

doi: 10.35339/ekm.2019.01.02

УДК 616-006.6:615.37

*А.Ю. Гаврилов, И.А. Сенников, В.В. Лесной, А.С. Лесная, В.В. Полякова*  
*Харьковский национальный медицинский университет*

## СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД В ИММУНОТЕРАПИИ РАКА

В работе рассматриваются основные направления и результаты экспериментальных и клинических исследований иммунотерапии рака. Обсуждаются перспективы использования и реализации онколитического потенциала вирусов. Опираясь на результаты собственных исследований и анализ литературных данных, появилась необходимость всесторонней оценки возможностей применения онколитических вирусов в терапии пациентов с онкопатологией.

**Ключевые слова:** онколитические вирусы, иммунотерапия рака.

### Введение

Онколитические вирусы – это группа фагов (аденовирусы, вирусы кори, гриппа) или аттенуированные генномодифицированные штаммы, обладающие прямым (лизис, экспрессия токсических для клетки белков) или опосредованным (иммунная гибель клетки) цитолитическим действием на раковые клетки.

Высокий интерес к онколитическим вирусам обусловлен неудовлетворительными результатами специализированного лечения (хирургическое удаление, химиотерапия, радиотерапия) злокачественных новообразований. По данным бюллетеня канцер-реестра Украины (2017–2018) на учете находятся свыше 1 млн человек, а ежегодная выявляемость новых случаев онкопатологии составляет более 137 тыс., из них диагностирована III–IV стадия рака в 34,8 % случаев, при этом общий показатель смертности составляет 182,8 % на 100 тыс. населения [1].

Идея использования вирусов с целью улучшения результатов лечения онкобольных является не новой. Впервые о роли вирусов в лечении рака было сказано еще в начале XX века, когда было отмечено влияние вакцинации вирусом бешенства на течение рака шейки матки [2]. Описательные случаи успешного применения онковиротерапии периодически ошеломляли общественность. Так, в 1949 году описан «эффект вирусного гепатита» на те-

чение Ходжкинской лимфомы, когда больных опухолью добровольцев заражали плазмой крови или тканями больного вирусным гепатитом. Более актуальный научно аргументированный пример виротерапии описан в 1999 году в журнале *Journal of American Medical Association*, когда с помощью вируса болезни Ньюкасла был излечен пятнадцатилетний подросток с глиобластомой головного мозга [3]. Несмотря на более чем столетнюю историю изучения различных патогенных агентов в качестве терапии новообразований, только с развитием генной инженерии стало по-настоящему возможно широкое, безопасное практическое применение виротерапии, что способствовало появлению на фармакологическом рынке современных препаратов с доказательной базой: генно-модифицированный онколитический герпесвирус T-VEC (2015), штамм аденовируса ONYX-015, *Talimogene laherparepvec*, гендицин.

**Цель данной работы** – изучение основных направлений и результатов экспериментальных и клинических исследований иммунотерапии рака с последующей оптимизацией применения онколитических вирусов в терапии пациентов с онкопатологией.

### Материал и методы

На основании библиографического и аналитико-синтаксического методов проанализированы открытые наукометрические и рефе-

© А.Ю. Гаврилов, И.А. Сенников, В.В. Лесной и др., 2019

ративные базы данных PubMed, HINARI, Google Scholar.

### Результаты и их обсуждение

Модель разрушения опухолевого образования под воздействием виротерапии очень дискуссионна и различна для разных опухолей и вирусов. Однако мы можем утверждать, что это разрушение явно мультимодальное и опосредовано содружественным воздействием нескольких факторов. В ходе своего исследования мы сформировали модель взаимодействия онколитических вирусов с макроорганизмом (рис. 1).

Непосредственная реализация своего онколитического потенциала вирусом происходит после его прямого взаимодействия с опухолью. В зависимости от пути инфицирования: внутриопухолевый или системный, вирус контактирует с кровеносным руслом, где подвергается первичному влиянию защитных факторов, которые ему необходимо преодолеть для оказания цитолитического эффекта.

