

DOI: 10.13376/j.cblls/2016138

文章编号: 1004-0374(2016)09-1025-08

溶瘤病毒与肿瘤治疗

潘海娇, 陈 琴, 黄承浩*, 夏宁邵

(厦门大学公共卫生学院, 分子疫苗学和分子诊断学国家重点实验室,
国家传染病诊断试剂与疫苗工程技术研究中心, 厦门 361102)

摘要: 溶瘤病毒是目前恶性肿瘤治疗领域中较有前景的新型基因治疗药物, 其通过选择性杀伤肿瘤细胞和诱导机体产生特异的抗肿瘤免疫两种途径来实现肿瘤靶向治疗的目的, 从而达到较好的抗肿瘤效果。现对溶瘤病毒的溶瘤机制、临床研究、联合治疗和当前挑战及未来展望等方面进行综述。

关键词: 溶瘤病毒; 溶瘤机制; 临床研究; 联合治疗

中图分类号: R730.54; R979.1 文献标志码: A

Oncolytic virus and cancer therapy

PAN Hai-Jiao, CHEN Qin, HUANG Cheng-Hao*, XIA Ning-Shao

(State Key Laboratory of Molecular Vaccinology and Molecular Diagnostics, National Institute of Diagnostics and Vaccine Development in Infectious Diseases, School of Public Health, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: Oncolytic virus are therapeutically promising anticancer viruses that selectively kill cancer cells and induce host anti-tumor immune responses. This review summarizes recent advances and progress in oncolytic virotherapy, including oncolytic mechanism, clinical study, combined therapy, challenges and future prospects.

Key words: oncolytic virus; oncolytic mechanism; clinical study; combined therapy

肿瘤是一类严重危害人类健康的疾病, 世界卫生组织国际癌症研究机构公布的最新数据显示: 2015 年全球癌症死亡人数超过 800 万, 其中中国癌症死亡人数 280 万左右^[1]。传统的肿瘤治疗方法中的放化疗和靶向药物治疗存在毒副作用大、易产生抗药性的缺点, 这些方法的肿瘤治疗效果都不是很理想, 因此, 急需开发其他有效的肿瘤治疗方法。溶瘤病毒疗法是一种利用病毒特异性地在肿瘤细胞中复制继而杀伤肿瘤细胞, 并刺激机体产生特异性抗肿瘤免疫反应的新型肿瘤治疗方法。相比其他肿瘤治疗方法, 溶瘤病毒疗法具有复制高效、杀伤效果好和毒副作用小等特点, 已经成为肿瘤治疗研究领域的新热点^[2]。美国 Amgen 公司的 I 型单纯疱疹重组病毒 T-VEC (talimogene laherparepvec) 在治疗晚期黑色素瘤患者的 III 期临床试验中显示出良好的肿瘤治疗效果, 并成为首个获得美国 FDA 批准上市的溶瘤病毒类治疗药物。溶瘤病毒在黑色素瘤治疗上取得的成功引起了科学家对溶瘤病毒疗法更

广泛的关注, 溶瘤病毒的研究得到了进一步的推动。

至今用于溶瘤治疗的病毒高达数十种, 包括 I 型单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus type 1, HSV-1)、腺病毒、呼肠孤病毒、新城疫病毒、脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒、麻疹病毒、人类免疫缺陷病毒、腮腺炎病毒、牛痘病毒、水泡性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus, VSV) 和流感病毒等^[3]。溶瘤病毒按发展历程大致可分为 4 种类型: (1) 野生型病毒株或自然减毒株, 如新城疫病毒、柯萨奇病毒和呼肠孤病毒等; (2) 基因工程选择性减毒株, 主要是删除病毒某些关键基因而实现病毒复制的肿瘤选择性, 如 ONYX-015、G207 等; (3) 基因加载型病毒株, 主要是在前述两种溶瘤病毒基础上加载外源治疗基因, 如加载粒细胞巨噬细胞集落刺激因子

收稿日期: 2016-01-03; 修回日期: 2016-03-28

基金项目: 厦门市科技计划项目(3502Z20131001)

*通信作者: E-mail: huangchenghao@xmu.edu.cn; Tel: 13625008303

(granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 的 JX-594 和 T-VEC 等; (4) 转录靶向型病毒株, 即在病毒必需基因前插入组织或肿瘤特异性启动子来控制溶瘤病毒在肿瘤细胞内复制, 如 G92A 等。

为了进一步增强溶瘤病毒的有效性和安全性, 研究者正致力于利用分子遗传学手段优化及改造溶瘤病毒, 以期增强溶瘤病毒对肿瘤的特异性杀伤及其介导的抗肿瘤免疫^[4]。

1 溶瘤病毒的溶瘤机制

溶瘤病毒治疗肿瘤的关键在于其能特异性地在肿瘤细胞中复制, 病毒复制的直接后果是导致肿瘤细胞溶解和死亡, 新释放的子代病毒又能继续感染周围的肿瘤细胞, 实现病毒对肿瘤细胞的反复杀伤。更重要的是, 溶瘤释放的肿瘤抗原还可以刺激机体产生特异性抗肿瘤免疫来进一步增强肿瘤的治疗效果。归结起来, 溶瘤病毒一般通过以下三种机制发挥抗肿瘤作用: (1) 肿瘤选择特异性机制; (2) 病毒介导的肿瘤杀伤机制; (3) 抗肿瘤免疫反应机制。

