

Veijo Hukkanen ja Seppo Ylä-Herttua

Virusvektorit syövän hoidossa

Virusvektorien käyttö syövän hoidossa on nopeasti kehittyvä uusi tutkimusalue. Sekä lisääntymiskyvyttömiä että lisääntymiskykyisten onkolyttisten virusten monet ominaisuudet sopivat hyvin syövän hoitoon. Virusvektorit voidaan myös varustaa sytotoksilla siirtogeeneillä tai molekyyileillä, jotka vahvistavat elimistön immuunipuolustusta syöpäkudosta kohtaan. Ensimmäiset virusvektoreihin perustuvat hoidot on Euroopassa ja Yhdysvalloissa hyväksytty kliiniseen käyttöön pitkälle edenneen melanooman sekä hoitoresistenttien B-soluleukemioiden ja lymfoomien hoidossa. Sytolyttiset ja immuunivastetta stimuloivat geenihoidot ovatkin nopeasti tulossa onkologisten hoitomahdollisuuksien joukkoon suomalaisessa terveydenhuollossa. Esittelemme yleisimmät syövän hoidossa käytetyt virusvektorit sekä niiden käyttömahdollisuudet pahanlaatuisten kasvainten hoidossa.

Viruksista johdettujen geeninkuljettimien eli virusvektoreiden kehittäminen vaikeiden sairauksien hoitoon on ajankohtainen lääkekehityksen suuntaus. Yli 3 000 kliinistä geeni- ja virushoitotutkimusta on käynnissä tai valmistunut, ja valtaosa näistä on kohdistunut syöpätautien hoitoon. Edenneeseen ihomelanoomaan tarkoitettulle virushoidolle on jo Yhdysvaltojen ja EU:n lääkeviranomaisten myöntämä myyntilupa (1,2). Seurantatutkimuksista on kertynyt lisätietoja tämän uuden hoitomuodon turvallisuudesta, ja ne vaikuttavat yleisesti tietämykseen syövän virushoidoista.

Kasvainten tuhoamiseen kehitetyt onkolyttiset virukset ovat muuntogeenisia tai luonnon viruksia, jotka infektoivat kasvainsoluja hajottaen niitä mutta säästävät normaalia solukkoa virustuholta. Nykyaikainen onkolyttinen virushoito pyrkii hyödyntämään immunologisia mekanismeja herättämällä tai tehostamalla kasvainimmuuniteettia, jolloin hoitomuotoa kutsutaan immunoviroterapiaksi (3). Eri vaikutusmekanismeilla toimivien syöpälääkkeiden tai -hoitojen yhdistämistä onkolyttiseen virushoitoon tutkitaan intensiivisesti.

Kasvainten hoitoihin on jo vuosikymmenten ajan pyritty soveltamaan ihmisen ja eläinkunnan viruksia. Patogeenisiä luonnon viruskantoja on käytetty syöpäkudoksen infektoimiseen

ja mahdollisen syöpäimmuuniteetin kehittämiseen, ja tulokset ovat olleet varsin vaihtelevia (4,5). Käynnissä on kliinisiä syövän hoitotutkimuksia luonnonvirustenkin osalta (**TAULUKKO**). Näitä geenimuuntamattomia viruksia ovat muun muassa reovirukset, pikornaviruksiin kuuluva coxsackie A21 -virus sekä rotan parvovirus H-1. Inaktivoitujen influenssarokoteviruksen on havaittu tehostavan syöpäimmuuniteettia kokeellisissa tautimalleissa kasvaimen ruiskutettuna (6).

Eräitä lisääntymiskykyisiä onkolyttisiä viruksia on kehitetty sopeuttamalla luonnonkannan virusta lisääntymään syöpäsolukoissa. Useimmiten onkolyttiset virukset kuitenkin kehitetään yhdistelmä-DNA-tekniikoilla poistamalla virusten tauti- eli virulenssigeenejä ja lisäämällä virusgenomiin siirtogeenejä, kuten lääkeherkkyyssigeenejä tai immunologisesti vaikuttavia sytokiinien tai kemokiinien geenejä.

Rationaalinen virusten muokkaaminen syöpäkudosta tuhoaviksi biologisiksi lääkkeiksi tuli mahdolliseksi geenitekniikan menetelmien kehityksen myötä 1980- ja 1990-luvuilla. Adeno- ja herpes simplex -viruksista (HSV) muokattiin jo 1990-luvun alussa poistogeenisia muunnelmia, joilla oli kyky lisääntyä tietyissä syöpäsolukoissa mutta ei normaalissa kudoksessa. Virusvektorien rationaalinen kohdenta-

TAULUKKO. Esimerkkejä kliinisissä tutkimuksissa käytetyistä onkolyttisistä viruksista ja niillä suoritettavista yhdistelmähoitotutkimuksista (<https://clinicaltrials.gov>).