Иммунная система макроорганизма является препятствием для эффективного применения онколитических вирусов. Опыты с опухоль-антиген-специфическими Т-лимфоцитами, нагруженными онколитическими вирусами везикулярного стоматита и реовирусом *in vivo* показали минимальную нейтрализацию вирусных частиц даже при высоких титрах вирус-специфических нейтрализующих антител у животного [4]. В естественных условиях переносчиками вирусов могут быть как Т-лимфоциты, так и дендритные клетки (ДК), как для Newcastle disease virus, retrovirus, VSV and reovirus [5]. В качестве искусственных переносчиков исследуются разные клеточные линии, которые могли бы избирательно мигрировать в опухоль или даже контактировать с опухолевыми клетками – опухоль-специфические Т-клетки, cytokine-induced killer cells, tumor-associated macrophages, mesenchymal stem cells, granulocytes [6].

С другой стороны, лимитирующим фактором онковиротерапии является невозможность нивелировать вирусный процесс, сделав его минимально вредным для здоровых тканей и ограничив репликацию только опухолевыми клетками [7]. В поисках способа уменьшить вред вирусов было предложено одновременно заражать объект непатогенным вирусом или использовать вирусы, патогенные для одних видов животных, для лечения опухолей других видов. Так, наиболее удачным, на наш взгляд, примером является

опыт применения птичьего вируса. Вводимый мышам с карциномой брюшной полости, он вызывал значимый противоопухолевый ответ без проявлений вирусного заболевания [8]. Вирусы, с которыми человек редко контактирует в обычных условиях и против которых не имеет нейтрализующих антител (Seneca Valley virus), имеют преимущество перед распространёнными типами.

Мы отмечаем лучший ответ у пациентов с иммуносупрессией. Многие химиотерапевтические препараты сами по себе являются иммуносупрессорами, потому стоит вопрос о разработке правильного режима комбинированной химиовиротерапии, в которой вирус вводился бы на этапе иммуносупрессии.

Следующая проблема на пути улучшения виротерапии – проницаемость сосудов опухоли. Опухоль часто имеет повышенное интерстициальное давление по сравнению с давлением в сосудах, что затрудняет доставку терапевтических агентов (вирусов). Химиотерапия, убивая опухолевые клетки, несколько снижает внутриопухолевое интерстициальное давление и увеличивает экстравазацию и поступление веществ в опухоль, непосредственно не влияя на проницаемость сосудов [8–9].

Онколитические вирусы несут в себе два механизма противоопухолевого воздействия: прямой цитолиз опухолевых клеток и усиление противоопухолевого иммунитета. Среди всех иммунологических факторов, принимающих участие в защите организма от неоплазм (опухолей), главная роль принадлежит клеточной форме защиты. Наиболее активными клетками в разрушении опухоли являются CD8 Т-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) или Т-киллеры и Т-хелперы. Если ЦТЛ выполняют прямую киллерскую функцию, то Т-хелперы способствуют её успешной реализации через секрецию цитокинов (интерферон- $\gamma$ , стимулирующий макрофаги и увеличивающий активность НК-клеток).

Мы считаем, что основная задача адаптации вируса для использования его в качестве онколитического агента заключается в том, чтобы улучшить его тропность к клеткам опухоли с минимальным патогенным воздействием на нормальные клетки.