1.1 肿瘤选择特异性机制

溶瘤病毒特异性靶向肿瘤主要通过病毒选择性感染肿瘤细胞和在肿瘤细胞中选择性复制两种途径来实现。特异性感染肿瘤细胞主要是对病毒感染宿主所需的关键蛋白进行修饰, 降低病毒对正常组织的感染, 从而实现病毒对肿瘤细胞的特异性感染。由于在肿瘤细胞中柯萨奇-腺病毒受体 (coxsackie-adenovirus receptor, CAR) 的表达水平往往很低^[5], 因此, 溶瘤腺病毒感染正常细胞的能力比肿瘤细胞更好。为了提高腺病毒感染肿瘤细胞的特异性, 一种策略是将单链抗体嵌入腺病毒的纤维蛋白中, 使得病毒纤维蛋白在抗体的协助下与肿瘤细胞表面高表达的某些受体结合 (如表皮生长因子受体 EGFR), 从而达到选择性感染的目的^[6]; 另一种策略是将腺病毒的纤维蛋白改造成异型嵌合纤维蛋白, 进而增强病毒感染肿瘤细胞的效率并降低毒性, 如溶瘤腺病毒 Ad (Δ 24RGD)^[7]。溶瘤病毒在肿瘤细胞中选择性复制主要利用以下几种缺陷的信号通路来靶向肿瘤细胞。(1) 靶向 p53 信号通路。p53 介导的细胞凋亡是病毒感染细胞时发生的一种应激反应, 细胞借助这种机制能够避免病毒的进一步增殖及扩散。腺病毒 E1B55 kD 蛋白能够阻断 p53 的活性, 研究者们利用这个特点开发了 *E1B55kD* 基因缺陷的溶瘤腺病毒, 使得该腺病毒突变体能够在 p53 突变或缺

陷的肿瘤细胞中复制, 而无法在含有正常 p53 基因的正常细胞中复制^[8]。(2) 靶向 IFN/双链 RNA 依赖性的蛋白激酶 (PKR) 信号通路。干扰素信号通路是正常细胞内抵御病毒感染的关键环节, 干扰素能够激活 PKR 激酶来启动抗病毒炎症反应。VSV 和 HSV-1 型溶瘤病毒都被证实可通过该途径靶向干扰素信号通路紊乱的肿瘤细胞^[9]。(3) 靶向其他异常活化的信号通路。Ras 信号通路激活的肿瘤细胞对病毒感染的防御较低, 因而溶瘤病毒可在 Ras 信号通路异常的肿瘤细胞中实现大量复制^[10]。E2F 转录因子在肿瘤细胞中往往表达上调, 能促进被感染的细胞进入 S 期, 从而有利于溶瘤病毒大量复制^[11]。(4) 实现病毒靶向肿瘤细胞的另一种常用策略是调控病毒复制所必需基因的表达, 即在病毒必需基因前插入组织和 (或) 肿瘤特异性启动子来实现病毒仅在肿瘤细胞内复制^[12]。常用的调控序列包括存活蛋白 (survivin) 启动子、人端粒酶逆转录酶 (hTERT) 启动子、癌胚抗原 (CEA) 启动子、甲胎蛋白 (AFP) 启动子、缺氧反应元件 (HRE) 等。

1.2 病毒介导的肿瘤杀伤机制

溶瘤病毒成功靶向并感染肿瘤细胞后, 病毒以细胞作为加工厂进行大量复制, 最终达到裂解肿瘤细胞的目的。肿瘤细胞裂解后释放的子代病毒又继续感染邻近的肿瘤细胞, 直至病毒被机体的免疫系统清除^[13]。

溶瘤病毒有多种方式杀伤肿瘤细胞。(1) 直接由病毒介导的细胞毒杀伤作用: 病毒利用肿瘤细胞的能量、原料并以其为场所来实现自身增殖, 一方面导致肿瘤细胞生长受阻, 另一方面扩增出大量的子代病毒裂解细胞。此外, 某些病毒如腺病毒可产生具有细胞毒性和溶瘤活性的物质, 腺病毒 E3 区编码的死亡蛋白可直接介导肿瘤细胞溶解^[14]。(2) 胸腺嘧啶激酶 (thymidine kinase, HSV-TK) 结合无毒的环氧鸟苷 (gancyclovir, GCV) 系统是肿瘤自杀基因治疗中常用的酶前药系统^[15]。被 TK 基因磷酸化后的 GCV 能够干扰肿瘤细胞 DNA 合成, 并促进肿瘤细胞发生凋亡。由于不同种类的病毒对肿瘤杀伤能力不同, 某些病毒如腺病毒可携带该系统来增强其杀伤肿瘤的效果。

除了上述两种杀伤肿瘤的方式, 溶瘤病毒还可以通过破坏肿瘤血管系统的方式来达到间接杀伤肿瘤的目的。由于肿瘤的生长依赖肿瘤血管系统提供养料, 因此, 破坏肿瘤血管系统能够有效地抑制肿瘤的生长。与其他治疗方法相比, 溶瘤病毒破坏肿

瘤血管的特点使其在肿瘤治疗方面具有明显的优势。研究表明, VSV 型溶瘤病毒通过静脉给药的方式可以在体内直接感染并破坏肿瘤血管, 而对正常血管没有影响^[16]。VSV 型溶瘤病毒特异性破坏肿瘤血管有利于病毒在肿瘤组织中扩散并进行复制, 继而将嗜中性粒细胞等免疫细胞招募到被病毒感染的肿瘤位点, 启动机体内由嗜中性粒细胞介导的炎症反应, 从而导致肿瘤血管内微血栓的形成。肿瘤血管内的微血栓影响血管向肿瘤组织提供养料, 最终导致肿瘤细胞增殖减缓并且诱导其凋亡, 因此极大地加强了 VSV 型溶瘤病毒的抗肿瘤活性^[17]。

