

УДК 577.21

Рекомбинантные VSV как перспективный инструмент виротерапии

К. А. Ворона, В. Д. Мороз*, Н. Б. Гасанов, А. В. Карабельский

Научно-технологический университет «Сириус», Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», 354340 Россия

*E-mail: moroz.vd@talantiuspeh.ru

Поступила в редакцию 23.08.2024

Принята к печати 18.10.2024

DOI: 10.32607/actanaturae.27501

РЕФЕРАТ Онкологические заболевания являются одной из основных причин смертности в мире. Классические методы, применяемые при онкологических заболеваниях, включают хирургию, лучевую терапию и химиотерапию, а также комбинации этих методов. Несмотря на значительные достижения в этой области, актуальным остается поиск инновационных методов лечения злокачественных опухолей, в том числе с использованием онколитических вирусов. Одним из таких вирусов является вирус везикулярного стоматита (VSV), который обладает рядом полезных свойств в качестве онколитака. Однако лекарственные препараты на основе VSV находятся только на стадии разработки и не одобрены для клинического применения. В данной работе обсуждаются механизмы онкогенеза, противовирусный ответ опухолевых и нормальных клеток, а также маркеры устойчивости опухолевых клеток к виротерапии VSV. Кроме того, в обзоре рассмотрены способы получения и армирования рекомбинантных VSV, приведены примеры клинических исследований. Представленные данные позволят лучше оценить перспективы использования VSV в роли онколитака.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА онколитические вирусы, вирус везикулярного стоматита, иммунотерапия опухолей, интерферон-стимулируемый ген, биомаркеры устойчивости.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ VSV – вирус везикулярного стоматита; rVSV – рекомбинантный вирус везикулярного стоматита; ISG – интерферон-индуцируемый ген; IFN – интерферон; PAMP – патогенассоциированные молекулярные паттерны; MHC – главный комплекс гистосовместимости; IFNAR – рецептор IFN I; PKR – протеинкиназа R.

ВВЕДЕНИЕ

Онкологические заболевания являются одной из главных причин смертности в развитых странах. В последние годы внедрение в клиническую практику методов иммунотерапии позволило повысить эффективность лечения многих видов рака. Однако, к сожалению, положительный результат наблюдается только при определенных видах злокачественных опухолей, которые составляют примерно треть от всех случаев заболевших. Кроме того, ответ на терапию развивается не у всех пациентов [1, 2].

Предполагается, что обойти препятствия для лечения злокачественных опухолей можно с помощью онколитических вирусов (онколитаки). Эти вирусы способны специфически размножаться в опухолевых клетках, оставаясь безопасными для организма [3]. Возможность размножения вирусов в раковых клетках обусловлена нарушением противовирусного ответа, связанного с дисфункцией продукции ин-

терферона (IFN). Интерфероны препятствуют размножению вирусов, образованию вирусных частиц и их распространению, активируя сигнальные пути, замедляющие обмен веществ в инфицированных и соседних клетках. Онколитические вирусы проявляют высокую специфичность к раковым клеткам, в которых ограничен ответ на IFN, они вызывают воспалительную реакцию в опухоли и настраивают иммунную систему организма на очаг воспаления, тогда как в здоровых клетках вирусы уничтожаются благодаря IFN-опосредованным реакциям.

Одним из перспективных онколитаков является вирус везикулярного стоматита (VSV, англ. Vesicular stomatitis virus) – РНК(-)-вирус из семейства *Rhabdoviridae* [4]. VSV обладает рядом преимуществ: он не интегрируется в геном хозяина, имеет широкий тропизм, его геном можно относительно легко модифицировать, кроме того, очень небольшой процент людей серопозитивен к VSV [5].

Препараты на основе рекомбинантного VSV (rVSV) исследуют *in vitro* и *in vivo* [6–10], проводятся клинические испытания эффективности этих препаратов при колоректальном раке, меланоме, раке легкого, раке молочной железы, злокачественных лимфомах и др. видах опухолей (NCT02923466, NCT04046445, NCT04291105, NCT03017820, NCT03865212, NCT04291105, NCT03120624, NCT03456908, NCT05846516, NCT05644509, NCT01042379).

Изучение механизмов онколиза, маркеров и сигнальных путей, обуславливающих устойчивость раковых и здоровых клеток к вирусу, может объяснить вариативность ответа различных опухолей на виротерапию и позволит найти способы оптимизации рекомбинантных терапевтических VSV [11].

ПРОБЛЕМА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ОНКОГЕНЕЗ

Примерно у каждого пятого человека в течение жизни развиваются опухолевые заболевания, а смертность от рака зарегистрирована почти у каждого девятого мужчины и каждой двенадцатой женщины. В число наиболее распространенных онкологических заболеваний (более 60% от общего числа случаев онкопатологии) входят рак легкого, молочной железы, колоректальный рак, рак предстательной железы, желудка, печени, щитовидной железы, рак шейки матки, мочевого пузыря и неходжкинская лимфома [12, 13].

Основные характеристики злокачественных опухолей были описаны D. Hanahan. В их число входят восемь ключевых признаков: способность уходить от действия онкосупрессоров, сопротивление клеточной гибели, способность поддерживать передачу пролиферативных сигналов, способность к индукции ангиогенеза, инвазия и метастазирование, репликативное бессмертие, а также уклонение от иммунного ответа и изменение клеточного метаболизма. Возникновение опухолевых клеток связано с геномной нестабильностью и накоплением мутаций, приводящих к изменению морфологии и функции клеток, а также с эпигенетическим перепрограммированием клеток и хроническим воспалением [14].

На молекулярном уровне причиной канцерогенеза являются мутации в онкогенах и опухолевых генах-супрессорах. Мутации в протоонкогенах могут приводить к превращению их в онкогены, что, в свою очередь, вызывает синтез онкобелков, которые способствуют усиленной пролиферации клеток и уходу от апоптоза [15, 16]. С другой стороны, гены-супрессоры кодируют функциональные белки, которые ингибируют онкотрансформацию клеток, включая факторы, контролирующие деление и гибель кле-

ток, репарацию ДНК. Мутации в генах-супрессорах опухолей приводят к инактивации их продуктов и, следовательно, к развитию опухоли [15–17]. Помимо этого, растет количество данных, указывающих и на другие возможные причины развития онкологических заболеваний. Так, развитию основных характеристик опухоли могут способствовать эпигенетические изменения. Изменение эпигенетического профиля ДНК клеток опухоли связывают с гипоксией, вызванной недостаточной васкуляризацией тканей и клеток, в связи с чем снижается активность ТЕТ-деметилаз, что приводит к существенным изменениям в метиломе, в частности к гиперметилированию ДНК [14, 18]. Еще одной причиной индукции опухолевого роста могут быть хронические воспалительные процессы [19]. Вызывать хроническое воспаление и увеличивать риск развития рака или его прогрессирование могут *Helicobacter pylori* при раке желудка и лимфоме слизистой оболочки, вирусы папилломы и гепатита при раке шейки матки и печени соответственно; аутоиммунные заболевания, например, воспалительные заболевания кишечника при раке толстой кишки и воспалительные состояния неопределенного происхождения, например простатит, при раке предстательной железы [20].

ВИРОТЕРАПИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Основными методами, применяемыми при онкологических заболеваниях, все еще остаются хирургические методы, лучевая терапия и химиотерапия, а также их комбинации. Однако низкая эффективность лечения на поздних стадиях развития заболевания, а также высокая вероятность рецидивов делают необходимым поиск инновационных методов. Так, в иммунотерапии опухолей используют цитокины, активирующие работу иммунных клеток [21, 22], адаптивную Т-клеточную терапию (CAR-T) [23–25], иммунотерапию антителами (ингибиторы иммунных контрольных точек или конъюгаты антител с противоопухолевыми лекарственными средствами) [26, 27], противоопухолевые вакцины и др. [28–30]. В последние годы в клиническую практику внедряются методы иммунотерапии, которые позволяют увеличить эффективность лечения некоторых видов рака, однако ответ на терапию наблюдается далеко не у всех пациентов [1].

