·综述·

溶瘤病毒联合其他药物用于肿瘤治疗的研究进展

崔姣艳,蔡世杰
(西安新长安再生医学科技研发有限公司,西安 710065)

[摘要] 溶瘤病毒作为一种抗肿瘤生物制剂,在肿瘤治疗中选择性地感染裂解肿瘤细胞,增加肿瘤抗原暴露,重塑肿瘤微环境,增加肿瘤微环境中免疫细胞浸润,激活免疫系统,发挥抗肿瘤作用。由于溶瘤病毒单药治疗效果不佳,而溶瘤病毒与其他抗癌药物联用的多个临床研究均表现出良好的抗肿瘤效果,联合用药有望释放溶瘤病毒疗法抗肿瘤方面的巨大潜能。本文从溶瘤病毒抗肿瘤机制、应用类型、联合治疗的临床研究现状、重要进展等进行综述。

[关键词] 溶瘤病毒;肿瘤治疗;联合治疗
[中图分类号] R915;R979.1 [文献标志码] A [文章编号] 1003-3734(2021)03-0246-08

Research progress of oncolytic virus combined with other drugs in cancer therapy

CUI Jiao-yan, CAI Shi-jie
(*Xi'an New Chang'an Regenerative Medicine Technology Research and Development Co., Ltd., Xi'an* 710065, *China*)

[**Abstract**] Oncolytic virus, as a biological agent of cancer, plays an anti-tumor role by selectively infecting and lyses tumor cells in the treatment of cancer, increasing the exposure of tumor antigens, remolding the tumor microenvironment, increasing the infiltration of immune cells in the tumor microenvironment, and activating the immune system. Because the therapeutic effect of using oncolytic virus alone is not satisfactory, and many clinical trials on the combination of oncolytic virus and other anti-cancer drugs have shown good anti-tumor effect, the application of combination of the two is expected to release the enormous potential of oncolytic virus therapy against cancer. This article reviews the anti-tumor mechanisms, application types, clinical trial status and important progress of combined therapy of oncolytic virus.

[**Key words**] oncolytic virus; tumor therapy; combined treatment

溶瘤病毒(oncolytic virus,OV)是一类天然的或经过基因改造后可选择性攻击和破坏肿瘤细胞,而对正常细胞损伤较小的病毒。在抗肿瘤方面,溶瘤病毒单一疗法疗效不尽如人意,近期溶瘤病毒联合其他药物治疗多种恶性肿瘤已经取得重大进展,有希望成为继靶向药、免疫检查点抑制剂之后的另一个突破性疗法,本文就溶瘤病毒联合其他药物治疗肿瘤的相关进展进行综述。

截至目前,全球获批上市的溶瘤病毒药物有3个,分别为2004年在拉脱维亚获批的RIGVIR,主要针对黑色素瘤;2005年由原国家食品药品监督管理总局批准上市的H101,主要针对鼻咽癌;2015年由美国FDA批准上市的T-VEC,主要针对转移性黑色素瘤。然而这些溶瘤病毒药物单一疗法效果不尽如人意,近年来,国内外研究者逐步拓宽思路,将溶瘤病毒与其他抗肿瘤药物联合,目前已有多项临床试验取得不错的效果。目前溶瘤病毒临床研究联合疗法类型主要有放疗、化疗、小分子抑制剂、靶向药、免疫细胞等。下面对溶瘤病毒抗肿瘤机制、应用类型、联合治疗的最新研究进展进行阐述。

1 溶瘤病毒抗肿瘤机制

溶瘤病毒选择性感染肿瘤细胞,在肿瘤细胞内进行自我复制来破坏肿瘤细胞,通过释放病原体相关分子(pathogen-associated molecular pattern mole-

[作者简介] 崔姣艳,女,硕士研究生,研究方向:肿瘤生物治疗。E-mail:cuijiaoyan@126.com。
[通讯作者] 蔡世杰,男,研究方向:肿瘤生物治疗。联系电话:(029)68689905,E-mail:caishijie0202@icloud.com。

cules,PAMP)、肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAA)、炎性因子、趋化因子等物质,激活机体免疫系统,直接或间接杀伤肿瘤细胞,将冷肿瘤转变为热肿瘤,如图 1 所示。溶瘤病毒抗肿瘤机制主要表现在以下几个方面。

