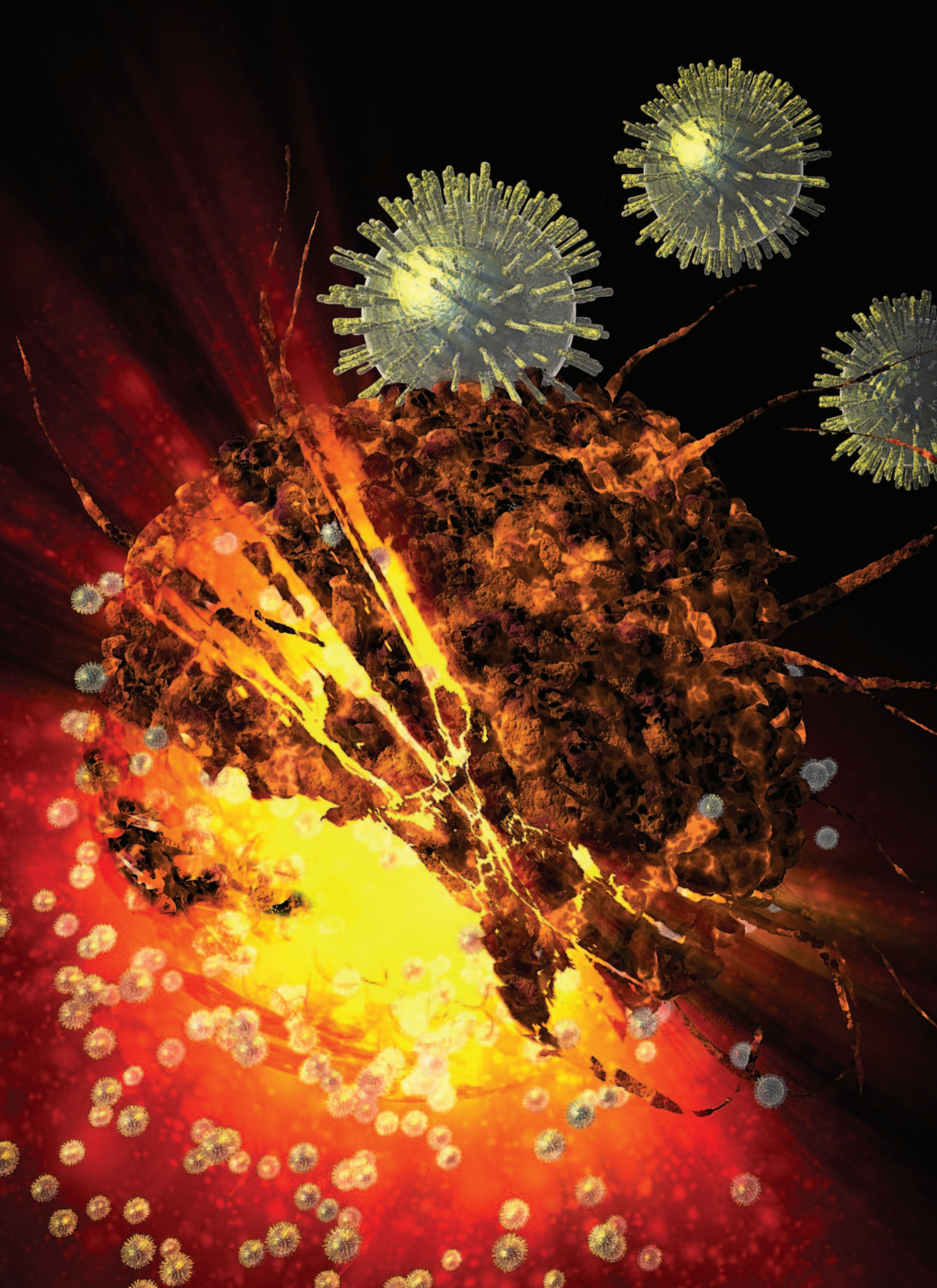


**Для некоторых
онкологических
больных вирусы,
наделенные
способностью
убивать раковые
клетки, оказались
чудодейственным
лекарственным
средством.
Теперь задача
вирусологов —
закрепить этот
успех**