К основным причинам отсутствия эффективности иммунотерапии можно отнести недостаточную иммуногенность опухолевых клеток, сложность доставки иммунокомпетентных клеток и иммунотерапевтических агентов к их мишеням [2]. Обойти подобного рода препятствия можно с использованием онколитических вирусов, которые представ-

ляют собой новый класс противоопухолевых агентов, способствующих регрессии опухоли за счет преимущественной репликации вирусов в раковых клетках, индукции иммуногенной клеточной гибели и стимуляции противоопухолевого иммунитета [3]. Онколитические вирусы проявляют повышенный тропизм к опухолям, дисфункция факторов противовирусного ответа в которых позволяет вирусам преимущественно размножаться в раковых клетках [31].

Во всем мире одобрено применение нескольких препаратов на основе онколитических вирусов при онкологических заболеваниях. В 2004 г. Государственным агентством лекарственных средств Латвийской Республики было одобрено использование препарата Rigvir для лечения меланомы. Rigvir – это препарат из нативного штамма эховируса серотипа 7 (ECHO-7) – непатогенного кишечного-цитопатического РНК-содержащего энтеровируса из семейства *Picornaviridae*. Однако в 2019 г. производство Rigvir было приостановлено из-за нарушения стандартов производства и контроля качества [3, 32]. В 2006 г. в Китае было одобрено применение онколитического вируса H101 – генетически модифицированного аденовируса – при раке головы и шеи в комбинации с цитотоксической химиотерапией [3, 33]. В 2015 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США одобрило Talimogene Laherparepvec (T-VEC), аттенуированный вирус простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1), кодирующий гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) для местного лечения неоперабельных кожных, подкожных и узловых поражений у пациентов с рецидивирующей меланомой после первичной операции [3, 32, 34]. Эффективность и безопасность T-VEC изучали в рамках многоцентрового рандомизированного клинического исследования, после чего препарат получил одобрение в Европе, Австралии и Израиле. Недавние клинические испытания показали, что сочетание онколитических вирусов и блокады контрольных точек иммунитета улучшает терапевтический ответ [35, 36].

Противовирусный ответ нормальных и опухолевых клеток

Врожденный иммунитет представляет собой систему защиты организма от чужеродных и потенциально опасных патогенов, которая существует до первоначального попадания патогенов в организм [37, 38]. В здоровых клетках в ответ на заражение вирусами активируются различные сигнальные пути (рис. 1), которые могут стимулироваться местным высвобождением интерферона I типа (IFN

I) или активацией внутриклеточных Toll-подобных рецепторов (TLR). TLR распознают эволюционно консервативные патогенассоциированные молекулярные паттерны (PAMP, англ. pathogen associated molecular patterns), в число которых могут входить элементы вирусного происхождения (капсиды, ДНК, РНК и белки). Передача сигналов TLR активирует противовирусные реакции клетки-хозяина и системный врожденный иммунитет. Обнаружено, что несколько факторов клетки-хозяина, таких как TRAF3 (TNF-ассоциированный фактор 3), IRF3 (IFN-связанный фактор 3), IRF7 (IFN-связанный фактор 7) и RIG-1 (ген I, индуцируемый ретиноевой кислотой), играют важную роль в остановке репликации и снижении инфекционности вирусов. Данные факторы активируют путь JAK-STAT, координирующий противовирусный ответ в инфицированных клетках [39].

В ответ на проникновение вируса в клетках активируется также продукция интерферонов. Существуют три типа интерферонов: интерфероны I типа (IFN I) – IFN- α , IFN- β , IFN- ω ; интерфероны II типа (IFN II) – IFN- γ ; и интерфероны III типа (IFN III) – IFN- λ 1, IFN- λ 2, IFN- λ 3 (также известные как IL29, IL28A и IL28B соответственно) и IFN- λ 4 [40, 41]. Интерфероны препятствуют размножению вируса, образованию вирусных частиц и распространению вирионов как в инфицированной клетке, так и в соседних клетках путем активации сигнальных каскадов, замедляющих обмен веществ. Интерфероны усиливают синтез молекул главного комплекса гистосовместимости классов I и II (MHC I, MHC II, англ. major histocompatibility complex I и II), а также стимулируют деятельность иммунных протеасом. Повышенное содержание MHC I способствует эффективной презентации вирусных пептидов цитотоксическими Т-лимфоцитами и клетками-киллерами. Иммунная протеасома осуществляет протеолиз пептидов вирусов, которые затем транспортируются в компартмент эндоплазматического ретикулума, после чего презентуются в составе комплекса MHC I. Высокий уровень MHC II гарантирует презентацию вирусных антигенов Т-хелперами, которые в ответ секретируют цитокины, регулирующие работу остальных элементов иммунной системы. Вместе с тем, интерфероны снижают клеточную пролиферацию и активируют проапоптотический белок p53 [42].

IFN I активируют комплекс IFNAR (рецептор IFN I), который включает субъединицы IFNAR1 и IFNAR2. IFN I необходим для надежного противовирусного ответа. Показано, что у мышей с дефицитом IFNAR повышена восприимчивость ко многим вирусам, но сохранена устойчивость к таким патоген-

нам, как *Listeria monocytogenes* [43, 44]. Кроме того, генетические дефекты компонентов пути передачи сигналов интерферона приводят к тяжелым формам иммунодефицита [45–48]. Связывание IFN I с IFNAR инициирует сигнальный каскад, который приводит к индукции группы стимулируемых интерфероном генов (ISG, англ. interferon-stimulated gene) [42, 49]. Однако лишь немногие из генов ISG непосредственно участвуют в развитии противовирусного состояния. Многие из них кодируют паттернраспознающие рецепторы (PRR, англ. pattern recognition receptor), которые обнаруживают вирусные молекулы и модулируют сигнальные пути, либо факторы транскрипции, увеличивающие продукцию IFN.

Некоторые ISG кодируют белки, обладающие потенциальной противовирусной активностью, включая белки, участвующие в ремоделировании цитоскелета, индукции апоптоза, регуляции посттранскрипционных событий (сплайсинг, редактирование мРНК, деградация РНК и различные этапы синтеза белка), и белки, участвующие в посттрансляционной модификации [42], например, протеинкиназа R (PKR, англ. protein kinase R, также известная как EIF2 α K2), 2'-5'-олигоаденилатсинтетаза (2'-5'-OAS) и GTPазы Mx (динамин-подобные GTPазы семейства Mx), рибонуклеаза L (РНКаза L), ISG15 (стимулируемый IFN белок 15 кДа) имеют хорошо описанные противовирусные функции. Мыши

