусов. Так, в быстро растущей опухоли идёт стремительное развитие сосудистой сети, обеспечивающей кровоснабжение. От этого новообразованные сосуды неполноценны [18], имеют многочисленные отверстия, через которые вирусы могут проникать в опухоль из кровотока. Строение опухоли также хаотично, отдельные опухолевые клетки утрачивают характерные для нормальных тканей контакты друг с другом. В результате поверхность клеток оказывается незащищённой от контакта с вирусом. Используя

поверхностные трансмембранные рецепторы, вирусы без затруднений могут проникать в клетку, однако это не гарантирует им возможность эффективной репликации.

Взаимодействие вируса с клеткой — это противостояние двух организмов, один из которых (вирус) пытается перехватить контроль над биосинтетическим аппаратом клетки и направить его на нужды собственной репликации, а другой (клетка) использует механизмы защиты от вирусных патогенов. В нормальной клетке действует надёжная система распознавания чужеродных компонентов вирусов, в ответ на которые клетка начинает секретировать интерфероны I типа. Эти противовирусные сигнальные белки связываются со специализированными рецепторами на поверхности клеток, запуская сигнальный каскад, ведущий к приобретению невосприимчивости к вирусной инфекции. Кроме специфического противовирусного действия, интерферон индуцирует приостановку клеточных делений и торможение метаболизма, что ограничивает возможности синтеза вирусных белков и нуклеиновых кислот, поэтому наряду с защитой от вирусов интерфероновые механизмы накладывают потенциальные ограничения на экспансию опухолевых клеток. По этой причине при опухолевой прогрессии происходит отбор клеток, в которых интерфероновые механизмы подавлены в результате мутаций или эпигенетических нарушений [19], что обуславливает селективную избирательность вирусов, принадлежащих к различным семействам, к размножению в клетках опухоли. В результате становится возможным поддержание нескольких циклов перезаражения опухолевых клеток вирусными частицами, образовавшимися после первичного инфицирования небольшого числа опухолевых клеток вносимым препаратом. За счёт этого процесса происходит гибель части опухолевых клеток, а её масштаб зависит от скорости репликации вируса, способности проникать в труднодоступные участки опухоли и от времени, в течение которого развивается противовирусный иммунитет, приводящий к нейтрализации вирусных частиц.

Однако прямое цитолитическое действие вируса на опухолевые клетки — только часть механизма вирусного онколиза. Развивающаяся в опухоли локальная вирусная инфекция оказывает стимулирующее воздействие на врождённые и адаптивные механизмы противоопухолевого иммунитета. В то время как репликация вируса в опухоли происходит преимущественно в опухолевых клетках, клетки опухолевой стромы (кровеносные сосуды, соединительная ткань) постоянно подвергаются воздействию вируса, в результате чего усиленно секретируют интер-

фероны и другие цитокины, которые привлекают в опухоль клеточные компоненты врождённой иммунной системы — НК-клетки, макрофаги, моноциты, а также компоненты адаптивной иммунной системы — антиген-презентирующие дендритные клетки и Т-лимфоциты. Гибель опухолевых клеток под прямым действием вирусов, а также НК-клеток приводит к высвобождению опухолевых неоантигенов и ряда внутриклеточных белков и метаболитов, служащих адьювантами для акцептирования и распознавания опухолевых антигенов антиген-презентирующими клетками. В результате формируется специфический Т-клеточный иммунный ответ на неоантигены опухоли, а цитотоксические Т-лимфоциты, способные распознавать опухолевые клетки, устремляются для их уничтожения в опухолевые очаги даже после того, как вирус прекращает своё действие за счёт нейтрализации противовирусными антителами [20]. Это противоопухолевое действие может поддерживаться в течение длительного времени.