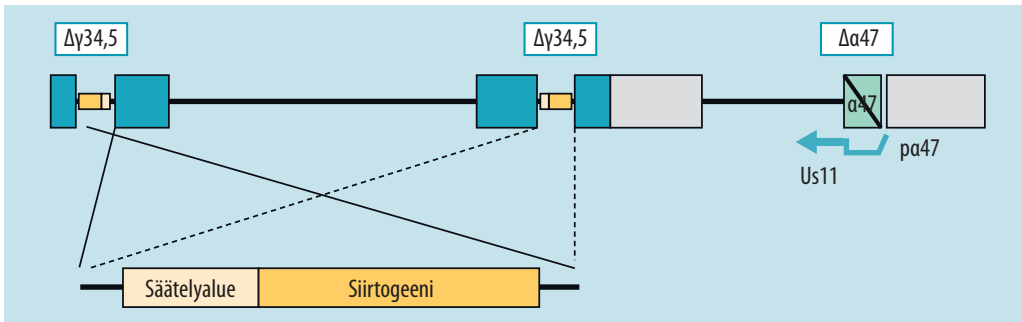
Virus tai virusryhmä	Valmiste	Siirtogeeni	Käyttöaihe	Kliininen vaihe	Yhdistelmähoito	
Adenovirus	Sitimageeniseradenoveekki GC0070 ONCOS-102 LOAd703	Tymidiinikinaasi (tk) GM-CSF GM-CSF CD40L;4-1BBL	Gliooma Virtsarakkosityöpä Melanooma Melanooma	III II/III I, II I/IIa	Gansikloviiri – Pembrolitsumabi Gemsitabiini, paklitakseli, atetsolitsumabi	
	Enadenotusireevi (ColoAd1) TILT-123	– TNF-alfa, interleukini 12	Kolorektaalisyöpä Melanooma	I, II I	– –	
Herpes simplex -virus (HSV)	Talimogeeni laherparepveekki (T-vec) –	GM-CSF	Melanooma (IIIB,C; IVM1a) Melanooma (III-IV)	IV II, III	– Pembrolitsumabi, ipilimumabi	
	R1716	–	Rintasyöpä	III	Ipilimumabi, nivolumabi	
	G207	Beetagalaktosidaasi	Kiinteät kasvaimet	I	–	
	HF10	–	Lasten aivokasvaimet	I	Sädehoito	
	OH2 (HSV-2)	GM-CSF	Melanooma	II I, II	Ipilimumabi Pembrolitsumabi	
Pikorna-virukset	Cavatak (Coxsackie A21) PVS-RIPO (poliovirus) (Rigvir; Echovirus 7)	– – –	Melanooma, keuhkosityöpä Gliooma	I I –	Pembrolitsumabi, ipilimumabi – –	
	Reovirus	Pelareorep, Reolysiini	–	Haimasyöpä	I	Pembrolitsumabi
			–	Multippeli myelooma	I	Nivolumabi
–			Rintasyöpä	II	Avelumabi, paklitakseli	
Retrovirus	Toca511	Sytosiinideaminaasi	Aivokasvaimet	II, III	5-fluorosytosiini	
			Kiinteät kasvaimet	I	5-fluorosytosiini	
Vacciniavirus (isorokko-rokotevirus)	Pexa-Vec (JX-594)	GM-CSF, beetagalaktosidaasi	Kolorektaalisyöpä Maksasolusyöpä	I, II III	Tremelimumabi, durvalumabi Sorafenibi	
	TG6002	Sytosiinideaminaasi-UPRTaasi-fuusiogeeni	Glioblastooma	II	5-flusytosiini	
Vesicular stomatitis -virus (VSV)	VSV-IFNβ-NIS	Natriumjodidisymporter (NIS)	Keuhkosityöpä, maksasolusyöpä	I	Pembrolitsumabi	
Tuhkarokko-virus	MV-NIS	Natriumjodidisymporter (NIS)	Multippeli myelooma Munasarjasyöpä	II II	– –	
Parvovirus	Parvovirus H-1, ParvOryx	–	Glioblastooma	I, II	–	

minen on mahdollista muuntamalla virusten pintaproteiineja tai geeninsäätelyalueita (5,7). Onkolyttisiä viruksia on kohdennettu solutyypikohtaisesti liittämällä virusgenomiin mikroRNA-kohdesekvenssejä, jotka hiljentävät viruksen normaalissa solukossa tai kohde-eliimen ulkopuolella (8–11).

TAULUKOSSA on esimerkkejä erilaisista viruksista ja virusryhmistä, joita on käytetty syövän hoidossa kliinisissä tutkimuksissa ja joiden yhdistämistä muihin lääkehoitoihin tutkitaan aktiivisesti.

Kliinisessä käytössä olevat syövän virushoidot

Euroopassa ja Yhdysvalloissa hyväksyttiin vuonna 2015 lääkevalmisteena käytettäväksi ensimmäinen onkolyttinen virus, herpes simplex -virukseen (HSV) pohjautuva talimogeenila-herparepveekki (T-vec) (1,2). Sen käyttöaihe on leikkaushoitoon soveltumattomien, paikallisesti tai imusolmukkeisiin levinneiden melanoomien hoito (levinneisyysasteet IIIB, IIIC, IVM1a).



KUVA 1. Lisääntymiskykyisen onkolyttisen HSV-vektorin kaavamainen rakenne (1). HSV-1-luonnonkannan viruksesta on poistettu sen neurovirulenssigeeni γ 34.5 sekä viruksen immuuniväistögeeni α 47. Kaavio esittää HSV-1-pohjaisen virusvektorin koko genomia. Merkintä Δ tarkoittaa geeninpoistoa. Neurovirulenssigeenin tilalle molempiin käänteisiin toistojaksoihin voidaan sijoittaa siirtogeeni. T-vec-geenihoitoviruksessa siirtogeeninä toimii ihmisen GM-CSF-tekijän geeni, ja sitä ohjaava sytomegaloviruksen säätelyalue (pCMV). Välittömän varhaisen α 47-geenin viereinen *Us11*-geeni ilmentyy nyt α 47-geenin säätelyalueen ohjaamana, jolloin se vahvistaa viruksen onkolyttistä vaikutusta.

Kiinassa on hyväksytty pään ja kaulan kasvainten hoitoon adenovirukseen pohjautuva H101 (Oncorine), joka on kohdennettu geeninpoistolla p53-puutteellisiin syöpäsoluihin. H101 on samanlainen kuin länsimaissa 1990-luvulla kehitetty ja tutkittu Onyx-015-adenovirus, jolle ei kuitenkaan haettu myyntilupaa.

Eräissä Itä-Euroopan maissa on melanooman hoitoon hyväksytty myös RIGVIR-niminen valmiste, joka perustuu luonnonkannan echovirus 7 -pikornavirukseen. Valmisteen sisältämät virusmäärät ovat kuitenkin osoittautuneet minimaalisiksi, eikä laajempaan hyväksymiseen tarvittavaa näyttöä valmisteen tehosta ole olemassa (12).

