

ГЕНО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ В ОНКОЛОГИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ

Е.Р.Немцова, О.А.Безбородова, Р.И.Якубовская, А.Д.Каприн

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России, 125284, Россия, Москва, 2-й Боткинский проезд, 3



РЕЗЮМЕ

В обзорной статье рассмотрены современные данные мировой литературы об официальных лекарственных препаратах для генной терапии больных со злокачественными опухолями, а также данные о препаратах, завершивших все фазы клинических испытаний.

Освещена концепция генной терапии, приведены результаты статистического анализа инициированных клинических испытаний генных препаратов, указаны наиболее активно развивающиеся направления противоопухолевой генной терапии, подробно охарактеризованы препараты для онкологии.

Рассмотрены различные векторные системы доставки генетического материала – дефектные по репликации вирусы (препараты Gendicine™ и Advexin) и онколитические (опухолеспецифические условно размножающиеся) вирусы (препараты Oncorine™, ONYX-015, Imlygic®).

К настоящему времени в онкологическую клиническую практику введены 3 препарата для внутриопухолевого введения: 2 препарата зарегистрированы в Китае – Gendicine™ и Oncorine™ на основе дефектного по репликации и реплицирующегося аденовируса с эффекторным геном *p53* дикого типа для лечения больных с опухолями головы-шеи, и 1 препарат зарегистрирован в США – Imlygic® на основе биоинженерного реплицирующегося штамма HSV1 с эффекторным геном GM-CSF для лечения больных с меланомой. Препараты хорошо переносятся больными, не вызывают серьезных нежелательных явлений. Препараты Gendicine™ и Oncorine™ в монотерапии слабозффективны, но проявляют выраженный синергизм действия с химио- и лучевой терапией. Imlygic® – на начальной стадии изучения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

противоопухолевая генная терапия, нереплицирующийся аденовирус, онколитический аденовирус, *p53*

Оформление ссылки для цитирования статьи: Немцова Е.Р., Безбородова О.А., Якубовская Р.И., Каприн А.Д. Генно-терапевтические препараты в онкологии: современное состояние. Исследования и практика в медицине. 2016; 3(4): 33-43. DOI: 10.17709/2409-2231-2016-3-4-4

Для корреспонденции

Немцова Елена Романовна, д.б.н., ведущий научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ»
Адрес: 125284 Москва, 2-й Боткинский пр., 3; E-mail: nemtz@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3579-1733>

Информация о финансировании

Обзор написан в рамках научно-исследовательской работы по Госзаданию 2015–2017 гг. «Разработка новых высокотехнологичных методов и подходов к диагностике и терапии злокачественных новообразований в эксперименте», полученному ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России.

Конфликт интересов

Все авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 05.09.2016 г., принята к печати 01.12.2016 г.

OFFICIAL MEDICATIONS FOR ANTI-TUMOR GENE THERAPY

E.R.Nemtsova, O.A.Bezborodova, R.I.Yakubovskaya, A.D.Kaprin

P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, 3, 2nd Botkinskiy proezd, Moscow, 125284, Russia

ABSTRACT

This is a review of modern literature data of official medications for anti-tumor gene therapy as well as of medications that finished clinical trials.

The article discusses the concept of gene therapy, the statistical analysis results of initiated clinical trials of gene products, the most actively developing directions of anticancer gene therapy, and the characteristics of anti-tumor gene medications.

Various delivery systems for gene material are being examined, including viruses that are defective in replication (Gendicine™ and Advexin) and oncolytic (tumor specific conditionally replicating) viruses (Oncorine™, ONYX-015, Imlygic®).

By now three preparations for intra-tumor injection have been introduced into oncology clinical practice: two of them – Gendicine™ and Oncorine™ have been registered in China, and one of them – Imlygic® has been registered in the USA. Gendicine™ and Oncorine™ are based on the wild type *p53* gene and are designed for treatment of patients with head and neck malignancies. Replicating adenovirus is the delivery system in Gendicine™, whereas oncolytic adenovirus is the vector for gene material in Oncorine™. Imlygic® is based on the recombinant replicating HSV1 virus with an introduced GM-CSF gene and is designed for treatment of melanoma patients. These medications are well tolerated and do not cause any serious adverse events. Gendicine™ and Oncorine™ are not effective in monotherapy but demonstrate pronounced synergism with chemo- and radiation therapy. Imlygic® has just started the post marketing trials.

KEYWORDS:

anti-tumor gene therapy, non-replicating adenovirus, oncolytic adenovirus, p53

For citation: Nemtsova E.R., Bezborodova O.A., Yakubovskaya R.I., Kaprin A.D. Official medications for anti-tumor gene therapy. *Issled. prakt. med. (Research'n Practical Medicine Journal)*. 2016; 3(4): 33-43. (In Russian). DOI: 10.17709/2409-2231-2016-3-4-4

For correspondence:

Elena R. Nemtsova – MD, leading researcher, the department of the modifiers and protectors of anticancer therapy, P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation
Address: 3, 2nd Botkinskiy proezd, Moscow, 125284, Russia; E-mail: nemtz@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3579-1733>

Information about funding

The review is written in the framework of research work on the 2015–2017 for State Task “Development of new high-tech methods and approaches to diagnosis and therapy of malignant neoplasms in the experiment” received the FSBO “NMRRC” of Ministry of Health of Russia.

Conflict of interest

All authors report no conflict of interest.

The article was received 05.09.2016, accepted for publication 01.12.2016.

Генная терапия, активно развивающаяся область современной медицины, направлена на исправление дефектов в структуре ДНК и изменение ряда функций клеток в организме. Основой ее является использование биотехнологических продуктов – векторов, несущих целевые гены, которые способны доставить эти гены в клетки-мишени, обеспечить их длительную экспрессию и, соответственно, продукцию терапевтически активных белков в организме.

Концепция генной терапии появилась вскоре после открытия явления трансформации у бактерий и изучения механизмов трансформации клеток животных опухолеобразующими вирусами. Такие вирусы могут осуществлять стабильное внедрение генетического материала в геном клетки хозяина, поэтому было предложено использовать их в качестве векторов для доставки генетической информации в геном соматических клеток.

Реальностью генная коррекция соматических клеток стала после 1980-х гг., когда были разработаны методы получения изолированных генов, созданы эукариотические экспрессирующие векторы, отработаны способы переноса генов у животных [1].

Первоначально генную терапию предполагали использовать для лечения наследственных генетических заболеваний, однако по мере развития технологий, набора экспериментального и клинического материала область ее применения значительно расширилась. В настоящее время генную терапию рассматривают как потенциально универсальный подход к лечению широкого спектра заболеваний, включающих наследственные и генетически детерминированные приобретенные заболевания.

Спектр областей медицины, в которых иницированы клинические протоколы по изучению различных вариантов генной терапии, представлен в таблице 1 [2].

Онкология занимает первое место по количеству клинических испытаний генно-терапевтических лекарственных средств [3]. Онкология также является первой областью медицины, в арсенале которой появились официальные (зарегистрированные) препараты для генной терапии больных [4].

В настоящее время наиболее активно разрабатывается несколько направлений противоопухолевой терапии: блокирование экспрессии онкогенов или «редактирование» их функциональной активности малыми РНК [5–7], анти-смысловыми олигонуклеотидами [8] и другими способами

[9–11], введение и активация генов-супрессоров, прежде всего, *p53* [12] и проапоптотических молекул [13], ген-направленная энзиматическая (суицидная) терапия [14, 15], виротерапия онколитическими вирусами [16–18] и ангиогенная терапия [19, 20]. Официальные противоопухолевые генные препараты, а также лекарственные средства, прошедшие все фазы клинических испытаний, представлены в настоящем обзоре.