Инфицирование опухолевых клеток вирусами также способствует снятию иммуносупрессивного воздействия опухолевого микроокружения, которое ограничивает способность иммунной системы оперативно уничтожить патологические клетки по мере их выявления. Многие детали этого процесса пока остаются плохо изученными, однако уже выяснено, что благодаря секреции цитокинов в инфицированном опухолевом микроокружении наблюдаются изменения характера инфильтрации компонентами иммунных клеток, в том числе существенно снижается инфильтрация супрессорными клетками миелоидного ряда [21]. Эти процессы носят несколько парадоксальный характер. Например, под действием интерферона опухолевые клетки могут повышать уровень экспрессии белка PD-L1, что сопровождается повышением инфильтрации опухоли CD8-положительными Т-клетками. На этом фоне применение антителных блокаторов иммунных контрольных точек — пембролизумаба (Keytruda) и ниволумаба (Opdivo) — сопровождается массивной активацией цитотоксической активности Т-лимфоцитов и уничтожением клеток опухоли. Этот механизм лежит в основе наблюдаемого синергизма действия совместного применения онколитических вирусов и ингибиторов иммунных контрольных точек, особенно в случаях PD-L1-негативных опухолей, характеризующихся низким уровнем инфильтрации Т-клетками [22, 23]. Таким образом, благодаря комплексному воздействию вирусной инфекции происходит восстановление естественных механизмов иммунного надзора и своевременного удаления дефектных и опухолевых клеток, что способствует преодолению

защитных приёмов опухолевых клеток, сдвигу баланса опухолевого процесса от накопления опухолевых клеток к их уничтожению.

Важным свойством онколитических вирусов является их способность уничтожать опухоль-инициирующие стволовые клетки, которые чрезвычайно устойчивы к терапевтическим воздействиям и служат основным источником рецидивов заболевания после проведения массивной химио-, радио- и таргетной терапии [5]. Данные указывают на способность онколитических вирусов, принадлежащих к различным вирусным семействам, эффективно убивать опухолевые стволовые клетки [24]. Это наглядно проявляется в случаях терапии мультиформной глиобластомы, рецидивы которой неизбежны за счёт способности глиобластомных стволовых клеток мигрировать вдоль аксонов на значительные расстояния от мест расположения первичной опухоли [25]. Единственным терапевтическим способом предотвращения таких рецидивов оказывается применение онколитических вирусов [15, 26].

Что мешает скорейшему внедрению онколитических вирусов в клиническую практику? В наши дни во многих лабораториях мира активно ведётся изучение вирусного онколиза, создаются новые штаммы онколитических вирусов на основе нескольких вирусных семейств. Для создания безопасных и эффективных штаммов в вирусный геном вводятся модификации, подавляющие способность вирусов преодолевать системы противовирусной защиты клетки и активировать её метаболизм для обеспечения репликации вирусов. Такие штаммы обладают повышенной онкоселективностью, поскольку опухолевые клетки, как правило, лишены противовирусной защиты, а их метаболизм повышен для обеспечения постоянных делений. Во многие штаммы онколитических вирусов вводят дополнительные гены, усиливающие противоопухолевое действие, например, ряд цитокинов для стимулирования противоопухолевого иммунитета, ферменты, способствующие лучшему распространению вирусов внутри опухоли, белки с онкотоксическими свойствами, микроРНК, влияющие на физиологию опухолевой клетки. Кроме генетически модифицированных вирусов, испытываются и вирусы животных, безопасные для человека, но обладающие онколитической активностью против человеческих опухолевых клеток, а также ряд вакцинных вирусных штаммов, слабо- или малопатогенных вирусов человека. Однако в связи со сложностями и дороговизной доклинических и клинических испытаний биотехнологические компании, которые занимаются продвижением вирусной терапии рака, как правило, сосредотачиваются на одном терапевтическом штамме.

В настоящее время только три вирусных штамма получили разрешения на применение в клинике. Это рекомбинантный аденовирус H101 Oncorine, полученный в Китае, природно-непатогенный энтеровирус человека Rigvir — в Латвии, и рекомбинантный вирус герпеса T-Vec (Imlygic или Talimogene Laherprevec) — в США. Последний был разрешён к применению в 2015 г. для терапии метастатических форм злокачественных меланом. Несколько вирусных штаммов находятся на заключительных стадиях клинических испытаний: рекомбинантный вирус осповакцины Pexa-Vec, немодифицированный реовирус Reolysin, рекомбинантный полиовирус PVSR1PO, немодифицированный вирус Коксаки A21 CAVATAK и ряд других [27]. Каждый из этих вирусов может демонстрировать впечатляющие примеры терапевтического действия. Например, рекомбинантный полиовирус эффективен для 20% пациентов, он вызывает длительные ремиссии, которые не дают рецидивов, по крайней мере, в течение года [16]. С одной стороны, это выдающееся достижение, так как глиобластома — абсолютно смертельное заболевание. С другой стороны, 80% пациентов вообще не реагируют на терапию этим вирусным штаммом, и подобная картина характерна практически для всех известных онколитических вирусов. Но это не означает, что для пациентов, не реагирующих на единичный штамм, вирусная терапия лишена перспектив, поскольку для них может оказаться эффективным другой вирусный препарат.

