

ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ ШТАММЫ ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ ДЛЯ ИММУНОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Я. Шакиба^{1,2}, М.А. Вольская¹, О.А.Тихонова¹, П.О. Воробьев², А.В. Липатова¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

² Московский физико-технический институт, Московская область, г. Долгопрудный

Цель исследования. Провести систематический анализ данных, имеющихся в современной литературе, по созданию новых терапевтических вирусных штаммов осповакцины для лечения различных злокачественных новообразований, в том числе рака яичников и рака молочной железы.

Материал и методы. В обзор включены данные зарубежных и отечественных статей, найденных в Pubmed по данной теме, опубликованных за последние 10 лет.

Результаты. Виротерапия рака — новый подход к лечению злокачественных заболеваний, в основе которого лежат вирусы, обладающие природными онколитическими свойствами или улучшенные с помощью методов генной инженерии. Онколитические вирусы заражают и лизируют раковые клетки, не нанося вреда нормальным клеткам, при этом многие из них демонстрируют способность направленно стимулировать иммунную систему против опухолевых клеток. Рекombинантные вирусы, созданные на основе вируса осповакцины (*Vaccinia virus*, ОВ, осповакцина), имеют большие перспективы в качестве противоопухолевой терапии благодаря большой емкости их генома и высокой онкоселективности. Экспрессия в таком векторе белков, обладающих иммуномодулирующими и проапоптотическими свойствами, способствует повышению эффективности кросс-активации Т-клеток, распознающих антигены опухолевых клеток, в том числе с участием дендритных клеток.

Заключение. Вирус осповакцины является мощным инструментом для мультимодальной терапии рака. За последнее десятилетие область разработки рекombинантных вирусов переживает бурный рост, и десятки новых терапевтических штаммов находятся на различных стадиях клинических испытаний, что, несомненно, должно привести к улучшению выживаемости онкологических больных.

Ключевые слова: виротерапия рака, онколитические вирусы, осповакцина.

ONCOLYTIC VACCINIA VIRUS STRAINS FOR THE IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT DISEASES

Ya.Shakiba^{1,2}, M.A. Volskaya¹, O.A. Tikhonova¹, P.O. Vorobyov², A.V. Lipatova¹

¹ V.A.Engelgardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow

² Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

Objective of the study is to carry out a systematic analysis of the data available in current literature on the creation of the novel therapeutic vaccinia virus strains for the treatment of various malignant neoplasms, including ovarian and breast cancer.

Materials and Methods. The review comprises the data of foreign and Russian scholarly articles found in Pubmed on the subject published over the past 10 years.

Results. Virotherapy of cancer is a novel approach to the treatment of malignant diseases, based on the viruses, which possess natural oncolytic properties or are improved by genetic engineering. Oncolytic viruses infect and lyse cancer cells without harming normal cells, herewith many of them exhibit an ability of targeted stimulation of the immune system to fight tumor cells. Recombinant viruses, created on the basis of vaccinia virus, are opening great prospects in antitumor therapy due to the large size of their genome and high tumor selectivity. Expression in such vector of proteins that possess immunomodulatory and proapoptotic properties, contributes to increased efficiency of the cross-activation of T-cells which recognize tumor cell antigens, including those involving dendritic cells.

Conclusion. Vaccinia virus is a powerful tool for multimodal cancer therapy. Over the past decade the area of recombinant virus research and development has been undergoing rapid growth, and dozens of new therapeutic strains are at various stages of clinical trials, that should undoubtedly contribute to improved survival of cancer patients.

Keywords: virotherapy of cancer; oncolytic viruses, vaccinia virus.

Введение

Впервые онколитическое действие вирусов было продемонстрировано Levaditi и соавт. в 1922 г. Авторы показали способность осповакцины (ОВ) замедлять рост опухолей у иммунокомпетентных мышей. Впоследствии онкоселективность и высокая литическая активность была продемонстрирована на различных моделях *in vitro* и *in vivo*. С 1980-х годов началось применение рекомбинантных штаммов осповакцины и других поксвирусов в качестве векторов для активной иммунизации против рака и широкого ряда инфекционных заболеваний. В ходе проведения многочисленных клинических испытаний были оптимизированы стратегии лечения данным классом виротерапевтических препаратов [1]. За последние 20 лет один из наиболее успешных препаратов, получивших коммерческое название Реха-Вес, продемонстрировал высокую эффективность в ходе первых двух фаз клинических испытаний и в настоящее время находится на III фазе клинических испытаний для лечения пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой [2].

