

УДК 615.038

СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ОНКОЛИТИЧЕСКОЙ ВИРОТЕРАПИИ

Медведева Екатерина Олеговна

Студент, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» Крымского федерального автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

Хоменко Екатерина Игоревна

Студент, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» Крымского федерального автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

Усеинова Асие Наримановна

Кандидат медицинских наук, доцент кафедры Базисной и клинической фармакологии, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» Крымского федерального автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

Аннотация

Онколитическая виротерапия - это разновидность современной медицины, обладающая двойным противоопухолевым механизмом. Вирусы созданы таким образом, чтобы избирательно заражать и непосредственно лизировать раковые клетки, что приводит к высвобождению растворимых антигенов, которые индуцируют системный противоопухолевый иммунитет. Различные вирусы, такие как вирус простого герпеса, аденовирус, вирус вакцины и так далее, могут быть использованы в качестве переносчиков для экспрессии различных полезных трансгенных нагрузок, что значительно расширяет терапевтический потенциал онколитической виротерапии. В настоящее время проводится ряд сопутствующих клинических исследований, которые в основном сосредоточены на солидных опухолях. Исследования по дальнейшей оптимизации генома онколитических вирусов или улучшению системы доставки находятся в центре внимания ученых, что указывает на будущее развитие онколитической виротерапии в клинике. В этом обзоре представлены последние достижения в клинических испытаниях и доклинических исследованиях, а также технологические инновации, направленные на онколитические вирусы. Также обсуждаются проблемы и перспективы онколитической виротерапии для клинического применения.

Ключевые слова: Онколитические вирусы, онколитическая виротерапия, противоопухолевая терапия, иммунотерапия, рак

MODERN ASPECTS OF ONCOLOGICAL VIROTHERAPY

Ekaterina O. Medvedev

student, Medical Academy named after S.I. Georgievsky

Ekaterina I. Khomenk

student, Medical Academy named after S.I. Georgievsky

Asiye N. Useinova

Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Basic and Clinical Pharmacology, student, Medical Academy named after S.I. Georgievsky

ABSTRACT

Oncological virotherapy is a kind of modern medicine, with a double antitumor mechanism. Viruses are designed to selectively infect and directly lyse cancer cells, resulting in the release of soluble antigens that induce systemic anti-tumor immunity. Various viruses, such as herpes simplex virus, adenovirus, vaccine virus and so on, can be used as vectors for the expression of various useful transgenic loads, which greatly expands the therapeutic potential of oncological virotherapy. A number of concomitant clinical trials are currently under way, focusing mainly on solid tumors. Research on further optimizing the oncological virus genome or improving the delivery system is the focus of attention of scientists, indicating the future development of oncological virotherapy in the clinic. This review presents recent advances in clinical trials and pre-clinical trials, as well as technological innovations aimed at oncological viruses. The problems and prospects of oncological virotherapy for clinical use are also discussed.

Keywords: Oncological viruses, oncological virotherapy, anti-tumor therapy, immunotherapy, cancer

Цель исследования

Целью данного исследования был поиск научной литературы по новым разработкам в лечении онкологических заболеваний, основанных на применении онколитических вирусов. Для работы были использованы база данных PubMed, Научная электронная библиотека Elibrary, Реестр клинических исследований ВОЗ, Медицинская библиотека Конгресса США.

Введение

По данным ВОЗ, рак - одна из ведущих причин смерти в мире. Рак трахеи, бронхов и легких показал рост смертности с 1,2 млн до 1,8 млн случаев и занял шестое место среди основных причин смерти [1].

Согласно данным Росстата за 2021 год было зарегистрировано около 256 069 случаев заболевания злокачественными новообразованиями среди мужчин и около 299 967 случаев среди женщин. В целом за последние 10 лет количество заболевших раком в России выросло почти на 23% [2].

Наиболее частыми способами лечения рака являются - хирургическое вмешательство, химиотерапия и лучевая терапия [3]. Разработана также таргетная терапия, применяемая при множественных заболеваниях, которые имеют общие молекулярные изменения или факторы риска [4]. Благодаря достижениям генной инженерии на сегодняшний день одним из наиболее перспективных способов лечения является

виротерапия. В настоящий момент данная методика в основном только проходит стадии исследования [5].

Онколитический вирус (ОВ) является биологически эффективным препаратом, которые ингибируют опухоли путем прямого инфицирования и лизиса опухолевых клеток и запуска системной иммунной атаки. После инфицирования вирус начинает процесс репликации, продуцируя вирусные белки, снижая клеточную функцию, стимулируя состояния окислительного стресса и способствуя активации путей, связанных с аутофагическими процессами. У него есть потенциал для лечения солидных опухолей или несолидных опухолей [1].

ОВ могут избирательно пролиферировать и реплицироваться в опухолевых клетках, тем самым активируя противоопухолевую иммунную систему хозяина и привлекая больше эффекторных лимфоцитов в микроокружение опухоли для достижения эффекта уничтожения опухолевых клеток.

В этом обзоре обсуждаются несколько ОВ, которые были подробно изучены, и их характеристики, а также анализируются способы их клинического применения [7].