Onkolyttisen virushoidon turvallisuus.

T-vec-virushoidosta on jo kertynyt lisätietoa kolmannen vaiheen tutkimusten tarkemmista analyyseista sekä seurantatutkimuksista, joten tarkastelemme tätä virushoitoa esimerkkinä onkolyttisen virushoidon tehosta ja turvallisuudesta. T-vec on poistogeeninen herpes simplex-virus, johon on liitetty GM-CSF-sytokiinin (granulocyte-macrophage colony stimulating factor; granyloosyytti-makrofagikasvutekijä) geeni tehostamaan immunologista vastetta kasvainta kohtaan (KUVA 1). T-vec-virusrungosta on pysyvästi eliminoitu neurovirulenssigeeni γ 34.5, joten sillä ei ole kykyä aiheuttaa vakavia tulehduksia immunokompetenteille henkilöille, ja kliinisesti havaittavat viruksen reaktivoitumiset ovat hyvin epätodennäköisiä (1).

Neurovirulenssitekijän poisto vastaa viruksen kohdentumisesta kasvainsoluihin. HSV:n immuuniväistötekijän ICP47 puuttuminen viruksesta edistää osaltaan virus- ja kasvaintigeenien esittelyä infektoidussa kasvainkudoksessa. Hoito toteutetaan ruiskuttamalla melanoomakasvaimeen ensimmäisellä kerralla pieni virusannos (10^6 PFU eli infektoivaa yksikköä/ml). Tämä alkuannos varmistaa HSV-spesifisen immuunivasteen syntymisen potilaalle. Kolmen viikon kuluttua jatketaan hoitoa kahden viikon välein annettavalla hoitoannoksella (10^8 PFU/ml), kunnes vastetta ei enää saada tai hoidettu kasvainlesio on hävinnyt.

T-vec-virushoidon hyväksymisen perusteenä oli kolmannen vaiheen OPTiM-tutkimus (13,14). Sen tuloksia on käsitelty tarkemmin toisaalla (1,2). Tutkimuksessa kestävän hoitovasteen saavutti virushoidolla 19 % melanoomapotilaista (aste IIIB–IVM1c), kun taas vertailuhoito (GM-CSF-injektiot) johti 1,4 %:lla kestävään hoitovasteeseen. Onkolyttisen viruksen hyväksyminen syöpälääkkeeksi tällaisenaan oli pieni askel melanoomapotilaalle, mutta suuri harppaus geenihoidolle ja virologialle. Myöhemmät kliiniset tutkimushankkeet T-vec-yhdistelmähoidoista immuunivasteen vapauttajalääkkeiden kanssa ovat johtaneet huomattavasti parempiin hoitovasteisiin (jäljempänä).

OPTiM-tutkimus ja sen jälkeiset seuranta-tutkimukset ovat tuottaneet hyödyllistä tietoa

virushoidon turvallisuudesta. Kasvaimeen ruis-kutettavan T-vec-hoidon seurantatutkimukses-sa, joka käsitti 60 melanoomapotilasta (levin-neisyysasteet IIIB-IVM1c), selvitettiin viruk-sen erittymistä, jakaamaa elimistössä ja mah-dollista tarttuvuutta kontaktihenkilöihin (15). Virusviljelyllä todennettua infektiokykyisen viruksen erittymistä havaittiin vain injektio-n kohteena olleen melanoomaleesion pinnalta otetuissa näytteissä (1,1 % näytteistä positiivisia) alustavan virusannoksen tai sitä seuraavan ensimmäisen hoitoannoksen jälkeen. Näytteet haavasidoksen ulkopinnalta, suun limakalvoilta ja anogenitaalialueelta olivat viljelynegatiivisia.

T-vec-spesifisellä PCR-testillä tutkittiin viruksen DNA:n esiintymistä potilaiden näyt-teissä sekä potilaiden niiltä kontaktihenkilöiltä ja hoitohenkilöiltä, joilla epäiltiin herpesinfek-tiota. Kontakti- tai hoitohenkilöiltä ei löytynyt T-vec-DNA:ta. Potilaiden virtsanäytteet olivat T-vec-DNA-positiivisia kolmen ensimmäisen injektio-n yhteydessä (3 % näytteistä, 32 % poti-laista). Suun limakalvonäytteet olivat PCR-po-sitiivisia 8,3 %:lla potilaista (2,5 % näytteistä).

Useimmat näistä potilaista olivat saaneet vi-rushoitoa kasvojen tai kaulan alueelle. Injekti-okohdan sidoksen ulkopinnan näytteistä 20 % oli T-vec-DNA-positiivisia (80 % potilaista), ja kai-killa potilailla varsinainen injektio kohta kasvai-messa oli T-vec-DNA-positiivinen, useimmin kahdella ensimmäisellä injektio kerralla (15). Ympäristön altistumista hoitovirukselle voi siis tapahtua nimenomaan injektio kohdasta hoidon alkuvaiheissa, jos kohtaa ei peitetä sidoksella ja muita varotoimia ei noudateta.

T-vec-hoito on ollut hyvin siedetty, kun po-tilaiden tila ja hoidon aiheet otetaan huomioon (13,14). Ensimmäisten injektio kertojen yhtey-dessä on kuvattu injektio kohdan kipua sekä ohimeneviä flunssankaltaisia oireita, kuumetta ja huonovointisuutta, jotka liittynevät lisääntymiskykyisen viruksen aiheuttamaan luontai-seen immuunivasteeseen. Vastaavia ja jopa voi-makkaampia oireita esiintyy yleisesti nykyisten virusvektoroitujen COVID-19-rokotteiden antamisen yhteydessä. Merkittävä spesifinen haittavaikutus on ollut injektio kohdan tai sen lähialueen bakteeritulehdus (selluliitti). Muuta-mia autoimmuunitiloja tai autoimmuunitaudin

pahenemisia on kuvattu (13,14).