**ВИРУСЫ
ПРОТИВ
РАКА**

**Гордон Лэрд, Дуглас Махони
и Дэвид Штойдль**



В 1904 г. с одной итальянской женщиной случились два опасных для жизни инцидента: у нее диагностировали рак шейки матки, а чуть позже ее укусила собака. Больной ввели обычную вакцину против бешенства, после чего ее «огромная опухоль» таинственным образом исчезла. Рак не давал о себе знать до 1912 г. Вскоре после этого удивительного случая аналогичную вакцину на основе ослабленного вируса бешенства ввели еще нескольким пациенткам с таким же диагнозом. По сообщениям итальянского врача Никола де Паче (Nicola De Pace), у некоторых из них опухоль уменьшилась в размерах — в основном потому, что вирус каким-то образом уничтожал раковые клетки. К сожалению, позже болезнь вернулась, и все пациентки в конце концов скончались.

Несмотря на печальный исход, сам факт существования вирусов, убивающих раковые клетки (сегодня их называют онколитическими), не прошел мимо внимания вирусологов. Были поставлены опыты на животных, давшие более или менее обнадеживающие результаты, проведены пробные клинические испытания — но еще долго эта область находилась на периферии интересов исследователей. На пути развития вирусной терапии стояло множество преград: неясность механизма действия вирусов, неопределенность в их использовании для достижения лечебного эффекта, отсутствие инструментов получения

ОБ АВТОРАХ

Гордон Лэрд (Gordon Laird) — писатель и журналист. Его статьи обсуждались в передачах CNN, BBC и NPR. Несколько раз был лауреатом премии *National Magazine*.



Дуглас Махони (Douglas J. Mahoney) — старший преподаватель факультета микробиологии, иммунологии и инфекционных заболеваний в Университете Калгари.



Дэвид Штойдль (David F. Stojdl) — доцент факультета биохимии, микробиологии и иммунологии Университета Оттавы, а также главный научный сотрудник Научно-исследовательского института при детской клинической больнице в Восточной Онтарио. Один из основателей компании, занимающейся исследованиями в области вирусной терапии, вошедшей недавно в состав фирмы *SillaJen*.



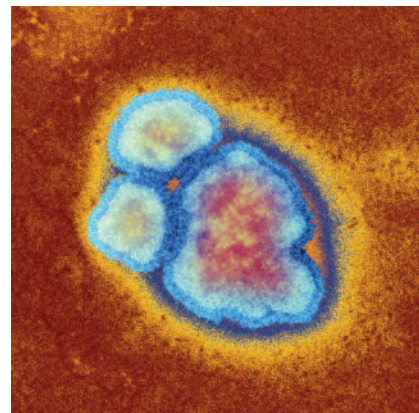
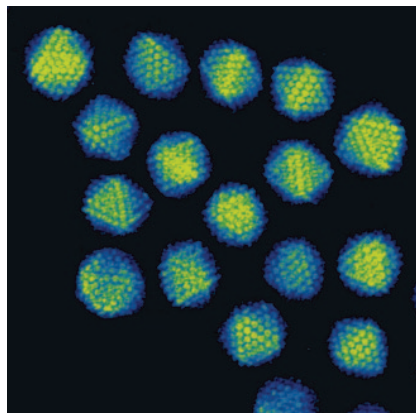
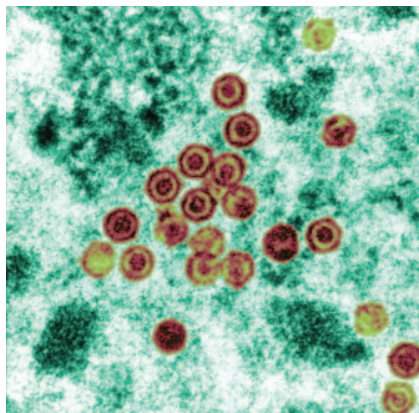
более эффективных штаммов и вполне понятное нежелание лечащих врачей инфицировать и без того больных людей. Они предпочитали использовать ядовитые вещества (имеется в виду химиотерапия), а не микроорганизмы — в основном потому, что это было рутинным делом и они более или менее представляли, как действуют химиопрепараты.