Онколитические вирусы

Не все вирусы могут быть модифицированы в онколитические. Типичные особенности, которыми они должны обладать – непатогенность, способность «узнавать» и убивать раковые клетки, а также способность трансформироваться для экспрессии факторов, убивающих опухоль. Все эти качества приобретаются в основном за счет генной инженерии.

К основным онколитическим вирусам относят:

1. Вирус простого герпеса.

Являясь членом подсемейства, альфа-герпесвирусов, вирус простого герпеса (ВПГ) содержит двухцепочечный геном ДНК, который кодирует более 70 белков [7]. Модификация или мутация гена ВПГ RL1 с помощью технологии «редактирования» генов может уменьшить экспрессию нейротоксического белка ICP34.5, значительно снижая нейротоксичность ВПГ [8].

Для улучшения противоопухолевого эффекта можно «вставить» несколько чужеродных генов [9], а модификация гликопротеина на поверхности ВПГ может улучшить узнавание опухоли [10].

Основным моментом в использовании ВПГ для онколитической терапии является технология генной инженерии, которая заключается в том, чтобы убрать основные гены, которые заражают нормальные клетки.

В настоящее время одними из наиболее известных мутаций ВПГ, которые могут быть использованы в качестве онколитических векторов, следующие:

1. G207 был первым ВПГ, который использовался в онкологических клинических испытаниях. Ген LacZ был вставлен в удаленный локус ICP34.5, что позволило вирусу избирательно реплицироваться в злокачественных клетках [11].

2. Dlsptk, первый известный мутант ВПГ типа 1, имеет мутацию в своем гене UL23, который может кодировать тимидинкиназу и сдерживать метастазы глиомы у мышей [12], но увеличение дозы вызовет серьезный энцефалит и другие побочные реакции [13].

3. OncovexGM-CSF удаляют гены ВПГ, кодирующие ICP34.5 и ICP47, а также ряд кодирующих цитокинов, таких как гранулоцитарно-макрофагально колоние-стимулирующий фактор (GM-CSF), интерлейкин-12 человека (IL-12), интерферон альфа (IFN- α) и фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) и т. д., были интегрированы в гены локуса фактора ICP34.5. Таким образом, повысили противоопухолевую иммунную функцию онколитического ВПГ, улучшили иммунные реакции антиген-специфических Т-клеток,

снизили отрицательную иммунную регуляцию CD4⁺ Т-клеток и достигли специфического противоопухолевого эффекта в CD8⁺ Т-клетках [14].

2. Аденовирус.

Аденовирус - это ДНК-вирус с икосаэдрическим типом симметрии без вирусной оболочки, также является одним из перспективных онколитических вирусов [15]. Однако экспрессия коксаки и аденовирусных рецепторов (CAR) на поверхности большинства опухолевых клеток низкая или отсутствует, что приводит к недостаточной эффективности широко используемого онколитического аденовирусного вектора, аденовируса человека серотипа 5, для заражения опухолевых клеток [16]. Поэтому некоторые исследователи «вставляют» RGD (короткий пептид, состоящий из аргинина, глицина и аспарагиновой кислоты) в волокна вирусного капсида [17]. RGD может быть специально нацелен на высоко экспрессивные рецепторы интегрин $\alpha v \beta 3$ в опухолевых тканях, тем самым повышая способность онколитических аденовирусных векторов активно нацеливаться на опухолевые клетки [18].

Большинство современных онколитических аденовирусных векторов создают ряд мутаций в гене E1A, который способен уничтожить домен связывания ретинобластомы [19].

Другим типом гена, который был использован в исследованиях, является активатор лекарств, экспрессия которого способствует превращению нетоксичных лекарств в токсичные вещества в месте расположения опухоли, а также способствует доставке этих лекарств в близлежащие неинфицированные опухолевые клетки через разрывные соединения между этими клетками, тем самым достигая лучшего супрессорного эффекта на опухоли [20]. Например, вирусы, способные кодировать бактериальную цитозиндеаминазу (CD) или вирус простого герпеса-1 тимидинкиназу (HSV-tk) [21]. Эти кодируемые белки могут способствовать превращению пролекарств, таких как 5-фторцитозин или орцикловир, в токсичные вещества при поражениях рака, значительно повышая противоопухолевое действие аденовируса [22]. Аденовирус может не только непосредственно убивать опухолевые клетки, но и обеспечивать постоянную специфическую противоопухолевую иммунную память в организме. Однако поддержание этой иммунной памяти зависит от непрерывности репликации аденовируса [23]. Когда опухолевые клетки умирают, часть аденовируса в клетке также умрет, уменьшая общее количество вирусов и ослабляя долгосрочный терапевтический эффект [24].

3. Вирус кори.

С 1970-х по 1980-е годы врачи наблюдали явление: у пациентов, страдающих лейкемией или лимфомой после заражения вирусом кори (MV), наступила ремиссия, основываясь на этом клиническом явлении, MV постепенно развивался как иммунотерапия рака [25]. MV сферическую или нитевидную конфигурацию. Геном вируса представлен одноцепочечной "с" РНК, которая не сегментирована [26].