ВНУТРИОПУХОЛЕВОЕ ПРИМЕНЕНИЕ АДЕНОВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ В ОНКОЛОГИИ

Препараты с эффекторным геном *p53*

Гендицин

Гендицин (Gendicine, Shenzhen Sibiono GeneTech Co, Ltd, China) является первым в мире (2003 г.) зарегистрированным лекарственным препаратом для генной терапии больных со злокачественными опухолями [21, 22]. Препарат аналогичен препарату Advexin®, разработанному компанией Introgen Therapeutics (Advexin®, Austin, TX, USA) для лечения больных с опухолями головы-шеи и легких. Однако клинические испытания Гендицина были завершены ранее, чем испытания Advexin® в США, и препарат получил разрешение китайской регулирующей организации State Food & Drug Administration (SFDA) на применение для лечения плоскоклеточного рака головы-шеи. В настоящее время он проходит клинические испытания для лечения других нозологических форм онкологических заболеваний [23, 24].

Гендицин входит в когорту генно-терапевтических препаратов, эффекторным геном которых является ген *p53* дикого типа. Он включен в вирусный вектор – дефектный по репликации аденовирус 5 типа (Ad5), в котором область E1 ранних белков, ответственных за репликацию вируса, заменена на RSV (Respiratory Syncytial Virus) промотор. Аденовирус не интегрирует в геном человека, соответственно, риск развития опухолей, индуцированных аденовирусным вектором путем активации онкогенов и инактивации генов опухолевых супрессоров, крайне низок, и действительно, за годы, прошедшие с начала клинических испытаний препарата, не отмечено ни одного случая вторичных индуцированных адвексином опухолей у человека.

Ген *p53* локализуется на хромосоме 17 р у человека и кодирует белок *p53* (393 аминокислоты), который явля-

Таблица 1. Клинические испытания генной терапии
Table 1. Clinical trials of gene therapy

Показания	Количество	%
Злокачественные новообразования	1415	64
Моногенные заболевания	209	9,5
Сердечно-сосудистые заболевания	175	7,9
Инфекционные заболевания	174	7,9
Неврологические заболевания	43	1,9
Глазные болезни	31	1,4
Воспалительные заболевания	14	0,6
Прочие заболевания	46	2,1
Маркирование генов	50	2,3
Здоровые добровольцы	53	2,4
ВСЕГО	2210	

ется одним из наиболее важных в биологии опухолей [25]. *p53* выполняет роль «стража» генома, поскольку в ответ на активацию онкогенов и повреждение ДНК различными агентами он индуцирует арест клеточного цикла и апоптотические процессы. Инактивация сигнальных путей, в которых участвует *p53*, приводит к пролиферации дефектных клеток и, как следствие, к развитию опухолевого процесса [26].

Мутации гена *p53* наблюдаются более чем в 50–70% опухолей человека, то есть его функции утрачены в большинстве опухолевых клеток, и задача генной терапии – восстановить в них функции подавления роста белком *p53*. Введение экзогенного гена *p53* дикого типа и последующая гиперпродукция белка *p53* должны обеспечивать ингибирование роста опухолевых клеток путем ареста клеточного цикла или апоптоза.

Известно также, что мутантный белок *p53* ассоциирован с активацией гена множественной лекарственной устойчивости, что обуславливает устойчивость опухоли к терапии различными химиопрепаратами. Гиперпродукция белка *p53* дикого типа приводит к синергизму действия с лучевой и химиотерапией.

Первая фаза клинических испытаний Гендицина была проведена у 12 больных с операбельным плоскоклеточным раком гортани при интратуморальном введении препарата в дозах $1,0 \times 10^{10}$ – $1,0 \times 10^{11}$ – $1,0 \times 10^{12}$ вирусных частиц (вч) (группы по 4 больных на каждую дозу). Введение препарата проводили 2 курсами по 5 инъекций через день. Больные были прооперированы через 2 дня после последней инъекции, а затем Гендицин в тех же дозах был введен вокруг ложа опухоли. Результаты показали, что медиана выживаемости больных составила 5,9 лет (11 из 12 пациентов были живы спустя 4–6 лет после лечения), в то время как в сопоставимой группе больных, получивших только хирургическое лечение, 3-летняя выживаемость составила 30% [26].

Основным побочным эффектом терапии было повышение температуры на высокой дозе препарата – 1×10^{12} вч у одного больного, поэтому было признано возможным рекомендовать эту дозу – 1×10^{12} вч/введение для II фазы клинических испытаний [27].

Дальнейшее клиническое исследование Гендицина (II/III фазы) [28] включало рандомизацию больных пло-

скоклеточным раком головы-шеи (преимущественно раком носоглотки) на две группы: 1-я – генная терапия Гендицином в сочетании с лучевой терапией, 2-я – лучевая терапия. Лучевую терапию проводили в стандартном для этого заболевания режиме: 70 Гр, 35 фракций в течение 7–8 недель. Гендицин вводили 1 раз в неделю в разовой дозе 1×10^{12} вч за 3 дня до лучевой терапии в течение 8 недель. Противоопухолевый эффект оценивали методом компьютерной (КТ) или магниторезонансной томографии (МРТ) в соответствии с рекомендациями ВОЗ. Результаты показали, что объективный эффект был достигнут у 93% больных, получавших сочетанную терапию (64% – полный регресс, 29% – частичный регресс), и у 79% больных, получавших только лучевую терапию (19% – полный регресс, 60% – частичный регресс). То есть, была выявлена достоверная разница ($p < 0,01$) между эффективностью терапии в группах больных.

Результаты дальнейшего наблюдения за пролеченными больными (общее число – 78, из них 40 – больные, получавшие сочетанное лечение, 38 – только лучевую терапию) в течение 39,4 месяцев (среднее значение) приведены в таблице 2.

Наблюдение показало, что медиана длительности безрецидивного периода была на 6 месяцев больше в группе лечения с Гендицином по сравнению с группой лучевой терапии (38 месяцев и 32 месяца соответственно), а число больных с 3-летним безрецидивным периодом в группе сочетанной терапии на 13% превышало таковое в группе лучевой терапии. Разница в общей выживаемости на этот срок наблюдения была несколько меньше и составила 9%.

Клиническое применение Гендицина проводится уже более 10 лет, и до настоящего времени не зафиксировано ни одного серьезного нежелательного явления, связанного с введением препарата. Наиболее частым побочным явлением было повышение температуры до 37,5–39,5 °С, выраженность которого была индивидуальна. Гипертермия развивалась, как правило, через 2–4 часа после введения препарата и сохранялась в течение 2–6 часов, причем снижалась спонтанно, без медикаментозного вмешательства. В большинстве случаев более выраженная гипертермия наблюдалась в начале лечения, а затем подъемы температуры уменьшались.

Таблица 2. Эффективность терапии с включением Гендицина
Table 2. The effectiveness of therapy with the inclusion of Gendicine

Группы больных	Медиана длительности безрецидивного периода, мес	Число больных с 3-летним периодом безрецидивной выживаемости, %	Число больных с 3-летней общей выживаемостью, %
Больные, получавшие лучевую терапию + Гендицин	38	74,3	78,8
Больные, получавшие лучевую терапию	32	61,7	69,4

Таблица 3. Выживаемость больных гепатоцеллюлярным раком, получивших лечение с включением препарата Гендицин
Table 3. The survival of patients with hepatocellular carcinoma who received treatment with the inclusion of the drug Gendicine

Группа	Лечение	Срок наблюдения (мес) / выживаемость (%)				
		1 мес	3 мес	6 мес	9 мес	12 мес
Основная	Гендицин + гидроксикампотецин	96,6	83,3	50	23,3	6,67
Контрольная	Гидроксикампотецин	94,4	55,6	11	0	0

Другие отмеченные побочные явления включали озноб, боль в месте инъекции, слабость, тошноту и диарею. Указанные симптомы обычно проходили самостоятельно и не требовали специальной терапии. Аллергические реакции не были отмечены. Не наблюдалось также усиления токсических реакций, сопровождающих лучевую терапию.