Сегодня картина выглядит по-другому. Начиная с 1990-х гг. становилось все более ясно, что представляют собой раковые клетки и вирусы, которые способны их уничтожить, а с появлением возможности манипулировать генами начали раскрываться детали воздействия вирусных частиц на раковые клетки. Теперь генетики могут создавать вирусы с повышенной агрессивностью в отношении раковых клеток и при этом дающие меньше нежелательных побочных эффектов.

Усилия ученых уже начали приносить плоды. В 2005 г. в Китае получил разрешение властей на применение онколитический вирус, активный в отношении опухолей головы и шеи. Более десятка вирусов, потенциально

! ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

- Некоторые генетически модифицированные вирусы инфицируют и уничтожают опухолевые клетки, не затрагивая клеток здоровых тканей.
- Проникнув вглубь опухоли, такие онколитические вирусы бурно размножаются, производя мириады клонов, инфицирующих все новые и новые клетки опухоли.
- Более десятка вирусов уже прошли испытания в клинике — сами по себе или в сочетании с традиционными химиотерапевтическими препаратами.
- Раньше перед проведением вирусной терапии больным вводили иммуносупрессанты, чтобы дать вирусу время проявить себя, прежде чем его уничтожит иммунная система. Сегодня сконструированы вирусы, которые помимо всего прочего стимулируют иммунную систему, и она начинает бороться с раком более активно.



Запрограммированные убийцы раковых клеток: вирус простого герпеса, аденовирус и вирус кори (слева направо) — три из примерно дюжины вирусов, которые в результате генетических манипуляций приобрели способность инфицировать и уничтожать исключительно раковые клетки, а в некоторых случаях усиливать иммунный ответ на них

способных атаковать различные опухоли, находятся на разных стадиях испытаний. Есть основания полагать, что в ближайшие несколько лет Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) США одобрит использование одного, а возможно и двух вирусов в качестве онколитических агентов.

Так, согласно данным, представленным в 2013 г. на ежегодной конференции Американского общества клинической онкологии, 11% испытуемых в обширной группе больных с меланомой, прошедших курс вирусной терапии, «полностью излечились» — раковые клетки у них не обнаруживались. Препарат, получивший название *T-VEC*, представлял собой генетически модифицированный вирус простого герпеса двойного действия: он не только разрушал клетки, но и синтезировал белок (*GM-CSF*), дополнительно стимулирующий иммунную систему к уничтожению раковых клеток. В отличие от химиотерапевтических препаратов с их мучительными побочными эффектами, вирус вызывал лишь симптомы, сходные с симптомами гриппа: слабость, озноб и повышение температуры. Компания *Amgen*, которая выпускает этот препарат, опубликовала данные о его эффективности в 2013 г. и весной 2014 г. Продолжительность жизни больных, принимавших *T-VEC*, была в среднем на четыре месяца больше, чем у получавших только *GM-CSF*.

Результаты не очень вдохновляют. Но следует учитывать, что один из десяти пациентов полностью излечивался. Частота излечения при приеме *T-VEC* во много раз превышает ту, которая характерна для всех недавно одобренных препаратов для борьбы с меланомой, в том числе и для вемурафениба, разрешенного к применению в 2011 г. после опубликования результатов испытаний в *New England Journal of Medicine*: в этом случае доля излечившихся была менее 1%.