Преимущества использования вируса осповакцины в качестве онколитического агента

Осповакцина является членом семейства *Poxviridae* рода *Orthopoxvirus*. Данный вирус имеет линейный геном, представленный двухцепочечной ДНК длиной около 190 тысяч пар оснований, кодирующий более 200 генов. Эти особенности биологии поксвирусов обуславливают высокую емкость их генома, благодаря которой один-единственный вектор может экспрессировать в опухолевых клетках большие белковые комплексы, обладающие терапевтической активностью, при этом эффективность репликации вируса значительно не снижается [3]. Другим и, возможно, ключевым преимуществом данного вектора является его безопасность: данный вирус в форме живой вакцины был использован для вакцинации более 200 млн человек в ходе реализации программы Всемирной организации здравоохранения по ликвидации оспы. Длительное успешное применение в клинической практике предполагает высокую безо-

пасность данного вектора [4], а редкие случаи возникновения генерализованной инфекции легко могут быть устранены с помощью противовирусной терапии [5]. Репликация вируса осповакцины проходит в цитоплазме, что исключает вероятность интеграции вирусного генома в ДНК клетки хозяина. Также стоит отметить высокую генетическую стабильность данного вектора. Кроме этого, получение рекомбинантных штаммов ОВ в основном сопровождается нарушением гена тимидинкиназы (фермента, участвующего в репликации генома), чем обуславливается способность вируса реплицироваться только в быстроделяющихся клетках [6].

Вирус осповакцины и иммунная система

Детальное изучение механизмов иммуногенности вируса осповакцины помогло разработать новые эффективные рекомбинантные онколитические штаммы. В частности, создан терапевтический штамм JX-594 (Реха-Вес), экспрессирующий гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), способствующий лизису опухолевых клеток. Полученный штамм используется для лечения гепатоцеллюлярной карциномы [2, 7]. Интерфероны (I, II и III типа) играют важную роль в подавлении инфекции ОВ на уровне врожденного противовирусного ответа. Делеции в концевых областях генома ОВ повышают чувствительность к обработке интерферонами, что свидетельствует о том, что данные области кодируют белки, отвечающие за подавление противовирусной активности IFN [8]. Вирус осповакцины за счет экспрессии белков, блокирующих сигнальные пути, индуцируемые рецепторами распознавания паттернов (Pattern Recognition Receptor, PRR), снижает продукцию и распознавание молекулярных паттернов, ассоциированных с патогенностью (Pathogen Associated Molecular Pattern, PAMP), тем самым ингибируя индукцию IFN, а также препятствует индукции интерферона одноцепочечными РНК, продуцируемыми в результате транскрипции АТ-богатых ДНК [9]. Многочисленные внутриклеточные белки, кодируемые вирусом осповакцины, такие как

A46, A49, A52, B14, C4 и E3, ингибируют активацию NF- κ B, которая необходима для индукции IFN [10]. Цитокины, такие как IL-1, IL-18 и TNF (Tumor Necrosis Factor, фактор некроза опухоли), являются частью адаптивного иммунного ответа на вирусную инфекцию. Вирус осповакцины ингибирует их за счет синтеза растворимых рецепторов-приманок, конкурентно связывающихся и блокирующих их протеолитическое созревание, ингибируя индуцируемые цитокинами сигналы. ОВ может влиять на синтез IL-1 путем снижения уровня экспрессии IL-1 β за счет ингибирования NF- κ B [11]. Заражение клеток штаммом вируса осповакцины MVA индуцирует экспрессию ряда хемокинов, в числе которых CXCL10 [12]. В ответ на это ОВ продуцирует хемокин-связывающие белки (vCKBP), предотвращающие связывание хемокинов с их рецепторами [13]. Белки B7 и B23 штамма осповакцины WR также обладают хемокин-связывающей активностью [14].

Рекомбинантные штаммы осповакцины

Штаммы, экспрессирующие цитокины и иммуностимулирующие молекулы

Совместное использование вирусной терапии и терапии цитокинами нацелено на активацию иммунной системы организма для разрушения опухолевых клеток. Одним из примеров такой комбинации является разработка штаммов вируса осповакцины JX-549 и JX-963, кодирующих человеческий GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), которые, как было показано, повышали противоопухолевый иммунитет *in situ* [15]. Эффективное прямое онколитическое действие и экспрессия GM-CSF способствовали разрушению опухолевых сосудов, повышали противоопухолевый иммунитет, уменьшали опухолевую нагрузку и увеличивали выживаемость; кроме того, в периферической крови увеличивалось количество нейтрофилов, моноцитов и базофилов. Штаммы ОВ, экспрессирующие костимулирующие цитокины, продемонстрировали способность снимать иммуносупрессию микроокружения опухоли. Микроокружение меланомы вызывает локаль-

ную толерантность Т-клеток за счет подавления костимулирующих молекул, таких как CD80. Клиническое испытание рекомбинантного штамма вируса осповакцины, экспрессирующего CD80 (двукратное введение, I фаза), было проведено на 12 пациентах. У всех пациентов наблюдалось увеличение концентрации антител против ОВ и Т-клеток; терапия переносилась хорошо, с редкими сообщениями о небольшом повышении температуры, миалгии и усталости, а также развитии витилиго у двух пациентов. У двух пациентов наблюдалась стабилизация заболевания, и один из них был в ремиссии в течение 59 мес после введения терапии [16]. Chard и соавт. создали вектор ОВ, экспрессирующий IL-10, который продемонстрировал высокую терапевтическую эффективность на моделях рака поджелудочной железы у мышей [17]. Онколитический штамм вируса осповакцины, экспрессирующий IL-24, ингибирует пролиферацию клеток при раке легкого и индуцирует апоптоз в опухолевых клетках [18]. Другой онколитический штамм ОВ, экспрессирующий CXCL11 или суперагонист IL-15, повышает эффективность индукции противоопухолевого ответа [19]. Кроме того, исследователи разработали рекомбинантный штамм вируса осповакцины, экспрессирующий заякоренный на мембране IL-2. Данный штамм способствовал снижению иммуносупрессии опухолевого микроокружения и приводил к замедлению роста опухолей на мышинных моделях, не вызывая при этом неблагоприятных побочных эффектов [20].