Основная причина отсутствия реакции на вирусный препарат заключается в том, что индивидуальная чувствительность опухолевых клеток к отдельным вирусным штаммам может значительно различаться. Поэтому для повышения эффективности терапии требуется разработка технологий тестирования чувствительности опухолевых клеток пациента к панели нескольких штаммов онколитических вирусов. Это возможно либо путём прямого определения способности вирусов заражать клетки опухоли, полученные в результате удаления опухоли или биопсии, или путём поиска и анализа предсказательных биомаркеров. Установление таких биомаркеров позволит по сравнительно простому и быстрому тесту подбирать подходящий персонализированный набор терапевтических штаммов.

Применение единичного вирусного штамма имеет и другой недостаток. В ответ на вирусную инфекцию в организме больного развивается противовирусный иммунитет, который постепенно нейтрализует вирус и приводит к ослаблению его терапевтического действия. Хотя вирус способен запускать процесс иммунного узнавания и уничтожения опухолевых клеток, при значительных

опухолевых нагрузках только иммунный компонент может оказаться недостаточным. Для предотвращения рецидива предпочтительным было бы использование иммунологически неродственных штаммов онколитических вирусов в виде серии курсов.

Другим серьёзным препятствием на пути успешной вирусной терапии оказывается недостаточная эффективность доставки онколитического вируса в опухолевые очаги. Лишь незначительная доля опухолей доступна для прямой инъекции вируса, а в случае распространения опухолевого процесса требуется системное введение препарата. При внутривенном или внутримышечном введении вирус быстро инактивируется за счёт поглощения клетками эндотелия и связывания с неспецифическими и специфическими факторами защиты от патогенов. Для эффективной доставки в опухоль приходится проводить многократные инъекции избыточных доз вируса, причём и это не во всех случаях оказывается достаточным. Для преодоления проблемы был предложен подход, получивший название "Троянский конь" [28], когда системное введение вируса осуществляется посредством носителя — чувствительных к вирусу клеток, заранее инфицированных в пробирке. Поступая в кровоток, они мигрируют в опухоль, где происходит высвобождение вируса. Сейчас в качестве переносчиков онколитических вирусов испытывается ряд типов клеток, но особенно привлекательно использование собственных иммунных клеток пациента. В нашей лаборатории было установлено, что дендритные клетки способны инфицироваться и ограниченно реплицировать разнообразные штаммы онколитических вирусов. При внутривенном введении таких клеток мышам попадание вирусов в опухоль значительно более эффективно по сравнению с введением высоких доз вирусного препарата. Это делает дендритные клетки перспективным универсальным вектором для доставки вирусов в опухоль.

Панельный подход к вирусной терапии злокачественных заболеваний. Для преодоления проблемы индивидуальной невосприимчивости опухолей к вирусной терапии нами предложен панельный подход, при котором терапевтический арсенал состоит из нескольких штаммов онколитических вирусов с различающейся специфичностью в отношении опухолевых клеток. Сформированная нами панель состоит преимущественно из представителей непатогенных энтеровирусов человека, выделенных из кишечника здоровых детей и прошедших в 1970-е годы испытания в качестве живых энтеровирусных вакцин [29]. Кроме этого, в панель входят вакцинные штаммы полиовируса I—III типов, непатогенные для человека парамиксовирусы животных — ви-

рус Сендай и вирус болезни Ньюкастла (птичий вирус, аттенуированный и используемый в сельском хозяйстве для вакцинации промышленных птиц), три штамма непатогенных орторевирюсов. Представители панели обладают различающимся тропизмом в отношении индивидуальных опухолей человека, поскольку используют различные рецепторы для проникновения в клетку, а также специфическими элементами вирусного генома, отвечающими за круг воздействия на различные типы клеток. Штаммы панели лишены патогенности, но сохраняют способность к поражению опухолевых клеток и стимуляции естественных противоопухолевых механизмов.