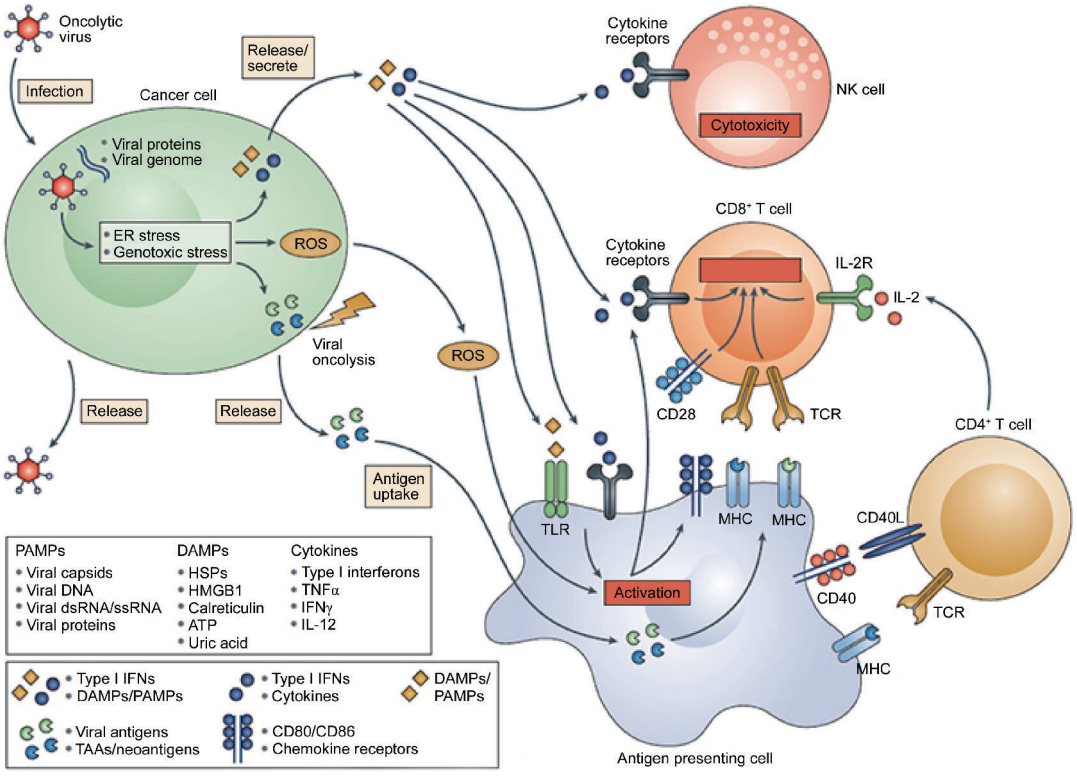


图 1 溶瘤病毒抗肿瘤机制

1.1 直接感染裂解肿瘤细胞而不感染正常细胞 病毒在进入肿瘤细胞后,大量复制造成肿瘤细胞的裂解,直接杀伤肿瘤细胞,同时在肿瘤组织内产生空间,增加免疫细胞的浸润和增殖。

1.2 释放肿瘤抗原刺激机体免疫应答 肿瘤细胞裂解后释放危险相关分子(danger-associated molecular pattern molecules,DAMPs)、PAMP 和 TAA 募集抗原提呈细胞(antigen presenting cell,APC),APC 将 TAA 呈递给杀伤性 T 细胞,产生免疫应答。同时激活 NF-κB 信号通路,诱导肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)和白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)因子表达,产生炎性微环境,促进免疫细胞成熟和激活,增强抗肿瘤作用[1-2]。

1.3 调节肿瘤微环境逆转免疫抑制微环境 溶瘤病毒感染肿瘤细胞,可活化树突状细胞(dendritic cells,DC)细胞表面的模式识别受体(pattern recognition receptor,PRR),逆转免疫抑制状态的 DC 细胞,促进 DC 细胞对肿瘤细胞的识别,上调 CXCL1 和 CXCL5 等趋化因子的表达,诱导中性粒细胞浸润,逆转肿瘤部位免疫抑制微环境,增强抗肿瘤效应[3]。

1.4 转基因改造使表达免疫调节因子并增加肿瘤部位免疫细胞的浸润和增殖 基因改造后的溶瘤病毒在进入肿瘤细胞后,进一步表达炎性因子或对免疫细胞直接作用,激活机体免疫系统,杀伤残留的肿瘤细胞。例如,溶瘤病毒 JX-594,表达粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor,GM-CSF)免疫调节基因,调节机体免疫机能[4]。

1.5 转基因改造使表达趋化因子并增加免疫细胞归巢和浸润 基因改造后的溶瘤病毒在进入肿瘤细胞后,进一步表达趋化因子等,使肿瘤部位免疫细胞归巢,增强抗肿瘤作用。例如,由 HSV-1 菌株衍生而来的对恶性胶质瘤溶瘤作用更强的溶瘤病毒 G47△-IL-12,就是在 G47△的基础上插入白细胞介素 12(interleukin-12,IL-12)基因,IL-12 可明显促进自然杀伤细胞对肿瘤细胞和病毒感染细胞的杀伤作用,进一步抑制肿瘤生长[5]。

1.6 破坏肿瘤相关血管 由于肿瘤的生长依赖肿

瘤血管提供营养物质,因此,破坏肿瘤相关血管能够有效地抑制肿瘤的生长。研究表明,水泡性口炎病毒(VSV)可以在体内直接感染并破坏肿瘤血管,而对正常血管没有影响。VSV 在肿瘤组织中扩散并进行复制,启动机体内由嗜中性粒细胞介导的炎症反应,从而导致肿瘤血管内微血栓的形成。肿瘤血管内的微血栓影响血管向肿瘤组织提供营养物质,最终导致肿瘤细胞缺少营养死亡[6-7]。

2 溶瘤病毒应用类型

目前,应用于临床试验的溶瘤病毒类型主要有腺病毒(adenoviruses)、单纯疱疹病毒(herpes simplex virus)、痘病毒(poxviruses)、呼肠孤病毒(reovirus)、麻疹病毒(measles virus)、柯萨奇病毒(coxsackie virus)、脊髓灰质炎病毒(poliovirus)、新城疫病毒(newcastle disease virus)等,其中临床试验注册数量以腺病毒、单纯疱疹病毒居多,分别为 211 和 101 个。