Онколитический MV может проникать в опухолевые клетки путем посредничества рецепторов клеточной мембраны, таких как CD46 и CD150 [27]. CD46 экспрессируется большинством нормальных клеток, но поскольку нормальные клетки могут очистить вирус через противовирусный путь IFN, онколитический ослабленный MV не способен вызвать заболевание [28]. По сравнению с нормальными тканевыми клетками, большинство раковых клеток, как правило, высоко экспрессируют CD46, что приводит к тому, что онколитические MV преимущественно заражают опухолевые клетки и распространяются в опухолевой ткани, особенно в злокачественных опухолевых клетках, где отсутствует система IFN [29].

Белки P, V и С патогенных MV являются оружием MV против системы IFN клеток-хозяев, но эти белки были удалены из онколитических MV, поэтому такие MV демонстрируют высокую чувствительность к системе IFN [30].

Оноколитический эффект MV связан с цитопатическим действием. Инфицированные опухолевые клетки сливаются в многоядерный синцитий, теряют целостность клеточной мембраны и в конечном итоге приводят к гибели клеток [31].

Более подробные исследования по некоторым видам вирусов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Описание исследований по различным видам вирусов

Название вируса	Предполагаемая (реальная) дата окончания исследований	Вмешательства на вирусе	Показания к использованию	Стадия исследования	Результат
Вирус простого герпеса - 1[32]	2015 г.	Экспрессия полноразмерного анти (α)-человеческого CD147 IgG1 или IgG4 антитела	Злокачественная глиома	Одобрено FDA[33]	Активируя естественную иммунную систему, вирус сохраняется в микроокружении опухоли и стимулирует выработку антител in situ
Вирус везикулярного стоматита [34]	28.02.2024 г.	Экспрессия опухолеассоциированных антигенов и псевдотипов с помощью LCMV-GP2	Колоректальная аденокарцинома	На данный момент проходит 1 стадию клинических исследований. Рефрактерная ортотопическая мышечная модель рака молочной железы (в сочетании с SMC) [35]	Вызывают сильный CD8 + Т-клеточный ответ, преобразуют микроокружение опухоли из иммуносупрессивного типа в поддерживающий тип иммунитета.
Аденовирус [36] [37]	31.03.2025 г. 01.10.2025г.	1.1 Дельта-24-RGD3 имеет пептидный мотив RGD-4C, вставленный в аденовирусное волокно, что позволяет аденовирусу прикрепляться непосредственно к интегринам 2.1 Оноколитический аденовирус, экспрессирующий несекреторный IL-12 (без N-концевого сигнального пептида)	1.2 Глиома высокой степени 2.2 Рак поджелудочной железы	1.3 Первая фаза клинических исследований эпителиальных опухолей 2.3 Вторая фаза клинических исследований.	1.4 Благодаря экспрессии пептида RGD-4C улучшается активная нацеливающая способность рекомбинантного оноколитического аденовируса лизировать и убивать опухолевые клетки 2.4 IL-12 обогащается в месте опухоли, что позволяет излечивать очаги рака, которые распространяются на брюшину, оказывая при этом оноколитический эффект, значительно улучшая выживаемость животных с опухолями.

Вирус коровьей оспы [38]	31.10.2024г.	Совместная экспрессия ингибитора PD-L1 и GM-CSF5	Рак молочной железы Меланома Аденокарцином а толстой кишки	Первая фаза клинических исследований.	Активируют опухолеспецифический Т-клеточный иммунитет, GM-CSF, ингибитор PD-L1 и онколитический вирус оказывают синергическое противоопухолевое действие
--------------------------	--------------	--	--	---------------------------------------	--

Таблица 1

Список сокращений в таблице:

1- CD – кластер дифференцировки

2- LCMV-GP – гликопротеин вируса лимфоцитарного хориоменингита

3- RGD – короткий пептид, состоящий из аргинина, глицина и аспарагиновой кислоты

4- PD-L1– это химическое вещество, лиганд, экспрессируемый опухолевыми клетками.

5- GM-CSF гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

Пути введения онколитических вирусов

Оптимальный путь введения онколитических вирусов – ключ к удачному лечению новообразования. Исследователи выбирают различные пути доставки в соответствии с целью исследования и имеющимися экспериментальными материалами.

1. Прямой внутриопухолевый путь введения.

Является одним из наиболее распространенных способов доставки онковирусов. Данный метод больше подходит для опухолей, расположенных поверхностно, например, для меланомы, чем для таких, как, например, глиобластома.

К преимуществам прямого способа введения относят – возможность регулировать концентрацию вируса в целевом участке, а также предотвращение побочных эффектов, в связи с тем, что нецелевые структуры остаются нетронутыми.

К недостаткам прямого способа введения относят – сложность процедуры введения онколитических вирусов, а также трудность повторного дозирования *in vivo* [39,40]

2. Внутривенный путь введения.

Внутривенному пути введения часто отдается предпочтение по причине того, что данный способ легче осуществим, а препарат будет быстрее доставлен в место назначения.