Некоторые вирусы имеют естественную селективность по отношению к опухолевым тканям, ввиду определённых особенностей её изменённой биологии, и могут применяться в естественном, немодифицированном виде. Среди таких вирусов – geovirus, parvovirus,

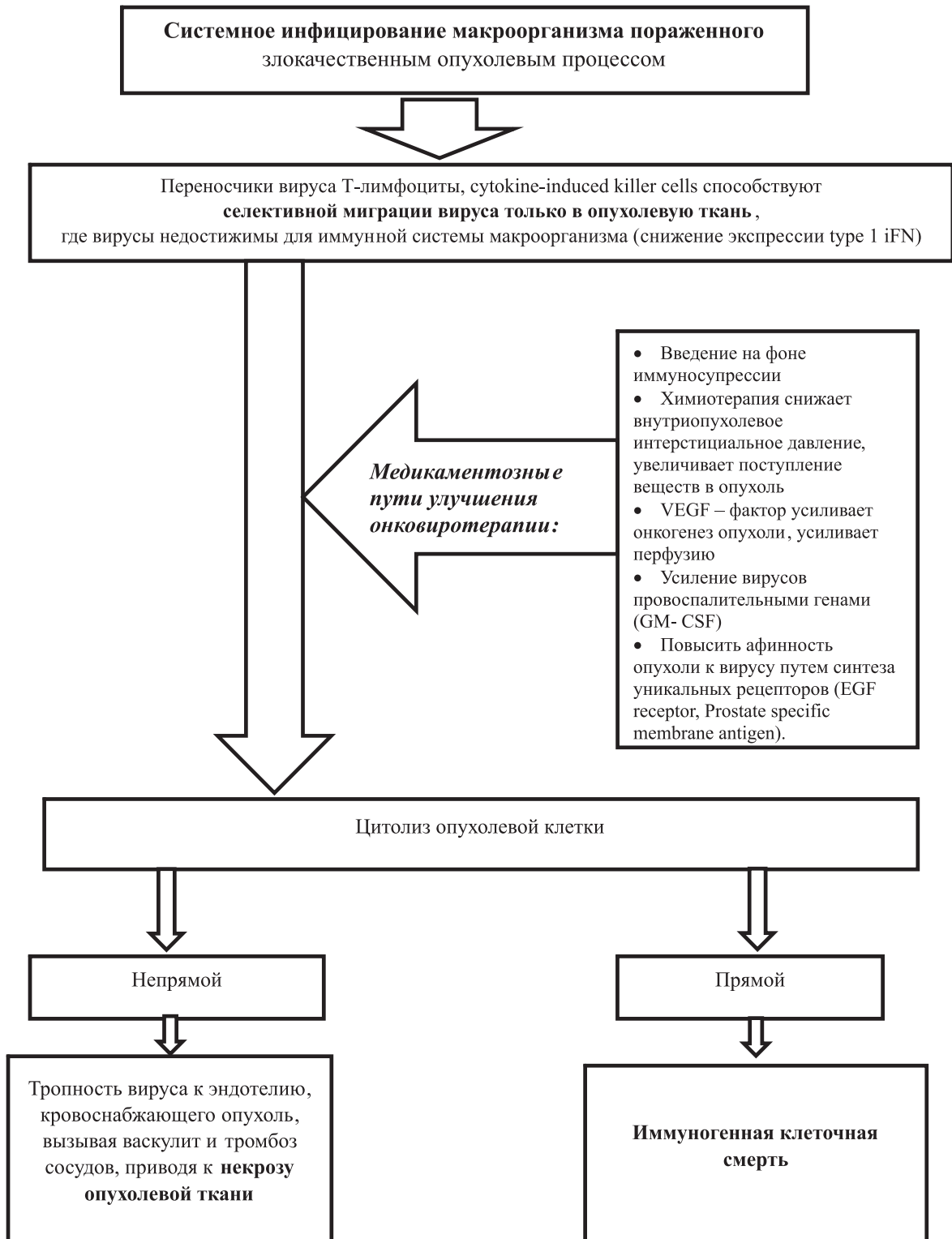


Рис. 1. Схема цитолиза опухолевой клетки

coxsackie virus, Newcastle disease virus. Сама по себе опухоль в связи с её иммуносупрессивным микроокружением является оптимальным местом для репликации вируса, который там не регистрируется «иммунным надзором» на ранних этапах. Ряд опухолей

проявляют сниженную экспрессию type I IFN, имеют мало рецепторов к нему, либо нарушенный сигнальный путь, который в норме ведет к торможению деления клетки и активации p 53. В таких условиях вирусы типа vesicular stomatitis virus, vaccinia, Newcastle

disease virus, mumps virus и другие имеют преимущество и беспрепятственно размножаются [9].