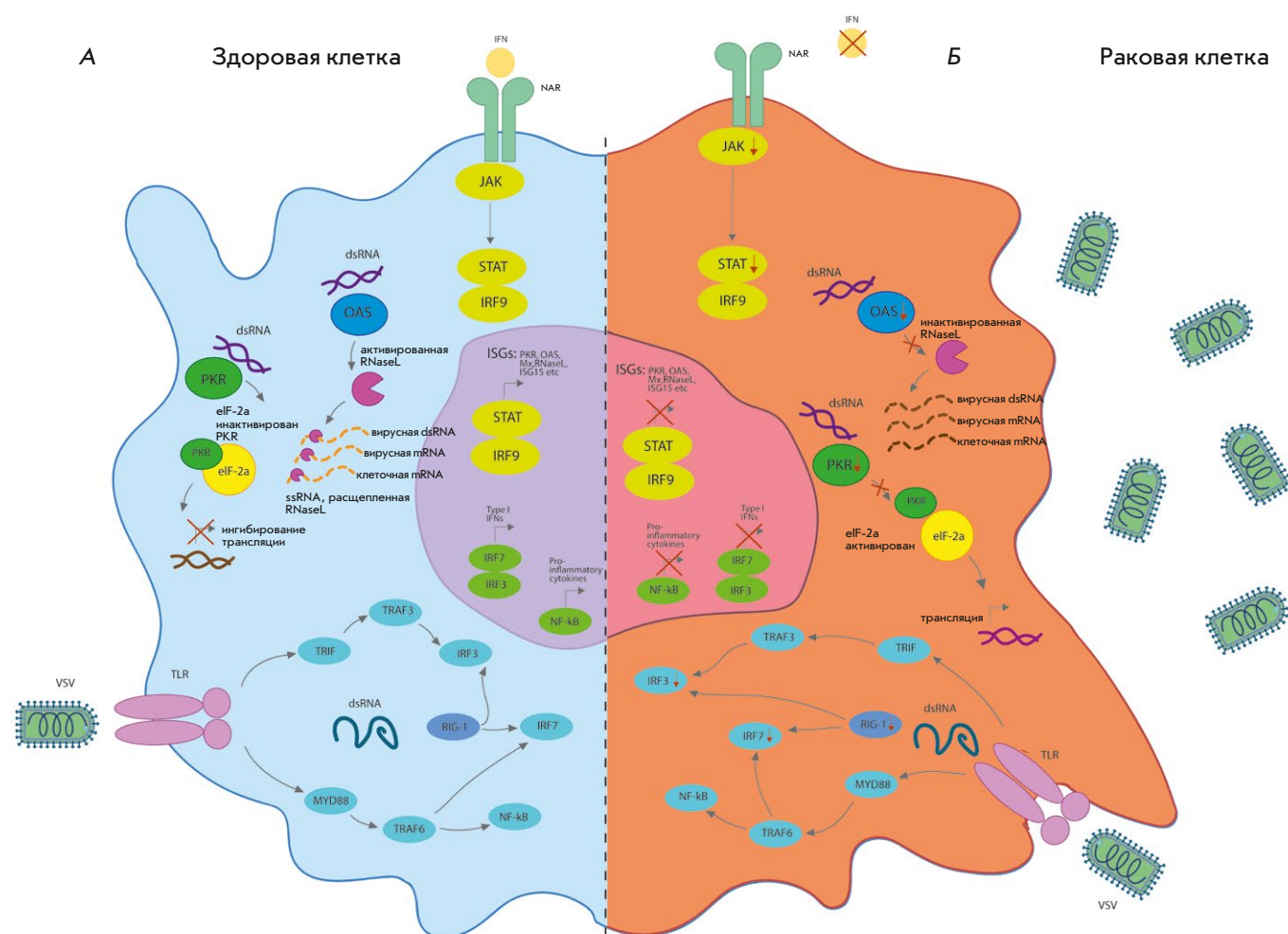


Рис. 1. Онколитические вирусы в опухолевых клетках с нарушенными противовирусными ответами. А — после вирусной инфекции в большинстве нормальных клеток активируется противовирусный механизм, который может запускаться PAMP или путем обнаружения вирусных нуклеиновых кислот. TLR передают сигналы через MYD88, индуцируя продукцию провоспалительных цитокинов и интерферонов, которые активируют сигнальный путь JAK-STAT; Б — изменение ответа раковой клетки на вирусную инфекцию. В раковых клетках может подавляться активность ключевых компонентов врожденного сигнального пути, включая RIG-1, IRF7 и IRF3, что ограничивает обнаружение вирусных частиц и делает раковые клетки более чувствительными к репликации вируса. Кроме того, в раковых клетках могут подавляться ключевые компоненты сигнального пути IFN [39]

с мутациями или нарушениями ключевых этапов сигнальных путей, активируемых этими белками, отличаются повышенной восприимчивостью к вирусным инфекциям [42].

PKR представляет собой внутриклеточную протеинкиназу, которая распознает вирусную дцРНК, фосфорилирует eIF-2α (фактор инициации трансляции 2α) и ингибирует трансляцию [39, 42, 50, 51]. При активации PKR прекращается синтез белка в клетках, зараженных вирусом, что способствует быстрой гибели таких клеток и предотвращает таким образом распространение инфекции.

2'-5'-OAS и рибонуклеаза L являются частью противовирусного иммунного ответа клетки. 2'-5'-OAS образует короткие олигоаденилаты из АТФ, которые активируют рибонуклеазу L, что приводит к разрушению вирусной РНК. Этот процесс препятствует репликации вируса и способствует уничтожению инфицированных клеток [42, 52].

ISG15 – это белок, который модифицирует многие клеточные и вирусные мишени путем процесса, называемого ISGилирование (англ. ISGylation). ISGилирование с помощью ISG15 предотвращает деградацию IRF3, который является важным фактором транскрипции, вовлеченным в противовирусный иммунный ответ [53]. Кроме того, ISG15 косвенно предотвращает высвобождение вириона. ISG15 ингибирует убиквитинирование Gag (англ. group specific antigen) ВИЧ и Tsg101 (англ. tumor susceptibility gene 101 protein), что предотвращает высвобождение вирусных частиц из клетки-хозяина. Взаимодействие N-концевого участка белка Tsg101 с вирусным белком Gag критично для формирования новых вирусных частиц [52–54].

Семейство GTPаз Mx играет важную роль в противовирусном иммунном ответе. MxA человека взаимодействует с вирусным нуклеокапсидом, предотвращает транспортировку вирусных частиц, блокируя репликацию. Кроме того, MxA ингибирует вирусную транскрипцию, так показано, что MxA связывается с субъединицей PB2 РНК-полимеразы вируса гриппа и предотвращает транскрипцию вирусного генома. Это препятствует репликации вируса и способствует уничтожению инфицированных клеток [52, 55, 56].

Противовирусные функции описаны также и у других ISG – аденозин-дезаминазы (ADAR1) и белков APOBEC; экзонуклеазы ISG20; белков TRIM (англ. tripartite motif-containing proteins), таких как TRIM19 (он же PML), TRIM5α [57]; Viperin (Cig5) [58]; и высокоиндуцируемых IFN-регуляторов трансляции – IFIT1, IFIT2 и IFIT3 [42, 59, 60]. Однако на данный момент функции большинства из этих ISG охарактеризованы плохо,

а механизмы их противовирусного ответа остаются неизвестными.

Снижение экспрессии IFN или передачи сигналов этого цитокина посредством снижения экспрессии рецептора, или изменения последующей передачи сигналов могут приводить к подавлению противовирусных сигнальных путей в опухолях разного типа. Кроме того, противовирусный ответ в раковых клетках может быть снижен за счет деактивации ISG, например, снижение экспрессии PKR в опухолевых клетках приводит к усилению репликации вирусов. В других случаях, например в низкоккачественных опухолях, PKR может оставаться активной и это может влиять на эффективность терапии онколитическими вирусами [39]. Онколитические вирусы обладают повышенной специфичностью к раковым клеткам, в которых ограничен ответ на IFN, поскольку в здоровых клетках вирусы элиминируются посредством IFN-опосредованных ответов [39].

Вирус везикулярного стоматита как онколитик

VSV представляет собой вирус с РНК(-) несегментированным геномом, относящийся к семейству *Rhabdoviridae*. В семействе *Rhabdoviridae* насчитывается более 100 вирусов, которые инфицируют как позвоночных и беспозвоночных животных, так и растения [4]. Известны восемь основных серотипов VSV: Индиана (VSVInd), Нью-Джерси (VSVNJ), вирус Cocal (COCV), Alagoas VSV (VSVAla), Isfahan (ISFV), Chandipura (CHAV), Maraba и вирус Piriy (PIRYV) [61–64]. VSV в основном поражает домашний скот, передается при прямом контакте через аэрозоли и fomites. Инфекции VSV у людей обычно протекают бессимптомно. Однако в некоторых случаях наблюдалась лихорадка, озноб, боль в мышцах и тошнота [65]. Рекомбинантный VSV (rVSV) является многообещающим вакцинным вектором, поскольку его простой геном может вмещать множество чужеродных генов, он не подвергается ни рекомбинации, ни интеграции в ДНК клетки-хозяина и достигает высоких титров ($>10^9$ бляшкообразующих единиц, БОЕ/мл [66]) в различных типах клеток, что облегчает производство вирусных препаратов. Более того, вакцины на основе VSV вызывают мощные клеточные и гуморальные иммунные ответы на обильно экспрессируемые чужеродные антигены [67]. Кроме того, очень небольшой процент людей серопозитивен к VSV [66].