При стимуляции иммунного ответа вирусным вектором ксеногенные вирусные белки являются преимущественной целью адаптивного иммунного ответа, в то время как более слабые эпитопы, полученные из опухолевых антигенов, могут игнорироваться [21]. Для усиления противоопухолевой эффективности необходимо ограничить иммунный ответ на вирус и одновременно усилить иммунный ответ на опухолевые антигены. Некоторые вирусы в процессе эволюции приобрели способность экспрессировать ингибиторы основных стадий презентирования антигенов молекулами МНС класса I. Был проведен ряд

исследований рекомбинантных штаммов вируса осповакцины, кодирующих иммуностимулирующие молекулы. Были разработаны векторы на основе вирусов оспы, кодирующие три костимулирующие молекулы: B7.1, ICAM и LFA-3, названные TRICOM, эффективно индуцирующие активацию Т-клеток по сравнению с гомологичным вирусом, кодирующим одну или две из этих костимулирующих молекул [22]. Другой стратегией повышения иммуногенности опухоль-ассоциированных антигенов в терапии рака является использование гетерологичной первичной активации с помощью двух различных поксвирусов. Применение комбинации векторов MVA и вируса птичьей оспы, экспрессирующих два человеческих антигена MUC-1 и CEA, наряду с костимулирующими молекулами TRICOM позволило получить значительный иммунный ответ, специфичный к антигенам опухоли [23].

STING и Batf3-зависимый индуцированный противоопухолевый иммунитет

Стимулятор генов интерферона (stimulator of interferon genes, STING) опосредует индуцированную цитозольной ДНК передачу сигналов и может быть использован для разработки новых стратегий противоопухолевой терапии [24].

В недавнем исследовании аттенуированного штамма MVA была изучена индукция интерферона 1-го типа в обычных дендритных клетках (conventional dendritic cells, cDC) с помощью cGAS/STING-опосредованного цитозольного ДНК-чувствительного пути [25]. Заражение обычных дендритных клеток инактивированным MVA приводило к более высокому уровню продукции интерферона по сравнению с живым MVA вследствие активации STING. Прямая инъекция в опухоль инактивированного MVA вызывала адаптивный противоопухолевый ответ в иммунокомпетентных мышах. В другом исследовании было продемонстрировано, что противоопухолевые штаммы ОВ, экспрессирующие агонисты STING, способны повышать эффективность терапии, основанной на блокировке PD-1 [26].

Сочетание онколитической виротерапии ОВ с другими иммунотерапевтическими подходами

Чтобы усилить иммуностимулирующие эффекты ОВ, многие исследователи сочетали виротерапию с агонистами иммунных костимулирующих молекул или антагонистами иммунных коингибирующих молекул (например, ингибиторов контрольных точек). Введение вируса осповакцины, экспрессирующего 4-1BBL (rV-4-1BBL) в качестве костимулирующей молекулы, в сочетании с лимфодеплецией привело к усилению терапевтической активности по сравнению с использованием одного лишь вирусного штамма [27].

Совместное применение рекомбинантного штамма MVA TG4010, экспрессирующего человеческий муцин 1 (MUC1) и IL-2, с лигандом TLR9 (Litenimod, Li28) привело к активации местного противоопухолевого иммунитета [28]. В другом исследовании штаммы MVA-βGal и MVA-MUC1 были использованы для лечения мышей с CT26 раком толстой кишки. Инфекция MVA приводила к накоплению CD3^{dim}CD8^{dim} Т-клеток, короткоживущих эффекторных клеток и ранних эффекторных клеток (EECs), секретирующих IFNγ и гранзим В и транспортирующих CD107a на клеточную поверхность. При этом ЕЕС характеризовались высокими уровнями экспрессии молекул иммунных контрольных точек PD-1. Кроме того, в опухолях легкого, инфильтрированных Treg PD1⁺ клетками, отмечалось частичное снижение их числа после обработки штаммом TG4010. На поздних стадиях заболевания PD-L1 был обнаружен в раковых и иммунных клетках, включая CD4⁺ Т-клетки (в том числе Treg-клетки), CD3⁺ CD8⁺ и CD3^{dim}CD8^{dim} Т-клетки, натуральные киллеры, миелоидные клетки-супрессоры и альвеолярные макрофаги. Применение блокаторов PD-1 после лечения штаммом TG4010 приводило к усилению терапевтического эффекта [29]. В другом исследовании проводилась монотерапия штаммом MVA-BN-HER2, а также комбинация ее с блокатором контрольных точек CTLA-4 для лечения метастазов в легких CT26-HER-2 у мышей. Иммунотерапия штаммом MVA-BN-HER2 значительно повышала

среднюю выживаемость животных. Однако, когда вирус сочетался с блокатором иммунных контрольных точек, эффект терапии значительно усиливался [30].