Помимо сочетанного применения Гендицина с лучевой терапией (II фаза), проведены также исследования III фазы, целью которых была сравнительная оценка эффективности и токсичности в группах больных плоскоклеточным раком головы-шеи и пищевода, леченных Гендицином в сочетании с цисплатином и 5-фторурацилом, или Гендицином в сочетании с адриамицином и 5-фторурацилом, в сравнении с терапией этими химиопрепаратами без Гендицина [29]. Результаты показали, что добавление интратуморального введения Гендицина к терапии цисплатином и 5-фторурацилом существенно повышало эффективность терапии: общий ответ в группе с генной терапией достигал 78,8% против 39,6% при применении только химиотерапии.

Токсичность сочетанной терапии была умеренной и аналогичной описанной выше: гипертермия – у 45,7% больных, реакция в месте инъекции – у 28,3% больных и гриппоподобный синдром – у 9,8% больных.

Результаты проведенных клинических испытаний позволили зарегистрировать Гендицин в качестве первого генно-терапевтического лекарственного средства для применения у человека для лечения плоскоклеточного рака головы-шеи [24, 26].

Клинические исследования Гендицина в сочетании с химио- и лучевой терапией, а также с гипертермией у больных с распространенными злокачественными процессами продолжаются в настоящее время [23, 24, 30].

В 2014 г. были опубликованы результаты применения Гендицина в сочетании с гидроксикампотечином у больных с распространенным гепатоцеллюлярным раком [31]. Больным основной группы препарат Гендицин (в дозе 10^{10} вч) вводили путем интраартериальной инфузии в сочетании с гидроксикампотечином (20 мг) 1 раз в неделю в течение 3 недель, больным контрольной группы в том же режиме и дозе интраартериально вводили только гидроксикампотечин. Результаты лечения по общей выживаемости приведены в таблице 3.

Сочетанная терапия увеличила общую выживаемость пациентов, хорошо переносилась больными и была безопасной.

Клинические испытания Гендицина, завершённые к настоящему времени, свидетельствуют о его хорошей переносимости и безопасности. Противоопухолевая эффективность Гендицина в монотерапии довольно низкая, однако отмечен выраженный синергизм генной терапии с химио- и лучевым лечением, поэтому сейчас в основном развиваются комбинированные методы лечения больных с опухолями различной локализации, включающие Гендицин в качестве одного из компонентов лечения.

Адвексин (INGN 201)

Адвексин (Advexin, INGN 201, Ad5CMV-p53; Introgen Therapeutics, Inc) является препаратом на основе аденовируса 5-го серотипа, в котором область E1 заменена ге-

ном p53 под цитомегаловирусным (CMV) промотором [32]. Делеция области E1 ДНК аденовируса превращает его в дефектный по репликации вирус и предотвращает экспрессию аденовирусных генов. Исследование методом повторного секвенирования показало, что Адвексин не подвержен мутационным изменениям и поддерживает ДНК p53 дикого типа путем транскрипции.

I фаза клинических испытаний Адвексина была проведена у 17 больных с нерезектабельным раком головы-шеи и у 15 больных с резектабельными опухолями головы-шеи [33, 34].

Больные с нерезектабельным процессом получали 3 интратуморальные инъекции в неделю (разовая доза – 10^{11} БОЕ (бляшкообразующих единиц)), что составляло один курс лечения. Курс лечения повторяли 1 раз в месяц. У 2/17 больных (11,8%) отмечен объективный положительный эффект, у 6/17 (35,3%) больных – стабилизация процесса в течение 3,5 месяцев и у 9/17 (52,9%) – прогрессирование заболевания. Токсичность была низкой – не было отмечено ни одного серьезного нежелательного явления.

Больные с резектабельными опухолями ($n = 15$) получали один полный предоперационный курс генной терапии, 1 инъекцию препарата во время операции и 1 инъекцию – через 72 часа после операции. У 4/15 больных в течение 18 месяцев (медиана срока наблюдения) не наблюдалось возврата болезни, что является более длительным периодом, чем регистрируется обычно у больных с резектабельным плоскоклеточным раком головы-шеи. Особенно хороший эффект отмечен у одного пациента: к моменту операции у него наблюдалась полная резорбция опухоли, подтвержденная морфологически, а затем он оставался без рецидива заболевания в течение 26 месяцев. У другого пациента данных за рецидив не было получено в течение 24 месяцев. При этом анализ биопсии опухоли показал экспрессию трансгена p53 и наличие апоптоза.

Оценка фармакокинетики препарата путем определения аденовирусного вектора методом ПЦР показала, что после интратуморального введения рекомбинантный аденовирус детектировался в крови в максимальной концентрации через 30 минут, затем в течение 90 мин концентрация его уменьшалась на 2–4 порядка, к 24 часам титр его достигал очень низких величин, а к 48 часам наблюдения препарат в крови не определялся. Рекомбинантный аденовирус выявлялся также в моче некоторых больных, которым вводили препарат в дозе не менее 3×10^9 БОЕ. При введении препарата в дозе 3×10^{10} БОЕ и более рекомбинантный аденовирус детектировался в моче всех больных через сутки после начала терапии. Через 3–17 дней после окончания введения препарат в моче не определялся. Препарат был выявлен в слюне и моче 6 больных, получивших высокую дозу препарата. Так же, как в моче, аденовирус обнаруживался через 1 сутки, присутствовал в течение нескольких дней и исчезал через 7 дней после окончания введения препарата. Несмотря на то, что аденовирусный вектор был выявлен в биологических жидкостях больных, ни один из них не предъявлял жалоб на наличие симптомов вирусемии, не было зарегистрировано увеличения титра нейтрализующих антител к аденовирусу, и инфекционные частицы отсутствовали в крови и в моче.

Многоцентровые клинические испытания по II фазе, проведенные с использованием вектора INGN 201 у 170 больных при интратуморальном введении в различных дозах и режимах, показали его безопасность и эффективность [35]. Исследования были проведены по 2 протоколам, которые различались только дозой вводимого препарата: в исследовании T-201 доза была в 50 раз выше, чем в исследовании T-202. Это привело к большему эффекту в исследованиях по протоколу T-201: медиана выживаемости составила 6,2 месяца против 3,8 месяца (протокол T-202), летальность через 150 дней составила 40% (протокол T-201) против 60% (протокол T-202). Препарат не вводили в течение периода наблюдения, и, возможно, это явилось причиной исчезновения эффекта спустя 150 дней. На основании полученных результатов для дальнейших исследований было рекомендовано применять Адвексин в высоких дозах и путем многократных инъекций.

Интересно отметить, что эффект препарата наблюдался независимо от эндогенного статуса *p53* в опухоли, то есть объективный эффект отмечен не только в тех опухолях, в которых зафиксированы мутации гена *p53*, но и в тех злокачественных новообразованиях, в которых они отсутствовали.

Были инициированы два исследования по III фазе, целью которых является сравнение эффективности монотерапии Адвексином больных с опухолями головы-шеи с эффективностью сочетанного лечения Адвексином и химиопрепаратами. В одном из этих исследований (T-301, предполагаемое число больных – 240) больные, у которых наблюдается местный или локорегионарный рецидив после лучевой или химиотерапии (препараты платины или таксаны), рандомизируются в две группы: 1-я – интратуморальное введение Адвексина, 2-я – внутривенное введение метотрексата. Больные получают максимально 9 курсов лечения (в течение 27 недель), выживаемость – первичная конечная точка исследования [35]. В другое исследование (T-302, предполагаемое число больных – 288) включаются больные без предшествующей химиотерапии и рандомизируются в две группы: 1-я – Адвексин + цисплатин + 5-фторурацил, 2-я – цисплатин + 5-фторурацил (стандартное лечение). Первичная конечная точка исследования – время до прогрессирования [35]. Исследования к настоящему моменту еще не закончены.

INGN 241

Препарат INGN 241 в качестве вектора содержит дефектный по репликации вирус Ad5, подобно препарату INGN 201, но в качестве эффекторного гена – ген *mda-7* (melanoma differentiation-associated gene-7). Этот ген известен также как ген интерлейкина-24 (*IL-24*) из семейства интерлейкина-10 (*IL-10*). *IL-24* – уникальный интерлейкин, который, помимо того, что он является цитокином, обладает еще свойствами опухолевого супрессора. Показано в системах *in vitro* и *in vivo*, что сверхэкспрессия гена *IL-24* в клетках опухолей человека подавляет их рост путем избирательной индукции апоптоза [36, 37].