Известно несколько протоколов сборки рекомбинантных VSV [68–71], большинство из которых предполагает трансфекцию клеток млекопитающих плазмидами, экспрессирующими белки N, P, G и L VSV, и последующую коинфекцию клеток вирусами, экспрессирующими ДНК-зависимую РНК-

полимеразу T7 (T7-РНК-полимеразу). Помимо этого, опубликованы протоколы, в которых при трансфекции клеток используют дополнительную плазмиду, также кодирующую T7-РНК-полимеразу [72], либо сборка VSV осуществляется в генетически модифицированных клеточных линиях [71].

В большей части протоколов описаны способы получения VSV с использованием вирусов осповакцины (VACV или VV) как дикого типа, так и модифицированных [70] для более эффективной трансляции генов VSV [68]. Однако схема сборки, предполагающая трансфекцию клеток пятой плазмидой (плазида, экспрессирующая геном вируса, и четыре дополнительные, экспрессирующие белки N, P, G и L VSV) и дополнительную трансдукцию VV, создает большую нагрузку на клетки и снижает эффективность сборки вирусов. Кроме того, необходимо учитывать, что лекарственные вирусные препараты, используемые *in vivo*, не должны содержать остатков VV или других вирусов, что требует дополнительного этапа очистки готового вирусного препарата [71]. В связи с этим, для производства препаратов, требующих высокой степени чистоты и отсутствия вирусной контаминации, рекомендуется использовать другие методы сборки.

Использование дополнительной пятой плазмиды, экспрессирующей T7-РНК-полимеразу, помогает избежать загрязнения препарата, однако может существенно снизить эффективность трансфекции клеток. Успешная сборка вируса предполагает одновременную экспрессию сразу шести плазмид (плазида, экспрессирующая геном вируса; плазида, экспрессирующая T7-РНК-полимеразу; и четыре дополнительные, экспрессирующие белки N, P, G и L VSV). Однако не все эти плазмиды могут проникнуть в клетки в необходимом для сборки вируса количестве, а кроме того, они создают метаболическую нагрузку на клетки.

Генетическая модификация клеточных линий для сборки рекомбинантных VSV представляется наиболее мягким способом сборки вируса, не требующим дополнительных этапов очистки. Так, Мороз и соавт. показали, что VSV эффективно собирается в экспрессирующей ген T7-РНК-полимеразы клеточной линии HEK293TN-T7, трансфицированной плазмидой, экспрессирующей геном вируса, и четырьмя дополнительными плазмидами, экспрессирующими белки N, P, G и L VSV.

Несмотря на существование рабочих протоколов сборки VSV, необходимо продолжать поиски наиболее эффективных схем сборки, более простых и позволяющих получать вирусные препараты высокого качества.

Рассматривается возможность использования rVSV при многих типах онкологических заболеваний, в том числе рака предстательной железы [6], кожи [7], толстой кишки [8], поджелудочной железы [9] и других [10]. VSV является мощным индуктором апоптоза многих типов опухолевых клеток, он очень чувствителен к противовирусным эффектам IFN, а следовательно, избирательно реплицируется в опухолевых клетках с дефектами в пути IFN [73]. Сконструированы ослабленные штаммы VSV для экспрессии гетерологичных генов, повышения селективности в отношении опухолевых клеток, лучшего уничтожения опухолевых клеток или повышения противоопухолевого иммунитета. В доклинических исследованиях рекомбинантные штаммы VSV показали высокую эффективность в отношении широкого спектра опухолей [74–76]. В настоящее время проводятся 13 клинических исследований эффективности VSV при различных видах рака (<https://www.clinicaltrials.gov/>). Так, rVSV, экспрессирующий ген бета-интерферона человека (IFN- β), и rVSV, экспрессирующий два дополнительных гена: ген IFN- β и ген *TYRP1*, кодирующий тирозиназа-зависимый белок 1 и экспрессирующийся в меланоцитах, в настоящее время проходят фазу I клинического испытания для лечения гепатоцеллюлярной карциномы (NCT01628640) и меланомы III–IV стадии соответственно (NCT03865212).

Способы армирования (редактирования) VSV для увеличения эффективности препаратов на их основе

Следует отметить, что разработка новых безопасных штаммов VSV представляет крайне важную задачу, поскольку этот вирус обладает широким тропизмом. С целью повышения безопасности и клинической эффективности в геном VSV вносятся различные изменения. Существует несколько стратегий ослабления VSV: ограничение репликации, например, использование псевдотипированных вирусов с делецией гена *G* [77]; снижение экспрессии вирусных генов, например, перемещение гена *N* с позиции 1 на 4 в геноме [78, 79]; ингибирование созревания вируса, например, посредством укорачивания С-конца G-белка [80]; обеспечение более быстрого противовирусного ответа хозяина для ослабления репликации, продукции и распространения вируса путем мутации в М-белке, например, с помощью делеции или замены аминокислоты в положении 51 [81, 82].

Для повышения эффективности препаратов на основе VSV в геном вируса интегрируют дополнительные вставки [83]. Многие гены вносятся в геном для стимуляции иммунного ответа на опухоль,

например, в геном rVSV вводят гены, кодирующие IL-12, GM-CSF, тирозинкиназу, CD40L, IL-15 и др. [5, 84–86]. Так, Shin и соавт. экспериментально показали прямое цитотоксическое действие VSV-IL12, экспрессирующего провоспалительный цитокин IL-12, при плоскоклеточном раке головы и шеи (SCC) у мышей: они наблюдали уменьшение объема опухоли и повышение выживаемости животных [30, 86, 87]. Также для модификации VSV с целью повышения селективности и эффективности используют микроРНК, короткие некодирующие РНК, которые регулируют экспрессию генов путем ингибирования трансляции транскриптов-мишеней. Профили экспрессии микроРНК различаются в разных тканях и меняются по мере развития заболеваний, включая онкологические [88].

Рекомбинантные VSV в клинических исследованиях

Вирус везикулярного стоматита показал высокую эффективность в качестве онколита для лечения широкого спектра видов злокачественных опухолей в большом количестве доклинических исследований [30, 83, 89]. В большей части проводимых на данное время клинических исследованиях оцениваются эффективность и безопасность VSV-hIFN β -NIS, несущего ген интерферона-бета (IFN- β) человека, для повышения селективности онколита и симпортера йодида натрия (NIS) для контроля биораспределения вируса. Проводятся клинические исследования вирусов VSV-GP154 и VSV-GP128, в которых ген *G* заменен на *GP* вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), для снижения возможной нейротоксичности VSV. Вариант VSV-hIFN β -TYRP1 использовали в клинических исследованиях в качестве средства против меланомы III–IV стадии. Для повышения онколитической селективности VSV-hIFN β -TYRP1 в его геном помимо гена, кодирующего IFN- β человека, встроили также ген *TYRP1*, экспрессирующийся в меланоцитах. Большинство клинических исследований препаратов на основе VSV проводят в сочетании с различными иммунотерапевтическими подходами.

VSV применяют при широком спектре злокачественных опухолей, при этом чаще всего выбирают пациентов с рецидивирующими и метастазирующими солидными опухолями, такими как: колоректальный рак (NCT02923466, NCT04046445, NCT04291105), меланома (NCT03017820, NCT03865212, NCT04291105), рак эндометрия (NCT03120624, NCT03456908), рак головы и шеи (NCT04291105), рак поджелудочной железы (NCT05846516) и другие опухоли (NCT05644509, NCT01042379). Клинические испытания также

проводятся с пациентами со злокачественными лимфомами (NCT06508463, NCT04046445). К сожалению, результаты указанных клинических исследований еще не опубликованы.