Подобрать подходящий для пациента набор штаммов можно в ходе прямого испытания способности каждого из вирусов панели инфицировать клетки опухоли в культуре. Такой тест возможен в случае забора из опухоли жизнеспособных клеток путём биопсии или при хирургической операции. Обработанные ферментами клетки опухоли помещаются в питательную среду, инфицируются вирусами, после чего отмечается цитопатическое действие вируса и титры новообразованных вирусных частиц. Из штаммов, способных размножаться на клетках опухоли, формируется персонифицированная панель, которая далее используется для терапии путём последовательного введения с интервалом в 1–3 недели. В случае, если опухолевые клетки больного недоступны для анализа, лечение тоже возможно путём последовательного введения препаратов онколитических вирусов из имеющегося арсенала штаммов, с расчётом, что какие-то из препаратов окажутся эффективными.

Исследования нашей лаборатории направлены и на разработку быстрых и доступных для большинства пациентов тестов, предсказывающих чувствительность их опухолей к тому или иному терапевтическому вирусному штамму. Для этого требуется выявление биомаркеров, уровень экспрессии которых в клетках опухоли может коррелировать со способностью поддерживать репликацию тех или иных вирусных штаммов. Нами проводится поиск таких биомаркеров путём анализа данных секвенирования транскриптома и протеома опухолевых клеток и последующим установлением корреляций с чувствительностью вирусов к разным вирусным штаммам. На данном этапе исследований такие тесты выявляют зависимость способности клеток поддерживать репликацию вирусов от уровней экспрессии генов сигнальных путей интерфероновой реакции [30]. Однако среди кандидатов в предсказательные биомаркеры имеется ряд продуктов генов, отвечающих за процессы, необходимые для проникновения

вирусов в клетку, их "раздевание" и взаимодействие с биосинтетическим и энергетическими процессами клетки [31].

* * *

Терапия онкологических заболеваний с помощью онколитических вирусов принципиально отличается от существующих лечебных практик. В основе большинства лекарственных средств лежит использование малых доз токсических веществ (ядов), устраняющих нарушения баланса процессов. Такие препараты могут быть эффективными в отношении статических, не подверженных изменениям мишеней. В онкологии опухолевые клетки постоянно эволюционируют, а токсическое воздействие приводит к отбору клеток, лишённых терапевтических мишеней. Поэтому продолжительность лечебного воздействия существующих и, скорее всего, будущих таргетных препаратов, направленных на прямое уничтожение опухолевых клеток, оказывается недолгой. Вирусная же терапия состоит из двух компонентов. С одной стороны, вирусы также оказывают прямое токсическое воздействие на клетки и используют для этого специфические мишени. Так же, как и к обычным терапевтическим средствам, к действию вируса возможно формирование устойчивости. С другой стороны, вирусы запускают и комплексный процесс иммунных взаимодействий, в результате чего опухолевые клетки лишаются возможности ускользнуть от уничтожения за счёт природных механизмов противоопухолевой защиты. Благодаря комплексному воздействию вирусы можно рассматривать как средства, воздействующие не на частное проявление болезни, а на её причину, которая кроется в ослаблении естественных механизмов противоопухолевой защиты.

Несмотря на перспективность вирусной терапии, предстоит решить ещё немало задач, чтобы довести этот подход до возможности предсказуемо излечивать злокачественные заболевания. Особенно интересно комбинирование вирусной терапии и современной иммунотерапии с помощью ингибиторов иммунных контрольных точек. Предложенный нами панельный подход с использованием широкого арсенала штаммов онколитических вирусов, способного в совокупности воздействовать на большую часть опухолевых клеток, позволяет надеяться на то, что в скором времени эффективность вирусной терапии существенно повысится. Однако остаётся ещё много вопросов, требующих изучения, для того чтобы повысить эффективность вирусной доставки, персонализированно предсказывать действие отдельных вирусных штаммов, увеличивать их