1.3 抗肿瘤免疫反应机制

溶瘤病毒本身对于机体而言是异源物, 病毒进入机体会引发免疫系统的清除, 而病毒-宿主-肿瘤细胞三者之间的相互作用错综复杂^[18]: 一方面, 机体抗病毒免疫应答是限制病毒增殖的主要因素, 这减弱了病毒的抗肿瘤作用; 另一方面, 免疫系统对感染病毒的肿瘤细胞的杀伤作用得以加强。(1) 病毒感染肿瘤细胞后, 可诱导淋巴细胞和抗原递呈细胞 (APCs) 浸润肿瘤感染位点, 感染病毒的肿瘤细胞由于病毒抗原被呈递从而被细胞毒淋巴细胞识别并杀伤; (2) 病毒裂解肿瘤细胞后释放的肿瘤抗原可增强 APCs 的抗原递呈能力, 从而产生针对肿瘤抗原的特异性免疫反应, 最终形成长效的抗肿瘤免疫应答。

溶瘤病毒能诱发机体产生持续的免疫记忆, 这对防止肿瘤的复发和转移至关重要^[12]。肿瘤本身处于免疫抑制的微环境中, 溶瘤病毒会刺激机体产生很强的免疫反应, 因而溶瘤病毒能在肿瘤微环境中募集及活化肿瘤浸润性淋巴细胞, 诱导机体产生抗病毒反应^[19]。借助溶瘤病毒起始的抗病毒反应有助于打破乃至逆转肿瘤的免疫耐受状态。更重要的是, 溶瘤病毒能进一步将肿瘤特异性抗原暴露并递呈给抗原特异性的 CD8⁺T 细胞, 形成潜在有效的抗肿瘤免疫。溶瘤病毒还被证实能诱导免疫细胞产生 I 型干扰素和表达免疫共刺激分子, 激活抗原递呈信号通路^[20]。

2 溶瘤病毒的临床研究

最早报道溶瘤病毒治疗肿瘤的个案可追溯到 1904 年, 一名患有慢性髓细胞性白血病的 42 岁妇女在感染流感病毒后出现白细胞数急剧减少的现象。1912 年, 又发现一名宫颈癌患者在感染狂犬病毒后肿瘤随之消退的案例^[21]。20 世纪 50 年代至 80

年代间也发生了几起病毒或疫苗消退肿瘤的案例, 包括水痘病毒治疗慢性淋巴细胞白血病: 一位患有淋巴白血病的 6 岁男童在未经肿瘤治疗的情况下, 其病情在水痘发作后几天得到明显缓解, 但病情缓解一个月后该男童最终由于病情恶化去世。牛痘疫苗对于急性淋巴细胞白血病, 以及麻疹病毒对于白血病、伯基特氏淋巴瘤、霍奇金恶性淋巴瘤, 都具有明显的肿瘤抑制效果^[22-24]。

在出现上述野生型病毒能够抑制肿瘤的案例后, 科学家开始利用天然减毒后的溶瘤病毒进行肿瘤治疗试验, 但是野生型或减毒后的溶瘤病毒无论是在肿瘤治疗安全性上还是效果上都有一定的欠缺, 因此, 有必要对病毒进行遗传改造提高其安全性和治疗效果。随着肿瘤生物学、遗传学、分子生物学等学科的发展, 越来越多经过遗传学改造的溶瘤病毒在肿瘤治疗中显示出较好的安全性和治疗效果。目前已有多种类型的溶瘤病毒进入临床研究阶段, 部分溶瘤病毒已经完成临床试验并获得批准上市。我国在溶瘤病毒肿瘤治疗药物的研发上近年来也取得很大突破。2005 年, 中国国家食品药品监督管理局 (SFDA) 批准了重组人 5 型腺病毒 (H101) 与化疗结合治疗难治性晚期鼻咽癌, 这是世界上首个上市的溶瘤病毒药物。2014 年, 北京奥源和力生物技术有限公司研发的重组人 GM-CSF 单纯疱疹病毒注射液 (OrienX010) 完成了 I 期临床试验, 试验结果表明, OrienX010 安全性良好并有一定的抗肿瘤效果。以下将对三种不同类型的代表性溶瘤病毒进行重点介绍。

2.1 野生型病毒株或天然减毒株

目前自然状态下未经修饰或连续传代后毒力衰减即用于临床研究的溶瘤病毒有新城疫病毒、呼肠孤病毒、流行性腮腺炎病毒、西尼罗河病毒、腺病毒、牛痘病毒等^[25]。新城疫病毒是一种 RNA 病毒, 可特异性地在肿瘤细胞中选择性复制, 基于新城疫病毒开发的多种溶瘤病毒已广泛应用于肿瘤治疗中, 其中最具代表性的 NDV-HUJ 和 PV701 已经在临床试验中取得不错的肿瘤治疗效果。NDV-HUJ 是一株天然减毒的 B1 疫苗株, 研究表明, 其能在肿瘤细胞中选择性地复制^[26]。NDV-HUJ 被用来直接静脉或瘤内注入患者体内进行复发性神经胶质瘤的治疗, 研究表明, 患者对于瘤内或静脉给予不同剂量的 NDV 病毒均具有良好的耐受性。在招募的 11 例患者中, 1 例患者治疗后肿瘤完全消退^[27]。PV701 是一株经减毒的 MK107 疫苗株, 具有肿瘤选择复