Зная особенности и отличия метаболических или сигнальных путей опухолевой клетки, отсутствие в ней или изменённую активность тех или иных функциональных белков, можно приспособить вирус и сделать его способным реплицироваться только в условиях нарушенного митотического клеточного функционирования.

Инфицирование опухолевой клетки вирусом приводит в конечном итоге к её лизису и инфицированию некоторого количества окружающих опухолевых клеток. Внутриопухолевые дендритные клетки-резиденты реагируют на вирусную инфекцию (регистрируя PAMP – pathogen-associated molecular patterns) и активируют неспецифический иммунный ответ, призывая НК-клетки, макрофаги и нейтрофилы. Некоторые вирусы (везикуловирус) посредством усиления выделения IL-23 внутриопухолевыми иммуноцитами увеличивают количество НК-рецепторов на клетках опухоли, делая их более уязвимыми.

Дендритные клетки, поглотив антигены вируса и опухоли, мигрируют в регионарный лимфоузел и презентуют антигены Т-лимфоцитам, активируя специфический иммунный ответ. Активированные антиген-специфичные Т-лимфоциты мигрируют в опухоль и продолжают разрушать её клетки. Также для некоторых вирусов была показана тропность к эндотелию сосудов, кровоснабжающих опухоль (предположительна связь с избытком VEGF). Инфицирование эндотелиальных клеток привлекает к ним нейтрофилы, развивается васкулит и тромбообразование в сосудах опухоли, возникает ишемический некроз опухолевой ткани.

До недавнего времени гибель опухолевых клеток вследствие воздействия терапевтических агентов рассматривалась в контексте неиммунной клеточной смерти. Иммунногенная клеточная смерть (ИКС) опухолевой клетки или иммунногенный апоптоз является сложным ответом опухолевой клетки на поражающие воздействия, в результате которого происходит как апоптозоподобная её гибель, так и активация специфического иммунного ответа на антигены опухоли (рис. 2).

Запуск ИКС происходит при воздействии агента на определенные структуры клеточного матрикса и требует участия активных форм кислорода (АФК). АФК запускают

стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР). Стресс ЭР является состоянием ЭР, при котором он либо подвергается избыточной синтетической нагрузке, в связи с чем не может справиться с потребностями по фолдингу белка (фолдинг – скручивание в третичную структуру) (физиологический стресс), либо синтезирует патологические белки, которые не может правильно скрутить в третичную структуру (патологический стресс) [10].

В клетках эукариотов присутствует защитный механизм против стресса ЭР – это unfolded protein response (UPR). UPR состоит из трансмембранных белков на ЭР, домены которых выступают как в просвет ЭР, так и в цитоплазму клетки: inositol-requiring protein 1 (IRE 1), PKR-like endoplasmic reticulum kinase (PERK), activating transcription factor-6 (ATF-6).

Данные белки в просвете ЭР связаны с шапероном glucose-regulated protein 78 (GRP78), который регистрирует не фолдинговые белки в ЭР и освобождает IRE 1, PERK, ATF-6; а они, в свою очередь, подвергаются активации путём гомодимеризации и аутофосфорилирования. Активированный PERK ингибирует синтез белков путём фосфорилирования eIF-2 $\alpha$  (proteinshut-offresponse); eIF-2 $\alpha$  запускает экспрессию ATF-4, тот, в свою очередь, GADD34, который и осуществляет аттенуацию (снижение) синтеза белка при ЭР стрессе. Активированный IRE 1 запускает экспрессию ферментов деградации белков. ATF-6 запускает экспрессию генов шаперонов, которые рефолдят нескрученные белки [11].