терапевтическую активность, придавая вирусному геному дополнительные функции. Для ответа на вопросы необходима активизация фундаментальных исследований механизмов вирусного онколиза и возможностей его контроля. Направления такого поиска должны следовать приоритетам, продиктованным потребностью быстрого практического воплощения создаваемых технологий. Большое значение имеет и возможность существенной перестройки практик контроля над созданием новых вирусных препаратов, правил проведения клинических испытаний, устранения излишних барьеров для быстрого внедрения новых технологий в медицинскую практику. Реализация этих направлений может способствовать прорыву в области терапии рака уже в ближайшие десятилетия.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Taylor P.* Global Cancer Therapeutics Market: Emphasis on Recurrent and Metastatic Divisions / BCC Research. Report Code: 2017. PHM177A.
2. *Ezer U.* Cancer Immunology and Oncolytic Virology: Technologies and Global Markets / BCC Report. 2017. PHM129B.
3. *Lane D.P.* p53, guardian of the genome // *Nature*. 1992. V. 358. P. 15–16.
4. *Желтухин А. О., Чумаков П. М.* Повседневные и индуцируемые функции гена p53 // *Успехи биологической химии*. 2010. Т. 50. С. 447–516.
5. *Dawood S., Austin L., Cristofanilli M.* Cancer Stem Cells: Implications for Cancer Therapy // *Oncology (Williston Park, N. Y.)*. 2014. V. 28. P. 1101–1110.
6. *Hui L., Chen Y.* Tumor microenvironment: Sanctuary of the devil // *Cancer Lett.* 2015. V. 368. P. 7–13.
7. *Spranger S., Gajewski T.F.* Impact of oncogenic pathways on evasion of antitumor immune responses // *Nat. Rev. Cancer*. 2018. V. 18. P. 139–147.
8. *Romano G., Gawlinski A.* New frontiers in oncology: Immune checkpoint inhibitors in combination therapy // *Drugs of today (Barcelona, Spain: 1998)*. 2017. V. 53. P. 103–115.
9. *Yoon D.H., Osborn M.J., Tolar J., Kim C.J.* Incorporation of Immune Checkpoint Blockade into Chimeric Antigen Receptor T Cells (CAR-Ts): Combination or Built-In CAR-T // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. P. 340–356.
10. *Dock G.* The influence of complicating diseases upon leukemia // *Am. J. Med. Sci.* 1904. V. 127. P. 563–592.
11. *Kelly E., Russell S.J.* History of oncolytic viruses: genesis to genetic engineering // *Molecular Therapy: The Journal of the American Society of Gene Therapy*. 2007. V. 15. P. 651–659.
12. *Чумаков П. М., Морозова В. В., Бабкин И. В. и др.* Онколитические энтеровирусы // *Молекулярная биология*. 2012. Т. 46. С. 712–725.
13. *Lemay C.G., Keller B.A., Edge R.E. et al.* Oncolytic Viruses: The Best is Yet to Come // *Curr Cancer Drug Targets*. 2018. V. 18. P. 109–123.
14. *Lawler S.E., Speranza M.C., Cho C.F., Chiocca E.A.* Oncolytic Viruses in Cancer Treatment: A Review // *JAMA oncology*. 2017. V. 3. P. 841–849.
15. *Csatary L.K., Bakacs T.* Use of Newcastle disease virus vaccine (MTH-68/H) in a patient with high-grade glioblastoma // *JAMA*. 1999. V. 281. P. 588–589.
16. *Desjardins A., Gromeier M., Herndon J.E. et al.* Recurrent Glioblastoma Treated with Recombinant Poliovirus // *N. Engl. J. Med.* 2018. V. 379. P. 150–161.
17. *Matveeva O.V., Guo Z.-S., Shabalina S.V., Chumakov P.M.* Oncolysis by paramyxoviruses: multiple mechanisms contribute to therapeutic efficacy // *Molecular Therapy – oncolytics*. 2015. V. 2. P. 15011–15024.
18. *Dvorak H.F.* Leaky tumor vessels: consequences for tumor stroma generation and for solid tumor therapy // *Prog. Clin. Biol. Res.* 1990. V. 354a. P. 317–330.
19. *Pikor L.A., Bell J.C., Diallo J.-S.* Oncolytic viruses: exploiting cancer's deal with the Devil // *Trends in Cancer*. 2015. V. 1. P. 266–277.
20. *Breitbach C.J., Lichty B.D., Bell J.C.* Oncolytic Viruses: Therapeutics With an Identity Crisis // *EBioMedicine*. 2016. V. 9. P. 31–36.
21. *Katayama Y., Tachibana M., Kurisu N. et al.* Oncolytic Reovirus Inhibits Immunosuppressive Activity of Myeloid-Derived Suppressor Cells in a TLR3-Dependent Manner // *J. Immunol.* 2018. V. 200. P. 2987–2999.
22. *Samson A., Scott K.J., Taggart D. et al.* Intravenous delivery of oncolytic reovirus to brain tumor patients immunologically primes for subsequent checkpoint blockade // *Sci. Transl. Med.* 2018. V. 10. Iss. 422. eaam7571. P. 1–12.
23. *Bourgeois-Daigneault M.C., Roy D.G., Aitken A.S. et al.* Neoadjuvant oncolytic virotherapy before surgery sensitizes triple-negative breast cancer to immune checkpoint therapy // *Sci. Transl. Med.* 2018. V. 10. Iss. 422. eaao1641. P. 1–11.
24. *Warner S.G., Haddad D., Au J. et al.* Oncolytic herpes simplex virus kills stem-like tumor-initiating colon cancer cells // *Molecular Therapy Oncolitics*. 2016. V. 3. P. 16013.
25. *Demuth T., Berens M.E.* Molecular mechanisms of glioma cell migration and invasion // *J. Neurooncol.* 2004. V. 70. P. 217–228.
26. *Zhu Z., Gorman M.J., McKenzie L.D. et al.* Zika virus has oncolytic activity against glioblastoma stem cells // *J. Exp. Med.* 2017. V. 214. P. 2843–2857.
27. *Twumasi-Boateng K., Pettigrew J.L., Kwok Y.Y.E. et al.* Oncolytic viruses as engineering platforms for combination immunotherapy // *Nat. Rev. Cancer*. 2018. V. 18. P. 419–432.
28. *Collet G., Grillon C., Nadim M., Kieda C.* Trojan horse at cellular level for tumor gene therapies // *Gene*. 2013. V. 525. P. 208–216.
29. *Ворошилова М. К.* Вирусологические и иммунологические аспекты применения ЖЭВ при онкологическом лечении // *Вестник Российской академии наук*. 2018. Т. 18. С. 100–105.