Сочетание ОВ с блокадой иммунных контрольных точек

В ходе терапии онколитическими вирусами происходит не только стимуляция адаптивного противоопухолевого иммунного ответа, но и индукция воспаления, что приводит к усилению экспрессии PD-L1 стромальными и опухолевыми клетками и делает опухолевое микроокружение более восприимчивым к терапии на основе анти-PD-L1. В ряде исследований изучалась эффективность комбинированных схем лечения ОВ и антителом против PD-L1 на моделях мышей, при этом наблюдались вирус-индуцированная экспрессия PD-L1 в опухолевых клетках, повышение эффективности комбинированной терапии и повышение выживаемости [31]. Кроме того, новый рекомбинантный онколитический штамм ОВ, экспрессирующий суперагонист IL-15, показал высокую противоопухолевую активность, и при сочетании терапии данным вирусом с анти-PD-1 антителом у животных наблюдалась быстрая регрессия опухоли на модели карциномы толстой кишки мыши [32].

Сочетание с химиотерапевтическими препаратами

Некоторые химиотерапевтические препараты могут использоваться для регулирования врожденного или адаптивного иммунитета для улучшения эффективности виротерапии. Исследования показали, что комбинирование онколитических вирусов с ингибиторами гистондеацетилазы способствует вирусной репликации, что повышает терапевтическую эффективность [33]. В дальнейшем было показано, что ингибиторы гистондеацетилазы способствуют репликации и распространению вируса внутри опухоли за счет подавления клеточной интерфероновой системы защиты и повышения уровня вирус-индуцированного апоптоза [34]. Francis и соавт. показали, что обработка онколитическими ОВ и коктейлем,

состоящим из IFN- α , poly I:C и ингибитора COX-2, приводит к активации Th1-привлекающих хемокинов и подавлению Treg-привлекающих хемокинов (CCL22 и CXCL12), а также к увеличению инфильтрации опухолевого микроокружения NK-клетками и опухолеспецифическими CD8+ Т-клетками. Эта комбинация привела к увеличению выживаемости мышей с MC38 карциномами толстой кишки [35]. В другом исследовании применялась комбинация низкомолекулярного многоцелевого рецепторного ингибитора тирозинкиназы (сунитиниб) с онколитическим штаммом mpJX-594. При этом было продемонстрировано, что вирус инфицирует клетки опухолевых кровеносных сосудов, затем распространяется на опухолевые клетки и стимулирует уничтожение CD8+ Т-клетками опухолевых клеток, активированных сунитинибом [36]. Эти исследования демонстрируют, что врожденный и адаптивный противоопухолевый иммунный ответ может эффективно модулироваться онколитическими вирусами в комбинации с химиотерапевтическими препаратами для достижения синергетических эффектов терапии.

Влияние на опухолевое микроокружение

На поздних стадиях рака опухолевое микроокружение является высоко иммуносупрессивным. Для того чтобы терапевтическая схема работала эффективно, требуется изменение условий опухолевого микроокружения на более подходящие с точки зрения иммуногенности. Изменения должны быть нацелены на повышение иммуногенности опухолевых клеток, улучшение распознавания иммунной системой и усиление перекрестной активации Т-клеток для привлечения противоопухолевых эффекторных клеток врожденного и адаптивного иммунитета. Стоит отметить, что сам вирус является высокоиммуногенным и способен вызывать воспаление. Таким образом, эффективная онколитическая виротерапия превращает «холодные» опухоли в «горячие» [37].

Воспаление вызывает компенсаторную активацию регуляторных путей. Например, локальная секреция провоспалительных

цитокинов стимулирует секрецию простагландина E2 (PGE2). В недавнем исследовании PGE2 был идентифицирован в опухоли как важный посредник устойчивости к иммунотерапии. Наличие PGE2 сочетается с супрессорным хемокином, и в опухолевом микроокружении присутствует большое количество гранулоцитарных клеток-супрессоров миелоидного происхождения (MDSC). Рекомбинантный штамм ОВ, экспрессирующий гидроксипростагландиндегидрогеназу 15, фермент, инактивирующий простагландин, вызывает существенные изменения в опухолевом микроокружении. Терапия данным штаммом приводит к повышению адаптивного противоопухолевого иммунитета в пределах опухолевого микроокружения и повышает чувствительность раковой ткани к иммунотерапии [38].