Препарат INGN 241 прошел I фазу клинических испытаний у 28 больных с резектабельными солидными опухолями [38]. Препарат вводили интратуморально в дозах от $2 \times$

10^{10} вч до 2×10^{12} вч. Во всех опухолевых очагах, в которые вводили INGN 241, наблюдались трансдукция вектора, наличие трансгенной мРНК, повышенный уровень белка MDA-7 и индукция апоптоза. Наиболее выраженные изменения детектировались в клетках, расположенных близко к месту инъекции. Апоптоз клеток опухолей, в которые был инъецирован препарат, наблюдался даже у сильно предлеченных больных. ДНК и мРНК вектора INGN 241 определялись в 1 см от места инъекции, тогда как белок MDA-7 распределялся более широко. В большинстве случаев выраженность токсичности препарата была слабой и зависела от индивидуальной чувствительности к препарату, однако у одного больного были отмечены побочные явления 3-й степени выраженности. Клинический эффект повторных инъекций был зафиксирован в 44% опухолевых очагов, в которые вводили препарат, причем у одного больного с меланомой отмечен полный регресс, а у двух (тоже с меланомой) – частичный регресс.

На основании полученных клинических результатов исследователи заключили, что препарат хорошо переносится больными, индуцирует апоптоз в большой части опухолевых клеток и обладает терапевтической активностью при интратуморальном введении.

Исследования предполагают продолжить для более полного доказательства эффективности препарата INGN 241.

Онколитические вирусы

ONYX-015 (DL1520)

Невысокая трансфицирующая способность дефектных по репликации аденовирусных векторов является главной проблемой на пути повышения эффективности генной терапии больных с распространенными опухолевыми заболеваниями различной локализации. Для решения этой проблемы были сконструированы опухолеспецифичные условно размножающиеся аденовирусные векторы, в которых использованы промоторы опухолеассоциированных генов для усиления E1-зависимой репликации в опухолевых клетках.

Этот метод получил название онколитической вирусной терапии и является в настоящее время одним из наиболее перспективных подходов к противоопухолевой генной терапии, эффект которой обусловлен двойным механизмом противоопухолевого действия – прямым лизисом опухолевых клеток и активацией иммунной системы организма-опухоленосителя.

Препарат ONYX-015 (DL1520) для онколитической вирусной противоопухолевой терапии был разработан в США в 1990-х гг., прошел многоцентровые клинические испытания по I–III фазам, однако пока не получил одобрения FDA США для широкого применения в качестве лекарственного препарата.

Основой препарата ONYX-015 является условно-размножающийся аденовирус, дефектный по раннему регуляторному белку E1 В 55 К, который связывается с белком *p53* и блокирует его, таким образом ингибируя *p53*-индуцированный апоптоз и гибель клеток и активируя репликацию самого рекомбинантного аденовируса [39]. Исходя из этого механизма, можно предположить, что репликация аденовируса, дефектного по E1 В 55 К, будет

ингибирована в тех клетках, в которых р53-зависимый сигнальный путь не нарушен. Напротив, казалось, что рекомбинантный аденовирус будет активно размножаться в клетках с дефицитом р53 дикого типа и, соответственно, вызывать их гибель. Однако ряд исследований показал, что ONYX-015 эффективно размножается и в опухолевых клетках с белком р53 дикого типа [40, 41]. Это кажущееся противоречие разрешилось, когда исследовали *p14ARF* – опухолевый ген-супрессор, продукт которого функционально стабилизирует р53 [42]. Было показано, что выключение или потеря гена *p14ARF* и в результате – отсутствие стабилизации р53 является тем механизмом, который позволяет ONYX-015 размножаться в опухолевых клетках, в которых сохраняется р53 дикого типа [43].

I фаза клинических испытаний с эскалацией дозы была проведена у 22 больных с рецидивным плоскоклеточным раком головы-шеи при интратуморальном введении ONYX-015 [44]. В этом исследовании не было отмечено серьезных нежелательных явлений и не была выявлена дозозамещающая токсичность при повышении дозы до 1×10^{11} БОЕ. При этом объективный противоопухолевый ответ также не был получен.

Последующая II фаза исследований, при которой рекомбинантный аденовирус вводили многократно ежедневно такой же группе больных, показала более высокую эффективность [45]. Больные получали препарат в суммарной дозе 2×10^{11} вч интратуморально по 2 схемам: 1-я (n = 30) – один раз в день 5 дней подряд (стандартное введение) или 2-я (n = 10) – дважды в день в течение 3 недель (гиперфракционирование).

Эффективность в группах была следующей: в группе 1 у 14% больных наблюдался полный или частичный регресс опухоли, у 41% – стабилизация процесса, у 45% – прогрессирование; в группе 2 у 10% больных наблюдался полный регресс, у 62% – стабилизация процесса и у 29% – прогрессирование.

Токсические реакции включали гипертермию (всего у 67% больных), боль в месте инъекции (у 47% – стандартное лечение, 80% – режим гиперфракционирования).

Геном аденовируса, соответствующий ONYX-015, определялся в крови на 5–6-е сутки лечения у 41% больных, что свидетельствовало об интратуморальной репликации вируса. У 9% больных через 10 дней после введения в крови также выявлено присутствие вируса, свидетельствующее о репликации, однако на 22-й день наблюдения и далее такие данные уже отсутствовали, то есть вирус после интратуморального введения ONYX-015 является транзиторной.

Важно отметить, что ответ на терапию и репликация вируса коррелировали со статусом р53, оцененным методами секвенирования гена и иммуногистохимии: 58% опухолей (7 из 12) с мутантным р53 регрессировали, в то время как ни одного ответа не наблюдалось среди опухолей с р53 дикого типа. Более того, был отмечен некроз опухолевой ткани при отсутствии такового в окружающей нормальной ткани. Несмотря на присутствие нейтрализующих антител в высоком титре, распространение вируса в опухолевой ткани определялось в течение 5–14 дней после лечения.

Препарат ONYX-015 применили также для химиопрофилактики в виде раствора для орошения ротовой полости у 22 пациентов с гистологически подтвержденной лейкоплакией и дисплазией в ротовой полости [46]. В исследовании препарат вводили в 3 различных режимах: 1-й (n = 7) – 1×10^{10} БОЕ ежедневно в течение 5 дней; цикл повторяли каждые 4 недели, максимально – 12 циклов; 2-й (n = 12) – 1×10^{10} БОЕ один раз в неделю в течение 24 недель; 3-й (n = 3) – 1×10^{11} БОЕ ежедневно в течение 5 дней, затем в той же дозе один раз в неделю в течение 5 недель. Результаты для анализа были доступны у 19 больных. Исчезновение гистологических признаков дисплазии наблюдали у 7/19 больных, и еще у одного – уменьшение степени дисплазии. Однако большинство эффектов было транзиторным: максимальная длительность эффекта составила 30 месяцев у одного больного, леченного с применением 2-го режима, и у одного больного – на 3-м режиме.

У всех больных отмечена хорошая переносимость лечения – только у одного больного наблюдался подъем температуры, оцененный как токсическая реакция 2-й степени. Титр антител к аденовирусу был определен у 7 больных, но только у одного больного было отмечено увеличение в 2 раза титра антител к аденовирусу в процессе лечения.

Важно отметить, что, хотя чувствительность очагов лейкоплакии к лечению не зависела от исходного статуса р53 (и устойчивые, и чувствительные очаги имели одинаковый р53 статус до лечения), положительный гистологический ответ коррелировал с уменьшением р53 в клетках после лечения.