Но в случае, если работы комплекса UPR недостаточно для устранения стресса ЭР, описанная выше фаза адаптации сменяется фазой тревоги и происходит запуск сигнальных каскадов, таких как Fas-associated death domain protein (FADD)/caspase-8-dependent cell death, приводя к клеточной гибели.

Иммунногенность клеточной гибели определяется выделением ею в окружающую среду сигналов, которые свидетельствуют о нефизиологичности происходящего апоптоза – опасность-ассоциированные молекулярные паттерны (ОАМП) (алармины). ОАМП являются внутриклеточными молекулами, которые в норме не выделяются из неё, но при стрессе, травме или клеточной смерти выводятся в окружающие ткани, чтобы связаться с рецепторами иммунных клеток.

ЭР стресс, возникший в раковой клетке под действием онколитических вирусов, сопровождается появлением на поверхности

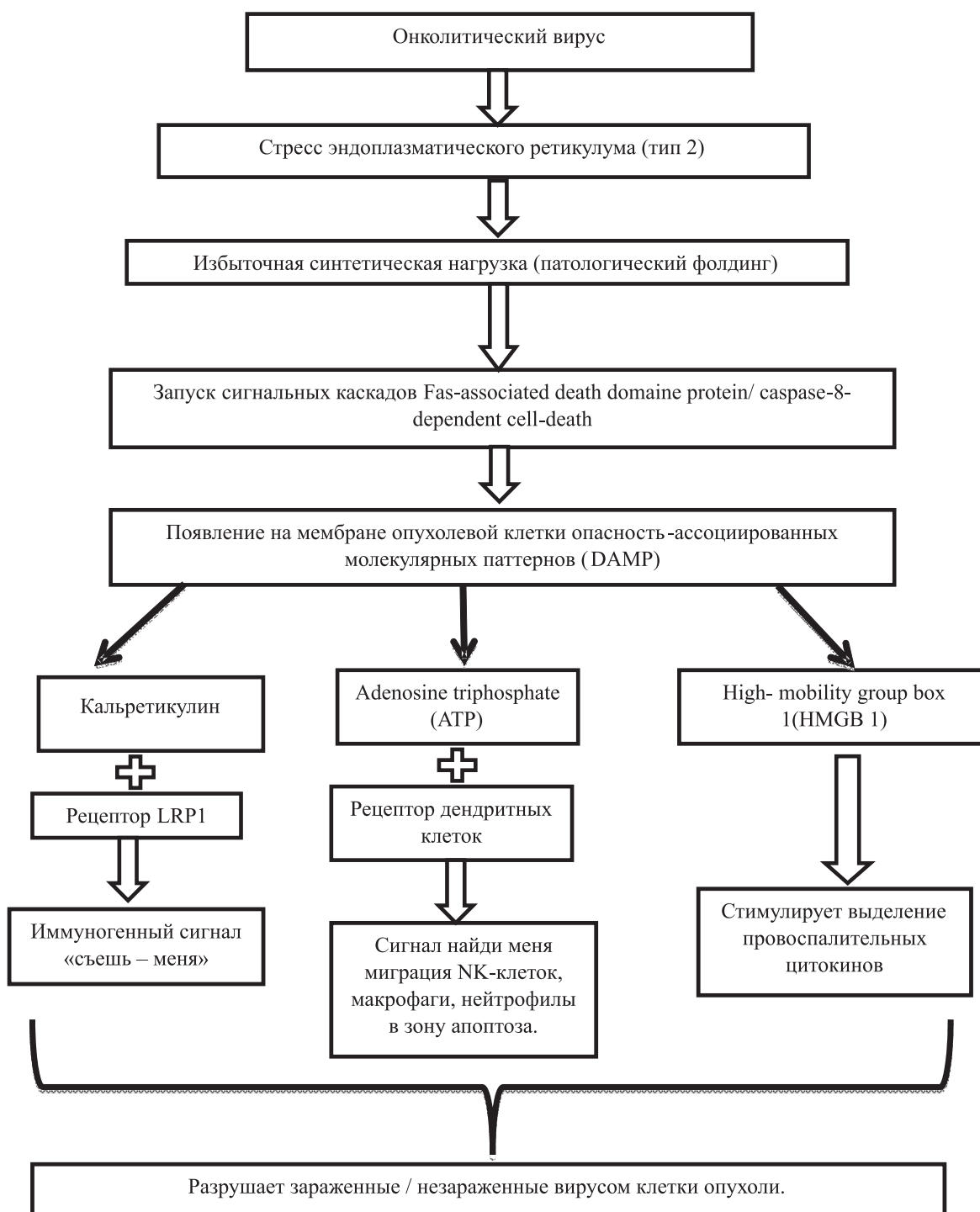


Рис. 2. Схема иммуногенной клеточной смерти

клеточной мембраны белков, служащих иммуногенным сигналом «съешь меня» для антиген-презентирующих клеток. Любая ИКС, независимо от причины возникновения индукера, сопровождается появлением на мембране кальретикулина (calreticulin) и выделением во внеклеточное пространство иммуномодулирующих молекул adenosine triphosphate (ATP) и high-mobility group box 1 (HMGB1).

Кальретикулин является белком-шапероном ЭР, его миграция из ЭР на поверхность клеточной мембраны является признаком начавшегося апоптоза ещё до появления морфологических изменений. Транслокация кальретикулина происходит вследствие его связывания с белком ERp57, и комплекс кальретикулин/ERp57 мигрирует на поверхность. На мембране кальретикулин связывается с

LRP1, low-density lipoprotein receptor-related protein 1.