Применение вируса осповакцины в виротерапии злокачественных заболеваний органов женской репродуктивной системы

Рак яичников

В ряде исследований была продемонстрирована эффективность применения онколитических штаммов ОВ для лечения рака яичников. Hung и соавт. показали, что применение рекомбинантного штамма ОВ, экспрессирующего люциферазу светлячка, приводит к избирательной инфекции и лизису клеток рака яичника у человека и мыши в опытах *in vivo* и *in vitro*, в результате чего наблюдается продолжительная ремиссия [39]. Дальнейшие исследования на модели рака яичников показали, что гибель опухолевых клеток в результате инфекции ОВ проходит по пути некроза с образованием комплексов рецептор-взаимодействующих белков (RIP1)/каспазы-8 [40]. Zhang и соавт. с целью усиления иммунного ответа на моделях рака яичников использовали совместно с ОВ вирус леса Семлики. Экспрессия антигена овальбумина существенно повышает иммуногенность штаммов ОВ [41]. Исследования уникальной клеточной линии мелкоклеточного рака яичника гиперкальциемического типа VIN-67, высоко злока-

чественной формы рака, показали, что клетки данного типа рака устойчивы к стандартной химиотерапии, но являются чувствительными к онколитическим вирусам, в том числе к штамму JX-594 ОВ [42]. Резистентность к химиотерапевтическим агентам является распространенным препятствием к эффективной терапии. Было показано, что в ксенографтах мышинных и человеческих опухолевых клеток, резистентных к паклитакселу и карбоплатину, после однократного введения рекомбинантного штамма ОВ, экспрессирующего антагонист CXCR4, эффективно ингибируется сигнальный путь CXCL12. Были продемонстрированы увеличение экспрессии рецептора CD44 и CXCR4 и существенное замедление роста опухолей [43]. Chalikonda и соавт. разработали рекомбинантный ОВ с двойной делецией тимидинкиназы и фактора роста ОВ, экспрессирующий ген FCY1, кодирующий цитозиндеаминазу из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Этот рекомбинантный вирус избирательно инфицирует клетки опухолей яичника и вызывает замедление их роста. Кроме того, сочетание этого штамма с пролекарством 5-фторцитозином привело к долгосрочному увеличению выживаемости у иммунокомпетентных мышей с опухолями. Это позволяет предположить, что комбинированная терапия с применением онколитических вирусов является перспективным методом лечения рака яичников [44]. В другом исследовании показана эффективность комбинации онколитических ОВ и антимышинных PD-L1 антител. Терапевтическая эффективность существенно повышалась за счет уменьшения количества PD-L1+ клеток, что облегчало инфильтрацию опухолевого микроокружения эффекторными CD8+, CD4+ Т-клетками и повышало экспрессию IFN- γ , гранзима В и перфорина [45]. Кроме того, в литературе сообщается еще об одном случае полной ремиссии у больной раком яичника, подвергнутой комбинированной химиотерапии и терапии вирусом осповакцины GL-ONC1 (штамм Lister), экспрессирующим слитый белок зеленого флуоресцентного белка Renilla luciferase-Aequorea, бета-галактозидазы и бета-глюкуронидазы [46].

Рак молочной железы

Несколько рекомбинантных штаммов ОВ показали способность замедлять рост опухолей молочной железы *in vivo*. Gholami и соавт. разработали рекомбинантный штамм вируса осповакцины, экспрессирующий одноцепочечное антитело против фактора роста эндотелия сосудов. Благодаря антиангиогенному воздействию данный вирус проявлял более высокую противоопухолевую активность, чем исходный штамм [47]. Комбинированная терапия радионуклидом йода и штаммом ОВ GLV-1h153, экспрессирующим человеческий натрий-йодный симпортер, привела к более чем в 6 раз эффективному замедлению роста опухоли, чем при моновиротерапии, в ортотопической модели тройного отрицательного рака молочной железы [48]. Онколитический штамм ОВ, экспрессирующий антагонист CXCR4, направленный на подавление сосудистой сети опухоли, вызывает не только большее ингибирование роста опухоли, но и разрушение сосудистой системы опухоли [49]. Экспрессия эпителиального мембранного антигена MUC1 повышена в большинстве опухолей молочной железы, что делает его

потенциальной мишенью для иммунотерапии. Scholl и соавт. описали аттенуированный рекомбинантный вирус осповакцины TG1031, кодирующий человеческий MUC1 и IL-2. У пациентов с метастатическим раком молочной железы схема лечения вирусом приводила к частичной регрессии опухолей в течение 12 мес [50].