Клинические исследования II фазы по изучению сочетанного действия ONYX-015 и химиотерапии препаратами цисплатин и 5-фторурацил у больных с рецидивным раком головы-шеи показали интересные результаты [47, 48]. У 63% больных (19 из 30) отмечено существенное уменьшение (>50%) опухолевых очагов, из них у 8 (27%) – полный регресс, у 11 (36%) – частичный регресс (уменьшение на 50–100%). Через 4 недели после первоначально зафиксированного ответа у 15 из 19 больных эффект сохранялся, а через 6 месяцев ни у одного из 19 больных с объективным эффектом не было прогрессирования заболевания, тогда как у всех больных, леченных только химиотерапией, наблюдалось прогрессирование заболевания [47].

В исследовании Lamont с соавт. [48] по изучению сочетанного действия ONYX-015 и химиотерапии были включены 14 больных. Ответ на терапию был отмечен у 11 (78%) пациентов, что является очень хорошим результатом по сравнению с лечением только ONYX-015 (14% объективных ответов) и химиотерапией (30–40% ответов). Сочетанная терапия хорошо переносилась больными – видимого увеличения токсичности по сравнению с индивидуальным применением методов не было отмечено.

На основании полученных обнадеживающих результатов в настоящее время проводится III фаза клинических исследований у больных с рецидивным раком головы-шеи, нечувствительным к лучевой терапии. Дизайн исследования включает сравнение двух режимов терапии:

1-й – ONYX-015 + цисплатин + 5-фторурацил и 2-й – цисплатин + 5-фторурацил.

ONYX-015 испытывали не только при раке головы-шеи, но и при другой локализации опухоли. В работе N. Nabib с соавт. [49] приведены результаты пилотного исследования, проведенного у больных с гепатоцеллюлярным раком. Это один из наиболее распространенных видов злокачественных новообразований в Африке и Юго-Восточной Азии, поскольку эти районы являются эндемичными по заболеванию гепатитом В и С. Больные, перенесшие гепатит В и С, составляют группу повышенного риска развития гепатоцеллюлярного рака, так как ДНК вируса гепатита внедряется в геном клеток хозяина и вызывает мутации опухолевых генов-супрессоров, например, *p53*.

Препарат применяли по следующей схеме: внутривенное введение в 1-й день в дозе 3×10^{11} БОЕ, затем интратуморальное введение под контролем ультразвука в той же дозе во 2, 15, 16, 29 и 30-й дни. Предполагали, что первое внутривенное введение препарата приведет к повышению титра антител к аденовирусу, что в дальнейшем обусловит развитие местных иммунных реакций при интратуморальном введении. В исследование включили 10 больных с гепатоцеллюлярной карциномой, которых рандомизировали в 2 группы: 1-я ($n = 5$) – лечение с применением ONYX-015 по схеме, 2-я ($n = 5$) – интратуморальное введение этанола (стандартное лечение гепатоцеллюлярной карциномы). Токсичность лечения была минимальной в группе с введением аденовируса, однако эффект был тоже минимальным – у одного больного, получившего терапию ONYX-015, наблюдался частичный регресс опухоли, у остальных четырех – прогрессирование. Аналогичный результат был получен и в контрольной группе: стабилизация – у двух больных и прогрессирование – у трех больных.

Недостаточный эффект терапии препаратом ONYX-015 приостановил пока его регистрацию, но испытания препарата продолжаются у больных с различной локализацией злокачественного новообразования [50].

Oncorine™ (H-101)

В 2005 г. китайской регулирующей организацией State Food & Drug Administration (SFDA) был одобрен для клинического применения у больных раком головы-шеи препарат Oncorine™ (Shanghai Sunway Biotech, Shanghai, China) [51]. Препарат аналогичен ONYX-015 (dl1520): основной компонент препарата Oncorine™ – условно-размножающийся аденовирус с делециями *E1 B55k* и частично *E3* участков ДНК, как и в [52, 53]. То есть действие Oncorine™ также основано на использовании онколитических вирусов [54].

I фаза клинических испытаний Oncorine™ у больных раком головы-шеи в монотерапии была начата в Китае в 2000 г., а в 2001–2004 гг. у больных раком носоглотки были проведены испытания препарата в сочетании с цитостатиками (II–III фазы) [52, 53, 55].

III фаза клинических испытаний препарата Oncorine™ была проведена в сочетании с химиотерапией препаратами цисплатин и 5-фторурацил [56]. Больные получали интратуморальные инъекции препарата Oncorine™ еже-

дневно в течение 5 дней, цикл введения повторяли каждые 3 недели. Химиотерапию проводили в стандартном режиме. При сочетанном лечении объективный эффект был получен у 78% больных, а у больных контрольной группы (при одной химиотерапии) – только в 39% случаев.

Более 600 больных получили лечение генной терапией с Oncorine™ в ходе клинических испытаний без выраженных побочных эффектов.

На основании полученных положительных результатов клинических испытаний SFDA Китая одобрила применение Oncorine™ в сочетании с цитостатиками в качестве лекарственного препарата для онколитической вирусной терапии распространенных онкологических заболеваний.

Помимо Oncorine™, компания Shanghai Sunway Biotech разработала другие препараты на основе генетически модифицированных аденовирусов – H102 и H103 для лечения больных со злокачественными новообразованиями [57]. В препарате H102 экспрессия аденовирусного гена *E1a* находится под контролем промотора α -фетопротейна, который значительно активирован в первичных гепатоцеллюлярных карциномах, но не в нормальных клетках. То есть, H102 может избирательно экспрессировать вирусный ген *E1a* в опухолях печени, что приводит к специфической репликации вируса и онколитическому эффекту. Препарат проходит доклинические испытания.

Препарат H103 основан на онколитическом аденовирусе, несущем ген белка теплового шока 70 (HSP), который способен стимулировать противоопухолевый иммунный ответ при селективной репликации вируса в опухолевых клетках. К настоящему времени прошла I фаза клинических испытаний препарата H103 с включением 27 больных с распространенными опухолевыми заболеваниями. В 11,1% случаев отмечен объективный положительный ответ (полный + частичный ответ) и в 37% случаев – стабилизация процесса [57].

Imlygic® – препарат для лечения меланомы

В октябре 2015 г. Food and Drug Administration (FDA) США одобрила применение talimogene laherparepvec (T-VEC, или OncoVEX^{GM-CSF}, коммерческое название препарата Imlygic®, Amgen, Inc, USA) для лечения больных с нерезектабельными (в основном, из-за множественности), но доступными для внутриопухолевого введения очагами меланомы кожи и метастатически пораженными лимфатическими узлами [58].

Imlygic® явился первым генно-терапевтическим препаратом на основе онколитического вируса, разрешенным в США.

T-VEC – генетически сконструированный штамм вируса простого герпеса 1 типа (HSV1) на основе JS1 (ECACC Accession Number 01010209) – штамма с повышенной (по сравнению с другими лабораторными и клиническими штаммами HSV1) онколитической активностью [59]. В результате модификации JS1 был лишен обеих копий гена *RL1* (кодирующего нейровирулентный фактор ICP34.5) и *US12* (кодирующего нейровирулентный фактор ICP47). На место каждого нефункционирующего гена *RL1* была по-

мещена кассета, кодирующая ген гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) под цитомегаловирусным (CMV) промотором. Экспрессия GM-CSF в условиях вирусного лизиса опухолевых клеток способствует рекрутингу и активации антигенпрезентирующих клеток, таким образом усиливая противоопухолевый иммунный ответ организма [60, 61]. Важно отметить, что T-VEC сохраняет чувствительность к противовирусным препаратам, например, к ацикловиру. Это обеспечивает дополнительный контроль размножения вируса и его распространения, то есть способствует безопасности терапии [62].