T-vec-viruksen käytöstä klinikoissa sekä val-misteen antamisesta ja säilytyksestä on julkais-tu erillinen ohjeisto (valmisteyhteenveto www.ema.europa.eu sekä tuotteen valmistajan omat ohjeistot) (16). Lääkevalmiste on nykymuo-dossaan säilytettävä ja kuljetettava syväjääd-ytettynä (−70–80 °C), mikä on osoittautunut sairaala-apteekeille vaativaksi. T-vec on herkkä asikloviirille ja sen sukulaislääkkeille, joten ta-vanomaiset herpesvirusinfektion lääkehoidot tehoavat siihen, jos virushoito aiheuttaa komp-likaatioita.

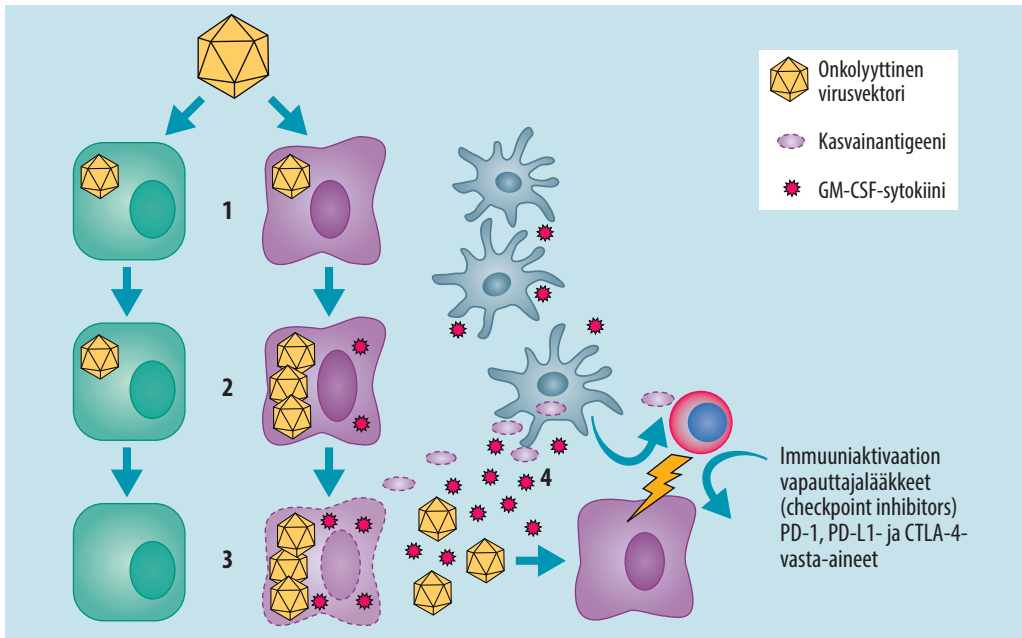
Yhdistelmähoidot

Virushoidon yhdistäminen lääkehoitoon im-muuniaktivaation vapauttajilla (checkpoint inhibitors) (KUVA 2) on parantanut hoitotulok-sia. Edennyttä ihomelanoomaa sairastaneiden potilaiden T-vec-virushoito on tutkimuksissa yhdistetty PD-1-vasta-ainehoitoon (pembrolitsumabi) tai CTLA-4-vasta-aineeseen (ipili-mumabi) (17,18). Ensin mainitulla yhdistel-mällä 62 % potilaista saavutti hoitovasteen ja 33 % täydellisen hoitovasteen. Jälkimmäisessä tutkimuksessa 39 % saavutti objektiivisen hoi-tovasteen yhdistelmähoidolla (18 % pelkällä ipilimumabilla) ilman haittavaikutusten lisääntymistä verrattuna ipilimumabiin ainoana lääkk-keenä.

Tulokset ovat rohkaisseet tutkimaan laajalti immuuniaktivaation vapauttajien yhdistämistä erilaisiin onkolyttisiin viruksiin (TAULUKKO). Koe-eläinmalleissa on lisätty yhdistelmiin vielä kolmanneksi komponentiksi jokin muu syöpä-lääke, kuten MEK-kinaasin estäjä trametinibi tai onkolyttiseen HSV-hoitoon ja soluhoitoon liitetty bortetsomibi (19,20).

Isorokkorokoteviruksesta johdetut syövänhoitovirukset

Rokkoviruksiin (pox-virukset) kuuluvasta vacciniaviruksesta (isorokkorokotevirus) on kehitetty onkolyttisiä, lisääntymiskykyisiä vi-rusvektoreita. Vanhemmalla väestönosalla on vasta-aineita vacciniavirukselle seurauksena isorokkorokotuksesta, ja vasta-ainepitoisuudet



KUVA 2. Immunologisesti vaikuttavan onkolyttisen virushoidon periaate (3). Vaihe 1: onkolyttinen virus infektoi kudoksessa normaalin solun (vasemmalla) ja kasvainsolun (oikealla). Vaihe 2: virus ei pysty lisääntymään normaalisolussa, mutta alkaa lisääntyä kasvainsolussa ja tuottaa samalla siirtogeenielementistään syto- tai kemokiinia, tässä tapauksessa GM-CSF-tekijää. Vaihe 3: virus on eliminoitunut normaalisolusta, mutta tuhonnut kasvainsolun lyttisest ja tuottanut uusia hoitovirusia, jotka infektoivat uusia kasvainsoluja. Vaihe 4: GM-CSF:ää ja kasvainsolun antigeeneja vapautuu solusta. GM-CSF houkuttelee ja aktivoi antigeenia esitteleviä soluja, jotka edistävät T-soluvastetta virus- ja kasvainantigeeneihin. Yhdistelmähoitona annetut immuuniaktivaation vapauttajat tehostavat T-solujen hyökkäystä kasvainsoluja kohtaan.

suurenevät vacciniavektorin antamisen jälkeen. Onkolyttisen vacciniavektorin antamisen jälkeen havaitaan lieviä viivästyneitä yleisoireita 1–2 viikon ajan samalla tavoin kuin isorokkotuksen yhteydessä (21).