Перспективы/вывод

Вирус осповакцины является мощным инструментом для мультимодальной терапии рака. В качестве первого онколитического вируса, который был тщательно исследован в клинических испытаниях, он является абсолютно безопасным вектором, продемонстрировавшим при этом высокий потенциал как противоопухолевый агент. За последнее десятилетие область разработки рекомбинантных вирусов переживает бурный рост, и десятки новых терапевтических штаммов находятся на различных стадиях клинических испытаний. Новые таргетные препараты и химиотерапевтические препараты демонстрируют синергетический эффект при совместном применении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Schlom J. Therapeutic cancer vaccines: current status and moving forward // *J Natl Cancer Inst.* 2012;104:599–613. doi: 10.1093/jnci/djs033.
2. Guo Z.S. The 2018 Nobel prize in medicine goes to cancer immunotherapy (editorial for BMC cancer) // *BMC Cancer.* 2018;18:1086. doi: 10.1186/s12885-018-5020-3.
3. Thorne S.H., Hwang T.H., Kirn D.H. Vaccinia virus and oncolytic virotherapy of cancer // *Curr Opin Mol Ther.* 2005;7(4):359–365.
4. Fenner F. Smallpox and Its Eradication. — World Health Organization. Switzerland, Geneva, 1988.
5. Fenner F. Risks and benefits of vaccinia vaccine use in the worldwide smallpox eradication campaign // *Res Virol.* 1989;140(5):465–466. doi: 10.1016/S0923-2516(89)80126-8
6. Guse K., Cerullo V., Hemminki A. Oncolytic vaccinia virus for the treatment of cancer // *Expert Opin Biol Ther.* 2011;11(5):595–608.
7. Heo J., Reid T., Ruo L., Breitbart C.J., Rose S., Bloomston M., Cho M., Lim H.Y., Chung H.C., et al. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer // *Nat Med.* 2013;19:329–336.
8. Paez E., Esteban M. Interferon prevents the generation of spontaneous deletions at the left terminus of vaccinia virus DNA // *J Virol.* 1985;56:75–84.
9. Valentine R., Smith G.L. Inhibition of the RNA polymerase III-mediated dsDNA-sensing pathway of innate immunity by vaccinia virus protein E3 // *J Gen Virol.* 2010;91:2221–2229.
10. Bowie A., Kiss-Toth E., Symons J.A., Smith G.L., Dower S.K., O'Neill L.A. A46R and A52R from vaccinia virus are antagonists of host IL-1 and toll-like receptor signaling // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97:10162–10167.
11. Gerlic M., Faustin B., Postigo A., Yu E.C.W., Proell M., Gombosuren N., et al. Vaccinia virus F1L protein promotes virulence by inhibiting inflammasome activation // *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110:7808–7813.

12. Lehmann M.H., Kastenmuller W., Kandemir J.D., Brandt F., Suezter Y., Sutter G. Modified vaccinia virus ankara triggers chemotaxis of monocytes and early respiratory immigration of leukocytes by induction of CCL2 expression // *J Virol*. 2009;83:2540–2552.
13. Alcami A., Symons J.A., Collins P.D., Williams T.J., Smith G.L. Blockade of chemokine activity by a soluble chemokine binding protein from vaccinia virus // *J Immunol*. 1998;160:624–633.
14. Alejo A., Ruiz-Arguello M.B., Ho Y., Smith V.P., Saraiva M., Alcami A. A chemokine-binding domain in the tumor necrosis factor receptor from variola (smallpox) virus // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:5995–6000.
15. Thorne S.H., Hwang T.H., O’Gorman W.E., Bartlett D.L., Sei S., Kanji F., et al. Rational strain selection and engineering creates a broad-spectrum, systemically effective oncolytic poxvirus, JX-963 // *J Clin Invest*. 2007;117(11):3350–3358. doi: 10.1172/JCI32727
16. Kaufman H.L., Deraffle G., Mitcham J., Moroziewicz D., Cohen S.M., Hurst-Wicker K.S., et al. Targeting the local tumor microenvironment with vaccinia virus expressing B7.1 for the treatment of melanoma // *J Clin Invest*. 2005;115(7):1903–1912. doi: 10.1172/JCI24624
17. Chard L.S., Maniati E., Wang P., Zhang Z., Gao D., Wang J., Cao F., Ahmed J., El Khouri M., Hughes J., et al. A vaccinia virus armed with interleukin-10 is a promising therapeutic agent for treatment of murine pancreatic cancer // *Clin Cancer Res*. 2015;21:405–416. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0464
18. Lv C., Su Q., Liang Y., Hu J., Yuan S. Oncolytic vaccine virus harbouring the IL-24 gene suppresses the growth of lung cancer by inducing apoptosis // *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;476:21–28. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.05.088
19. Kowalsky S.J., Liu Z., Feist M., Berkey S.E., Ma C., Ravindranathan R., et al. Superagonist IL-15-armed oncolytic virus elicits potent antitumor immunity and therapy that are enhanced with PD-1 blockade // *Mol Ther*. 2018;26:2476–2486. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.07.013
20. Liu Z., Ge Y., Wang H., Ma C., Feist M., Ju S., et al. Modifying the cancer-immune set point using vaccinia virus expressing re-designed interleukin-2 // *Nat Commun*. 2018;9:4682. doi: 10.1038/s41467-018-06954-z
21. Smith C.L., Mirza F., Paschetto V., Tscharke D.C., Palmowski M.J., Dunbar P.R., Sette A., Harris A.L., Cerundolo V. Immunodominance of poxviral-specific CTL in a human trial of recombinant-modified vaccinia Ankara // *J Immunol*. 2005;175:8431–8437. doi: 10.4049/jimmunol.175.12.8431
22. Hodge J.W., Sabzevari H., Yafal A.G., Gritz L., Lorenz M.G., Schlom J. A triad of costimulatory molecules synergize to amplify T-cell activation // *Cancer Res*. 1999;59:5800–5807.
23. Tsang K.Y., Palena C., Yokokawa J., Arlen P.M., Gulley J.L., Mazzara G.P., et al. Analyses of recombinant vaccinia and fowlpox vaccine vectors expressing transgenes for two human tumor antigens and three human costimulatory molecules // *Clin Cancer Res*. 2005;11:1597–1607. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1609
24. Schock S.N., Chandra N.V., Sun Y., Irie T., Kitagawa Y., Gotoh B., et al. Induction of necroptotic cell death by viral activation of the RIG-I or STING pathway // *Cell Death Differ*. 2017;24:615–625. doi: 10.1038/cdd.2016.153
25. Dai P., Wang W., Cao H., Avogadri F., Dai L., Drexler I., et al. Modified vaccinia virus Ankara triggers type I IFN production in murine conventional dendritic cells via a cGAS/STING-mediated cytosolic DNA-sensing pathway // *PLoS Pathog*. 2014;10:e1003989. doi: 10.1371/journal.ppat.1003989
26. Fu J., Kanne D.B., Leong M., Glickman L.H., McWhirter S.M., Lemmens E., et al. STING agonist formulated cancer vaccines can cure established tumors resistant to PD-1 blockade // *Sci Transl Med*. 2015;7:283ra252.
27. Kim H.S., Kim-Schulze S., Kim D.W., Kaufman H.L. Host lymphodepletion enhances the therapeutic activity of an oncolytic vaccinia virus expressing 4-1BB ligand // *Cancer Res*. 2009;69:8516–8525. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2522
28. Schaedler E., Remy-Ziller C., Hortelano J., Kehrer N., Claudepierre M.C., Gatard T., et al. Sequential administration of a MVA-based MUC1 cancer vaccine and the TLR9 ligand Litenimod (Li28) improves local immune defense against tumors // *Vaccine*. 2017;35:577–585. doi: 10.1016/j.vaccine.2016.12.020
29. Remy-Ziller C., Thioudellet C., Hortelano J., Gantzer M., Nourtier V., Claudepierre M.C., et al. Sequential administration of MVA-based vaccines and PD-1/PD-L1-blocking antibodies confers measurable benefits on tumor growth and survival: preclinical studies with MVA-betaGal and MVA-MUC1 (TG4010) in a murine tumor model // *Hum Vaccin Immunother*. 2017;14:140–145. doi: 10.1080/21645515.2017.1373921
30. Foy S.P., Mandl S.J., dela Cruz T., Cote J.J., Gordon E.J., Trent E., et al. Poxvirus-based active immunotherapy synergizes with CTLA-4 blockade to increase survival in a murine tumor model by improving the magnitude and quality of cytotoxic T cells // *Cancer Immunol Immunother*. 2016;65:537–549. doi: 10.1007/s00262-016-1816-7
31. Liu Z., Ravindranathan R., Kalinski P., Guo Z.S., Bartlett D.L. Rational combination of oncolytic vaccinia virus and PD-L1 blockade works synergistically to enhance therapeutic efficacy // *Nat Commun*. 2017;8:14754. doi: 10.1038/ncomms14754