Данный метод используется преимущественной при опухолях центральной нервной системы. Таким способом введения некоторые онколитические вирусы могут достигать структур головного мозга, минуя гематоэнцефалический барьер [41].

Наряду с терапией опухолей ЦНС, данный метод может использоваться и для доставки вирусов в ткани легких, предстательной железы, мочевого пузыря и т.д.

К недостаткам данного метода стоит отнести высокую вероятность отравления организма, если препарат был недостаточно селективный. Соответственно при данном пути введения нельзя сильно повышать концентрацию онколитического вируса [42].

3. Дополнительные пути введения.

К дополнительным путям введения можно отнести внутрибрюшные инъекции, эффективные при новообразованиях органов брюшной полости [43].

Также существуют подкожный [44] и интравенальный [45] пути введения вирусов, но они практикуются в основном на экспериментальных животных.

Комбинированная терапия

Традиционными методами лечения опухолей по-прежнему являются лучевая терапия и химиотерапия. Противоопухолевый механизм обычных химиотерапевтических препаратов достигается за счет ингибирования синтеза ДНК в клеточном цикле опухолевых клеток [46]. Лучевая терапия предназначена для борьбы с раком путем прямого и непоправимого повреждения ДНК путем разрыва двухцепочечной цепи. Поэтому однократная химиотерапия или лучевая терапия часто вызывают у больного определенные побочные реакции, что влияет на терапевтический эффект и прогноз опухоли. Онколитический вирус (ОВ) подходит для опухолей разных стадий, а способы его введения разнообразны и подходят для комбинированного введения. Эта стратегия имеет два преимущества: во-первых, она может уменьшить возможные побочные реакции, не влияя на общую эффективность ОВ; во-вторых, это может уменьшить количество ОВ, используемых в тех же временных и пространственных условиях [47].

Лучевая терапия также является классическим методом лечения опухолей. Во время лучевой терапии некоторые сигнальные пути опухоли будут активированы, а некоторые родственные гены могут быть подавлены или активизированы, так что ОВ может реплицироваться и пролиферировать в опухолевых клетках. Использование лучевой терапии и онколитического вируса позволяет увеличить количество инфильтрирующих клеток CD4⁺ и CD8⁺ в области опухоли, уменьшить инфильтрацию Treg-клеток и увеличить соотношение макрофагов M1/M2. Комбинированное применение ОВ, лучевой терапии и химиотерапии продемонстрировало хорошую эффективность и было подтверждено многими доклиническими исследованиями, оно безопаснее и эффективнее, чем монопрепараты [48].

Улучшение терапевтических эффектов онколитических вирусов

Цитокины и Хемокины

Одним из ключевых противоопухолевых механизмов онколитического вируса является активация системного иммунитета. По этой причине цитокины, такие как TNF, IFN- α/β , IL-12, IL-7, или хемокины, такие как CXCL9 и CXCL10, были протестированы в качестве иммунных энхансеров в геномах онколитических вирусов, и некоторые из них продемонстрировали свою способность усиливать противоопухолевую активность в доклинических моделях опухолей и клинических испытаниях [49]. Например, интерлейкин-12 (IL-12) является мощным противоопухолевым средством, которое способствует дифференцировке Т-хелперов 1 (Th1), облегчает опосредованное Т-клетками уничтожение раковых клеток и ингибирует опухолевый ангиогенез [50]. Другим цитокином, который широко рассматривается, является TNF- α , который также является основным провоспалительным цитокином [51]. Онколитические вирусы с TNF- α могут уничтожать опухоли и индуцировать противоопухолевые Т-клеточные ответы в различных моделях опухолей [52].

Хемокины представляют собой небольшие секретлируемые хемотаксические цитокины, которые могут опосредовать миграцию иммунных клеток. Внутриопухолевая доставка вируса вакцины, экспрессирующего CXCL11, может индуцировать агрегацию адоптивных Т-клеток в опухолевых тканях и продлевать выживаемость мышей с опухолями [53].

NG-641, онколитический аденовирус, экспрессирующий CXCL9, CXCL10 и IFN, в настоящее время проходит фазу I клинических испытаний для оценки его безопасности и переносимости.

Улучшение противоопухолевого ответа

Одним из перспективных направлений лечения рака является сочетание вирусной терапии и ингибиторов контрольных точек иммунного ответа (ИКИ) [54]. ОВ способствуют противоопухолевому иммунному ответу путем высвобождения опухолеассоциированных антигенов (ОАА) и продукции воспалительных цитокинов. ИКИ ингибируют соответствующие пути негативной иммунной регуляции, позволяя CD4+ и CD8+ эффекторным Т-клеткам восстанавливать свою иммунную функцию в микроокружении опухоли, в то время как ОВ высвобождают ОАА, вызывая иммуногенную гибель опухолевых клеток, дендритные клетки (ДК) усиливают свою антигенпрезентирующую функцию и стимулируют созревание примитивных Т-клеток [55]. Онколитическая виротерапия в сочетании с ИКИ продемонстрировала многообещающие перспективы в клинических испытаниях.