目前溶瘤病毒的应用类型主要包括 3 类:① 具有天然特异感染肿瘤的野生型病毒株,如新城疫病毒、柯萨奇病毒、呼肠孤病毒、细小病毒、水痘病毒等[8]。② 基因删除或加载型病毒株,主要是采用基因工程删除或加载病毒的某些关键基因,而实现病毒选择性复制,如 Pexa-Vec(JX594),删除胸腺激酶(TK)基因,加载 *GM-CSF* 基因和 β-半乳糖苷酶基因,使病毒复制依赖于在肿瘤细胞中持续高表达的胸腺激酶,刺激免疫细胞增殖,促进肿瘤免疫反应。③ 启动靶向型病毒株,即在病毒必需基因前插入组织或肿瘤特异性启动子,利用启动基因控制溶瘤病毒在肿瘤细胞中的复制,如人端粒酶逆转录酶(hTERT)启动子、癌胚抗原(CEA)启动子、甲胎蛋白(AFP)启动子、缺氧反应元件(HRE)等[9]。

3 溶瘤病毒联合其他药物治疗肿瘤研究现状

3.1 溶瘤病毒联合免疫检查点抑制剂 近期溶瘤病毒联合免疫检查点抑制剂抗肿瘤方面表现出良好的抗肿瘤效果,已经公布治疗有效的适应证包括晚期黑色素瘤、三阴性乳腺癌、脑肿瘤、结肠癌和卵巢癌等。溶瘤病毒和免疫检查点抑制剂在逆转肿瘤抑制微环境方面表现为协同作用,另外,溶瘤病毒本身的病毒原性和裂解肿瘤细胞后释放的肿瘤抗原等物质激活内源性免疫系统,激活 DC 细胞对肿瘤细胞表面抗原的识别,增强 CD_8^+ T 细胞的攻击和杀伤作用,如图 2 所示。这种联合疗法成功打破了实体瘤免疫抑制的微环境,提高了实体瘤的临床有效性。