Преграды на пути к применению виротерапии

Несмотря на большой терапевтический потенциал онколитических вирусов, существует и множество ограничений, затрудняющих их применение, таких как риск возникновения выраженного системного иммунного ответа организма; физические барьеры в опухоли и барьеры в иммуносупрессивном микроокружении опухоли (ТМЕ), сложность доставки вирусных частиц и их репликации в опухолевых клетках; выбор оптимальной комбинации онколитических вирусов и других препаратов, схемы и формата введения; сложность производства вирусных препаратов и поддержания высокого титра вирусных частиц.

Для минимизации риска системного иммунного ответа организма необходимо тщательно выбирать вирусную платформу. С этой целью изучаются онколитические свойства наиболее безопасных для человека вирусов, в число которых входят: *Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Poxviridae*, *Picornaviridae*, *Paramyxoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Parvoviridae* и *Reoviridae* [30]. Для решения проблем с доставкой онколитических вирусов к опухолевым клеткам и недостаточной специфичности доставки используют модификацию капсида, которая позволяет усилить связывание вирусных частиц с рецепторами, отвечающими за проникновение в клетки-мишени [90], удаление вирусных генов, необходимых для репликации вируса в нормальных клетках. Например, ONYX-015, онколитический аденовирус с удаленным геном белка E1B обладает повышенной способностью к селективной репликации в опухоли, поскольку измененный вирус не может инактивировать p53 белок в нормальных клетках [91, 92]. Для модификации онколитических вирусов используют также полиэтиленгликоль (PEG), поли-N-(2-гидроксипропил)метакриламид, тиоловые группы для присоединения трансферрина к белкам капсида и др. [91–95]. Также для улучшения эффективности применения VSV для лечения злокачественных опухолей проводится поиск маркеров чувствительности опухолевых клеток к данному вирусу [96], что будет более подробно рассмотрено в следующем разделе.

Биомаркеры устойчивости опухолевых клеток к терапии rVSV

Дефекты передачи сигналов интерферона, характерные для раковых клеток [97], делают онколитические вирусы перспективными терапевтическими агентами, однако опухоли сильно отличаются друг

Таблица 1. Изменение экспрессии генов *EGFR* и *HER2* в клеточных линиях с различной чувствительностью к VSV

Клеточная линия	Уровень экспрессии <i>EGFR</i> и <i>HER2</i>	Чувствительность к терапии рекомбинантными VSV	Вариант VSV
HOS (остеосаркома)	Повышена [96]	Высокая [96]	VSV штамм Indiana
DBTRG-05MG (глиобластома)	Понижена [96]	Низкая [96]	VSV штамм Indiana
U251MG (глиобластома)	Повышена [96]	Высокая [96]	VSV штамм Indiana
A172 (глиобластома)	Повышена [96]	Высокая [96]	VSV штамм Indiana
U87MG (глиобластома)	Повышена [101]	Высокая [102]	rVSV-ΔM51
A375 (меланома)	Понижена [99]	Высокая [103]	VSV дикого типа
A549	Повышена [104]	Низкая [105]	VSV штамм Indiana
HerG2	Повышена [106]	Высокая [107]	rVSV-GFP
SW982 (синовиальная саркома)	Повышена [108]	Низкая [109]	rVSV-G/GFP
BxPC-3	Средняя [110]	Высокая [111]	rVSV-ΔM51-GFP
AsPC-1	Понижена [112]	Низкая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP
Capan-1	Понижена [113]	Низкая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP
Panc-1	Понижена [112]	Низкая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP
MIA PaCa2	Средняя [112]	Низкая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP
Capan-2	Высокая [113]	Низкая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP
T3M4	Средняя [114]	Низкая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP
CFPAC	Повышена [110]	Высокая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP
HPAC	Повышена [110]	Высокая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP
HPDE	Высокая [115]	Высокая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP
Hs766T	Высокая [113]	Высокая [9, 111]	rVSV-ΔM51-GFP

от друга по чувствительности к вирусам. Например, в экспериментах *in vitro* некоторые линии раковых клеток после инкубации с IFN I становятся устойчивыми к VSV, в то время как другие остаются чувствительными к цитопатическому действию вируса [11]. J. Noser и соавт. показали, что активированный путь RAS/Raf1/MEK/ERK играет критическую роль в возникновении дефектов противовирусного ответа в раковых клетках. В частности, показана быстрая гибель линии клеток NIH 3T3, стабильно экспрессирующих активный RAS или Raf1, при инфицировании вирусом VSV [98].

Поиск биомаркеров чувствительности опухолевых клеток к онколитическим вирусам, в частности, к вирусу VSV показал, что гены *EGFR* и *HER2* обычно сверхэкспрессируются на чувствительных к VSV клеточных линиях, в отличие от резистентных [96, 99] (табл. 1). Эти наблюдения предполагают, что активация пути EGFR/HER2 и сверхэкспрессия гена *HER2* может быть потенциальным биомаркером уязвимости опухоли для онколитической терапии VSV [100].

Нарушения противовирусного ответа в раковых клетках, такие как изменение путей продукции IFN и деактивации пути JAK-STAT, снижение продукции ISG (Mx GTPаза, OAS, TRIM, IFIT, Irf7,

STING, APOBEC, viperin и др.) [116, 117], могут влиять на чувствительность к онколитическим вирусам. Возможными маркерами чувствительности могут быть и молекулы, включенные в другие механизмы. Например, вирус гепатита C (HCV) активирует деление митохондрий в клетке-хозяине, что приводит к угнетению апоптоза и размножению вируса [118]. Ингибирование деления митохондрий и митофагии путем подавления Drp1 (англ. Dynamin-Related Protein 1) приводило при этом к снижению репликации HCV, а также к повышению устойчивости клеток к вирусной инфекции [119]. Показано, что ингибирование некроптоза в клетках приводит к усиленной репликации вируса Зика (ZIKV) [120]. При этом снижение экспрессии RIPK3 может приводить к повышению чувствительности клеток к вирусной инфекции [121] (рис. 2).

Знание молекулярных механизмов, лежащих в основе различий в чувствительности опухолевых клеток к вирусам, имеет важное значение для разработки подходов к терапии рака, выявления биомаркеров чувствительности к специфическим онколитическим вирусам, прогнозирования эффективности вирусной терапии у каждого отдельного пациента [96] и повышения эффективности терапии злокачественных новообразований.

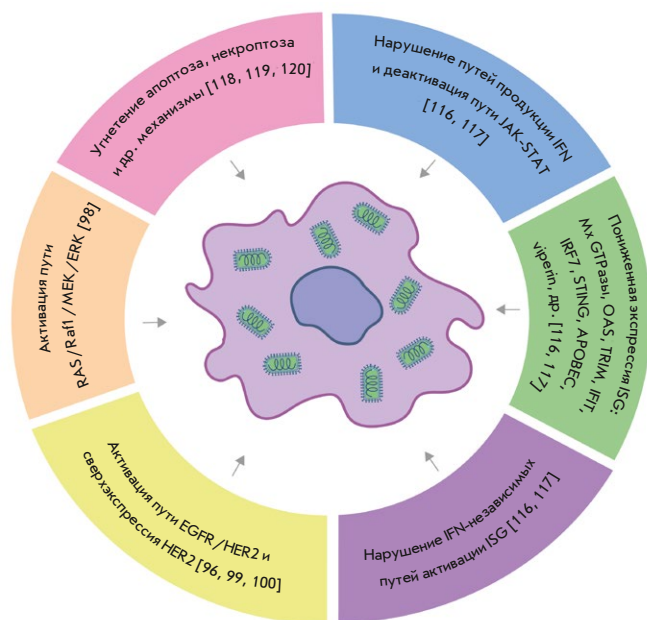


Рис. 2. Чувствительная к терапии VSV клетка

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Препараты на основе VSV являются перспективными противоопухолевыми средствами, но при этом остается необходимость в поиске новых молекул, которые в составе VSV будут усиливать литические и иммуностимулирующие свойства вируса и тем самым повышать эффективность и безопасность препаратов на их основе.