Kasvainselktiivinen vacciniavirusvektori (vvDD, JX-929), josta on poistettu viruksen tymidiinikinaasin ja vacciniakasvutekijän geenit, osoitettiin varsin turvalliseksi, kun sitä annettiin suoraan kasvaimiin (21). Virusta saatettiin antaa suurin tuotettavissa oleva pitoisuus ilman, että vakavia haittavaikutuksia ilmeni, lukuun ottamatta yhtä voimakasta kipujaksoa. Muutamia ihoetäpesäkkeisiin kehittyi vaccinialesion piirteitä, ja ne pienivät kuukauden aikana. Saman viruksen systeemistä antamista laskimoon on myös tutkittu (22). Virusta annettiin infuusiona tunnin kuluessa, suurimpana annoksena 3×10^9 PFU. Vakavia virukseen liittyviä haittavaikutuksia ei ilmennyt. Viruksen DNA:ta esiintyi verenkierrossa neljän tunnin ajan infuusiosta alkaen, ja kahdella potilaal-

la viruksen DNA-positiivisuus uusiutui (3 ja 8 vrk:n kuluttua infuusiosta).

Pexa-vec (pexastimogene devacirepvec; JX-594) on lisääntymiskykyinen onkolyttinen vacciniavektori, josta on poistettu viruksen tymidiinikinaasin geeni kasvainselktiivisyyden lisäämiseksi ja siirtogeeninä on GM-CSF-tekijä. Viruksen antamista ja turvallisuutta on selvitetty syöpää sairastavien aikuispotilaiden ja lasten osalta (23–25). Antamisen jälkeen potilailla esiintyi tyypillisesti flunssan kaltaisia oireita ja kuumetta lyhytkestoisesti.

Kun virusta annettiin maksakasvaimiin, seurasi trombosytopeniaa ja hyperbilirubinemiaa, joka rajoitti annoksen 10^9 infektoivaan yksikköön (23). Lapsipotilailla ilmeni suuriannoksisen virushoidon yhteydessä vacciniapustulan kaltaisia iholeesioita ensimmäisen viikon kuluessa, ja pustuloita esiintyi myös yhdellä aikuispotilaalla (24,25). Satunnaistetussa toisen vaiheen tutkimuksessa havaittiin aikuisten maksakasvainpotilaiden elinajan pitenemi-

Ydinasiat

- ▶ Kasvainten tuhoamiseen kehitetään onkolyttisiä muuntogeenisiä tai luonnon viruksia.
- ▶ Ensimmäiset syövän virusoidot ovat jo lääkeviranomaisten hyväksymiä.
- ▶ Uusissa onkolyttisissä virusoidoissa hyödynnetään immunologisia mekanismeja, jotka herättävät tai tehostavat kasvainimmuuteettia.
- ▶ Eri vaikutusmekanismeilla toimivia syöpähoitoja, erityisesti lääkehoitoa immuuniaktivaation vapauttajilla, pyritään yhdistämään onkolyttiseen virushoitoon.

sessä merkitsevä ero suuren (10^9 PFU) ja pienen (10^8 PFU) virusannoksen välillä (14 vs 7 kuukautta) (24). Kasvainimmuuteetin muodostumista havaittiin useimmilla potilailla. T-soluvasteita kehittyi myös vacciniaviruksen peptideille ja hoitoviruksen siirtogeenille. Kolmannen vaiheen tutkimus maksasyövän hoidosta Pexa-vec-viruksen ja sorafenibin (tyrosiinikinaasin estäjä) yhdistelmällä on kuitenkin keskeytetty tehon puutteen vuoksi.

Onkolyttisen vacciniaviruksen kykyä herättää kasvainimmuuteettia on tehostettu uudella lähestymistavalla, jossa viruksen vaippaan on liitetty kasvaimen antigenistä peptidiä (26). Samaa PeptiENV-teknologiaa sovellettiin tutkimuksessa myös herpes simplex -virukseen. Onkolyttistä adenovirusta on jo aiemmin pystytty tehostamaan päällystämällä se syöpäantigeeneilla kasvainimmuuteetin herättämiseksi (PeptiCRAd-adenovirus) (27). Näillä menetelmillä voidaan mahdollisesti kehittää yksilöllisiä virushoitoja syöpäpotilaille, sillä syöpäantigeeni-peptidin liittäminen onkolyttisen viruksen pinnalle on varsin nopea toimenpide.

Adenovirusvektorit

Adenovirukset ovat suosittuja geeninkuljettimia, koska niillä on hyvä geeninsiirtoteho ja iso siirtogeenikapasiteetti. Lisäksi ne pystyvät viemään hoitogeenin myös jakautumattomiin

soluihin. Adenovirukset ovat luonnostaan onkolyttisiä viruksia, ja geenihoidoihin niistä on käytetty useimmiten serotyyppi 2- tai 5-pohjaisia vektoreita. Adenovirukset eivät integroi siirtogeeniä isäntäsolun genomiin, joten geeninsiirtoteho on aina väliaikainen ja kestää yleensä noin kaksi viikkoa.