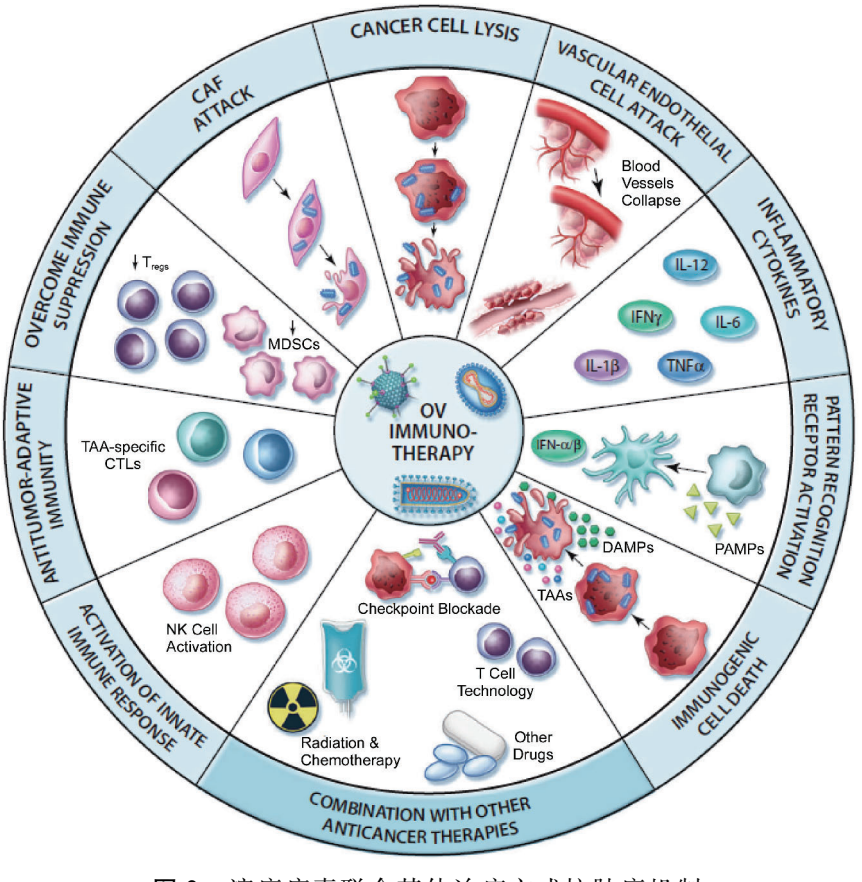


图 2 溶瘤病毒联合其他治疗方式抗肿瘤机制

一项溶瘤病毒(T-VEC)impygic 联合程序性死亡受体 1(programmed death-1,PD-1)抑制剂(pembrolizumab)治疗晚期黑色素瘤的Ⅰb 期临床试验结果显示,肿瘤缓解总体有效率高达 62%,其中 33%为完全缓解,作者在研究过程中发现,这种组合治疗不依赖 CD_8^+ T 细胞的浸润,T-VEC 可以逆转一些转移病灶低水平 CD_8^+ T 细胞,成功改善了肿瘤微环境[10]。该研究是美国加州大学洛杉矶分校 Jonsson 综合癌症中心发起,由美国、瑞士、西班牙、澳大利亚 4 国科学家进行的晚期黑色素瘤患者Ⅰb 期临床试验,将溶瘤病毒药物 T-VEC 和 pembrolizumab 联合使用对晚期黑色素瘤进行治疗,研究人员先是向黑色素瘤局部注射溶瘤病毒,破坏肿瘤微环境,然后全身系统性静脉应用 PD-1 抑制剂,激活和增强 T 细胞对肿瘤细胞的攻击和杀伤[11]。目前针对ⅢB ~ Ⅳ期黑色素瘤的 713 例的Ⅲ期临床试验(ClinicalTrials.gov,NCT02263508)已经开展,已招募 660 例患者,其中一半接受联合治疗,另一半接受 pembrolizumab 联合肿瘤内安慰剂对照治疗。

一项Ⅱ期临床试验正在测试细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)抗体 ipilimumab 与 imlygic (T-VEC)联合治疗晚期不可切除黑色素瘤患者的疗效和安全性。早前结果表明,相比较于 CTLA-4 抗体 Yervoy(ipilimumab)单药治疗,该联合疗法使得患者的总体反应率增加 1 倍。客观有效率为 50%,44% 的患者有持续 6 个月的反应。18 个月无进展生存期为 50%,18 个月总生存率为 67%[12]。

一项溶瘤病毒(vvDD-CXCL11)联合程序性死亡配体 1(programmed death ligand 1,PD-L1)抑制剂治疗结肠癌和卵巢癌的研究结果表明,在结肠癌和卵巢癌模型中,溶瘤性痘苗病毒吸引效应 T 细胞,并诱导肿瘤中癌症和免疫细胞表达 PD-L1。联合疗法可减少 PD-L1 阳性细胞,促进肿瘤部位效应细胞 CD_8^+,CD_4^+ T 细胞的浸润,增加干扰素-γ(interferon-γ,IFN-γ)、诱导共刺激分子(inducible costimulator, ICOS)、颗粒酶 B 和穿孔素的表达。此外,该治疗减少了病毒诱导的 PD-L1$^+$ DC、骨髓来源的抑制性细胞(myeloid derived suppressor cells,MDSC)、肿瘤相关巨噬细胞(tumour-associated macrophages,TAM)和调节性 T 细胞(regulatory cell,Treg),以及共抑制分子-双阳性、耗竭性 PD-1$^+$ CD_8^+ T 细胞的数量,减少肿瘤负荷,提高生存率。在结肠癌和卵巢癌的侵袭性腹膜癌病模型中,溶瘤病毒与 α-PD-L1 抑制剂协同治疗达到 40% 以上的治愈率[13]。

一项来自渥太华医院和渥太华大学的研究者对术后模拟乳腺癌转移扩散的小鼠模型进行研究,采用新辅助溶瘤病毒(Maraba virus)疗法结合检查点抑制剂疗法对三阴性乳腺癌动物模型进行治疗,研究结果显示,这种组合性疗法使 60% ~90% 的患癌小鼠完全缓解,模型小鼠在术前给予溶瘤病毒治疗,在术后进行检查点抑制剂疗法治疗。研究者发现术前溶瘤病毒治疗能有效持久地触发抗肿瘤免疫应答,而术后免疫检查点抑制剂治疗能有效地激活抗肿瘤免疫。该临床前动物实验结果表明,将溶瘤病毒与 PD-1 抑制剂联用可以增加肿瘤部位炎症、免疫细胞浸润、肿瘤细胞 PD-L1 表达上调,延长模型动物生存期[14]。

一项静脉注射 OV 联合 PD-1 抑制剂治疗脑肿瘤的研究中,研究者采用静脉注射呼肠孤病毒治疗脑肿瘤,试验结果表明静脉注射呼肠孤病毒的方式可以使呼肠孤病毒进入患者的脑肿瘤,静脉注射的方式有望作为向脑肿瘤输送 OV 的一种有效途径。静脉注射 OV 联合 PD-1 抑制剂治疗脑肿瘤是该实验室研究的重点。该研究结果显示,静脉注射溶瘤病毒可以改变脑肿瘤微环境,静脉注射溶瘤病毒结合免疫检查点抑制剂可以提高脑肿瘤小鼠的存活率,为脑肿瘤治疗提供一种实用的备选方案[15]。

3.2 溶瘤病毒联合小分子抑制剂 近期研究表明,不同的小分子抑制剂可通过多种机制控制肿瘤生长,其在体外联合溶瘤病毒能达到更优的肿瘤治疗效果。小分子抑制剂能够特异性地阻断肿瘤生长、阻断肿瘤增殖过程中所必需的信号通路,从而达到抑制肿瘤生长的目的。小分子抑制剂在肿瘤治疗应用中,虽然存在靶向特异性不够、半衰期短、易产生耐药性等问题,而影响其单药治疗肿瘤的效果,但因其作用范围广、易到达靶点位置及可口服等特点,在与溶瘤病毒的联合使用中展现出多种优势。这种联合应用可显著增加肿瘤细胞死亡率,破坏肿瘤相关血管,切断肿瘤部位营养物质的供应,遏制肿瘤生长[16]。