Другой белок ИКС – HSP90, также мигрирует на поверхность мембраны и связывается с LRP1. Эти комплексы связываются со специфическим рецептором на мембране иммунной клетки, что и становится для неё иммуногенным сигналом «съешь меня». Часть кальретикулина выделяется также во внеклеточное пространство, действуя как провоспалительный агент и модулятор ДК: после воздействия кальретикулина последние выделяют IL-6, IL-8, ФНО-альфа, а также меняется механизм антиген-презентации с активацией CD8-Т-лимфоцитов. АТФ, являясь сигналом «найди-меня», связываются с P2Y2 рецепторами ДК, вызывая их миграцию в зону апоптоза. Кроме того, АТФ связывается с P2X7 рецепторами ДК, активирует комплекс NALP3-inflammasome, который является активатором каспазы-1 в моноцитах. Каспаза-1 служит протеазой белка-предшественника IL-1 $\beta$ ; таким образом, её активация повышает секрецию IL-1 $\beta$  ДК. IL-1 $\beta$  выступает в роли провоспалительного агента; он, вместе с презентацией антигенов опухоли, активирует CD 8 Т-клетки и запускает адаптивный противоопухолевый иммунный ответ [12].

Для ряда онколитических вирусов (adenovirus, measles virus, coxsackie virus B3) описанная картина ИКС является типичной, но не является идентичной. Онколитические

вирусы кажутся эффективным решением как индуктор ИКС – они размножаются в опухоли и вызывают ИКС длительное время, пока способны заражать другие опухолевые клетки; постоянно протекающая ИКС стимулирует активность низкоаффинных Т-клеток в течение длительного времени. Ещё одним существенным потенциально положительным отличием онколитических вирусов от других индукторов ИКС является то, что зараженная клетка кроме DAMP выделяет PAMPs – патоген-ассоциированные молекулярные паттерны, которые представляют собой структурные молекулы и продукты жизнедеятельности вируса (как при инфицировании нормальных неопухолевых тканей). Такое дополнительное стимулирование может усиливать активность иммунцитов и повышать эффективность антиген-презентации.