Но самое удивительное заключалось в том, что примерно 90% тех, на кого подействовала вирусная терапия, жили более трех лет после лечения. Так, одна пациентка из Нью-Джерси — назовем ее Сью Болин — безуспешно лечилась от меланомы традиционными методами

и в конце концов попала в группу испытуемых, на которых проверялось действие *T-VEC*. Спустя три года после прохождения курса вирусной терапии у нее по-прежнему не обнаруживалось никаких признаков рака. «Я — одна из тех счастливиц, кому лекарство помогло. Это просто чудо!» — говорила она.

Теперь нужно добиться, чтобы таких счастливиц было не 11%, а гораздо больше. Некоторые из вирусов, применяемых в клинических испытаниях, действительно показывают лучшие результаты. Но мы продолжаем поиски способов повышения эффективности уже апробированных штаммов.

Программируемая биологическая машина

Вирусы обладают рядом свойств, которые обуславливают целесообразность их применения в качестве противоракового средства. Так, некоторые из них — сами по себе либо при внешнем воздействии — избирательно инфицируют раковые клетки или быстро реплицируются только в них. Здоровые клетки почти не затрагиваются, что очень важно для минимизации побочных эффектов, настоящего бича традиционной химио- и лучевой терапии.

Проникнув в раковую клетку, вирусы немедленно начинают свою разрушительную работу. Они используют клеточный аппарат копирования генетического материала и синтеза белков для собственных нужд. При благоприятных условиях раковая клетка оказывается переполненной вирусными частицами, лопается (лизирована), откуда и произошло слово «онколитический» и выбрасывает в межклеточное пространство целую армию «бойцов», поражающих другие клетки опухоли, иногда даже те, которые уже начали образовывать метастазы на значительном удалении от первичного очага опухолевого роста. В альтернативных случаях вирус действует более скрытно: он постепенно перепрограммирует раковую клетку так, что она вступает на путь саморазрушения (апоптоза). По существу, вирусы превращают раковые клетки в «фабрики» по производству все больших и больших количеств новых вирусных частиц.

КАК ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ ВИРУСЫ РАЗРУШАЮТ ОПУХОЛИ

Прицельно атаковать раковые клетки способны не все вирусы, а лишь особым образом генетически модифицированные. Созданы вирусы (вверху слева), которые к тому же усиливают реакцию иммунной системы на появление опухоли. Их можно вводить совместно с препаратами, блокирующими иммуносупрессорную активность опухолевых клеток, повышая тем самым эффективность терапии.

Онколитический вирус



Ген, кодирующий антиген

Генетики встраивают в вирусный геном гены, кодирующие опухолеспецифичные белки (антигены), вызывающие иммунный ответ. Инфицированная клетка многократно воспроизводит вирусный геном вместе с встроенным в него геном и продуцирует множество антигенов, усиливая иммунный ответ.

Кровеносный сосуд
Инфицированная опухолевая клетка
Реплицирующийся вирус
Лизис опухолевой клетки (темно-серый)

Прямое разрушение (лизис) раковых клеток

Проникнув в клетку, вирус использует ее аппарат для собственной репликации. Новообразованные вирусные частицы заполняют инфицированную клетку до предела, она лопается, частицы выходят наружу и инфицируют другие клетки. Альтернативный путь — переход клетки под влиянием вируса с нормального пути развития на путь саморазрушения (апоптоза).

Опухолевые клетки
Онколитический вирус

Адаптивный иммунный ответ

При разрушении инфицированной раковой клетки в окружающую среду выбрасываются антигены — в том числе и те, которые кодируются встроенными в вирусную частицу генами. Их распознают дендритные клетки, размещают на своей поверхности и «предъявляют» другим компонентам иммунной системы — Т-клеткам. Последние «запоминают» антигены и начинают охоту за другими раковыми клетками, несущими такие же антигены.