一项靶向原癌基因丝氨酸/苏氨酸激酶(B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase,BRAF)和丝裂原活化蛋白激酶的激酶(MAP kinse-ERK kinase, MEK)的小分子抑制剂与溶瘤性呼肠孤病毒 RT3D 联合应用增强抗黑色素瘤作用的临床前研究结果表明,溶瘤病毒疗法与靶向治疗(激酶抑制剂)联合应

用提高了单药治疗 *BRAF* 和 *RAS* 突变性黑色素瘤的疗效。通过 BRAF 和 RAS 分子抑制剂抑制 ERK1/2 信号通路联合呼肠孤病毒感染作用共同诱导肿瘤细胞凋亡,这些研究成果为 RT3D 与 BRAF 抑制剂(在 *BRAF* 突变性黑素瘤中)和/或 MEK 抑制剂(在 *BRAF* 和 *RAS* 突变性黑素瘤中)联合的临床应用提供了强有力的理论基础[17]。

一项溶瘤牛痘病毒(JX-594)联合索拉菲尼(sorafenib)治疗肝癌的Ⅱ期临床试验(ClinicalTrials.gov 注册:NCT01171651)已经结束,目前正在开展Ⅲ期临床试验(ClinicalTrials. gov 注册:NCT02562755)。这项多中心、随机、开放标记的Ⅲ期临床研究是为了确定与索拉非尼相比,在没有接受过全身治疗的晚期肝细胞癌患者中,使用基于痘苗病毒的免疫疗法(Pexa-Vec)[16,18],并随后使用索拉非尼的治疗是否提高了生存率。该研究预计招募 600 例患者,随机分为 2 个治疗组,比例为 1∶1(每组 300 例),以便达到至少 570 例可评估的患者。

一项溶瘤痘苗病毒(oVV,胸腺激酶 *TK* 基因敲除)联合 sorafenib 对肝细胞癌的临床前研究结果表明,联合治疗在体外可显著增加肝细胞死亡,在体内可显著降低肿瘤生长,这种联合治疗可能为未来的肝癌治疗提供新的有效策略。sorafenib 是一种口服的新型靶向治疗药物,能抑制 RAF-1,B-RAF 的丝氨酸/苏氨酸激酶活性,以及血管内皮生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor 2,VGFR-2)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor 3,VEGF-3)、血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor,PDGF-β)、KIT、FMS 样酪氨酸激酶 3(FMS like tyrosine kinase 3,FLT-3)多种受体的酪氨酸激酶活性。sorafenib 具有双重的抗肿瘤作用:既可通过阻断由 RAF/MEK/ERK 介导的细胞信号传导通路而直接抑制肿瘤细胞的增殖,还可通过作用于 VEGFR,抑制新生血管的形成和切断肿瘤细胞的营养供应而达到遏制肿瘤生长的目的[6]。该研究是国内外首次使用溶瘤病毒联合索拉菲尼治疗肝癌,研究中观察了 oVV 联合索拉菲尼对肝细胞癌模型的体内外抗肿瘤活性作用,在体外实验中,联合治疗的方法可显著增加肝细胞死亡,在体内试验中,联合治疗的方法可显著抑制肿瘤生长[19]。

3.3 溶瘤病毒联合放疗 随着溶瘤病毒疗法的获批,溶瘤病毒联合放疗的方法应运而生。研究显示,通过辐射治疗可使病毒的溶瘤作用增强,通过病毒治疗使细胞的放疗敏感性增强,这种联合方案在多种临床前研究中都显示出协同抗肿瘤作用。为了增强溶瘤病毒治疗和放疗的联合作用,可对病毒进行修饰,其中包括修饰能在辐照后启动的启动子,或修饰能够激活细胞辐射诱导死亡的基因,目的是增加辐射对肿瘤的特异性及杀伤能力。测试哺乳动物中一些对放疗响应的启动子,发现 *survivin* 基因的 mRNA 显著增加,*survivin* 基因能够驱动其 E1 蛋白的表达。比起放疗单独治疗或与野生型腺病毒联合治疗,使用加入 *survivin* 基因的条件复制型腺病毒(CRAd-S-pk7)结合放疗,能够极大限度地延缓神经胶质瘤生长;研究结果表明,联合放疗后,病毒滴度能够增长 100 倍[20]。

一项由 Genelux Corporation 公司发起的溶瘤痘病毒 GL-ONC1 联合化疗和放疗治疗局部晚期头颈部癌症的Ⅰ期临床试验(ClinicalTrial. gov 注册:NCT01584284),共有 19 例患者入选,中位随访 30 个月,1 年无进展生存率和总生存率分别为 74.4% 和 84.6%,2 年无进展生存率和总生存率分别为 64.1% 和 69.2%。这项研究的一个新颖的方面是病毒治疗是以静脉输注的方式进行的,这与肿瘤内注射相比简化了病毒的输送。在局部晚期头颈癌接受标准放化疗的患者中,GL-ONC1 给药耐受性良好,效果良好,GL-ONC1 的静脉输注是安全和可行的。第一阶段的研究为第二阶段溶瘤病毒治疗恶性肿瘤的新策略提供了有利的证据和支持[21]。