ОАА представляют собой аутоантигены, экспрессируемые опухолевыми клетками, которые обычно используются в конструировании противоопухолевых вакцин для индукции специфического и устойчивого системного противоопухолевого ответа [56]. Введение ОАА в онколитические вирусы является многообещающим подходом к генетической модификации, который может дополнительно усилить индуцированный противоопухолевый иммунитет.

Гены-супрессоры опухолей

Привести к образованию рака может нарушение регуляции генов-супрессоров опухолей. [57] Внедрение генов-супрессоров опухолей в онколитические вирусы может способствовать апоптозу опухоли и повышать эффективность лечения, например, *P53* и *PTEN* [58,59]. Различные вирусы, в том числе аденовирус, герпесвирус, вирус везикулярного стоматита и вирус болезни Ньюкасла, использовались в качестве векторов для переноса гена *P53* в терапии рака [59,60,61,62]. Некоторые из них были применены в клинических испытаниях, и данные по безопасности опубликованы.

Перспективы

Онколитические вирусы представляют собой новую иммунотерапию, и были проведены многочисленные доклинические и клинические исследования, демонстрирующие большой потенциал онколитической виротерапии. Для усиления противоопухолевого эффекта было разработано и модифицировано все большее число природных вирусов для улучшения инфекционной или иммунной активности вируса в отношении опухолевых клеток. Кроме того, постоянно расширяются новые стратегии комбинированной терапии для повышения эффективности лечения рака. Несмотря на то, что использование большинства вирусов и комбинированных методов лечения принято, в клинических испытаниях методов лечения вирусов все же есть некоторые улучшения. Для дальнейшего улучшения терапевтического эффекта ОВ и дальнейшего продления периода выживания пациентов необходимо разработать более безопасные векторы для снижения гибели вируса иммунной системой хозяина. Кроме того, необходимы дополнительные клинические испытания для обеспечения биологической безопасности ОВ.

Вывод

Виротерапия имеет большой потенциал для дальнейшего изучения и развития. Современные возможности генной инженерии могут помочь преодолеть существующие ограничения и сделать виротерапию успешным дополнительным или даже основным методом противоопухолевой терапии. В то же время ввиду отсутствия убедительных данных о безопасности и эффективности группа препаратов для виротерапии очень малочисленна, и они не могут применяться повсеместно, так как во многих странах не

зарегистрированы официально. Внедрения методов виротерапии в российские клинические рекомендации вряд ли стоит ожидать в ближайшее время, но это возможно, если препараты будут зарегистрированы в России.

Однако многие онколитические агенты в настоящее время находятся в стадии разработки, что дает надежду на будущие успехи этого метода. Есть вероятность, что в конечном итоге в арсенале онкологов появится целый новый класс противораковых агентов.

Список литературы:

1. 10 ведущих причин смерти в мире // ВОЗ:
<https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
Top 10 causes of death in the world // WHO
<https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. Заболеваемость в России // 2021 Росстат: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721>
Morbidity in Russia // 2021 Rosstat: <https://rosstat.gov.ru/folder/13721>
3. Lozinski M., Bowden N.A., Graves M.S. et al. DNA damage repair in glioblastoma: current perspectives on its role in tumor progression, treatment resistance and PIKKing potential therapeutic targets. *Cellular Oncol.* 2021; 44 :961–981. doi: 10.1007/s13402-021-00613-0.
4. Yeuan Ting Lee, Yi Jer Tan, Chern Ein Oon Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity. 2018; 834 :188. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.07.034.
5. Russell SJ, Bell JC, England CE, McFadden G. Advances in oncolytic virotherapy. 2022 г.; 2:33. doi: 10.1038/s43856-022-00098-4.
6. Kristin DePeaux, Greg M Delgoffe Metabolic barriers to cancer immunotherapy. 2021; 21 (12): 785–797. doi: 10.1038/s41577-021-00541-y.
7. Wang D, Wang XW, Peng XC et al. CRISPR/Cas9 genome editing technology significantly accelerated herpes simplex virus research. 2018;25:93-105. doi: 10.1038 / s41417-018-0016-3
8. E A Mkii, S M Brown, A R MacLean, D I Graham Histopathological responses in the CNS following inoculation with a non-neurovirulent mutant (1716) of herpes simplex virus type 1 (HSV 1): relevance for gene and cancer therapy. *Neuropathol Appl.* 1998;24:367-372.. doi: 10.1046/ j.1365-2990.1998.00133.x.
9. Suzanne Thomas, Linda Kuncheria, Victoria Roulstone et al Development of a new fusion-enhanced oncolytic immunotherapy platform based on herpes simplex virus type 1. 2019;7:214. doi: 10.1186 / s40425-019-0682-1.
10. Sarah A Connolly, Theodore S Jardetzky, Richard Longnecker The structural basis of herpesvirus entry *Nat Rev Microbiol.* 2021;19:110-121. doi: 10.1038 / s41579-020-00448- iii.
11. T Minuta, S DRabkin, T Yazaki, WD Hunter, R L Martuza Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas. *Nat Med.* 1995;1:938-943. doi: 10.1038 / nm0995-938.
12. R L Martuza, A Malik, J M Market, K L Ruffner, DM Coin Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. 1991;252:854-856. doi: 10.1126 / science.1851332.
13. J M Markert, A Malik, D M Coen, R L Martuza Reduction and elimination of encephalitis in an experimental glioma therapy model with attenuated herpes simplex mutants that retain susceptibility to acyclovir. 1993;32:597-603. doi: 10.1097/00006123-199304000-00016.