32. Kowalsky S.J., Liu Z., Feist M., Berkey S.E., Ma C., Ravindranathan R. Superagonist IL-15-armed oncolytic virus elicits potent antitumor immunity and therapy that are enhanced with PD-1 blockade // *Mol Ther*. 2018;26:2476–2486. doi: 10.1016/j.ymthe. 2018.07.013
33. Marchini A., Scott E.M., Rommelaere J. Overcoming barriers in oncolytic virotherapy with HDAC inhibitors and immune checkpoint blockade // *Viruses*. 2016;8:E9. doi: 10.3390/v8010009
34. MacTavish H., Diallo J.S., Huang B., Stanford M., Le Boeuf F., De Silva N., et al. Enhancement of vaccinia virus based oncolysis with histone deacetylase inhibitors // *PLoS One*. 2010;5:e14462. doi: 10.1371/journal.pone.0014462
35. Francis L., Guo Z.S., Liu Z., Ravindranathan R., Urban J.A., Sathaiah M., et al. Modulation of chemokines in the tumor microenvironment enhances oncolytic virotherapy for colorectal cancer // *Oncotarget*. 2016;7:22174–22185.
36. Kim M., Nitschke M., Sennino B., Murer P., Schriver B.J., Bell A., et al. Amplification of oncolytic vaccinia virus widespread tumor cell killing by Sunitinib through multiple mechanisms // *Cancer Res*. 2018;78:922–937. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3308
37. Gujar S., Pol J.G., Kroemer G. Heating it up: oncolytic viruses make tumors ‘hot’ and suitable for checkpoint blockade immunotherapies // *Oncoimmunology*. 2018;7:e1442169. doi: 10.1080/2162402X.2018.1442169
38. Hou W., Sampath P., Rojas J.J., Thorne S.H. Oncolytic virus-mediated targeting of PGE2 in the tumor alters the immune status and sensitizes established and resistant tumors to immunotherapy // *Cancer Cell*. 2016;30:108–119. doi: 10.1016/j.ccell.2016.05.012
39. Hung C.F., Tsai Y.C., He L., Coukos G., Fodor I., Qin L., et al. Vaccinia virus preferentially infects and controls human and murine ovarian tumors in mice // *Gene Ther*. 2007;14(1):20–29. doi:10.1038/sj.gt.3302840
40. Whiddling L.M., Archibald K.M., Kulbe H., Balkwill F.R., Öberg D., McNeish I.A. Vaccinia virus induces programmed necrosis in ovarian cancer cells // *Mol Ther*. 2013;21(11):2074–2086. doi: 10.1038/mt.2013.195.
41. Zhang Y.Q., Tsai Y.C., Monie A., Wu T.C., Hung C.F. Enhancing the Therapeutic Effect Against Ovarian Cancer Through a Combination of Viral Oncolysis and Antigen-specific Immunotherapy // *Mol Ther*. 2010;18(4):692–699. doi: 10.1038/mt.2009.318.
42. Gamwell L.F., Gambaro K., Merzotis M., Crane C., Arcand S.L., Bourada V., et al. Small cell ovarian carcinoma: genomic stability and responsiveness to therapeutics // *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8:33. doi: 10.1186/1750-1172-8-33.
43. Komorowski M.P., McGray A.R., Kolakowska A., Eng K., Gil M., Opyrchal M., et al. Reprogramming antitumor immunity against chemoresistant ovarian cancer by a CXCR4 antagonist-armed viral oncotherapy // *Mol Ther Oncolytics*. 2016;3:16034. doi: 10.1038/mto.2016.34
44. Chalikhonda S., Kivlen M.H., O'Malley M., Dong X.D., McCart A.J., Gorry M., et al. Oncolytic Virotherapy for Ovarian Carcinomatosis Using a Replication-Selective Vaccinia Virus Armed with a Yeast Cytosine Deaminase GenE // *Cancer Gene Ther*. 2008;15(2):115–125. doi: 10.1038/sj.cgt.7701110.
45. Liu Z., Ravindranathan R., Kalinski P., Guo Z.S., Bartlett D.L. Rational combination of oncolytic vaccinia virus and PD-L1 blockade works synergistically to enhance therapeutic efficacy // *Nat Commun*. 2017;8:14754.
46. Mori K.M., Giuliano P.D., Lopez K.L., King M.M., Bohart R., Goldstein B.H. Pronounced clinical response following the oncolytic vaccinia virus GL-ONC1 and chemotherapy in a heavily pretreated ovarian cancer patient // *Anticancer Drugs*. 2019;30(10):1064–1066. doi: 10.1097/CAD.0000000000000836.
47. Gholami S., Marano A., Chen N.G. A novel vaccinia virus with dual oncolytic and anti-angiogenic therapeutic effects against triple-negative breast cancer // *Breast Cancer Res Treat*. 2014;148(3):489–499.
48. Gholami S., Chen C.H., Lou E. Vaccinia virus GLV-1h153 in combination with 131I shows increased efficiency in treating triple-negative breast cancer // *FASEB J*. 2014;28(2):676–682.
49. Gil M., Seshadri M., Komorowski M.P., Abrams S.I., Kozbor D. Targeting CXCL12/CXCR4 signaling with oncolytic virotherapy disrupts tumor vasculature and inhibits breast cancer metastases // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110(14):E1291–E1300.
50. Scholl S., Squiban P., Bizouarne N., Baudin M., Acres B., Mensdorff-Pouilly S., et al. Metastatic Breast Tumour Regression Following Treatment by a Gene-Modified Vaccinia Virus Expressing MUC1 and IL-2 // *J Biomed Biotechnol*. 2003;2003(3):194–201. doi:10.1155/S111072430320704X.