Сосудистый коллапс

Вирусы инфицируют также клетки выстилки (эндотелия) кровеносных сосудов опухоли. К месту инфекции устремляются нейтрофилы (разновидность лейкоцитов), запускающие процесс тромбообразования. В конце концов сосуд закупоривается и опухоль перестает получать питательные вещества.

Кровяной сгусток (тромб)

Нейтрофил
Инфицированная эндотелиальная клетка

Антиген
Сигнальные молекулы и цитокины

Апоптоз опухолевой клетки

Дендритная клетка

Активированная Т-клетка

Погибшая опухолевая клетка

Сосудистый коллапс

Врожденный иммунный ответ

Гибель инфицированных клеток сопровождается высвобождением иммуностимулирующих молекул — в том числе сигнальных, оповещающих иммунную систему об опасности, и цитокинов. Они побуждают к действию клетки-киллеры, изначально присутствующие в организме, и те разрушают другие опухолевые клетки, как инфицированные, так и не инфицированные.

Клетка-киллер

К метастазам

Лимфатический узел

Т-клетка

Дендритная клетка

Опухолевый антиген

Клетка-киллер

SOURCE: "TARGETED AND ARMED ONCOLYTIC POXVIRUSES: A NOVEL MULTI-MECHANISTIC THERAPEUTIC CLASS FOR CANCER," BY DAVID H. HIRN AND STEVEN H. THORBE, IN NATURE REVIEWS CANCER, VOL. 9, JANUARY 2009

Еще одно преимущество вирусной терапии заключается в ее многопрофильности. Многие противораковые препараты выводят из строя какой-то один элемент клеточного аппарата, и раковая клетка нередко находит способ компенсировать данный дефект. Кроме того, опухоль — это, по существу, клеточная экосистема, все компоненты которой произошли от одной пораженной клетки, но со временем претерпели генетические aberrации и другие изменения. Именно поэтому противоопухолевый препарат может быть активен в отношении одних клеток и не действовать на другие. Эту проблему решают, применяя комбинированную химиотерапию (как при лечении больных СПИДом). Вирусная терапия по своей природе сходна с комбинированной, поскольку вирус влияет на многие клеточные процессы и вероятность резистентности резко падает.

Помимо прямого разрушения раковых клеток вирус использует обходные пути воздействия на них, в частности вызывает сосудистый коллапс. В целом онколитические вирусы специфичны в отношении раковых клеток, но некоторые штаммы инфицируют и клетки выстилки кровеносных сосудов опухоли. Эта «вторичная» инфекция, в свою очередь, вызывает приток к месту поражения иммунных клеток, которые повреждают кровеносные сосуды и перекрывают ток крови, снабжающей опухоль питательными веществами. Еще один важный аспект вирусной терапии — быстрое привлечение клеток иммунной системы к месту первичной инфекции. Долгое время это считалось основной помехой на пути применения вирусной терапии: массивная атака на опухоль в принципе должна приводить к разрушению инфицированных клеток еще до того, как вирус успеет проникнуть вглубь опухоли. Поэтому на первых порах старались отсрочить иммунный ответ, с тем чтобы дать вирусу время на выполнение его задачи.

Позже выяснилось, что иногда иммунные клетки перепрограммируются и переходят на сторону опухоли, вместо того чтобы бороться с ней, что во многих случаях сводит на нет действие химиотерапии. Мы не знаем доподлинно, каким образом, когда и почему происходит переключение, но зато нам известно, что процесс инфицирования и разрушения раковых клеток сопровождается образованием клеточных обломков, которые инициируют выработку небольших иммуностимулирующих молекул — цитокинов, и активацией дендритных клеток. В норме эти клетки циркулируют по всему организму, отыскивая любые чужеродные агенты, и активируют Т-клетки, которые их уничтожают. В нашем случае чужеродными агентами служат обломки раковых клеток.