制性且可直接溶解肿瘤, 其对肿瘤细胞的敏感性要高于对正常细胞的 1 000 倍^[28]。在确定 PV701 安全性和最大耐受剂量的 I 期临床试验中, 对 79 例晚期实体瘤患者进行 4 种剂量的 PV701 静脉注射, 结果显示患者仅出现肿瘤局部不良反应、流感样症状以及静脉注射常规不良反应等副作用, 说明患者对 PV701 的耐受性良好。高剂量治疗组的患者治疗应答率较高, 患者治疗后 4~30 个月内未发现肿瘤进展, PV701 显示出较好的抗肿瘤效果^[28-29]。

Reolysin 是一株野生型的呼肠孤病毒 (血清型 3-Dearing 株), 其能特异地靶向那些 Ras 信号通路过度激活的肿瘤细胞。研究表明, 在未感染呼肠孤病毒的小鼠荷瘤模型中, Reolysin 静脉给药能有效抑制肿瘤的生长。在治疗晚期实体瘤患者的 I 期临床试验中, 对 19 例患者进行 Reolysin 经皮瘤内注射治疗, 结果显示患者的肿瘤应答率为 37%, 治疗后其中 1 例患者发生完全应答, 2 例患者发生部分应答^[30]。另一项有 25 例晚期肿瘤患者参与的 I 期临床试验显示, Reolysin 联合紫杉醇治疗有高达 88% 的疾病控制率^[31]。在 Reolysin 治疗转移性黑色素瘤患者的 II 期临床试验中, 尽管 Reolysin 被发现能造成患者 75%~90% 的肿瘤坏死, 但并未观察到明显的肿瘤客观应答, 提示弱毒株 Reolysin 单药治疗晚期黑色素的效果并不理想, 因此研究者将临床试验方案调整为 Reolysin 与紫杉醇联合治疗晚期黑色素瘤^[32]。目前, Reolysin 针对卵巢癌、头颈癌和胶质瘤的 II 期临床试验正在开展之中。

2.2 基因工程选择性减毒株

溶瘤腺病毒 dl1520 是基因工程选择性减毒株的代表之一, 由腺病毒两种血清型 Ad2/Ad5 杂交而来, 该病毒同时还敲除了 *E1B-55K* 和 *E3B* 基因, 是第一种应用在人身上的经基因工程改造的复制选择型病毒^[33]。在 dl1520 用于治疗头颈癌患者的 II 期临床试验中, 以瘤内直接注射的方式进行标准治疗或间隔治疗, 结果显示前者的治疗效果优于后者, 14% 的患者肿瘤发生部分消退, 41% 的患者病情稳定^[34]。治疗肝癌的 I 期临床试验表明, 无论是瘤内、肝动脉或静脉的注射方式给药, 患者均能较好耐受。尽管临床试验中 dl1520 具有一定的抗肿瘤作用, 但单药治疗的疗效有限。将 dl1520 与化疗药物 5-FC 或顺铂联用, 超过一半的患者发生部分或完全的治疗应答, 而且平均应答时间超过 6 个月^[35]。H101 是在 dl1520 基础上进一步敲除了 *E3-ADP* 基因, 该基因的敲除能够促进病毒从感染的细胞中释放出

来。在 H101 治疗 123 例头颈癌和食道癌的肿瘤患者的 III 期临床试验中, H101 结合化学治疗组比化疗对照组有更显著的疗效, 疾病缓解率高达 75.6%^[36]。

另一种具有代表性的基因工程选择性减毒株为敲除 $\gamma 34.5$ 基因的 HSV-1 病毒, $\gamma 34.5$ 为双拷贝的神经毒基因, 其编码产物为 HSV-1 病毒在神经细胞中增殖所必需。当 $\gamma 34.5$ 被删除时, 病毒在神经细胞及其他生长缓慢的细胞中的复制被抑制。在治疗晚期神经胶质瘤的 III 期临床试验中, HSV1716 被证实能在瘤细胞内增殖并实现有效杀伤, 未发现治疗带来的严重不良反应^[37]。在针对黑色素瘤患者的 I 期临床试验中, HSV1716 被证实对人黑色素瘤有杀伤作用, 且对正常黑色素细胞杀伤较小。整个治疗过程中肿瘤患者对 HSV1716 具有较好的耐受性, 体内针对 HSV-1 的中和抗体并没有显著升高。G207 是在删除双拷贝 $\gamma 34.5$ 的基础上同时敲除了 *ICP6* 基因, 能高效地抑杀肿瘤而不会损伤正常细胞。临床研究表明, G207 对黑色素瘤、乳腺癌、结肠癌、胆囊癌、胃癌、头颈部癌、卵巢癌、胰腺癌和前列腺癌等肿瘤均有较好的治疗作用^[38]。在一项治疗复发性脑胶质瘤的 I 期临床试验中, G207 被报道与放疗联合可显著提高肿瘤患者的疾病控制率^[39]。