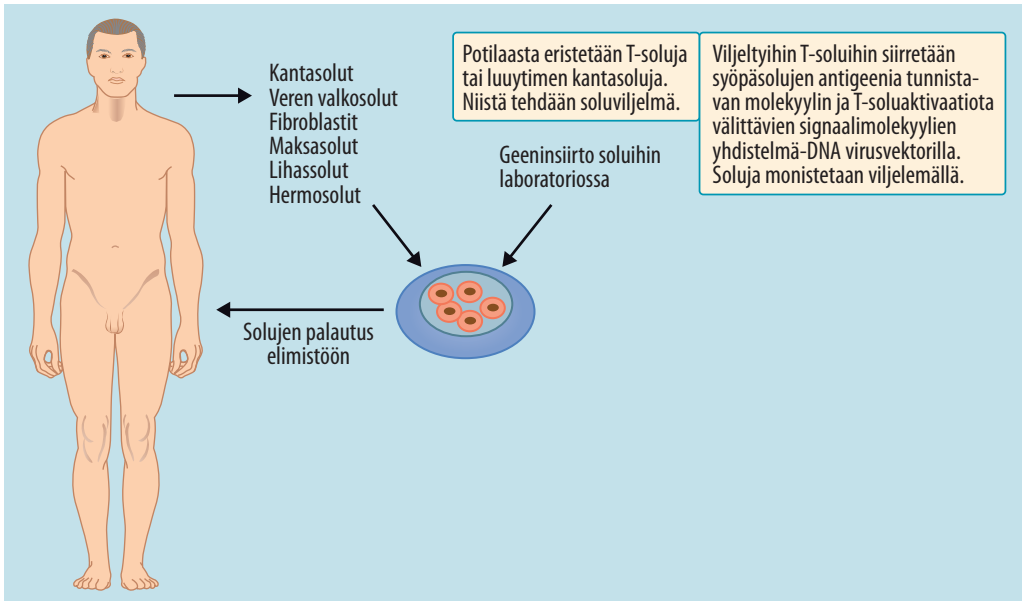
Adenoviruksen rakenne ja geenit tunnetaan erittäin hyvin, ja ne ovatkin yksiä tutkituimmista geeninsiirtovektoreista. Ensimmäisen sukupolven adenovirusvektoreista on poistettu viruksen replikaatioon tarvittava E1-alue ja eräistä versioista myös E3-geenialue, joiden tilalle on kloonattu siirtogeenit. E1- ja E3-poistogeeniset adenovirukset ovat replikaatiokyvyttömiä, mutta niitä on silti käytetty hyvin tuloksin erityyppisten syöpien hoidossa.

Uudemman polven adenovirusvektoreista on poistettu huomattava osa viruksen genomia, jolloin uusiin vektoreihin voidaan ensimmäisenä pakata jopa 35 kb siirtogeenirakenteita. Adenoviruksen pinnalla olevia luonnollisia kohdesolun tunnistavia reseptoreita on myös muunneltu siten, että viruksia on pystytty paremmin kohdentamaan tiettyihin kasvaimiin.

Näissä sovelluksissa on esimerkiksi yhdistetty adenoviruksen pintaan integriinejä tunnistavaa RGD-peptidiä, jolloin virus hakeutuu tehokkaammin syöpäkudoksen uudissuoniin. Lisäksi adenovirusta on päällystetty syöpäkudokselle spesifisillä peptidiantigeeneilla, jolloin tavoitteena on ollut tehostaa immuunipuolustusta kasvainkudosta vastaan (27). Adenovirusten pintaan on myös kloonattu biotiinia sisältäviä avidiinimolekyyliä, jolloin virusta on kyetty kohdentamaan haluttuun kudokseen biotinyloitujen vasta-aineiden avulla (28).

Aivokasvainten hoitoon on käytetty lisääntymiskyvyttömiä adenovirusta. Sillä on viety syöpäkudokseen tymidiinikinaasi-entsyymi, joka altistaa kasvainsolun gansikloviirin aiheuttamalle solukuolemalle. Tällä Suomessa kehitetyllä hoidolla on saatu toisen ja kolmannen vaiheen tutkimuksissa hyviä tuloksia aivokasvainpotilaiden hoidossa varsinkin alaryhmässä, jossa DNA-korjausentsyymien metyyli-glutaryyli-metyyli-transferaasiaktiivisuus on ollut normaali (29).

Virtsarakkosisyövän hoidossa on saatu hyviä



KUVA 3. Ex vivo -geenihoidon periaate, jolla esimerkiksi CAR-T-soluhoidot toteutetaan (3).

tuloksia rakon sisään ruiskutettavalla adenovirusvälitteisellä geenihoidolla, jossa hoitogeeninä on ollut alfainterferoni. Puolet potilaista saavutti hoidon avulla täydellisen hoitovasteen kolmen kuukauden aikapisteen kohdalla, eikä tauti edennyt 25 %:lla potilaista vuoden seurannassakaan (30). Haittavaikutukset ovat olleet hyvin lieviä, lähinnä rakon ärsytystä ja virtsaamistarpeen tihtymistä. Koska hoito annetaan suoraan rakkoon, adenovirus ei leviä systeemisesti. Hoito voidaan antaa samalle potilaalle kolmen kuukauden välein, mistä on huomattava etu pitkäaikaistulosten saavuttamisen kannalta (31).

Jatkossa adenovirusvälitteisten syöpähoitojen tehoa voitaneen merkittävästi lisätä liittämällä hoitoihin immuunivasteen vapauttajia. Onkolyttisten adenovirusten tehoa vahvistavaa immunogeenisuutta on myös lisätty kloonamalla viruksiin immuunivastetta stimuloivaa GM-CSF-kasvutekijää. Näin on saatu parannetuksi kasvainta vastaan kohdistunutta T-soluvastetta muun muassa munasarjasyöpää vastaan (32). Onkolyttisiä adenovirusia on myös kyetty kohdentamaan muuntelemalla viruksen pinnan tarttumisreseptoreita tunnistamaan tehokkaammin syöpäsolujen pinnalla olevia rakenteita (33,34).

Kimeeriset antigeenireseptori-T-solut

Yksi merkittävimmistä viimeaikaisista kehitysaskeleista syövän hoidossa ovat olleet keinotekoisesti muovattuja kimeerisiä antigeenireseptoreita ilmentävät T-lymfosyytit (CAR-T-solut) (35,36). CAR-T-hoidossa potilaasta eristettyihin T-lymfosyytteihin tehdään laboratorio-olosuhteissa ex vivo -geeninsiirto lentivirus- tai retrovirusvektorin avulla, jolloin T-solut saadaan ilmentämään yksiketjuista vasta-aineperäistä antigeenireseptoria (scFv). Reseptoriin on yhdistetty T-solun aktivaatioon tarvittava solunsisäinen signaalintiketju.