- гических заболеваниях // Полезные для организма непатогенные штаммы энтеровирусов: профилактическое и лечебное их применение. М.: Изд-во Минздрава СССР, 1988. С. 24–29.
30. *Tarasova I.A., Chumakov P.M., Moshkovskii S.A., Gorshkov M.V.* Profiling modifications for glioblastoma proteome using ultra-tolerant database search: Are the peptide mass shifts biologically relevant or chemically induced? // *Journal of proteomics*. 2018. V. 191. P. 16–21.
31. *Лунатова А.В., Ле Т.Х., Сосновцева А.О. и др.* Влияние рецепторов клетки на чувствительность опухолевых клеток к энтеровирусам // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2018. № 166. С. 58–62.

COULD ONCOLYTIC VIRUSES PROVIDE A BREAKTHROUGH IN ONCOLOGY?

© 2019 P.M. Chumakov

*V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, RAS, Moscow, Russia;
M.P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development
of Immune and Biological Products, RAS, Moscow, Russia*

E-mail: chumakovpm@yahoo.com

Received: 03.12.2018

Revised version received: 03.02.2019

Accepted: 14.02.2019

Despite the long-term and intensive studies of the nature of cancer and the development of numerous anti-cancer drugs, the incidence of cancer is growing, and the five-year survival of cancer patients diagnosed at the advanced stages of the disease remains unacceptably low. The author examines the causes of the failures in cancer therapy, which are rooted in the very nature of malignant cells, as these cells can adapt and acquire resistance to almost any systemic therapy. In this regard, considerable hopes are associated with oncolytic viruses, which represent a distinct type of remedies capable of complex influences on the disease. In addition to their ability to directly kill cancer cells, oncolytic viruses can stimulate the natural processes of immune surveillance and elimination of cancer cells. Furthermore, oncolytic viruses can kill tumor-initiating cancer stem cells, that are highly resistant to chemo- and radiotherapy, and overcome the immune suppression of the tumor micro-environment. These features make oncolytic viruses unique anti-cancer agents that fight cancer cells by multiple natural mechanisms. To implement virus-mediated cancer therapy into broad medical practice the following are required: intensified studies on viral oncolysis are required and which would include a development of new advanced therapeutic viral strains; development of tests for predicting which virus strains from therapeutic panels are suitable for the patient; and, improvement of technologies for local and systemic delivery of oncolytic viruses to the tumor and metastases. Major changes would be also required in the practices of testing therapeutic drugs that accelerate the introduction of new viral strains into medical practice. Achievements in this direction help to overcome many old problems in the therapy of metastatic forms of malignant diseases.

Keywords: oncolytic viruses, cancer therapy, immune therapy, inhibitors of immune checkpoints, cancer progression, therapy resistance, cancer stem cells, tumor relapses, personalized medicine.