一项溶瘤病毒联合放疗诱导软组织肉瘤细胞凋亡的临床前研究结果表明,在体外实验中,溶瘤性痘苗病毒(GLV-1h68,也称为 GL-ONC1)与放疗联合应用显示出协同的细胞毒性。这种作用不是由于病毒复制增加,而是通过诱导内源性凋亡介导的。GLV-1h68 治疗下调抗凋亡 BCL-2 蛋白(MCL-1 和 BCL-XL)和下游凋亡抑制剂,导致效应蛋白 caspases 3 和 caspases 7 的断裂。在体内隔离肢体灌注(ILP)模型中,与单药治疗相比,GLV-1h68 和放疗的结合显著延迟了肿瘤的生长和延长了存活时间。这些数据表明病毒介导的抗凋亡蛋白的下调可能增加肿瘤细胞对电离辐射的细胞毒性作用的敏感性。溶瘤病毒疗法代表了 ILP 临床应用的一个令人兴奋的候选者,它克服肿瘤细胞内抗凋亡信号的能力为结合传统抗癌疗法的进一步发展指明了方向[22]。

3.4 溶瘤病毒联合化疗 溶瘤病毒联合化疗研究最早成功的是美国 ONYX 公司构建的缺失 E1B-

55000 蛋白基因的腺病毒 ONYX-015 联合化疗治疗肿瘤,揭开了溶瘤病毒联合化疗治疗肿瘤的序幕。ONYX-015 在治疗头颈癌、卵巢癌、前列腺癌等的Ⅰ期临床试验中没有出现明显的毒性。在治疗复发性头颈癌的Ⅱ期临床试验中,采用瘤内注射 ONYX-015 联合 5-FU 和顺铂,获得 63% 肿瘤应答率,而且其中 1 例患者 10 cm 的肿瘤也完全消退。然而,单用 ONYX-015 治疗却只达到 15% ~20% 肿瘤应答率。溶瘤病毒能明显提高传统化疗对肿瘤细胞的杀伤效果,克服了传统肿瘤基因治疗的转染效率低、靶向性差、抗癌基因表达量低的缺点。化疗药物同时也不会干扰溶瘤腺病毒在肿瘤细胞中的复制裂解和治疗基因的表达。所以经过特殊构建的溶瘤腺病毒联合化疗治疗肿瘤,对杀伤肿瘤细胞有协同增强效应,疗效优于单独化疗或单独病毒基因治疗[23-24],如表 1 所示。

表 1 ONYX-015 联合化疗治疗复发难治性头颈癌

临床试验治疗方案	肿瘤应答率	适应证
ONYX-015 联合 5-FU 和顺铂	63%	复发难治性头颈癌
单用 ONYX-015 治疗	15% ~20%	复发难治性头颈癌
5-FU 和顺铂治疗	35%	复发难治性头颈癌

一项溶瘤病毒新药 REOLYSIN(由 Oncolytics Biotech 公司研发,尚未批准上市)联合抗肿瘤药紫杉醇治疗携带 *p53* 突变的转移性乳腺癌的Ⅱ期临床试验(ClinicalTrials. gov 注册:NCT01656538)目前已完成,该项临床试验结果表明,患者总生存期有所改善,这项开放标签、随机对照的研究总共纳入了 74 例转移性乳腺癌患者,其中 82%(61 例)患有 *p53* 突变型肿瘤。结果显示,使用 REOLYSIN 联合紫杉醇治疗的 *p53* 突变型转移性乳腺癌患者(n = 30)的中位总生存期改善达到了 20.9 个月,而仅使用紫杉醇治疗的患者(n = 31)只有 10.4 个月。该临床研究由加拿大癌症试验组(Canadian Cancer Trials Group,CCTG)设计和实施。基于总生存率数据和来自 p53 患者组的其他数据,该公司已经开始规划转移性乳腺癌的临床研究注册,并把总生存期拟定为主要试验终点。该临床试验观察到 *p53* 突变型转移性乳腺癌患者的生存获益时间增加了 1 倍,表明 REOLYSIN 对 *p53* 突变的转移性乳腺癌患者具有显著的有效性和耐受性,同时也证明了溶瘤病毒联合化疗药物的潜在效用[25],如表 2 所示。

表 2 REOLYSIN 联合紫杉醇治疗转移性乳腺癌

临床试验治疗方案	适应证	中位总生存期/月	无进展生存期/月
REOLYSIN 联合紫杉醇	转移性乳腺癌患者	17.4	3.78
紫杉醇	转移性乳腺癌患者	10.4	3.38
REOLYSIN 联合紫杉醇	*p53* 突变型转移性乳腺癌患者	20.9	—

3.5 溶瘤病毒联合免疫细胞 目前国内外尚未批准有效的实体瘤嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy,CAR-T)疗法,CAR-T 疗法治疗实体瘤的主要障碍包括:缺乏肿瘤特异性或抗原表达下调;免疫抑制性肿瘤微环境缺乏必要的促炎刺激分子,并且含有丰富的抑制性检查点分子以及实体肿瘤组织的物理屏障。CAR-T 细胞作为单一疗法,不足以克服这些抑制机制,因此需要联合其他治疗手段来增强其作用。而 OV 可以重塑局部肿瘤微环境,改善 T 细胞募集和效应功能;对 OV 而言,与 CAR-T 细胞治疗策略组合可以互补和相加的方式起作用,克服 OV 对远处(未治疗)部位的有限抗肿瘤作用的局限性。