Geeninsiirron jälkeen T-solut palautetaan potilaaseen, ja kun ne kohtaavat antigeenin, CAR-T-solujen vaste kohdistuu haluttuun syöpäsoluun (**KUVA 3**). Erityisen hyviä tuloksia on saatu hoitoresistenttien B-soluleukemioiden ja lymfoomien hoidossa, kun kimeerinen antigeenireseptori kohdentuu syöpäsolujen pinnalla olevaan CD19-molekyyliin. Kyseiset hoidot on hiljattain hyväksytty kliiniseen käyttöön Yhdysvalloissa ja Euroopassa.

Tulevaisuudessa CAR-T-hoitojen uskotaan auttavan myös kiinteiden syöpäkasvainten hoidossa, vaikka nykyisin vielä esiintyykin ongel-

TIETOLAATIKKO. Verkkosivustoja.

Gene Therapy Clinical Trials -sivusto: www.abedia.com/wiley/index.html

Valmisteyhteenveto, talimogeenilaherparepveikki/Imlygic[®]: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imlygic-epar-product-information_fi.pdf

Suomen geeni- ja soluterapiaseura: www.fsgct.fi

Kliinisten tutkimusten tietokanta: <https://clinicaltrials.gov>

Twitter: @SYHlab

mia CAR-T-solujen hakeutumisessa kiinteisiin kasvaimiin sekä yksiselitteisten kasvainspesifisten antigeenimolekyylien puutetta. Kiinteiden syöpien immunologista täsmähoitoa geneettisesti muokatuilla T-soluilla tutkitaan kuitenkin erittäin aktiivisesti, ja tältä alueelta on lähivuosina lupa odottaa eri syöpätyyppien uusia tehokkaita hoitomahdollisuuksia (37,38).

VEIJO HUKKANEN, LKT, dosentti

Turun yliopisto, biolääketieteen laitos

SEPPO YLÄ-HERTTUALA, LT, akatemiaprofessori

Itä-Suomen yliopisto, Kuopion yliopistollinen sairaala

Twitter: @SYHlab

VASTUUTOIMITTAJA

Seppo Meri

Lopuksi

Onkolyttiset, syöpäkudosta tuhoavat virushoitot ovat nopeasti kehittyvä tieteenala. Nämä virushoitot ovat muuttuneet konkreettisiksi syövänhoidon muodoiksi ensimmäisten valmistajien saatua viranomaisten hyväksynnän. Myyntiluvan saaneet virushoitot ovat osoittautuneet varsin turvallisiksi. Kokemus onkolyttisten virusvektorien kehityksestä on ollut myös suureksi avuksi kehitettäessä uudenaikaisia rokotteita erilaisia taudinaiheuttajia vastaan.

Virusvektori pohjaisten rokotteiden yleistyminen on totuttanut suurta yleisöä virusten lääketieteellisiin käyttömahdollisuuksiin. Jää nähtäväksi, millainen vaikutus saadaan aikaan, kun väestöjä rokotetaan virusvektoreilla, joita käytetään myös onkolyttisten virusten runkoina. Potilaan mahdollinen edeltävä immunitaetti onkolyttiselle virusvektorille tai sen sukulaisviruksille voi olla hyödyksikin onkolyttisissä syövän immunologisissa virushoidoissa. ■

SIDONNAISUUDET

Veijo Hukkanen: Luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (Orion), luottamustoimet (Vetenskapsrådet (Swedish Research Council), Croatian Science Foundation (HRZZ))

Seppo Ylä-Herttua: Luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (Pfizer), muut sidonnaisuudet (apurahat: EU Horizon, ERC, Suomen Akatemia, Sigrid Juséliuksen Säätiö, Sydäntutkimussäätiö, Syöpäjärjestöt)