2.3 基因加载型病毒株

基因加载型病毒株以 JX-594 为代表, JX-594 是将牛痘病毒的 *TK* 基因替换为 *GM-CSF* 基因而获得的溶瘤痘病毒。*TK* 基因的缺失使得 JX-594 具有较好的肿瘤选择性, 其表达的 GM-CSF 可诱导骨髓前体细胞活化并募集树突细胞, 增强粒细胞和巨噬细胞的活性, 使机体产生抗肿瘤免疫应答反应。评价 JX-594 安全性和有效性的 I 期临床试验在 23 例已发生转移的结直肠癌、黑色素瘤、卵巢癌以及肺癌患者中展开, 患者分别接受了 5 种不同剂量 JX-594 病毒的单针静脉注射治疗, 结果显示, 注射后的病毒成功地富集于肿瘤细胞中并进行了有效复制, 且表现出较好的抗肿瘤活性^[40]。JX-594 目前被重点开发用于治疗原发性和转移性肝癌患者, 在剂量确定性 II 期临床试验中, 高剂量 JX-594 治疗组的平均存活时间可延长至 14.1 个月, 而低剂量治疗组的平均存活时间只有 6.7 个月^[41]。在另一项 JX-594 联合索拉非尼 (Sorafenib) 治疗晚期肝癌的临床研究中, 患者首先进行 JX-594 治疗再接受 Sorafenib 治疗, 结果显示联合治疗能提高药物的抗肿瘤活性, JX-594 能增强肿瘤对血管内皮生长因子受体

(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR) 抑制剂的敏感性^[42]。2013年, 在一项 TRAVERGE IIb 临床试验中, JX-594 用于治疗对 Sorafenib 无效的晚期肝癌患者, 治疗效果并未达到预期的治疗终点, 表明 JX-594 作为肝癌患者的二线治疗药物并无优势。

T-VEC 是首个上市的基因加载型溶瘤病毒, 最初由 BioVex 公司开发, 而后被安进公司收购。T-VEC 是在 HSV-1 JS1 病毒株基础上改造而来, 其双拷贝的 γ 34.5 基因被 *GM-CSF* 基因所取代, 同时敲除了 *ICP47* 基因。T-VEC III 期临床试验以 295 例转移性黑色素瘤为对象进行瘤内注射, 结果显示, 经过直接瘤内注射后患者的总体应答率为 26.4%, 两年存活率超过 50%。结果还显示, T-VEC 能减小注射部位黑色素瘤的大小以及已转移到身体其他部位(非注射部位)的肿瘤大小, 患者的整体生存时间可被延长 4.4 个月。III 期临床研究中经常观察到的副作用仅为疲乏、发冷和发热^[43]。

值得注意的是, 溶瘤病毒的临床治疗效果由病毒本身特点、给药途径和给药剂量等几个方面因素共同决定, 因而未来开展溶瘤病毒临床试验时要综合考虑这几个方面的因素, 摸索出最佳临床治疗方案才能将溶瘤病毒肿瘤治疗效果发挥到最大。

3 溶瘤病毒与其他药物的联合治疗

尽管溶瘤病毒在肿瘤治疗上取得一定疗效, 具有非常广泛的应用前景, 但是单一的治疗手段疗效有限, 单独依靠溶瘤病毒完全清除肿瘤具有一定的难度, 因此, 将溶瘤病毒与其他治疗手段联合应用于肿瘤治疗是非常有必要的。

3.1 抗肿瘤靶向药物与溶瘤病毒的联合治疗

目前被报道的协同增强溶瘤病毒治疗的靶向药物主要有三类: 表观遗传学药物、靶向 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的抑制剂和受体酪氨酸激酶抑制剂。表观遗传学改变在肿瘤发病中起着重要的作用, 因而表观遗传学药物已经成为了癌症研究的热点。组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACi) 是一种被广泛研究的表观遗传学药物, 目前已有多个品系完成临床试验并获批上市。HDACi 不仅可通过抑制肿瘤细胞增殖和诱导细胞周期阻滞等方式促进肿瘤细胞的分化和凋亡, 还可以通过抑制干扰素信号途径来降低机体的抗病毒免疫应答。组蛋白去乙酰化酶抑制剂 HDAC6 被证实能够显著提高 HSV-1 溶瘤病毒在神经胶质瘤细胞中的复制水

平, 在动物模型中将其与溶瘤病毒联合治疗神经胶质瘤有更优的治疗效果^[44]。去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素 A 一方面能上调胞内 CAR 表达, 使肿瘤细胞更易感染腺病毒, 另一方面它还具有抗病毒及抗血管生成能力, 可与 HSV-1 协同杀伤肿瘤^[45]。PI3K/Akt 信号通路是应激条件下调节细胞增殖和凋亡的重要信号通路, 该信号通路的异常激活往往导致肿瘤细胞发生无限增殖。有研究表明, Akt 抑制剂 Tricibine 能够协同溶瘤病毒 MG18L 诱导胶质瘤细胞发生凋亡, 两者联合治疗小鼠神经胶质瘤的疗效明显优于单药治疗^[46]。雷帕霉素是 mTOR 信号通路的抑制剂, 可协同腺病毒和 HSV-1 杀伤不易感的肿瘤细胞^[47]。蛋白酪氨酸激酶(protein tyrosine kinase, PTKs) 抑制剂具有抑制肿瘤血管生成和抗肿瘤细胞生长的多重作用。舒尼替尼是一种小分子受体酪氨酸激酶抑制剂, 它不仅能通过抑制胞内 PKR 的活性来提高 VSV 溶瘤病毒在肿瘤细胞中的复制, 还能通过抑制 VEGFR 信号通路破坏肿瘤血管生成来增强溶瘤病毒在瘤内的感染能力, 从而显著增强溶瘤病毒的治疗效果^[48]。