OV 协同 T 细胞疗法克服免疫抑制性肿瘤微环境表现在:OV 通过直接对肿瘤细胞的直接裂解在肿瘤组织内产生空间,增加淋巴细胞浸润和扩增;肿瘤细胞裂解后释放 DAMP,PAMP 和 TAA 可以募集 APC,并且 TAA 可将其呈递给 T 细胞,如图 2 所示;OV 感染可诱导 MHC-I 和 β2M 的表达;OV 携带趋化因子基因、检查点抑制剂基因、炎性细胞因子基因等,以增加肿瘤部位内源性 T 细胞和 CAR-T 细胞的浸润,减缓内源性 T 细胞衰竭[2]。

一项溶瘤病毒联合嵌合抗原受体 NK 细胞(chimeric antigen receptor NK-cell immunotherapy,CAR-NK)治疗 *EGFR* 阳性乳腺癌脑转移(BCBM)的临床前研究结果表明,在小鼠头颅内预先接种表达 *EGFR* 的人乳腺癌细胞(MDA-MB-231),瘤内注射 EGFR-CAR 转导的 NK-92 细胞或溶瘤Ⅰ型单纯疱疹病毒(onco-

lytic herpes simplex virus type 1,OHSV-1)可减缓肿瘤生长。EGFR-CAR NK-92 细胞与 oHSV-1 联合使用对 MDA-MB-231 肿瘤细胞产生更有效的杀伤,并且与 EGFR-CAR NK-92 细胞单独使用或 oHSV-1 单独使用相比,荷瘤小鼠的中位生存时间(分别为 80,61,55 d)显著延长。这些结果表明 EGFR-CAR NK-92 细胞联合 oHSV-1 是治疗乳腺癌脑转移(breast cancer brain metastases,BCBMs)的潜在治疗办法。该临床前研究结果为 EGFR-CAR NK-92 细胞联合 oHSV-1 治疗乳腺癌脑转移的临床研究奠定了基础[26]。该研究设计使用 CAR-NK 细胞治疗癌症,是因为 CAR-NK 细胞在患者的同种异体环境中具有较低的诱发细胞因子释放综合征、肿瘤溶解综合征以及移植物抗宿主病(graft-versus-host disease,GVHD)的风险[27]。

虽然肿瘤免疫抑制微环境复杂多变,但将 OV 与 CAR-T 细胞免疫治疗相结合有希望克服这些免疫逃避机制。此外,基于目前部分有待改善的临床试验数据,合理设计 OV 和 CAR 针对不同靶肿瘤/组织的武装基因,达到最佳协同或互补效果,最大限度增加抗肿瘤效应[28]。这 2 种疗法作为单一治疗的安全性已在众多临床试验中得到证实,在未来的实体肿瘤临床试验中,OV 和 CAR-T 细胞组合疗法可能是更安全和更有效的治疗方法之一。

4 结语

溶瘤病毒联合其他药物针对多种肿瘤的临床研究正在进行,临床效果振奋人心,未来在肿瘤联合治疗领域将会有良好的应用前景。自 2005 年原国家食品药品监督管理总局批准第一个针对鼻咽癌的溶瘤病毒产品 H101,接着 2015 年 FDA 批准了针对转移性黑色素瘤的溶瘤病毒产品 T-VEC,随着溶瘤病毒产品的相继问世以及联合疗法巨大潜力的发掘,科学家对溶瘤病毒的研究逐步由单一疗法向联合疗法转变,在安全性和临床有效性方面都有很大提升,相信随着联合治疗应用方式的不断优化,治疗方案的不断完善,溶瘤病毒疗法将会成为肿瘤治疗领域的中坚力量,为更多的肿瘤患者带来福音[**致谢**:感谢上海市(复旦大学附属)公共卫生临床中心科学研究部艾滋病研究组组长、研究员徐建青博士在论文著作期间的指导和帮助]。

[参 考 文 献]

[1] KIRN D, THORNE SH. Targeted and armed oncolytic poxviruses: a novel multi-mechanistic therapeutic class for cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(1):64 - 71.

[2] GUEDAN S, ALEMANY R. CAR-T cells and oncolytic viruses: joining forces to overcome the solid tumor challenge[J]. *Front Immunol*, 2018, 23(9):2460.

[3] 施桂兰, 张叔人, 刘滨磊. 肿瘤微环境与炎症反应及溶瘤病毒治疗的关系[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2012, 19(1): 95 - 100.

[4] HEO J, REID T, RUO L, *et al*. Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer[J]. *Nat Med*, 2013, 19(3):329 - 336.

[5] CHEEMA TA, FECCI PE, NING J, *et al*. Immunovirotherapy for the treatment of glioblastoma[J]. *Oncoimmunology*, 2014, 3(1):e27218.

[6] BREITBACH JCJ, ARULANANDAM R, SILVA ND, *et al*. Oncolytic vaccinia virus disrupts tumor-associated vasculature in humans[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(4):1 - 75.

