

Mała skuteczność metod konwencjonalnych w leczeniu chorób nowotworowych stała się jedną z przyczyn poszukiwania alternatywnych sposobów terapii. Intensywne badania w dziedzinie genetyki, biologii nowotworów i biotechnologii umożliwiły m.in. lepsze zrozumienie mechanizmów kontrolujących cykl komórkowy i zidentyfikowanie czynników zaangażowanych w proces kancerogenezy. Z kolei poznanie natury wirusów i mechanizmów infekcji wirusowej stworzyło podstawę do rozwoju nowych metod terapii przeciwnowotworowej z zastosowaniem wirusów. O wykorzystaniu wirusów jako czynników przeciwnowotworowych zdecydował m.in. naturalny tropizm wirusów do komórek określonych tkanek i narządów oraz możliwość wprowadzania do ich genomów pożądanых modyfikacji genetycznych. Warunkiem bezpiecznej terapii wirusowej jest zastosowanie wirusów o wysokiej specyficzności względem strukturalnie i funkcjonalnie zmienionych komórek nowotworowych oraz wzmocnienie ich tropizmu na drodze modyfikacji genetycznych. Ważną jest także taka modyfikacja wirusa, która po przedostaniu się jego do komórki docelowej doprowadzi do jej lizy. Wektory wirusowe mogą stanowić nośnik dla czynników (np. białek i proleków) odpowiedzialnych za śmierć komórki, indukować specyficzną odporność przeciwnowotworową i zwiększać wrażliwość komórek rakowych na chemioterapeutyki. Wektory takie tworzy się głównie na podstawie adenowirusów, wirusów opryszczki, rabdowirusów i reowirusów.

Słowa kluczowe: terapia wirusowa, nowotwór.

Wirusowa terapia przeciwnowotworowa

Viral anti-cancer therapy

Paulina Błażejewska, Anna Goździcka-Józefiak

Zakład Wirusologii Molekularnej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań

Wprowadzenie

Mała skuteczność metod konwencjonalnych w leczeniu chorób nowotworowych stała się jedną z przyczyn poszukiwania alternatywnych sposobów terapii. Intensywne badania w dziedzinie genetyki, biologii nowotworów i biotechnologii umożliwiły m.in. lepsze zrozumienie mechanizmów kontrolujących cykl komórkowy i zidentyfikowanie czynników zaangażowanych w proces kancerogenezy. Z kolei poznanie natury wirusów i mechanizmów zakażeń wirusowych stworzyło podstawę do rozwoju nowych metod terapii przeciwwirusowej z zastosowaniem wirusów, tzw. wirusoterapii.

Efektywna terapia przeciwnowotworowa polega na selektywnym dostarczeniu leku i zabijaniu komórek nowotworowych, nie uszkadzając komórek zdrowych. Doskonałym czynnikiem mogą być w tym przypadku wirusy, które niszczą określone komórki bezpośrednio w wyniku intensywnego namnażania się lub mogą służyć jako wektory do dostarczania do nich odpowiednich chemioterapeutyków. Wektory wirusowe próbuje się stosować, np. jako nośniki dla czynników (białek, proleków) odpowiedzialnych za śmierć komórki, czy zwiększających wrażliwość komórek rakowych na chemioterapię i radioterapię [1–3].

Relacja wirus–gospodarz jest bardzo specyficzna. Określone typy komórek mają zazwyczaj receptory jednego rodzaju wykorzystywane przez wirusy z danej rodziny. Innym aspektem stosowania wirusów w terapii przeciwnowotworowej jest zakres ich działania. Używanie wektorów wirusowych niereplikujących się ogranicza zasięg działania terapii. Obiecującą perspektywą dla wirusoterapii są wektory wirusowe zdolne do replikacji w komórce docelowej, co umożliwiłoby przenoszenie efektu terapeutycznego na sąsiednie komórki nowotworowe. Idealny wektor wirusowy powinien posiadać wszystkie wyżej wymienione cechy oraz zapewniać wydajną i bezpieczną walkę z nowotworem. Do tworzenia takich wektorów próbuje się wykorzystać adenowirusy, wirusy opryszczki, rabdowirusy i reowirusy [1, 4–7].