Создание эффективного препарата на основе VSV затруднено тем, что некоторые раковые клетки нечувствительны к вирусу, что может привести к низкой эффективности терапии этих типов злокачественных опухолей. Внесение мутаций в геном вируса, способствующих повышению чувствительности вируса к опухолевым клеткам [81, 82], может улучшить эффективность и безопасность препаратов на основе VSV, также при их сочетании с другими онколитическими вирусами, иммуномодуляторами, CAR-T-терапией и традиционными методами, такими как химиотерапия, хирургическое вмешательство, лучевая терапия [5, 122, 123]. На данный момент не найдены универсальные маркеры чувствительности к терапии препаратами VSV, которые позволяли бы оценивать эффективность онколитика при конкретном виде опухоли и определять, подходит ли виротерапия с помощью VSV данному пациенту [96]. В связи с этим, необходимо более детальное изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе различий в чувствительности раковых клеток к вирусам, а также особенностей противовирусной защиты клеток в ответ на инфицирование VSV. ●

Результаты получены при финансовой поддержке проекта, реализуемого в рамках государственной программы федеральной территории «Сириус» «Научно-технологическое развитие федеральной территории «Сириус» (Соглашение № 18-03 от 10 сентября 2024 года).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Khoshandam M., Soltaninejad H., Hamidieh A.A., Hosseinkhani S. // *Genes Dis.* 2024. V. 11. № 4. P. 101121.
2. Kroemer G., Chan T.A., Eggermont A.M.M., Galluzzi L. // *CA Cancer J. Clin.* 2024. V. 74. № 2. P. 187–202.
3. Macedo N., Miller D.M., Haq R., Kaufman H.L. // *J. Immunother. Cancer.* 2020. V. 8. № 2. P. e001486.
4. Dietzgen R.G., Kondo H., Goodin M.M., Kurath G., Vasilakis N. // *Virus Res.* 2017. V. 227. P. 158–170.
5. Gao Y. // *DNA Cell. Biol.* 2024. V. 43. № 2. P. 57–60.
6. Ahmed M., Cramer S.D., Lyles D.S. // *Virology.* 2004. V. 330. № 1. P. 34–49.
7. Wollmann G., Davis J.N., Bosenberg M.W., van den Pol A.N. // *J. Virol.* 2013. V. 87. № 12. P. 6644–6659.
8. Huang T.-G., Ebert O., Shinozaki K., García-Sastre A., Woo S.L.C. // *Mol. Ther.* 2003. V. 8. № 3. P. 434–440.
9. Murphy A.M., Besmer D.M., Moerdyk-Schauwecker M., Moestl N., Ornelles D.A., Mukherjee P., Grdzelskivili V.Z. // *J. Virol.* 2012. V. 86. № 6. P. 3073–3087.
10. Cary Z.D., Willingham M.C., Lyles D.S. // *J. Virol.* 2011. V. 85. № 12. P. 5708–5717.
11. Tarasova I.A., Tereshkova A.V., Lobas A.A., Solovyeva E.M., Sidorenko A.S., Gorshkov V., Kjeldsen F., Bubis J.A., Ivanov M.V., Ilina I.Y., et al. // *Oncotarget.* 2018. V. 9. № 2. P. 1785–1802.
12. Bray F., Laversanne M., Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Soerjomataram I., Jemal A. // *CA Cancer J. Clin.* 2024. V. 74. № 3. P. 229–263.
13. Santucci C., Mignozzi S., Malvezzi M., Boffetta P., Collatuzzo G., Levi F., La Vecchia C., Negri E. // *Ann. Oncol.* 2024. V. 35. № 3. P. 308–316.
14. Hanahan D. // *Cancer Discov.* 2022. V. 12. № 1. P. 31–46.
15. Lee E.Y.H.P., Muller W.J. // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010. V. 2. № 10. P. a003236.
16. Bertram J.S. // *Mol. Aspects Med.* 2000. V. 21. № 6. P. 167–223.
17. Bastos I.M., Rebelo S., Silva V.L.M. // *Biochem. Pharmacol.* 2024. V. 221. P. 116045.
18. Thienpont B., van Dyck L., Lambrechts D. // *Mol. Cell. Oncol.* 2016. V. 3. № 6. P. e1240549.
19. Zhao H., Wu L., Yan G., Chen Y., Zhou M., Wu Y., Li Y. // *Signal Transduct. Target Ther.* 2021. V. 6. № 1. P. 263.
20. Colotta F., Allavena P., Sica A., Garlanda C., Mantovani A. // *Carcinogenesis.* 2009. V. 30. № 7. P. 1073–1081.
21. Singh M., Overwijk W.W. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2015. V. 64. № 7. P. 911–921.
22. Boisgerault N., Tangy F., Gregoire M. // *Immunotherapy.* 2010. V. 2. № 2. P. 185–199.
23. Ahmad A., Uddin S., Steinhoff M. // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 11. P. 3906.