14. Achim K Moesta et al. Local Delivery of OncoVEXmGM-CSF Generates Systemic Antitumor Immune Responses Enhanced by Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein Blockade *Clin Cancer Res.* 2017;23:6190-6202. doi: 10.1158 / 1078-0432.CCR-17-0681.
15. Huiya Huang et al. Oncolytic adenovirus programmed by synthetic gene circuit for cancer immunotherapy
Nat Commun. 2019. 10:4801. doi: 10.1038 / s41467-019-12794-2.
16. Cho-Hee Lee et al. Enhanced therapeutic efficacy of an adenovirus-PEI-bile-acid complex in tumors with low coxsackie and adenovirus receptor expression
Biomaterials. 2014 Jul. 35:5505-5516. doi: 10.1016 / j.biomaterials.2014.03.060.
17. Frederick F Lang et al. Phase I Study of DNX-2401 (Delta-24-RGD) Oncolytic Adenovirus: Replication and Immunotherapeutic Effects in Recurrent Malignant Glioma *J Clin Oncol.* 2018;36: 1419-1427. doi: 10.1200 / JCO.2017.75.8219.
18. Vertika Pathak et al. Molecular magnetic resonance imaging of Alpha-v-Beta-3 integrin expression in tumors with ultrasound microbubbles. *Biomaterials.* 2021 Aug; 275:120896. doi: 10.1016 / j.biomaterials.2021.120896.
19. Svetlana Atasheva et al. Systemic cancer therapy with engineered adenovirus that evades innate immunity. *Sci Transl Med.* 2020;12(571): eabc6659. doi: 10.1126/ scitranslmed.abc6659.
20. Heather Gibson, Stephanie Munns, [...], and Wei-Zen Wei Immunotherapeutic intervention with oncolytic adenovirus in mouse mammary tumors 2015;4: e984523. doi: 10.4161 / 2162402X.2014.984523.
21. ubayer A Hossain et al. Long-term treatment with valganciclovir improves lentiviral suicide gene therapy of glioblastoma *Neuro Oncol.* 2019. 21:890-900. doi: 10.1093 / neuonc / noz060.
22. Pengju Wang et al. Re-designing Interleukin-12 to enhance its safety and potential as an anti-tumor immunotherapeutic agent *Nat Commun.* 2017;8: 1395. doi: 10.1038 / s41467-017-01385-8 .
23. Matthew Charman et al. Viral and cellular interactions during adenovirus DNA replication. *FEBS Lett.* 2019 Dec. doi: 10.1002/1873-3468.13695.
24. Qingjie Xue, Xiuzhen Li, [...], and Ting Chen Efficacy of recombinant adenovirus expressing a fusion gene from GM-CSF and Epstein-Barr virus LMP2A in a mouse tumor model *Hum Vaccin Immunother.* 2017;13:2260-2268. doi: 10.1080/21645515.2017.1356521.
25. Gemma Pidelaserra-Martí et al. Mechanisms of measles virus oncolytic immunotherapy *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020 Dec.;56: 28-38. doi: 10.1016 / j.cytogfr.2020.07.009.
26. Jayson Hardcastle et al. Immunovirotherapy with measles virus strains in combination with anti-PD-1 antibody blockade enhances antitumor activity in glioblastoma treatment *Neuro Oncol.* 2017. 19:493-502. doi: 10.1093
27. Anne Lok, Geraldine Descamps, [...], and Catherine Pellat-Deceunynck p53 regulates CD46 expression and measles virus infection in myeloma cells *Blood Adv . .* 2018;2: 3492-3505. doi: 10.1182
28. David R Deyle et al. Oncolytic measles virus as a novel therapy for malignant peripheral nerve sheath tumors *Gene.* 2015. 565: 140-145. doi: 10.1016