Результаты клинических испытаний I и II фаз Imlygic® при внутриопухолевом введении больным различными злокачественными заболеваниями, включая меланому, были очень обнадеживающими, что позволило продолжить исследования по III фазе. Было проведено испытание OPTiM (OncoVEX^{GM-CSF} Pivotal Trial in Melanoma, NCT00769704) [63] с участием 436 больных меланомой IIIB-IIIC-IV стадии с нерезектабельными очагами, но доступными для инъекции препарата. Больные были рандомизированы в две группы: в основной группе (n = 290) лечение проводили препаратом T-VEC (внутриопухолевое введение), в группе сравнения (n = 146) – препаратом GM-CSF (подкожное введение). Было показано, что в основной группе частота объективных эффектов (полных + частичных) продолжительностью не менее 6 месяцев наблюдалась достоверно чаще, чем в группе сравнения (16,3% и 2,1% соответственно) [64]. Также отмечена достоверная разница в количестве общих эффектов в этих группах (26,4% и 5,7%) и в медианах продолжительности жизни больных (23,3 мес и 18,9 мес). Наиболее частыми проявлениями побочных реакций были слабость, озноб и повышение температуры. Единственным серьезным осложнением (3–4-й степени), которое встречалось у 2% больных, был целлюлит [65]. Полученные результаты позволили зарегистрировать препарат для лечения больных меланомой.

РЕЗУЛЬТАТЫ ВНУТРИВЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ АДЕНОВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ В ОНКОЛОГИИ

В предыдущих разделах приведены результаты интра-туморального введения препаратов на основе аденовирусных векторов, несущих ген *p53* дикого типа. Но и дефектные по репликации, и условно размножающиеся рекомбинантные аденовирусы применяли также путем внутривенного и внутриартериального (в печеночную артерию) введения для лечения опухолей с дефицитом *p53* [66, 67].

Максимально переносимая доза дефектного по репликации аденовируса (SCH58500) при внутриартериальном введении была установлена как $2,5 \times 10^{13}$ вч. При повышении дозы до $7,5 \times 10^{13}$ вч наблюдалась дозолимитирующая токсичность в виде уменьшения сердечного выброса. При таком же пути введения условно размножающегося вируса dl1520 в диапазоне доз до 2×10^{12} вч максимально переносимая доза не была установлена. Также не была выявлена существенная гепатоток-

сичность. Наиболее частыми проявлениями токсичности были гипертермия средней степени выраженности, озноб и подъем уровня трансаминаз [68]. Данные о наличии экспрессии гена и/или размножения вируса были получены у большинства больных при введении соответствующих препаратов в дозе $> 6 \times 10^{11}$ вч.

При внутривенном введении препарата ONYX-015 (реплицирующийся аденовирус) в дозе 2×10^{13} вч спектр токсичности был примерно таким же, как вектора SCH58500 (дефектный по репликации аденовирус). Однако в настоящее время отсутствуют официальные генные противоопухолевые препараты для системного (внутривенного или внутриартериального) введения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературы показал, что к настоящему времени в онкологическую клиническую практику введены 3 препарата для внутриопухолевого введения: 2 препарата, зарегистрированные в Китае, – GendicineTM и OncorineTM на основе дефектного по репликации и реплицирующегося аденовируса с эффекторным геном *p53* дикого типа для лечения больных опухолями головы-шеи, и 1 препарат, зарегистрированный в США, – Imlygic® на основе биоинженерного реплицирующегося штамма HSV1 с эффекторным геном GM-CSF для лечения больных меланомой. Опыт применения этих препаратов показал, что они хорошо переносятся больными, не вызывают серьезных нежелательных явлений, а спектр побочных реакций ограничивается, как правило, гриппоподобным синдромом. Однако полученные клинические данные свидетельствуют о низкой эффективности препаратов GendicineTM и OncorineTM в монотерапии, но выраженном синергизме действия с методами консервативной противоопухолевой терапии – химио- и лучевой терапией: результативность комбинированного лечения превышает таковую традиционных методов в 2,5–3,4 раза. Поэтому дальнейшие исследования этих препаратов направлены, в основном, на разработку эффективных схем комбинированного лечения. Пострегистрационные исследования препарата Imlygic® как в монотерапии, так и в сочетании с другими методами лечения находятся на начальной стадии.

Серьезным препятствием для повышения эффективности генной терапии препаратами на основе вирусных векторов являются нейтрализующие противовирусные антитела. У большинства больных пул антител представлен как предсуществующими антителами, наличие которых обусловлено почти поголовным инфицированием населения аденовирусом 5 типа и герпесвирусом, так и вновь образованными после введения генного препарата. Это требует особых мер по защите вирусных векторов от иммунного ответа на их введение.

Разработка новых генных конструкций с учетом современных представлений об онкогенезе и механизмах прогрессии опухолей, обоснованных схем монотерапии генными препаратами и рациональное сочетание генной терапии с традиционными методами противоопухолевого лечения также будут способствовать улучшению результатов борьбы с онкологическими заболеваниями.