3.2 化疗药物与溶瘤病毒的联合治疗

传统化疗药物一般是针对肿瘤细胞无限增殖的特性而被开发出来用于肿瘤治疗, 然而, 它们对具有连续增殖能力的正常细胞(如造血细胞等)杀伤效果同样显著, 因而导致机体处于全身性免疫抑制状态。环磷酰胺是烷化剂类药物, 在肿瘤细胞中被代谢成细胞毒性物质来发挥抗肿瘤杀伤作用, 此外, 它还报道为一种免疫抑制药物。环磷酰胺能通过明显抑制机体先天性免疫应答和中和抗体产生来增强 HSV-1 型溶瘤病毒在肿瘤中的复制和扩散, 继而扩大溶瘤病毒的复制杀伤效果^[49]。吉西他滨是一种破坏细胞复制能力的二氟核苷类抗代谢物抗癌药, 除了具有环磷酰胺类似的免疫抑制效果外, 还能增强机体产生针对肿瘤抗原的特异性 T 细胞应答, 已经被报道能够协同增强包括腺病毒、呼肠孤病毒和牛痘病毒在内的多种溶瘤病毒的抗肿瘤活性^[50]。此外, 替莫唑胺、米托蒽醌等化疗药物也被报道能与溶瘤病毒联用提高肿瘤的治疗疗效^[51]。

3.3 免疫检验点阻断剂与溶瘤病毒的联合治疗

肿瘤免疫疗法是当前肿瘤治疗领域最具前景的研究方向之一, 其原理是激活自身的免疫系统 T 细胞或抗原呈递细胞来控制并杀伤肿瘤细胞。目前已经上市的免疫检验点阻断剂有细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4, CTLA-4)

单抗和程序性死亡分子 1 (programmed cell death-1, PD-1) 单抗, 它们在恶性黑色素瘤的治疗上已经取得巨大成功^[52]。研究表明, 免疫检验点阻断剂仅对部分的实体瘤患者具有较好的疗效, 而对大部分实体瘤患者效果不明显, 归结其原因是这类药物完全依赖于肿瘤患者瘤内浸润性 T 淋巴细胞的数量。由于溶瘤病毒对肿瘤细胞的感染能够诱导大量的免疫细胞浸润肿瘤, 从而使得免疫检验点阻断剂能够发挥其应有的功能。因此, 从治疗原理上来看, 溶瘤病毒和免疫检验点阻断剂联合具有很好的互补性, 溶瘤病毒能够用其诱导的抗肿瘤免疫特性来弥补免疫检验点阻断剂依赖于 T 细胞浸润的缺陷^[53]。美国安进公司 T-VEC 溶瘤病毒和施贵宝公司的 CTLA-4 抗体联合治疗晚期恶性黑色素瘤患者的 I 期临床试验结果表明, 联合治疗能大大提高肿瘤治疗客观应答率 (联合治疗 58% vs 单药治疗 26.4%)。此外, 溶瘤病毒还可以与其他免疫检验点抗体如 PD-1、TIM-3 (T 细胞免疫球蛋白黏蛋白 3) 联用, 进一步扩大单药治疗的效果^[54]。相信随着免疫治疗研究的深入, 溶瘤病毒与其他免疫治疗方法联合治疗肿瘤会得到进一步发展。

4 问题与展望

虽然溶瘤病毒在动物试验和临床试验中显现出良好的安全性和有效性, 但目前溶瘤病毒疗法也存在一些问题, 它们制约着溶瘤病毒疗法的治疗效果及可应用性。通常说的肿瘤靶向治疗是指针对全身性治疗, 溶瘤病毒靶向治疗目前较适用于局部治疗, 而溶瘤病毒系统性的全身治疗仍需要克服以下几个问题^[3, 55]: (1) 溶瘤病毒如何克服人血液中和抗体及补体的杀伤作用并成功到达病灶; (2) 溶瘤病毒要如何穿过组织血管内皮细胞层, 避免内皮细胞的转胞吞作用, 继而转导到靶细胞; (3) 肿瘤细胞总是被基质细胞形成的膜状结构所包围, 溶瘤病毒需要穿过基质及膜结构到达肿瘤, 这大大降低了病毒在肿瘤内的扩散效率。针对这些问题有两个解决办法^[56]: 一是进一步改造病毒, 提高病毒的感染和扩散能力, 使其经受住转胞吞作用及中和抗体的杀伤作用; 二是采用细胞运载病毒的方式, 如利用间叶质干细胞运送病毒到靶向组织^[57]。随着新一代基因工程编辑工具及生物信息学技术的进步, 溶瘤病毒的安全性、高效性会得到进一步提升, 利用溶瘤病毒治疗肿瘤的技术在广度与深度上必将得到更充分的发展。

[参 考 文 献]