KIRJALLISUUTTA

- Hukkanen V, Vihinen P. Onkolyttinen geenihoidotuvus tulossa osaksi ihomelanooman lääkehoitoa. *Suom Lääkäril* 2016;71:818–20.
- Ylä-Herttua S. Onkolyttinen virusgeeniterapia tulossa metastasoituneen melanooman hoitoon. *Duodecim* 2016;132:297–8.
- Hukkanen V, Hemminki A, Ylä-Herttua S. Virusvektorit geenihoidoissa. Kirjassa: Heikkinen T, Järvinen A, Meri S, ym, toim. Mikrobiologia. Kustannus Oy Duodecim: Helsinki 2020, s. 772–81.
- Hukkanen V, Harila K. Virukset lääketieteessä. *Suom Lääkäril* 2008;63:1277–83.
- Hemminki O, Dos Santos JM, Hemminki A. Oncolytic viruses for cancer immunotherapy. *J Hematol Oncol* 2020;13:84.
- Newman JH, Chesson CB, Herzog NL, ym. Intratumoral injection of the seasonal flu shot converts immunologically cold tumors to hot and serves as an immunotherapy for cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2020;117:1119–28.
- Hukkanen V, Hemminki A, Ylä-Herttua S. Geenihoidot ja molekyyliurologian muut sovellukset. Kirjassa: Heikkinen T, Järvinen A, Meri S, ym, toim. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim 2010, s. 706–15.
- Ylösmäki L, Polini B, Carpi S, ym. Harnessing therapeutic viruses as a delivery vehicle for RNA-based therapy. *PLoS One*, julkaistu verkossa 23.10.2019. DOI:10.1371/journal.pone.0224072.
- Ylösmäki E, Lavilla-Alonso S, Jäämaa S, ym. MicroRNA-mediated suppression of oncolytic adenovirus replication in human liver. *PLoS One*, julkaistu verkossa 22.1.2013. DOI:10.1371/journal.pone.0054506
- Ylösmäki E, Martikainen M, Hinkkanen A, ym. Attenuation of Semliki Forest virus neurovirulence by microRNA-mediated detargeting. *J Virol* 2013;87:335–44.
- Ylösmäki E, Hakkarainen T, Hemminki A, ym. Generation of a conditionally replicating adenovirus based on targeted destruction of E1A mRNA by a cell type-specific MicroRNA. *J Virol* 2008;82:11009–15.
- Ylä-Pelto J, Tripathi L, Susi P. Therapeutic use of native and recombinant enteroviruses. *Viruses* 2016;8:57.
- Andtbacka RHI, Kaufman H, Collichio F, ym. Talimogene Laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol* 2015;33:2780–8.
- Andtbacka RHI, Collichio F, Harrington KJ, ym. Final analyses of OPTiM: a randomized phase III trial of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in unresectable stage III-IV melanoma. *J Immunother Cancer* 2019;7:145.
- Andtbacka RHI, Amatruda T, Nemunaitis J, ym. Biodistribution, shedding, and transmissibility of the oncolytic virus talimogene laherparepvec in patients with melanoma. *EBioMedicine* 2019;47:89–97.
- Harrington KJ, Michielin O, Malvey J, ym. A practical guide to the handling and administration of talimogene laherparepvec in Europe. *Oncotargets Ther* 2017;10:3867–80.
- Ribas A, Dummer R, Puzanov I. Oncolytic virotherapy promotes intratumoral t cell infiltration and improves anti-PD-1 immunotherapy. *Cell* 2017;170:1109–19.
- Chesney J, Puzanov I, Collichio F, ym. Randomized, open-label phase II study evaluating the efficacy and safety of Talimogene Laherparepvec in combination with Ipilimumab versus Ipilimumab alone in patients with advanced, unresectable melanoma. *J Clin Oncol* 2018;36:1658–67.
- Bommareddy PK, Aspromonte S, Zloza A, ym. MEK inhibition enhances oncolytic virus immunotherapy through increased tumor cell killing and T cell activation. *Sci Transl Med*, julkaistu verkossa 12.12.2018. DOI:10.1126/scitranslmed.aau0417.
- Yoo JY, Jaime-Ramirez AC, Bolyard C, ym. Bortezomib treatment sensitizes oncolytic HSV-1-treated tumors to NK cell immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2016;22:5265–76.
- Zeh HJ, Downs-Canner S, McCart JA, ym. First-in-man study of western reserve strain oncolytic vaccinia virus: safety, systemic spread, and antitumor activity. *Mol Ther* 2015;23:202–14.
- Downs-Canner S, Guo ZS, Ravindrathan R, ym. Phase 1 study of intravenous oncolytic poxvirus (vvDD) in patients with advanced solid cancers. *Mol Ther* 2016;24:1492–501.
- Park BH, Hwang T, Liu T-C, ym. Use of a targeted oncolytic poxvirus, JX-594, in patients with refractory primary or metastatic liver cancer: a phase I trial. *Lancet Oncol* 2008;9:533–42.
- Heo J, Reid T, Ruo L, ym. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer. *Nat Med* 2013;19:329–36.
- Cripe TP, Ngo MC, Geller JL, ym. 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.
- Ylösmäki E, Malorzo C, Capasso C, ym. Personalized cancer vaccine platform for clinically relevant oncolytic enveloped viruses. *Mol Ther* 2018;26:2315–25.
- Capasso C, Hirvonen M, Garofalo M, ym. Oncolytic adenoviruses coated with MHC-I tumor epitopes increase the antitumor immunity and efficacy against melanoma. *Oncimmunology* 2016. DOI:10.1080/2162402X.2015.1105429.
- Lesch HP, Kaikkonen MU, Pikkariainen JT, ym. Avidin-biotin technology in targeted therapy. *Expert Opin Drug Deliv* 2010;7:551–64.
- Westphal M, Ylä-Herttua S, Martin J, ym. Adenovirus-mediated gene therapy with sitimagene ceradenovec followed by intravenous ganciclovir for patients with operable high-grade glioma (ASPECT): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013;14:823–33.
- Boorjian S, Alemozaffar M, Konety BR, ym. Intravesical rAd-IFN α /Syn3 (Nadofaragene firadenovac) for BCG-unresponsive non-muscle invasive bladder cancer: results from a phase III trial. *Lancet Oncol* 2021;22:1007–17.
- Shore ND, Boorjian S, Canter D, ym. Intravesical rAd-IFN α /Syn3 for patients with high-grade, Bacillus Calmette-Guérin-refractory or relapsed non-muscle-invasive bladder cancer: a phase II randomized study. *J Clin Oncol* 2017;35:3410–6.
- Kanerva A, Nokisalmi P, Diaconu I, ym. Antiviral and antitumor T-cell immunity in patients treated with GM-CSF-coding oncolytic adenovirus. *Clin Cancer Res* 2013;19:2734–44.
- Kuryk L, Vassilev L, Ranki T, ym. Toxicological and bio-distribution profile of a GM-CSF-expressing, double-targeted, chimeric oncolytic adenovirus ON-COS-102 - support for clinical studies on advanced cancer treatment. *PLoS One* 2017. DOI:10.1371/journal.pone.0182715.
- Eriksson E, Milenova I, Wenthe J, ym. Shaping the tumor stroma and sparking immune activation by CD40 and 4-1BB signaling induced by an armed oncolytic virus. *Clin Cancer Res* 2017;23:5846–57.
- Maude SL, Frey N, Shaw P, ym. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014;371:1507–17.
- Ylä-Herttua S. Uusi geenihoidotulo uusia uusia hoitoresistentin akuutin lymfoblastileukemian hoitoon. *Duodecim* 2018;134:104–5.
- Korhonen M, Keränen M, Vettenranta K, ym. Syövän immunologinen täsmähoito geneettisesti muokatuilla T-soluilla. *Duodecim* 2018;134:1592–9.
- Olsson V, Niittykoski M, Stedt H, ym. Pahanlaatuisen gliooman hoidon tulevaisuuden näkymiä. *Duodecim* 2020;136:1242–8.