Помимо всего перечисленного у вирусной терапии есть еще одно достоинство: вирусы можно генетически модифицировать для того, чтобы ослабить их способность размножаться в нормальных клетках и повысить

скорость репликации в клетках опухоли. Можно придать им и другие свойства, такие, например, какими обладает T-VEC, дополнительно стимулирующий иммунную систему к борьбе с опухолью.

Супервирусы

Используя все эти сведения, биологи пытаются усовершенствовать вирусную терапию, модифицируя вирусы. Некоторые из полученных ими продуктов уже проходят клинические испытания, в их числе — видоизмененный вирус, способный связываться со специфическими рецепторами, которых у раковых клеток гораздо больше, чем у нормальных. С помощью рецепторов вирусные частицы проникают в клетки, и в результате вероятность инфицирования опухолевых клеток во много раз превышает таковую для их здоровых аналогов.

Альтернативный подход заключается в повышении скорости репликации вируса в раковых клетках. Поскольку последние непрерывно делятся, в них образуются в больших количествах вещества, необходимые

Многолетние исследования эффективности иммунотерапии показали, что опухоли выработали разнообразные системы защиты и, возможно, для того чтобы достичь успеха, нужно от них избавиться. Нет смысла «подстегивать» иммунитет, если опухоль подавляет иммунный ответ

для синтеза структур новых клеток. Эти вещества нужны и реплицирующимся вирусным частицам, отчего они предпочитают размножаться в клетках опухолей. С учетом этого были сконструированы вирусы, особенно нуждающиеся в веществах, которые в избытке присутствуют в раковых клетках. В частности, один из таких вирусов генетически модифицировали таким образом, что он не мог продуцировать тимидин, один из строительных белков ДНК, и вынужден был искать его источник «на стороне». Таким источником могла служить только раковая клетка, в нормальных клетках его недостаточно для удовлетворения потребностей вируса. Терапия с применением этого вируса уже проходит тестирование.

Группа, возглавляемая Джоном Беллом (John Bell) из Научно-исследовательского института при Клинической больнице Оттавы, совместно с Гленом Барбером (Glen Barber) и его сотрудниками из Университета Майами выявила еще одну причину, по которой вирусы

успешнее размножаются в раковых клетках: на пути к малигнизации клетки претерпевают генетические и другие изменения, в результате которых ослабляется их способность противостоять инфекции. Так, они перестают вырабатывать интерферон. Имея это в виду, Белл и Барбер сконструировали ряд вирусов (среди них — генетически видоизмененный вирус везикулярного стоматита, VSV), которые не могут размножаться нигде, кроме раковых клеток, лишившихся противовирусной защиты. Один из таких VSV проходит тестирование на больных, страдающих раком печени.

Что касается меня и моих коллег, то мы сосредоточились на поисках способа усиления иммунной реакции организма в ответ на малигнизацию. Испытания с использованием вируса T-VEC показали, что он инфицирует не все раковые клетки, образующие метастазы в удаленных от первичной опухоли частях тела. Но при этом 11% пациентов излечиваются полностью: нигде в их организме аномальных клеток не обнаруживается, скорее всего потому, что генетически модифицированный вирус стимулирует иммунную систему и она находит и разрушает клетки, до которых вирус добрался. Об этом свидетельствует и тот факт, что в местах, где появились метастазы, присутствуют активированные T-клетки.

В рамках той же иммуностимулирующей стратегии наши коллеги из Университета Макмастера в Онтарио и Клиники Мэйо в Рочестере, штат Миннесота, совместно с одним из нас (Дэвидом Штойдлем) встроили в онколитические вирусы гены, кодирующие специфические белки (антигены), на которые реагирует иммунная система. В качестве примера можно привести меланомо-специфичный антиген (*MAGE*). Как показали опыты на животных, данные антигены размещаются на поверхности инфицированных раковых клеток, компоненты иммунной системы распознают их и уничтожают клетки. В это время онколитический вирус тоже разрушает опухолевые клетки и изменяет микроокружение опухоли так, что в результате усиливается иммунный ответ. Ожидается, что уже в начале этого года начнутся клинические испытания нового подхода.