#### Вывод

Иммунная система играет центральную роль в реализации онколитического потенциала вирусов. Основная задача адаптации вирусов для их терапевтического использования – это повышение их селективности по отношению к опухолевым клеткам и снижение системной токсичности. Рассматриваемые в работе основные направления и результаты экспериментальных и клинических исследований иммунотерапии рака дали возможность всесторонне подойти к оценке целесообразности применения онколитических вирусов в терапии пациентов с онкопатологией.

#### Литература

1. Рак в Україні. Бюлетень Національного канцер-реєстру. № 20. – К., 2018. – 118 с.
2. *Lundstrom K.* Latest trends in cancer therapy applying viral vectors / K. Lundstrom // *Future Virol.* – 2017. – № 12. – P. 667–684.
3. *Lin Y.* Identification and characterization of alphavirus M1 as a selective oncolytic virus targeting ZAP-defective human cancers / Y. Lin, H. Zhang H, J. Liang et al. // *Proc. Natl. AcadSci. USA.* – 2016. – № 11. – P. 4504–4512.
4. *Lin E.* Oncolytic viral therapies / E. Lin, J. Nemunaitis // *Cancer Gene Ther.* – 2016. – № 11. – P. 643–664.
5. *Kaufman H. L.* Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs / H. L. Kaufman, F. J. Kohlhapp, A. Zloza // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2015. – № 14. – P. 642–662.
6. *Verheije M. H.* Retargeting of viruses to generate oncolytic agents / M. H. Verheije, P. J. Rottier // *Adv. Virol.* – 2017. – № 20. – P. 313–329.
7. *Marelli G.* Inflammation as target in cancer therapy / G. Marelli, A. Sica, L. Vannucci, P. Allavena // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2017. – № 14. – P. 35–57.
8. *Russell S. J.* Remission of disseminated cancer after systemic oncolytic virotherapy / S. J. Russell, M. J. Federspiel, K. W. Peng et al. // *Mayo Clin. Proc.* – 2014. – № 89. – P. 926–932.
9. *Ilett E.* Cytokine conditioning enhances systemic delivery and therapy of an oncolytic virus / E. Ilett, T. Kottke, O. Donnelly et al. // *Mol. Ther.* – 2014. – № 22. – P. 1851–1858.
10. *Goldufsky J.* Oncolytic virus therapy for cancer / J. Goldufsky // *Oncolytic Virother.* – 2013. – № 2. – P. 31–46.

11. Larocca C. Viral Vector-based Therapeutic Cancer Vaccines / C. Larocca, J. Schlom // *Cancer J.* – 2011. – № 17. – P. 359–369.

12. Martin N. T. Oncolytic virus combination therapy: Killing one bird with two stones / N. T. Martin, J. C. Bell // *Mol. Ther.* – 2018. – № 26. – P. 1414–1422.

#### References

1. Rak v Ukraini [Cancer in Ukraine] (2018). *Biuletyn Natsionalnoho kantser-reiestru – Bulletin of the National Chancery Register*. № 20, Kyiv, 118 p. [in Ukrainian].

2. Lundstrom K. Latest trends in cancer therapy applying viral vectors (2017). *Future Virol.*, vol. 212, pp. 667–684.

3. Lin Y., Zhang H., Liang J. et al. (2016). Identification and characterization of alphavirus M1 as a selective oncolytic virus targeting ZAP-defective human cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 11, pp. 4504–4512.

4. Lin E., Nemunaitis J. (2016). Oncolytic viral therapies. *Cancer Gene Ther.*, vol. 11, pp. 643–664.

5. Kaufman H.L., Kohlhapp F.J., Zloza A. (2015). Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 14, pp. 642–662.

6. Verheije M.H., Rottier P.J. (2017). Retargeting of viruses to generate oncolytic agents. *Adv. Virol.*, vol. 20, pp. 313–329.