АВТОРЫ

Шакиба Ясмин, аспирант, старший лаборант лаборатории пролиферации клеток, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32, e-mail: yasi.shakiba@gmail.com

Shakiba Y., PhD student, senior laboratory assistant of Cell Proliferation Laboratory, Institute of Molecular Biology V.A. Engelhardt RAS, 119991, Moscow, Vavilova str., 32, e-mail: yasi.shakiba@gmail.com

Вольская Мария Александровна, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории пролиферации клеток, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32, e-mail: volskaia.mariia@gmail.com

Volskaya Maria A., PhD student, junior research scientist of Cell Proliferation Laboratory, Institute of Molecular Biology V.A. Engelhardt RAS, 119991, Moscow, Vavilova str., 32, e-mail: volskaia.mariia@gmail.com

Тихонова Ольга Алексеевна, аспирант, старший лаборант лаборатории пролиферации клеток, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32, e-mail: olga_tihonova95@mail.ru

Tihonova Olga A., PhD, senior laboratory assistant of Cell Proliferation Laboratory, Institute of Molecular Biology V.A. Engelhardt RAS, 119991, Moscow, Vavilova str., 32, e-mail: olga_tihonova95@mail.ru

Воробьев Павел Олегович, студент, старший лаборант лаборатории пролиферации клеток, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32, e-mail: pavel.gealbhain@gmail.com

Vorobyev Pavel O., graduate student, senior laboratory assistant of Cell Proliferation Laboratory, Institute of Molecular Biology V.A. Engelhardt RAS, 119991, Moscow, Vavilova str., 32, e-mail: pavel.gealbhain@gmail.com

Липатова Анастасия Валерьевна, научный сотрудник лаборатории пролиферации клеток, Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32, e-mail: lipatovaanv@gmail.com

Lipatova Anastasiya V., PhD, Research Associate of Cell Proliferation Laboratory, Institute of Molecular Biology V.A. Engelhardt RAS, 119991, Moscow, Vavilova str., 32, e-mail: lipatovaanv@gmail.com