29. Tiphaine Delaunay et al. Frequent Homozygous Deletions of Type I Interferon Genes in Pleural Mesothelioma Confer Sensitivity to Oncolytic Measles Virus *J Thorac Oncol.* 2020 May. 15: 827-842. doi: 10.1016
30. Cory Allen et al. Interleukin-13 displaying retargeted oncolytic measles virus strains have significant activity against gliomas with improved specificity *Mol Ther.* 2008 Sep. 16: 1556-1564. doi: 10.1038
31. Nike C. Lühl, Felix Zirngibl, [...], and Christian Beltinger Attenuated measles virus controls pediatric acute B-lineage lymphoblastic leukemia in NOD/SCID mice 2014;99: 1050-1061. doi: 10.3324
32. Guan W, Xi K, Katherine SC, et al. An engineered oncolytic virus expressing PD-L1 inhibitors activates tumor neoantigen-specific T cell responses. *Nat Commun.* 2020;11(1):1395. doi: 10.1038/s41467-020-15229-5
33. Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma Robert H I Andtbacka et al. *J Clin Oncol.* 2015;33:2780-2788. doi: 10.1200 /JCO.2014.58.3377.
34. Krishna D, Elodie B, Matteo R, et al. A modular self-adjuvanting cancer vaccine combined with an oncolytic vaccine induces potent antitumor immunity. *Nat Commun.* 2021;12(1):5195. doi: 10.1038/s41467-021-25506-6
35. Hirvinen M., RajECKi M., Kapanen M., Parviainen S., Rouvinen-Lagerström N., Diaconu I., Nokisalmi P., Tenhunen M., Hemminki A., Cerullo V. Immunological Effects of a Tumor Necrosis Factor Alpha-Armed Oncolytic Adenovirus. *Hum. Gene Ther.* 2015;26:134-144. doi: 10.1089/hum.2014.069.
36. Phillips LM, Li S, Gumin J, et al. An immune-competent, replication-permissive Syrian Hamster glioma model for evaluating Delta-24-RGD oncolytic adenovirus. *Neuro Oncol.* 2021;23(11):1911-1921. doi: 10.1093/neuonc/noab128.
37. Pengju W, Xiaozhu L, Jiwei W, et al. Re-designing Interleukin-12 to enhance its safety and potential as an anti-tumor immunotherapeutic agent. *Nat Commun.* 2017;8(1):1395. doi: 10.1038/s41467-017-01385-8
38. Guan W, Xi K, Katherine SC, et al. An engineered oncolytic virus expressing PD-L1 inhibitors activates tumor neoantigen-specific T cell responses. *Nat Commun.* 2020;11(1):1395. doi: 10.1038/s41467-020-15229-5
39. Dimethyl fumarate potentiates oncolytic virotherapy through NF-κB inhibition Mohammed Selman et al. *Sci Transl Med.* 2018 10:eaao1613. doi: 10.1126 /scitranslmed.aao1613
40. Xiao X, Liang J, Huang C, Li K, Xing F, Zhu W, Lin Z, Xu W, Wu G, Zhang J, Lin X, Tan Y, Cai J, Hu J, Chen X, Huang Y, Qin Z, Qiu P, Su X, Chen L, Lin Y, Zhang H, Yan G. DNA-PK inhibition synergizes with oncolytic virus M1 by inhibiting antiviral response and potentiating DNA damage. *Nat Commun.* 2018 Oct 18;9(1):4342. doi: 10.1038/s41467-018-06771-4.
41. Samson A, Scott KJ, Taggart D, West EJ, Wilson E, Nuovo GJ, Thomson S, Corns R, Mathew RK, Fuller MJ, Kottke TJ, Thompson JM, Ilett EJ, Cockle JV, van Hille P, Sivakumar G, Polson ES, Turnbull SJ, Appleton ES, Migneco G, Rose AS, Coffey MC, Beirne DA, Collinson FJ, Ralph C, Alan Anthoney D, Twelves CJ, Furness AJ, Quezada SA, Wurdak H, Errington-

- Mais F, Pandha H, Harrington KJ, Selby PJ, Vile RG, Griffin SD, Stead LF, Short SC, Melcher AA. Intravenous delivery of oncolytic reovirus to brain tumor patients immunologically primes for subsequent checkpoint blockade. *Sci Transl Med.* 2018 Jan 3;10(422):eaam7577. doi: 10.1126/scitranslmed.aam7577.
42. Studebaker AW, Hutzen B, Pierson CR, Shaffer TA, Raffel C, Jackson EM. Oncolytic measles virus efficacy in murine xenograft models of atypical teratoid rhabdoid tumors. *Neuro Oncol.* 2015 Dec;17(12):1568-77. doi: 10.1093/neuonc/nov058. Epub 2015 Apr 2.
 43. Chen CY, Wang PY, Hutzen B, Sprague L, Swain HM, Love JK, Stanek JR, Boon L, Conner J, Cripe TP. Cooperation of Oncolytic Herpes Virotherapy and PD-1 Blockade in Murine Rhabdomyosarcoma Models. *Sci Rep.* 2017 May 24;7(1):2396. doi: 10.1038/s41598-017-02503-8. Kuryk L, Vassilev L, Ranki T, Hemminki A, Karioja-Kallio A, Levälampi O, Vuolanto A, Cerullo V, Pesonen S. Toxicological and bio-distribution profile of a GM-CSF-expressing, double-targeted, chimeric oncolytic adenovirus ONCOS-102 - Support for clinical studies on advanced cancer treatment. *PLoS One.* 2017 Aug 10;12(8):e0182715. doi: 10.1371/journal.pone.0182715.
 44. Ochiai H, Campbell SA, Archer GE, Chewning TA, Dragunsky E, Ivanov A, Gromeier M, Sampson JH. Targeted therapy for glioblastoma multiforme neoplastic meningitis with intrathecal delivery of an oncolytic recombinant poliovirus. *Clin Cancer Res.* 2006 Feb 15;12(4):1349-54. doi: 10.1158/1078-0432.
 45. Tengku IM, Elena K, Lars W, et al. Immunocompetent cancer-on-chip models to assess immuno-oncology therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 2021; 173 : 281–305. doi: 10.1016/j.addr.2021.03.015
 46. Ho CT, Wu MH, Chen MJ, et al. Combination of mesenchymal stem cell-delivered oncolytic virus with prodrug activation increases efficacy and safety of colorectal cancer therapy. *Biomedicines.* 2021;9(5):548. doi: 10.3390/biomedicines9050548
 47. Chen W, Chen Y, Han W, et al. Stereotactic body radiation combined with oncolytic vaccinia virus induces potent anti-tumor effect by triggering tumor cell necroptosis and DAMPs. *Cancer Lett.* 2021; 523 : 149–161. doi: 10.1016/j.canlet.2021.09.040.
 48. Pol J.G., Workenhe S.T., Konda P., Gujar S., Kroemer G. Cytokines in Oncolytic Virotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020; 56 : 4–27. doi: 10.1016/j.cytogfr.2020.10.007.
 49. Berraondo P., Etxeberria I., Ponz-Sarvisse M., Melero I. Revisiting Interleukin-12 as a Cancer Immunotherapy Agent. *Clin. Cancer Res.* 2018; 24 :2716–2718. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0381.
 50. Carswell E.A., Old L.J., Kassel R.L., Green S., Fiore N., Williamson B. An Endotoxin-Induced Serum Factor That Causes Necrosis of Tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1975;72:3666–3670. doi: 10.1073/pnas.72.9.3666.
 51. Hirvonen M., Rajacki M., Kapanen M., Parviainen S., Rouvinen-Lagerström N., Diaconu I., Nokisalmi P., Tenhunen M., Hemminki A., Cerullo V. Immunological Effects of a Tumor Necrosis Factor Alpha-Armed Oncolytic Adenovirus. *Hum. Gene Ther.* 2015;26:134–144. doi: 10.1089/hum.2014.069.
 52. Moon E.K., Wang L.-C.S., Bekdache K., Lynn R.C., Lo A., Thorne S.H., Albelda S.M. Intra-Tumoral Delivery of CXCL11 via a Vaccinia Virus, but Not by Modified T Cells, Enhances