7. Marelli G., Sica A., Vannucci L., Allavena P. (2017). Inflammation as target in cancer therapy. *Curr. Opin. Pharmacol.*, vol. 14, pp. 35–37.

8. Russell S.J., Federspiel M.J., Peng K.W. [et al.] (2014). Remission of disseminated cancer after systemic oncolytic virotherapy. *Mayo Clin. Proc.*, vol. 89, pp. 926–932.

9. Plett E., Kottke T., Donnelly O. et al. (2014). Cytokine conditioning enhances systemic delivery and therapy of an oncolytic virus. *Mol. Ther.*, vol. 22, pp. 1851–1858.

10. Goldufsky J. (2013). Oncolytic virus therapy for cancer. *Oncolytic Virother.*, vol. 2, pp. 31–46.

11. Larocca C, Schlom J. (2011). Viral Vector-based Therapeutic Cancer Vaccines. *Cancer J.*, vol. 17, pp. 359–369.

12. Martin N.T., Bell J.C. (2018). Oncolytic virus combination therapy: Killing one bird with two stones. *Mol. Ther.*, vol. 26, pp. 1414–1422.

**А.Ю. Гаврилов, І.А. Сеников, В.В. Лесний, А.С. Лесна, В.В. Полякова**

#### СУЧАСНИЙ ПІДХІД В ІМУНОТЕРАПІЇ РАКУ

В роботі розглянуто основні напрямки і результати експериментальних та клінічних досліджень імунотерапії раку. Обговорюються перспективи використання і реалізації онколітичного потенціалу вірусів. Спираючись на результати власних досліджень та аналіз літературних джерел, з'явилась можливість всебічно оцінити необхідність використання онколітичних вірусів у терапії хворих на онкопатологію.

**Ключові слова:** онколітичні віруси, імунотерапія раку.

**A.Yu. Gavrilov, I.A. Sennikov, V.V. Lesnoy, A.S. Lesnay, V.V. Poliakova**

#### MODERN APPROACH IN CANCER IMMUNOTHERAPY

The paper discusses the main directions and results of experimental and clinical studies of cancer immunotherapy. The prospects for the use and realization of the oncolytic potential of viruses are discussed. The results of our own research and analysis of literary data made it possible to comprehensively approach the assessment of the possibility of using oncolytic viruses in the treatment of patients with cancer.

**Keywords:** oncolytic viruses, cancer immunotherapy.

Надійшла до редакції 19.02.2019

#### Контактна інформація

Гаврилов Андрій Юрійович – асистент кафедри онкології Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, просп. Науки, 4.

Тел.: +380974451201.

E-mail: happylung@ukr.net.

ORCID: 0000-0001-8644-6887.

*Сенніков Ігор Анатолійович* – кандидат медичних наук, доцент кафедри онкології Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, просп. Науки 4.

Тел.: +380577041069.

E-mail: lesnay2617@gmail.com.

ORCID: 0000-0002-5690-2703.

*Лесний Вадим Вікторович* – кандидат медичних наук, асистент кафедри хірургії № 2 Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, просп. Науки, 4.

Тел.: +380956036119.

E-mail: mervalesnoy2015@ukr.net.

ORCID: 0000-0001-8257-2130.

*Лесна Аліна Станіславівна* – студентка 5 курсу 2-го медичного факультету Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, просп. Науки, 4.

Тел.: +380956870963.

E-mail: lesnaalina@ukr.net.

ORCID: 0000-0002-6045-1650.

*Полякова Вероніка В'ячеславівна* – студентка 5 курсу 2-го медичного факультету Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, просп. Науки, 4.

E-mail: lesnay2617@gmail.com.

Тел.: +380637737711.

ORCID: 0000-0001-8570-5584.