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66: 115-32
- [2] Bell JC, McFadden G. Oncolytic viruses--replicating virus therapeutics for the treatment of cancer. *Curr Opin Virol*, 2015, 13: viii-ix
- [3] Russell SJ, Peng KW, Bell JC. Oncolytic virotherapy. *Nat Biotechnol*, 2012, 30: 658-70
- [4] Turnbull S, West EJ, Scott KJ, et al. Evidence for oncolytic virotherapy: where have we got to and where are we going? *Viruses*, 2015, 7: 6291-312
- [5] Li Y, Pong RC, Bergelson JM, et al. Loss of adenoviral receptor expression in human bladder cancer cells: a potential impact on the efficacy of gene therapy. *Cancer Res*, 1999, 59: 325-30
- [6] van der Poel HG, Molenaar B, van Beusechem VW, et al. Epidermal growth factor receptor targeting of replication competent adenovirus enhances cytotoxicity in bladder cancer. *J Urol*, 2002, 168: 266-72
- [7] Cripe TP, Dunphy EJ, Holub AD, et al. Fiber knob modifications overcome low, heterogeneous expression of the coxsackie virus-adenovirus receptor that limits adenovirus gene transfer and oncolysis for human rhabdomyosarcoma cells. *Cancer Res*, 2001, 61: 2953-60
- [8] Bischoff JR, Kirn DH, Williams A, et al. An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science*, 1996, 274: 373-6
- [9] Balachandran S, Barber GN. PKR in innate immunity, cancer, and viral oncolysis. *Methods Mol Biol*, 2007, 383: 277-301
- [10] Gong J, Mita MM. Activated ras signaling pathways and reovirus oncolysis: an update on the mechanism of preferential reovirus replication in cancer cells. *Front Oncol*, 2014, 4: 167
- [11] Jakubczak JL, Ryan P, Gorziglia M, et al. An oncolytic adenovirus selective for retinoblastoma tumor suppressor protein pathway-defective tumors: dependence on E1A, the E2F-1 promoter, and viral replication for selectivity and efficacy. *Cancer Res*, 2003, 63: 1490-9
- [12] Kaufman HL, Kohlhapp FJ, Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14: 642-62
- [13] Tong AW, Senzer N, Cerullo V, et al. Oncolytic viruses for induction of anti-tumor immunity. *Curr Pharm Biotechnol*, 2012, 13: 1750-60
- [14] Wang Y, Hallden G, Hill R, et al. E3 gene manipulations affect oncolytic adenovirus activity in immunocompetent tumor models. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 1328-35
- [15] Tyynela K, Sandmair AM, Turunen M, et al. Adenovirus-mediated herpes simplex virus thymidine kinase gene therapy in BT4C rat glioma model. *Cancer Gene Ther*, 2002, 9: 917-24
- [16] Breitbach CJ, De Silva NS, Falls TJ, et al. Targeting tumor vasculature with an oncolytic virus. *Mol Ther*, 2011, 19: 886-94
- [17] Breitbach CJ, Arulanandam R, De Silva N, et al. Oncolytic vaccinia virus disrupts tumor-associated vasculature in