- the Efficacy of Adoptive T Cell Therapy and Vaccines. *Oncoimmunology*. 2018;7:e1395997. doi:10.1080/2162402X.2017.1395997.
53. Roy DG, Geoffroy K, Marguerie M, et al. Adjuvant oncolytic virotherapy for personalized anti-cancer vaccination. *Nat Commun*. 2021;12(1):1–11. doi: 10.1038/s41467-021-22929-z.
54. Li Z, Zhong L, He J, et al. Development and application of reverse genetic technology for the influenza virus. *Virus Genes*. 2021;57:151–163. doi: 10.1007/s11262-020-01822-9.
55. Jou J., Harrington K.J., Zocca M.-B., Ehrnrooth E., Cohen E.E.W. The Changing Landscape of Therapeutic Cancer Vaccines—Novel Platforms and Neoantigen Identification. *Clin. Cancer Res*. 2021;27:689–703.. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-0245.
56. Hollingsworth R.E., Lee W.H. Tumor Suppressor Genes: New Prospects for Cancer Research. *J. Natl. Cancer Inst*. 1991;83:91–96. doi: 10.1093/jnci/83.2.91.
57. Russell L., Swanner J., Jaime-Ramirez A.C., Wang Y., Sprague A., Banasavadi-Siddegowda Y., Yoo J.Y., Sizemore G.M., Kladney R., Zhang J., et al. PTEN Expression by an Oncolytic Herpesvirus Directs T-Cell Mediated Tumor Clearance. *Nat. Commun*. 2018;9:5006. doi: 10.1038/s41467-018-07344-1.
58. Bressy C., Hastie E., Grdzlishvili V.Z. Combining Oncolytic Virotherapy with P53 Tumor Suppressor Gene Therapy. *Mol. Ther.-Oncolytics*. 2017;5:20–40.. doi: 10.1016/j.omto.2017.03.002.
59. Liu C., Sun B., An N., Tan W., Cao L., Luo X., Yu Y., Feng F., Li B., Wu M., et al. Inhibitory Effect of Survivin Promoter-Regulated Oncolytic Adenovirus Carrying P53 Gene against Gallbladder Cancer. *Mol. Oncol*. 2011;5:545–554. doi: 10.1016/j.molonc.2011.10.001.
60. Wang X., Su C., Cao H., Li K., Chen J., Jiang L., Zhang Q., Wu X., Jia X., Liu Y., et al. A Novel Triple-Regulated Oncolytic Adenovirus Carrying P53 Gene Exerts Potent Antitumor Efficacy on Common Human Solid Cancers. *Mol. Cancer Ther*. 2008;7:1598–1603. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-07-2429.
61. He X., Liu J., Yang C., Su C., Zhou C., Zhang Q., Li L., Wu H., Liu X., Wu M., et al. 5/35 Fiber-Modified Conditionally Replicative Adenovirus Armed with P53 Shows Increased Tumor-Suppressing Capacity to Breast Cancer Cells. *Hum. Gene Ther*. 2011;22:283–292. doi: 10.1089/hum.2010.058.