Идея «подстегнуть» иммунную систему представляется весьма привлекательной. Но многолетние исследования эффективности иммунотерапии показали, что опухоли выработали разнообразные системы защиты и, возможно, для того чтобы достичь успеха, нужно от них избавиться. Нет смысла «подстегивать» иммунитет, если опухоль подавляет иммунный ответ.

Один из нас (Дуглас Махони) вместе с коллегами из Университета Калгари работают сейчас над тем, чтобы вывести из строя клетки-иммуносупрессанты, которые «орудуют» в недрах опухоли параллельно с онколитическими вирусами. Если это удастся сделать, иммунная система, получив дополнительный стимул от онколитического вируса, сможет бороться с раком более эффективно. В данной работе большим подспорьем для нас стали успехи, достигнутые в ходе многолетних исследований иммунологов, которые апробировали

множество способов подавить иммуносупрессию. Один из таких способов, представляющийся наиболее перспективным, основан на использовании моноклональных антител, которые связываются со специфическими молекулами, называемыми *PD-1*. С большой вероятностью подобные комбинированные стратегии значительно повысят частоту излечения раковых больных.

Следует помнить, однако, о рисках, связанных с применением комбинированной терапии. Несмотря на то что вирусная терапия сама по себе показала свою безопасность (в ходе клинических испытаний отмечалось очень небольшое число случаев, когда возникали серьезные побочные эффекты), нет полной уверенности, что вирус поведет себя так же при одновременно проводимой иммунотерапии или при повышении титра. «До сих пор онколитическая вирусная терапия не вызывала опасений, — говорит наш коллега Стивен Расселл (Stephen Russell), профессор медицины из Клиники Мэйо. — Но с повышением ее потенциала и расширением сферы применения — особенно на фоне манипуляций с иммунной системой организма-хозяина — увеличивается риск побочных эффектов, и мы должны это учитывать».

Вирусная противораковая терапия не могла бы появиться на свет без использования достижений в различных областях биологии и медицины — молекулярной генетики, биологии рака, иммунологии опухолей, иммунотерапии, вирусологии и генной терапии. Многолетние исследования в этих направлениях дали ученым набор инструментов и информацию, которые необходимы для понимания взаимодействий между вирусами и организмом человека. То, что онколитическая вирусная терапия работает, не вызывает сомнений. Вопрос в том, как сделать ее более эффективной и осуществить тем самым мечту Николы де Паче, который еще 100 с лишним лет назад сообщил о таинственном уменьшении размеров опухоли после введения вакцины на основе вируса. ■

Перевод: Н.Н. Шафрановская

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ

- Волчок Д. Щит на пути рака // ВМН, № 7–8, 2014.
- Novel Oncolytic Viruses: Riding High on the Next Wave? Marianne M. Stanford et al. in Cytokine & Growth Factor Reviews, Vol. 21, Nos. 2–3, pages 177–183; April–June 2010.
- Thunder and Lightning: Immunotherapy and Oncolytic Viruses Collide. Alan Melcher et al. in Molecular Therapy, Vol. 19, No. 6, pages 1008–1016; June 2011.
- The Emerging Role of Viruses in the Treatment of Solid Tumours. M.G. Bourke et al. in Cancer Treatment Reviews, Vol. 37, No. 8, pages 618–632; December 2011.
- Virotherapy — Cancer Targeted Pharmacology. Alison Tedcastle et al. in Drug Discovery Today, Vol. 17, Nos. 5–6, pages 215–220; March 2012.
- Подробнее о последних достижениях в онкологии см. по адресу: ScientificAmerican.com/nov2014/cancer