- humans. *Cancer Res*, 2013, 73: 1265-75
- [18] Lemay CG, Rintoul JL, Kus A, et al. Harnessing oncolytic virus-mediated antitumor immunity in an infected cell vaccine. *Mol Ther*, 2012, 20: 1791-9
- [19] Gujar SA, Lee PW. Oncolytic virus-mediated reversal of impaired tumor antigen presentation. *Front Oncol*, 2014, 4: 77
- [20] Woller N, Gurlevik E, Fleischmann-Mundt B, et al. Viral infection of tumors overcomes resistance to PD-1-immunotherapy by broadening neoantigenome-directed T-cell responses. *Mol Ther*, 2015, 23: 1630-40
- [21] Sinkovics J, Horvath J. New developments in the virus therapy of cancer: a historical review. *Intervirology*, 1993, 36: 193-214
- [22] Zygiert Z. Hodgkin's disease: remissions after measles. *Lancet*, 1971, 1: 593
- [23] Bierman HR, Crile DM, Dod KS, et al. Remissions in leukemia of childhood following acute infectious disease: staphylococcus and streptococcus, varicella, and feline panleukopenia. *Cancer*, 1953, 6: 591-605
- [24] Asada T. Treatment of human cancer with mumps virus. *Cancer*, 1974, 34: 1907-28
- [25] Roberts MS, Groene WS, Lorence RM, et al. Naturally occurring viruses for the treatment of cancer. *Discov Med*, 2006, 6: 217-22
- [26] Lazar I, Yaacov B, Shiloach T, et al. The oncolytic activity of Newcastle disease virus NDV-HUJ on chemoresistant primary melanoma cells is dependent on the proapoptotic activity of the inhibitor of apoptosis protein Livin. *J Virol*, 2010, 84: 639-46
- [27] Freeman AI, Zakay-Rones Z, Gomori JM, et al. Phase I/II trial of intravenous NDV-HUJ oncolytic virus in recurrent glioblastoma multiforme. *Mol Ther*, 2006, 13: 221-8
- [28] Hotte SJ, Lorence RM, Hirte HW, et al. An optimized clinical regimen for the oncolytic virus PV701. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 977-85
- [29] Pecora AL, Rizvi N, Cohen GI, et al. Phase I trial of intravenous administration of PV701, an oncolytic virus, in patients with advanced solid cancers. *J Clin Oncol*, 2002, 20: 2251-66
- Morris DG, Feng X, DiFrancesco LM, et al. REO-001: A phase I trial of percutaneous intralesional administration of reovirus type 3 dearing (Reolysin®) in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs*, 2013, 31: 696-706
- [30] Comins C, Spicer J, Protheroe A, et al. REO-10: a phase I study of intravenous reovirus and docetaxel in patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res*, 2010, 16: 5564-72
- [31] Galanis E, Markovic SN, Suman VJ, et al. Phase II trial of intravenous administration of Reolysin® (reovirus serotype-3-dearing strain) in patients with metastatic melanoma. *Mol Ther*, 2012, 20: 1998-2003
- [32] Habib NA, Sarraf CE, Mitry RR, et al. E1B-deleted adenovirus (dl1520) gene therapy for patients with primary and secondary liver tumors. *Hum Gene Ther*, 2001, 12: 219-26
- [33] Nemunaitis J, Khuri F, Ganly I, et al. Phase II trial of intratumoral administration of ONYX-015, a replication-selective adenovirus, in patients with refractory head and neck cancer. *J Clin Oncol*, 2001, 19: 289-98
- [34] Opyrchal M, Aderca I, Galanis E. Phase I clinical trial of locoregional administration of the oncolytic adenovirus ONYX-015 in combination with mitomycin-C, doxorubicin, and cisplatin chemotherapy in patients with advanced sarcomas. *Methods Mol Biol*, 2009, 542: 705-17
- [35] Xia ZJ, Chang JH, Zhang L, et al. Phase III randomized clinical trial of intratumoral injection of E1B gene-deleted adenovirus (H101) combined with cisplatin-based chemotherapy in treating squamous cell cancer of head and neck or esophagus. *Chin J Cancer*, 2004, 23: 1666-70
- [36] Todo T. Oncolytic virus therapy using genetically engineered herpes simplex viruses. *Hum Cell*, 2002, 15: 151-9
- [37] Hu JC, Coffin RS, Davis CJ, et al. A phase I study of OncoVEXGM-CSF, a second-generation oncolytic herpes simplex virus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 6737-47
- [38] Markert JM, Razdan SN, Kuo HC, et al. A phase I trial of oncolytic HSV-1, G207, given in combination with radiation for recurrent GBM demonstrates safety and radiographic responses. *Mol Ther*, 2014, 22: 1048-55
- [39] Cripe TP, Ngo MC, Geller JI, et al. Phase 1 study of intratumoral Pexa-Vec (JX-594), an oncolytic and immunotherapeutic vaccinia virus, in pediatric cancer patients. *Mol Ther*, 2015, 23: 602-8
- [40] Breitbart CJ, Moon A, Burke J, et al. A phase 2, open-label, randomized study of Pexa-Vec (JX-594) administered by intratumoral injection in patients with unresectable primary hepatocellular carcinoma. *Methods Mol Biol*, 2015, 1317: 343-57
- [41] Heo J, Breitbart CJ, Moon A, et al. Sequential therapy with JX-594, a targeted oncolytic poxvirus, followed by sorafenib in hepatocellular carcinoma: preclinical and clinical demonstration of combination efficacy. *Mol Ther*, 2011, 19: 1170-9
- [42] Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 2780-8
- [43] Nakashima H, Kaufmann JK, Wang PY, et al. Histone deacetylase 6 inhibition enhances oncolytic viral replication in glioma. *J Clin Invest*, 2015, 125: 4269-80
- [44] Liu TC, Castelo-Branco P, Rabkin SD, et al. Trichostatin A and oncolytic HSV combination therapy shows enhanced antitumoral and antiangiogenic effects. *Mol Ther*, 2008, 16: 1041-7
- [45] Haagenen EJ, Kyle S, Beale GS, et al. The synergistic interaction of MEK and PI3K inhibitors is modulated by mTOR inhibition. *Br J Cancer*, 2012, 106: 1386-94
- [46] Fu X, Tao L, Rivera A, et al. Rapamycin enhances the activity of oncolytic herpes simplex virus against tumor cells that are resistant to virus replication. *Int J Cancer*, 2011, 129: 1503-10
- [47] Arulanandam R, Batenchuk C, Varette O, et al. Microtu-

- bule disruption synergizes with oncolytic virotherapy by inhibiting interferon translation and potentiating bystander killing. *Nat Commun*, 2015, 6: 6410
- [48] Hofmann E, Weibel S, Szalay AA. Combination treatment with oncolytic Vaccinia virus and cyclophosphamide results in synergistic antitumor effects in human lung adenocarcinoma bearing mice. *J Transl Med*, 2014, 12: 197
- [49] Esaki S, Goshima F, Kimura H, et al. Enhanced antitumoral activity of oncolytic herpes simplex virus with gemcitabine using colorectal tumor models. *Int J Cancer*, 2013, 132: 1592-601
- [50] Gomez-Gutierrez JG, Nitz J, Sharma R, et al. Combined therapy of oncolytic adenovirus and temozolomide enhances lung cancer virotherapy *in vitro* and *in vivo*. *Virol*, 2015, 487: 249-59
- [51] Jacob JA. Cancer immunotherapy researchers focus on refining checkpoint blockade therapies. *JAMA*, 2015, 314: 2117-9
- [52] Rojas JJ, Sampath P, Hou W, et al. Defining effective combinations of immune checkpoint blockade and oncolytic virotherapy. *Clin Cancer Res*, 2015, 21: 5543-51
- [53] Zamarin D, Holmgaard RB, Subudhi SK, et al. Localized oncolytic virotherapy overcomes systemic tumor resistance to immune checkpoint blockade immunotherapy. *Sci Transl Med*, 2014, 6: 226ra32
- [54] Ferguson MS, Lemoine NR, Wang Y. Systemic delivery of oncolytic viruses: hopes and hurdles. *Adv Virol*, 2012, 2012: 805629
- [55] Wong HH, Lemoine NR, Wang Y. Oncolytic viruses for cancer therapy: overcoming the obstacles. *Viruses*, 2010, 2: 78-106
- [56] Kim J, Hall RR, Lesniak MS, et al. Stem cell-based cell carrier for targeted oncolytic virotherapy: translational opportunity and open questions. *Viruses*, 2015, 7: 6200-17