24. Gershovich P.M., Karabelskii A.V., Ulitin A.B., Ivanov R.A. // *Biochemistry (Moscow)*. 2019. V. 84. № 7. P. 695–710.
25. Petukhov A.V., Markova V.A., Motorin D.V., Titov A.K., Belozeroва N.S., Gershovich P.M., Karabelsky A., Ivanov R.A., Zaikova E., Smirnov E.Y., et al. // *Klinicheskaya Onkogematologiya/Clinical Oncohematology*. 2018. V. 11. № 1. P. 1–9.
26. Hoos A. // *Nat. Rev. Drug Discov*. 2016. V. 15. № 4. P. 235–247.
27. Karabelskii A.V., Nemankin T.A., Ulitin A.B., Vaganov A.S., Mosina E.A., Ivanov R.A. // *Biotekhnologiya*. 2017. № 1. P. 10–29.
28. de Gruijl T.D., Janssen A.B., van Beusechem V.W. // *Expert Opin. Biol. Ther*. 2015. V. 15. № 7. P. 959–971.
29. Puduvalli V.K. // *Oncology (Williston Park)*. 2016. V. 30. № 3. P. 222–223.
30. Malogolovkin A., Gasanov N., Egorov A., Weener M., Ivanov R., Karabelsky A. // *Viruses*. 2021. V. 13. № 7. P. 1271.
31. Kiaheyrahi N., Babaei A., Ranji R., Bahadoran E., Taheri S., Farokhpour Z. // *Life Sci*. 2024. V. 349. P. 122734.
32. Babiker H.M., Riaz I.B., Husnain M., Borad M.J. // *Oncolytic Virother*. 2017. V. 6. P. 11–18.
33. Liang M. // *Curr. Cancer Drug Targets*. 2018. V. 18. № 2. P. 171–176.
34. Andtbacka R.H.I., Kaufman H.L., Collichio F., Amatruda T., Senzer N., Chesney J., Delman K.A., Spitler L.E., Puzanov I., Agarwala S.S., et al. // *J. Clin. Oncol*. 2015. V. 33. № 25. P. 2780–2788.
35. Puzanov I., Milhem M.M., Minor D., Hamid O., Li A., Chen L., Chastain M., Gorski K.S., Anderson A., Chou J., et al. // *J. Clin. Oncol*. 2016. V. 34. № 22. P. 2619–2626.
36. Ribas A., Dummer R., Puzanov I., VanderWalde A., Andtbacka R.H.I., Michielin O., Olszanski A.J., Malvehy J., Cebon J., Fernandez E., et al. // *Cell*. 2017. V. 170. № 6. P. 1109–1119.e10.
37. Kumar H., Kawai T., Akira S. // *Int. Rev. Immunol*. 2011. V. 30. № 1. P. 16–34.
38. Olive C. // *Expert Rev. Vaccines*. 2012. V. 11. № 2. P. 237–256.
39. Kaufman H.L., Kohlhaup F.J., Zloza A. // *Nat. Rev. Drug Discov*. 2015. V. 14. № 9. P. 642–662.
40. Wack A., Terczyńska-Dyla E., Hartmann R. // *Nat. Immunol*. 2015. V. 16. № 8. P. 802–809.
41. Vilcek J. // *Nat. Immunol*. 2003. V. 4. № 1. P. 8–9.
42. Sadler A.J., Williams B.R.G. // *Nat. Rev. Immunol*. 2008. V. 8. № 7. P. 559–568.
43. O'Connell R.M., Saha S.K., Vaidya S.A., Bruhn K.W., Miranda G.A., Zarnegar B., Perry A.K., Nguyen B.O., Lane T.F., Taniguchi T., et al. // *J. Exp. Med*. 2004. V. 200. № 4. P. 437–445.
44. Müller U., Steinhoff U., Reis L.F., Hemmi S., Pavlovic J., Zinkernagel R.M., Aguet M. // *Science*. 1994. V. 264. № 5167. P. 1918–1921.
45. Casrouge A., Zhang S.-Y., Eidenschenk C., Jouanguy E., Puel A., Yang K., Alcais A., Picard C., Mahfoufi N., Nicolas N., et al. // *Science*. 2006. V. 314. № 5797. P. 308–312.
46. Dupuis S., Jouanguy E., Al-Hajjar S., Fieschi C., Al-Mohsen I.Z., Al-Jumaah S., Yang K., Chappier A., Eidenschenk C., Eid P., et al. // *Nat. Genet*. 2003. V. 33. № 3. P. 388–391.
47. Jouanguy E., Zhang S.-Y., Chappier A., Sancho-Shimizu V., Puel A., Picard C., Boisson-Dupuis S., Abel L., Casanova J.-L. // *Biochimie*. 2007. V. 89. № 6–7. P. 878–883.
48. Minegishi Y., Saito M., Morio T., Watanabe K., Agematsu K., Tsuchiya S., Takada H., Hara T., Kawamura N., Ariga T., et al. // *Immunity*. 2006. V. 25. № 5. P. 745–755.
49. Der S.D., Zhou A., Williams B.R., Silverman R.H. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. V. 95. № 26. P. 15623–15628.
50. Meurs E., Chong K., Galabru J., Thomas N.S., Kerr I.M., Williams B.R., Hovanessian A.G. // *Cell*. 1990. V. 62. № 2. P. 379–390.
51. Elde N.C., Child S.J., Geballe A.P., Malik H.S. // *Nature*. 2009. V. 457. № 7228. P. 485–489.
52. Liu S.-Y., Sanchez D.J., Cheng G. // *Curr. Opin. Immunol*. 2011. V. 23. № 1. P. 57–64.
53. Shi H.-X., Yang K., Liu X., Liu X.-Y., Wei B., Shan Y.-F., Zhu L.-H., Wang C. // *Mol. Cell. Biol*. 2010. V. 30. № 10. P. 2424–2436.
54. Okumura A., Lu G., Pitha-Rowe I., Pitha P.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. V. 103. № 5. P. 1440–1445.
55. Haller O., Staeheli P., Kochs G. // *Biochimie*. 2007. V. 89. № 6–7. P. 812–818.
56. Haller O., Stertz S., Kochs G. // *Microbes Infect*. 2007. V. 9. № 14–15. P. 1636–1643.
57. Berthouix L., Sebastian S., Sokolskaja E., Luban J. // *J. Virol*. 2004. V. 78. № 21. P. 11739–11750.
58. Wang X., Hinson E.R., Cresswell P. // *Cell Host Microbe*. 2007. V. 2. № 2. P. 96–105.
59. Brass A.L., Huang I.-C., Benita Y., John S.P., Krishnan M.N., Feeley E.M., Ryan B.J., Weyer J.L., van der Weyden L., Fikrig E., et al. // *Cell*. 2009. V. 139. № 7. P. 1243–1254.
60. Pindel A., Sadler A. // *J. Interferon Cytokine Res*. 2011. V. 31. № 1. P. 59–70.
61. Kim G.N., Kang C.Y. // *Virology*. 2007. V. 357. № 1. P. 41–53.
62. Nunamaker R.A., Lockwood J.A., Stith C.E., Campbell C.L., Schell S.P., Drolet B.S., Wilson W.C., White D.M., Letchworth G.J. // *J. Med. Entomol*. 2003. V. 40. № 6. P. 957–963.
63. Rodriguez L.L. // *Virus Res*. 2002. V. 85. № 2. P. 211–219.
64. Letchworth G.J., Rodriguez L.L., Del Cbarrera J. // *Vet. J*. 1999. V. 157. № 3. P. 239–260.
65. Roberts A., Kretzschmar E., Perkins A.S., Forman J., Price R., Buonocore L., Kawaoka Y., Rose J.K. // *J. Virol*. 1998. V. 72. № 6. P. 4704–4711.
66. Geisbert T.W., Feldmann H. // *J. Infect. Dis*. 2011. V. 204 Suppl 3. P. S1075–1081.
67. Johnson J.E., Nasar F., Coleman J.W., Price R.E., Javadian A., Draper K., Lee M., Reilly P.A., Clarke D.K., Hendry R.M., et al. // *Virology*. 2007. V. 360. № 1. P. 36–49.
68. Whelan S.P., Ball L.A., Barr J.N., Wertz G.T. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995. V. 92. № 18. P. 8388–8392.
69. Slough M.M., Chandran K., Jangra R.K. // *mBio*. 2019. V. 10. № 1. P. e02372–18.
70. Whitt M.A. // *J. Virol. Meth*. 2010. V. 169. № 2. P. 365–374.
71. Moroz V.D., Gasanov N.B., Egorov A.D., Malogolovkin A.S., Nagornyykh M.O., Subcheva E.N., Kolosova E.S., Fizikova A.Y., Ivanov R.A., Karabelsky A.V. // *Acta Naturae*. 2024. V. 16. № 1. P. 59–66.
72. Li H., Zhao C., Zhang Y., Yuan F., Zhang Q., Shi X., Zhang L., Qin C., Zheng A. // *Emerg Microbes Infect*. 2020. V. 9. № 1. P. 2269–2277.
73. Stewart J.H., Ahmed M., Northrup S.A., Willingham M., Lyles D.S. // *Cancer Gene Ther*. 2011. V. 18. № 12. P. 837–849.
74. Kurisetty V.V.S., Heiber J., Myers R., Pereira G.S., Goodwin J.W., Federspiel M.J., Russell S.J., Peng K.W., Barber G., Merchan J.R. // *Head Neck*. 2014. V. 36. № 11. P. 1619–1627.
75. Obuchi M., Fernandez M., Barber G.N. // *J. Virol*. 2003. V. 77. № 16. P. 8843–8856.
76. Porosnicu M., Mian A., Barber G.N. // *Cancer Res*. 2003. V. 63. № 23. P. 8366–8376.
77. Publicover J., Ramsburg E., Rose J.K. // *J. Virol*. 2005.