Литература/References

1. Rosenberg S.A., Aebersold P., Cornetta K., Kasid A., Morgan R.A., Moen R., Karson E.M., Lotze M.T., Yang J.C., Topalian S.L. Gene transfer into humans – immunotherapy of patients with advanced melanoma, using tumor-infiltrating lymphocytes modified by retroviral gene transduction. *N Engl J Med.* 1990; 323: 570–578. DOI: <https://doi.org/10.1056/nejm199008303230904>
2. Gene Therapy Clinical Trials Worldwide. John Wiley & Sons Inc; Hoboken, NJ, USA: 2015. A comprehensive searchable online database of gene therapy clinical trials. Available at: www.wiley.co.uk/genmed/clinical.
3. Ajith T.A. Strategies used in the clinical trials of gene therapy for cancer. *J Exper Ther Oncol.* 2015; 11 (1): 33–39.
4. Rätty J.K., Pikkarainen J.T., Wirth T., Ylä-Herttua S. Gene therapy: the first approved gene-based medicines, molecular mechanisms and clinical indications. *Curr Mol Pharmacol.* 2008; 1 (1): 13–23.
5. Fung H., Gersson S. Viral insertion site detection and analysis in cancer gene therapy. In: *Gene Therapy of Cancer*. 3rd edition. Edited by Lattime EC, Gerson SL. San Diego (CA): Elsevier; 2013, 35–46.
6. Gujrati M., Lu Z. Targeted systemic delivery of therapeutic siRNA. In: *Gene Therapy of Cancer*. 3rd edition. Edited by Lattime EC, Gerson SL. San Diego (CA): Elsevier; 2013, 47–65.
7. Davis M.E. The first targeted delivery of siRNA in humans via a self-assembling, cyclodextrin polymer-based nanoparticle: from concept to clinic. *Mol Pharm.* 2009; 6 (3): 659–668. DOI: <https://doi.org/10.1021/mp900015y>
8. Maxon J., Weaver Ch. Antisense Therapy: An Overview. *Current Topics In Oncology*, 2005.
9. Sakuma T., Woltjen K. Nuclease-mediated genome editing: at the front-line of functional genomics technology. *Dev Growth Differ.* 2014 Jan; 56 (1): 2–13. DOI: <https://doi.org/10.1111/dgd.12111>
10. Cai Y., Bak R.O., Mikkelsen J.G. Targeted genome editing by lentiviral protein transduction of zinc-finger and TAL-effector nucleases. *Elife.* 2014 Apr 24; 3: e01911. DOI: <https://doi.org/10.7554/elife.01911>
11. Uhde-Stone C., Sarkar N., Antes T., Otoc N., Kim Y., Jiang Y.J., et al. A TALEN-based strategy for efficient bi-allelic miRNA ablation in human cells. *RNA.* 2014 Jun; 20 (6): 948–955. DOI: <https://doi.org/10.1261/rna.042010.113>
12. Roth J.A. Adenovirus p53 gene therapy. *Expert Opin Biol Ther.* 2006; 6: 55–61. DOI: <https://doi.org/10.1517/14712598.6.1.55>
13. Eberle J., Fecker L.F., Hossini A.M., Kurbanov B.M., Fechner H. Apoptosis pathways and oncolytic adenoviral vectors: promising targets and tools to overcome therapy resistance of malignant melanoma. *Exp Dermatol.* 2008; 17: 1–11. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2007.00655.x>
14. Zarogoulidis P., Darwiche K., Sakkas A., Yarmus L., Huang H., Li Q., et al. Suicide gene therapy for cancer – current strategies. *J Genet Syndr Gene Ther.* 2013; 4. DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-7412.1000139>
15. Suicide Gene Therapy: Methods and Reviews. Ed. By C. J. Springer. *Methods in Molecular Medicine*, Vol. 90. Humana Press Inc, Totowa NJ.
16. Aghi M., Martuza R.L. Oncolytic viral therapies – the clinical experience. *Oncogene.* 2005; 24: 7802–7816. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209037>
17. Hemminki O., Hemminki A. Oncolytic adenoviruses in treatment of cancer in humans. *Gene Therapy of Cancer.* 2014; pp. 153–170. DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-394295-1.00011-1>
18. Breitbart C.J., Thorne S.H., Bell J.C., Kim D.H. Targeted and armed oncolytic poxviruses for cancer: the lead example of JX-594. *Curr Pharm Biotechnol.* 2011; 13 (9): 1768–72. DOI: <https://doi.org/10.2174/138920112800958922>
19. Guse K., Sloniecka M., Diaconu I., Ottolino-Perry K., Tang N., Ng C., et al. Antiangiogenic arming of an oncolytic vaccinia virus enhances antitumor efficacy in renal cell cancer models. *J Virol.* 2010 Jan; 84 (2): 856–866. DOI: <https://doi.org/10.1128/jvi.00692-09>
20. Yuan Z., Pastoriza J., Quinn T., Libutti S. Targeting tumor vasculature using adeno-associated virus page vector coding tumor necrosis factor- α . In *Gene Therapy of Cancer*. 3rd edition. Edited by Lattime E.C., Gerson.SL. San Diego (CA): Elsevier; 2013, pp. 19–33.
21. Wilson J.M. Gendicine: the first commercial gene therapy product. *Hum Gene Ther.* 2005 Sep; 16 (9): 1014–1015. DOI: <https://doi.org/10.1089/hum.2005.16.1014>
22. Tazawa H., Kagawa S., Fujiwara T. Advances in adenovirus-mediated p53 cancer gene therapy. *Expert Opin Biol Ther.* 2013; 13 (11): 1569–1583. DOI: <https://doi.org/10.1517/14712598.2013.845662>
23. Zhou J., Zhang Y., Zhao G., Liu Y., Li C., Tang S., et al. The preliminary study of recombinant adenovirus p53 combined with transarterial embolization with particles for advanced hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2014; 94 (9): 660–663.
24. Yi Li., Bo Li., Chun-Jie Li., Long-Jiang Li. Key points of basic theories and clinical practice in rAd-p53 (Gendicine™) gene therapy for solid malignant tumors. *Expert Opin Biol Ther.* 2015; 15 (3): 437–454. DOI: <https://doi.org/10.1517/14712598.2015.990882>
25. Volgestein B., Lane D., Levine A. J. Surfing the p53 network. *Nature.* 2000; 408: 307–310. DOI: <https://doi.org/10.1038/35042675>
26. Chen G., Zhang S., He X., Liu S., Ma Ch., Zou X-P. Clinical utility of recombinant adenoviral human p53 gene therapy: current perspectives. *OncoTargets and Therapy.* 2014; 7: 1901–1909. DOI: <https://doi.org/10.2147/ott.s50483>
27. Han D.M., Huang Z.G., Zhang W., Yu Z.K., Wang Q., Ni X., et al. Effectiveness of recombinant adenovirus p53 injection on laryngeal cancer: phase I clinical trial and follow up. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2003; 83 (23): 2029–2032.
28. Peng Z., Han D., Zhang S., et al. Clinical evaluation of safety and efficacy of intratumoral administration of a recombinant adenoviral p53 anticancer agent (Genkaxin). *Med Ther.* 2003; 7: 422–423.
29. Vattermi E., Claudio P.P. Adenoviral gene therapy in head and neck cancer. *Drug News Perspect.* 2006; 19 (6): 329–337. DOI: <https://doi.org/10.1358/dnp.2006.19.6.1015352>
30. Li X., Xiao S., Li Y., Zhang S. Clinical antiangiogenic effect of recombinant adenovirus-p53 combined with hyperthermia for advanced cancer. *Chin J Cancer Res.* 2013; 25 (6): 749–755. DOI: [10.3978/j.issn.1000-9604.2013.12.05](https://doi.org/10.3978/j.issn.1000-9604.2013.12.05)
31. Chen S., Chen J., Xi W., Xu W., Yin G. Clinical therapeutic effect and biological monitoring of p53 gene in advanced hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Oncol.* 2014; 37 (1): 24–29. DOI: <https://doi.org/10.1097/coc.0b013e3181fe4688>
32. INGN 201: Ad-p53, Ad5CMV-p53, adenoviral p53, p53 gene therapy – nitrogen, RPR/INGN 201. *Drugs R D.* 2007; 8: 176–187.
33. Clayman G.L., El-Naggar A.K., Lippman S.M., Henderson Y.C., Frederick M., Merritt J.A., et al. Adenovirus-mediated p53 gene transfer in patients with advanced recurrent head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 1998; 16: 2221–2232.
34. Clayman G.L., Frank D.K., Bruso P.A., Goepfert H. Adenovirus-mediated wild-type p53 gene transfer as a surgical adjuvant in head and neck cancers. *Clin Cancer Res.* 1999; 5 (7): 1715–1722. DOI: <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/5/7/1715.long>
35. Vattermi E., Claudio P.P. The feasibility of gene therapy in the treatment of head and neck cancer. *Head Neck Oncol.* 2009; 1: 3. DOI: <https://doi.org/10.1186/1758-3284-1-3>
36. Lebedeva I.V., Emdad L., Su Z.Z., Gupta P., Sauane M., Sarkar D., et al. Mda-7/IL-24, novel anticancer cytokine: focus on bystander antitumor, radiosensitization and antiangiogenic properties and overview of the phase I clinical experience (Review). *Int J Oncol.* 2007 Nov; 31 (5): 985–1007. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijo.31.5.985>
37. Ramesh R., Ioannides C.G., Roth J.A., Chada S. Adenovirus-mediated interleukin (IL)-24 immunotherapy for cancer. *Methods Mol Biol.* 2010; 651: 241–270. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-60761-786-0_14
38. Cunningham C.C., Chada S., Merritt J.A., Tong A., Senzer N., Zhang Y., et al. Clinical and local biological effects of an intratumoral injection of mda-7 (IL24; INGN 241) in patients with advanced carcinoma: a phase I study. *Mol Ther.* 2005; 11 (1): 149–159. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jymthe.2004.09.019>
39. Bischoff J.R., Kirn D.H., Williams A., Heise C., Horn S., Muna M., et al. An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science.* 1996; 274: 373–376. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.274.5286.373>
40. Goodrum F.D., Ornelles D.A. P53 status does not determine outcome of E1b 55-kilodalton mutant adenovirus lytic infection. *J Virol.* 1998; 72 (12): 9479–9490. DOI: <http://jvi.asm.org/content/72/12/9479.long>