[7] BREITBACH CJ, DE SILVA N, FALLS T, *et al*. Targeting tumor vasculature with an oncolytic virus[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(5): 886 - 894.

[8] STANFORD MM, BELL JC, VAHAKOSKELA M, *et al*. Novel oncolytic viruses: riding high on the next wave? [J]. *Cytokine Growth FR*, 2010, 21(2):177 - 183.

[9] 陈莹, 刘滨磊. 溶瘤病毒抗肿瘤的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2019,28(21): 2612 - 2616.

[10] RIBAS A, DUMMER R, PUZANOV I, *et al*. Oncolytic virotherapy promotes intratumoral T cell infiltration and improves anti-PD-1 immunotherapy[J]. *Cell*, 2017, 170(6):1109 - 1119.

[11] 中国肿瘤临床与康复. 溶瘤病毒联合 PD-1 抑制剂免疫治疗可大幅提升癌症响应率[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2017, 24(11):1386.

[12] PUZANOV I, MILHEM MM, MINOR D, *et al*. Talimogene laherparepvec in combination with ipilimumab in previously untreated, unresectable stage ⅢB ~ Ⅳ melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(22):2619.

[13] LIU Z, RAVINDRANATHAN R, KALINSKI P, *et al*. Rational combination of oncolytic vaccinia virus and PD-L1 blockade works synergistically to enhance therapeutic efficacy[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:1 - 12.

[14] BOURGEOIS-DAIGNEAULT MC, ROY DG, AITKEN AS, *et al*. Neoadjuvant oncolytic virotherapy before surgery sensitizes triple-negative breast cancer to immune checkpoint therapy[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(422): DOI: 10. 1126/scitranslmed. aao1641.

[15] SAMSON A, SCOTT K, TAGGART D, *et al*. P07. 05 Intravenous delivery of oncolytic reovirus to brain tumours in patients to immunologically prime for sequential checkpoint blockade[J]. *Neuro-Oncology*, 2017, 19(Suppl 3):S53.

[16] 陈琴, 黄承浩, 夏宁邵. 溶瘤病毒联合小分子抑制剂应用于肿瘤治疗的研究进展[J]. 病毒学报, 2017, 33(5):774 - 779.

[17] ROULSTONE V, PEDERSEN M, KYULA J, *et al*. BRAF-and MEK-targeted small molecule inhibitors exert enhanced antimelanoma effects in combination with oncolytic reovirus through ER stress[J]. *Mol Ther*, 2015, 23(5):931 - 942.

[18] YOO SY, BADRINATH N, WOO HY, *et al*. Oncolytic virus-based immunotherapies for hepatocellular carcinoma[J]. *Mediat Inflamm*, 2017, 2017:5198798.

[19] LI YJ, LEI W, QIN Y, *et al*. Synergistic anti-tumor effects of oncolytic virus therapy combined with sorafenib on human hepatocellular carcinoma[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2017, 51(5):638 - 645.

[20] 姚玉亭, 钱关祥, 葛盛芳. 放疗联合溶瘤病毒治疗对肿瘤细胞的影响[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2011, 31(6): 848 - 851.

[21] MELL LK, BRUMUND KT, DANIELS GA, *et al*. Phase I trial of intravenous oncolytic vaccinia virus (GL-ONC$_1$) with cisplatin and radiotherapy in patients with locoregionally advanced head and neck carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(19): 5696 – 5702.

[22] WILKINSON MJ, SMITH HG, MCENTEE G, *et al*. Oncolytic vaccinia virus combined with radiotherapy induces apoptotic cell death in sarcoma cells by down-regulating the inhibitors of apoptosis[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49):81208 – 81222.

[23] PAN QW, ZHONG SY, LIU BS, *et al*. Enhanced sensitivity of hepatocellular carcinoma cells to chemotherapy with a Smac-armed oncolytic adenovirus[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28(12):1996 – 2004.

[24] NEMUNAITIS J, CUNNINGHAM C, TONG A, *et al*. Pilot trial of intravenous infusion of a replication-selective adenovirus (ONYX-015) in combination with chemotherapy or IL-2 treatment in refractory cancer patients[J]. *Cancer Gene Ther*, 2003, 10(5): 341 – 52.

[25] BERNSTEIN V, ELLARD SL, DENT SF, *et al*. A randomized phase II study of weekly paclitaxel with or without pelareorep in patients with metastatic breast cancer: final analysis of Canadian Cancer Trials Group IND. 213[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2018, 167(2):485 – 493.

[26] CHEN X, HAN J, CHU J, *et al*. A combinational therapy of EGFR-CAR NK cells and oncolytic *Herpes simplex* virus 1 for breast cancer brain metastases[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19):27764 – 27777.

[27] UHEREK C, TONN T, UHEREK B, *et al*. Retargeting of natural killer-cell cytolytic activity to ErbB2-expressing cancer cells results in efficient and selective tumor cell destruction[J]. *Blood*, 2002, 100(4):1265 – 1273.

[28] 张旻, 宫新江, 邵雪, 等. 结合案例介绍 ICH 溶瘤病毒非临床研究一般考虑[J]. 中国新药杂志, 2019,28(16): 1982 – 1986.

编辑:杨青/接受日期:2020 – 04 – 16