- V. 79. № 21. P. 13231–13238.
78. Ball L.A., Pringle C.R., Flanagan B., Perepelitsa V.P., Wertz G.W. // *J. Virol.* 1999. V. 73. № 6. P. 4705–4712.
79. Wertz G.W., Perepelitsa V.P., Ball L.A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. № 7. P. 3501–3506.
80. Publicover J., Ramsburg E., Rose J.K. // *J. Virol.* 2004. V. 78. № 17. P. 9317–9324.
81. Stojdl D.F., Lichty B.D., tenOever B.R., Paterson J.M., Power A.T., Knowles S., Marius R., Reynard J., Poliquin L., Atkins H., et al. // *Cancer Cell.* 2003. V. 4. № 4. P. 263–275.
82. Zemp F., Rajwani J., Mahoney D.J. // *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.* 2018. V. 34. № 1. P. 122–138.
83. Bishnoi S., Tiwari R., Gupta S., Byraredy S.N., Nayak D. // *Viruses.* 2018. V. 10. № 2. P. 90.
84. Fernandez M., Porosnicu M., Markovic D., Barber G.N. // *J. Virol.* 2002. V. 76. № 2. P. 895–904.
85. Gao Y., Whitaker-Dowling P., Watkins S.C., Griffin J.A., Bergman I. // *J. Virol.* 2006. V. 80. № 17. P. 8603–8612.
86. Shin E.J., Wanna G.B., Choi B., Aguila D., Ebert O., Genden E.M., Woo S.L. // *Laryngoscope.* 2007. V. 117. № 2. P. 210–214.
87. Ryapolova A., Minskaia E., Gasanov N., Moroz V., Krapivin B., Egorov A.D., Laktyushkin V., Zhuravleva S., Nagornych M., Subcheva E., et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. V. 25. № 1. P. 211.
88. Toropko M., Chuvpilo S., Karabelsky A. // *Pharmaceutics.* 2024. V. 16. № 8. P. 986.
89. Felt S.A., Grdzlishvili V.Z. // *J. Gen. Virol.* 2017. V. 98. № 12. P. 2895–2911.
90. Hagedorn C., Kreppel F. // *Hum. Gene Ther.* 2017. V. 28. № 10. P. 820–832.
91. Zheng M., Huang J., Tong A., Yang H. // *Mol. Ther. Oncolytics.* 2019. V. 15. P. 234–247.
92. Hamid O., Hoffner B., Gasal E., Hong J., Carvajal R.D. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2017. V. 66. № 10. P. 1249–1264.
93. Kreppel F., Gackowski J., Schmidt E., Kochanek S. // *Mol. Ther.* 2005. V. 12. № 1. P. 107–117.
94. Fisher K.D., Stallwood Y., Green N.K., Ulbrich K., Mautner V., Seymour L.W. // *Gene Ther.* 2001. V. 8. № 5. P. 341–348.
95. Choi J.-W., Lee Y.S., Yun C.-O., Kim S.W. // *J. Control Release.* 2015. V. 219. P. 181–191.
96. Nikitina A.S., Lipatova A.V., Goncharov A.O., Kliuchnikova A.A., Pyatnitskiy M.A., Kuznetsova K.G., Hamad A., Vorobyev P.O., Alekseeva O.N., Mahmoud M., et al. // *Int. J. Mol. Sci.* 2022. V. 23. № 9. P. 5244.
97. Stojdl D.F., Lichty B., Knowles S., Marius R., Atkins H., Sonenberg N., Bell J.C. // *Nat. Med.* 2000. V. 6. № 7. P. 821–825.
98. Noser J.A., Mael A.A., Sakuma R., Ohmine S., Marcato P., Lee P.W., Ikeda Y. // *Mol. Ther.* 2007. V. 15. № 8. P. 1531–1536.
99. Yang F., Yang Y., Zeng W. // *Natural Prod. Comm.* 2020. V. 15. P. 1934578X2091286.
100. Wu S., Zhang Q., Zhang F., Meng F., Liu S., Zhou R., Wu Q., Li X., Shen L., Huang J., et al. // *Nat. Cell. Biol.* 2019. V. 21. № 8. P. 1027–1040.
101. Zhu H.-J., Ogawa M., Magata Y., Hirata M., Ohmomo Y., Namba H., Sakahara H. // *Asia Ocean J. Nucl. Med. Biol.* 2013. V. 1. № 2. P. 47–52.
102. Lun X., Senger D.L., Alain T., Oprea A., Parato K., Stojdl D., Lichty B., Power A., Johnston R.N., Hamilton M., et al. // *J. Natl. Cancer Inst.* 2006. V. 98. № 21. P. 1546–1557.
103. Kimpel J., Urbiola C., Koske I., Tober R., Banki Z., Wollmann G., von Laer D. // *Viruses.* 2018. V. 10. № 3. P. 108.
104. Bunn P.A., Helfrich B., Soriano A.F., Franklin W.A., Varella-Garcia M., Hirsch F.R., Baron A., Zeng C., Chan D.C. // *Clin. Cancer Res.* 2001. V. 7. № 10. P. 3239–3250.
105. Malilas W., Koh S.S., Lee S., Srisuttee R., Cho I.-R., Moon J., Kaowinn S., Johnston R.N., Chung Y.-H. // *Int. J. Oncol.* 2014. V. 44. № 4. P. 1177–1184.
106. Shi J.-H., Guo W.-Z., Jin Y., Zhang H.-P., Pang C., Li J., Line P.-D., Zhang S.-J. // *Cancer Med.* 2019. V. 8. № 3. P. 1269–1278.
107. Li X., Sun X., Wang B., Li Y., Tong J. // *Asian J. Pharm. Sci.* 2023. V. 18. № 1. P. 100771.
108. Nuciforo P.G., Pellegrini C., Fasani R., Maggioni M., Coggi G., Parafioriti A., Bosari S. // *Hum. Pathol.* 2003. V. 34. № 7. P. 639–645.
109. Paglino J.C., van den Pol A.N. // *J. Virol.* 2011. V. 85. № 18. P. 9346–9358.
110. Thomas G., Chardès T., Gaborit N., Mollevi C., Leconet W., Robert B., Radošević-Robin N., Penault-Llorca F., Gonga C., Colombo P.-E., et al. // *Oncotarget.* 2014. V. 5. № 16. P. 7138–7148.
111. Moerdyk-Schauwecker M., Shah N.R., Murphy A.M., Hastie E., Mukherjee P., Grdzlishvili V.Z. // *Virology.* 2013. V. 436. № 1. P. 221–234.
112. Walsh N., Kennedy S., Larkin A., Corkery B., O'Driscoll L., Clynes M., Crown J., O'Donovan N. // *Invest. New Drugs.* 2013. V. 31. № 3. P. 558–566.
113. Shibata W., Kinoshita H., Hikiba Y., Sato T., Ishii Y., Sue S., Sugimori M., Suzuki N., Sakitani K., Ijichi H., et al. // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. P. 6150.
114. Kimple R.J., Vaseva A.V., Cox A.D., Baerman K.M., Calvo B.F., Tepper J.E., Shields J.M., Sartor C.I. // *Clin. Cancer Res.* 2010. V. 16. № 3. P. 912–923.
115. Chang Z., Li Z., Wang X., Kang Y., Yuan Y., Niu J., Wang H., Chatterjee D., Fleming J.B., Li M., et al. // *Clin. Cancer Res.* 2013. V. 19. № 3. P. 549–559.
116. Goad D.W., Bressy C., Holbrook M.C., Grdzlishvili V.Z. // *Mol. Ther. Oncolytics.* 2022. V. 24. P. 59–76.
117. Larrieux A., Sanjuán R. // *iScience.* 2023. V. 26. № 1. P. 105749.
118. Lee J., Ou J.-H.J. // *Curr. Opin. Virol.* 2022. V. 52. P. 244–249.
119. Kim S.-J., Syed G.H., Khan M., Chiu W.-W., Sohail M.A., Gish R.G., Siddiqui A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014. V. 111. № 17. P. 6413–6418.
120. Wen C., Yu Y., Gao C., Qi X., Cardona C.J., Xing Z. // *Front Cell Infect. Microbiol.* 2021. V. 11. P. 637710.
121. Pan Y., Cai W., Cheng A., Wang M., Yin Z., Jia R. // *Front. Immunol.* 2022. V. 13. P. 829433.
122. Evgin L., Kottke T., Tonne J., Thompson J., Huff A.L., van Vloten J., Moore M., Michael J., Driscoll C., Pulido J., et al. // *Sci. Transl. Med.* 2022. V. 14. № 640. P. eabn2231.
123. Martin N.T., Bell J.C. // *Mol. Ther.* 2018. V. 26. № 6. P. 1414–1422.