41. Rothmann T., Hengstermann A., Whitaker N.J., Scheffner M., zur Hausen H. Replication of ONYX-015, as a potential anticancer adenovirus, is independent of p53 status in tumor cells. *J Virol.* 1998; 72 (12): 9470–9478. DOI: <http://jvi.asm.org/content/72/12/9470.long>
42. Quelle D.E., Zindy F., Ashun R.A., Sherr C.J. Alternative reading frames of the INK4a tumor suppressor gene encode two unrelated proteins capable of inducing cell cycle arrest. *Cell.* 1995; 83 (6): 993–1000. DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90214-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90214-7)
43. Ries S.J., Brandts C.H., Chung A.S., Biederer C.H., Hann B.C., Lipner E.M., et al. Loss of p14ARF in tumor cells facilitates replication of the adenovirus mutant dl 1520 (ONYX-015). *Nat Med.* 2000; 6 (10): 1128–1133. DOI: <https://doi.org/10.1038/80466>
44. Ganly I., Kim D., Eckhardt G., Rodriguez G.I., Soutar D.S., Otto R., et al. A phase I study of ONYX-015, an E1B attenuated adenovirus, administered intratumorally to patients with recurrent head and neck cancer. *Clin Cancer Res.* 2000; 6 (3): 798–806. DOI: <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/6/3/798.long>
45. Nemunaitis J., Khuri F., Ganly I., Arseneau J., Posner M., Vokes E., 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 (12): 289–298.
46. Rudin C.M., Cohen E.E., Papadimitrakopoulou V.A., Silverman S. Jr, Recant W., El-Naggar A.K., et al. An attenuated adenovirus, ONYX-015, as mouthwash therapy for premalignant oral dysplasia. *J Clin Oncol.* 2003; 21 (24): 4546–4552. DOI: <https://doi.org/10.1200/jco.2003.03.544>
47. Khuri F.R., Nemunaitis J., Ganly I., Arseneau J., Tannock I.F., Romel L., et al. A controlled trial of intratumoral ONYX-015, a selectively-replicating adenovirus, in combination with cisplatin and 5-fluorouracil in patients with recurrent head and neck cancer. *Nat Med.* 2000; 6 (8): 879–885.
48. Lammont J.P., Nemunaitis J., Kuhn J.A., Landers S.A., McCarty T.M. A prospective phase II trial of ONYX-015 adenovirus and chemotherapy in recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck (the Baylor experience). *Ann Surg Oncol.* 2000; 7 (8): 588–592.
49. Habib N., Salama H., Abd El Latif Abu Mediam A., Isac Anis I., Abd Al Aziz R.A., Sarraf C., et al. Clinical trial of E1B-deleted adenovirus (dl1520) gene therapy for hepatocellular carcinoma. *Cancer Gene Ther.* 2002; 9 (3): 254–259. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700431>
50. Larson C., Oronsky B., Sciacini J., Fanger G.R., Stim M., Oronsky A., et al. Going viral: a review of replication-selective oncolytic adenoviruses. *Oncotarget.* 2015; 6 (24): 19976–19989. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.5116>
51. Garber K. China approves world's first oncolytic virus therapy for cancer treatment. *J Natl Cancer Inst.* 2006; 98 (5): 298–300. DOI: <https://doi.org/10.1093/jnci/djj111>
52. Yu W., Fang H. Clinical trials with oncolytic adenovirus in China. *Curr Cancer Drug Targets* 2007; 7 (2): 141–148. DOI: <https://doi.org/10.2174/156800907780058817>
53. Lu W., Zheng S., Li X.F., Huang J.J., Zheng X., Li Z. Intra-tumor injection of H101, a recombinant adenovirus, in combination with chemotherapy in patients with advanced cancers: A pilot phase II clinical trial. *World J Gastroenterol.* 2004; 10 (24): 3634–3638. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v10.i24.3634>
54. Cheng P.H., Wechman S.L., McMasters K.M., Zhou H.S. Oncolytic replication of E1b-deleted Adenoviruses. *Viruses.* 2015; 7 (11): 5767–5779. DOI: <https://doi.org/10.3390/v7112905>
55. Liang M. Clinical development of oncolytic viruses in China. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13 (9):1852–1857. DOI: <https://doi.org/10.2174/138920112800958760>
56. Li J.L., Liu H.L., Zhang X.R., Xu J.P., Hu W.K., Liang M., et al. A phase I trial of intratumoral administration of recombinant oncolytic adenovirus overexpressing HSP70 in advanced solid tumor patients. *Gene Ther.* 2009; 16 (3): 376–382. DOI: <https://doi.org/10.1038/gt.2008.179>
57. Frew S.E., Sammut S.M., Shore A.F., Ramjist J.K., Al-Bader S., Rezaie R., et al. Chinese health biotech and the billion-patient market. *Nat Biotechnol.* 2008; 26 (1): 37–53. DOI: <https://doi.org/10.1038/nbt0108-37>
58. Pol J., Kroemer G., Galuzzi L. First oncolytic virus approved for melanoma immunotherapy. *Oncoimmunology.* 2016; 5 (1): e1115641. DOI: <https://doi.org/10.1080/2162402x.2015.1115641>
59. Goins W.F., Huang S., Cohen J.B., Glorioso J.C. Engineering HSV1 vectors for gene therapy. *Methods Mol Biol.* 2014; 1144: 63–79. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0428-0_5
60. Vacchelli E., Eggermont A., Fridman W.H., Galon J., Zitvogel L., Kroemer G., Trial watch: immunostimulatory cytokines. *Oncoimmunology* 2013; 2 (7): e24850. DOI: <https://doi.org/10.4161/onci.24850>
61. Vacelli E., Aranda F., Obrist F., Eggermont A., Galon J., Cremer I., et al. Trial watch: immunostimulatory cytokines. *Oncoimmunology* 2014; 3: 29030. DOI: <https://doi.org/10.4161/onci.29030>
62. Razonable R.R. Antiviral drugs for viruses other than human immunodeficiency virus. *Mayo Clin Proc.* 2011; 86: 1009–1026. DOI: <https://doi.org/10.4065/mcp.2011.0309>
63. Kaufman H.L., Bines S.D. OPTIM trial: a Phase III trial of an oncolytic herpes virus encoding GM-CSF for unresectable stage or IV melanoma. *Future Oncol.* 2010; 6: 9410949. DOI: <http://dx.doi.org/10.2217/fon.10.66>
64. Galuzzi L., Lugli E. Cancer immunotherapy turns viral. *Oncoimmunology* 2013; 2: e24802. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/onci.24802>
65. Andtbacka R.H., Kaufman H.L., Collichio F., Amartruda T., Senzer N., Chesney J., et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol* 2015; 33: 2780–2788. DOI: <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2014.58.3377>
66. Reid T, Galanis E, Abbruzzese J, Sze D., Andrews J., Romel L., et al. Intra-arterial administration of replication-selective adenovirus (dl1520) in patients with colorectal carcinoma metastatic to the liver: a phase I trial. *Gene Ther.* 2001; 8 (21): 1618–1626. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301512>
67. Reid T., Warren R., Kim D. Intravascular adenoviral agents in cancer patients: Lessons from clinical trials. *Cancer Gene Therapy.* 2002; 9 (12): 979–986. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.cgt.7700539>
68. Reid T., Galanis E., Abbruzzese J., et al. Hepatic artery infusion of ONYX-015? A replication-selective adenovirus, in combination with 5-FU/leucovorin for gastrointestinal carcinoma metastatic to the liver: a phase I/II clinical trial. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 2000; 19: 953.

Информация об авторах:

Безбородова Ольга Алексеевна, к. б.н., старший научный сотрудник отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ». E-mail: olgabezborodova@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5009-1508>

Якубовская Раиса Ивановна, д. б.н., профессор, заведующая отделением модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ». E-mail: raisayakub@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9799-7622>

Каприн Андрей Дмитриевич, академик РАН, д. м.н., профессор, заведующий кафедрой урологии и оперативной нефрологии с курсом онкоурологии Медицинского института РУДН, генеральный директор ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

Information about authors:

Olga A. Bezborodova, PhD, senior researcher, the department of the modifiers and protectors of anticancer therapy, P. Hertsens Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation. E-mail: olgabezborodova@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5009-1508>

Raisa I. Yakubovskaya, MD, professor, head of the department of the modifiers and protectors of anticancer therapy, P. Hertsens Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation. E-mail: raisayakub@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9799-7622>

Andrey D. Kaprin – academician of RAS, PhD, MD, Prof.; Corr. member of the Russian Academy of Education; Honored Physician of the Russian Federation; General Director of National Medical Research Radiological Centre, Head of Department of Urology with Course of Urological Oncology, Faculty for Postgraduate Training, Peoples' Friendship University of Russia. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8784-8415>