Zastosowanie wirusów w terapii przeciwnowotworowej

Adenowirusy

Poznanie budowy genomu adenowirusów i możliwość dokonywania w nich modyfikacji genetycznych sprawiły, że stały się one atrakcyjnymi kandydatami do konstrukcji wektorów wirusowych. Genom tych wirusów stanowi liniowy dsDNA, zawierający ok. 38 tys. par zasad (tpz). Adenowirusy infekują komórki zarówno dzielące się, jak i nie dzielące, głównie w obrębie układu oddechowego, pokarmowego i narządu wzroku. Wykorzystując własności strukturalne i funkcjonalne genów wirusowych oraz różnice pomiędzy komórkami prawidłowymi i nowotworowymi, opracowano kilka rodzajów strategii, które umożliwiły zastosowanie adenowirusów w terapii przeciwnowotworowej [2, 8].

Replikacja adenowirusów zachodzi w komórce jedynie wówczas, kiedy ekspresji ulegnie gen adenowirusowy E1B-55 kDa, którego produkt wiąże się oraz inaktywuje białko komórkowe p53. Białko wirusowe E1A inaktywuje natomiast komórkowe białko pRB, uwalniając występujący z nim czynnik transkrypcyjny E2F, co powoduje wprowadzenie komórki w fazę S cyklu komórko-

Poor effectiveness of the conventional methods in treating cancer diseases has become one of the causes of searching for alternative ways of therapy. Extensive genetic, biological and biotechnological research has made it possible to understand better the mechanisms which control the cell cycle and identification of the factors involved in cancerogenesis. What is more, understanding the viral nature and viral infection mechanisms has created a scientific basis to develop new methods of the anticancer therapy by means of using viruses. Thanks to natural tropism of viruses to specific tissues and organ cells and the possibility of inserting a desirable genetic modification to the viral genome we can use viruses as anticancer factors. Virotherapy is safe if highly specified viruses in respect to structurally and functionally alternated cancer cells are applied and if they are strengthened by means of genetic modifications. It is crucial to modify the virus in such a way so that it could evoke lytic of a cell after having reached it. Viral vectors may be carriers for factors (for example proteins and prodrugs) involved in cell death, and they may induce a specific anticancer resistance and increase cancer cells sensitivity to chemotherapeutics.

Vectors are created mainly on the basis of adenoviruses, herpes viruses, rabdoviruses and reoviruses.

Key words: viral therapy, cancer.

wego. Takie działanie białek E1B-55 kDa i E1A zapewnia maksymalną wydajność wirusowej replikacji w komórce. Zakażenia adenowirusami z wadliwym genem E1B-55 kDa indukują wzrost poziomu p53 i doprowadzają do apoptozy komórki. Co najmniej 50 proc. ludzkich nowotworów ma zmutowaną i niefunkcjonalną formę białka p53. Wyżej wymienione właściwości adenowirusów i komórek nowotworowych wykorzystano do konstrukcji wektora ONYX-015. W tym wypadku z genomu wirusowego, stosując techniki inżynierii genetycznej, usunięto gen kodujący białko E1B. Zmodyfikowany wirus-wektor ONYX-015 nie jest zdolny do powielania się w komórkach prawidłowych z aktywnym p53, natomiast powiela się w komórkach z niefunkcjonalnym białkiem p53. Jego intensywne namnażanie się prowadzi do lizy komórki nowotworowej, a uwolnione potomne cząstki wirusowe zakażają sąsiednie komórki nowotworowe, prowadząc do ich zniszczenia. Wyniki ostatnich badań wskazują, że w temp. 39,5°C następuje zahamowanie ekspresji adenowirusowego genu E1A w komórkach niestransformowanych, natomiast nie obserwuje się tego w komórkach nowotworowych. Fakt ten może stać się kolejnym czynnikiem ograniczającym replikację zrekombinowanego wirusa do komórek nowotworowych. W celu sprawdzenia efektywności ONYX-015 wykonano wiele prób klinicznych, m.in. zastosowano go w leczeniu raka okrężnicy, szyjki macicy, jajnika, wątroby, trzustki, szyi i głowy. Podjęto także próby ustalenia optymalnej dawki wektora ONYX-015, którą można stosować do leczenia złośliwych nowotworów mózgu. Wektor ONYX-015 znajduje się obecnie w III fazie prób klinicznych na pacjentach z nowotworami głowy i szyi [2, 8–13].

Wykorzystanie wektora ONYX-015 zostało jednak ograniczone do terapii nowotworów ze zmutowanym białkiem p53. U większości komórek nowotworowych mutacje zachodzą zarówno w genie kodującym to białko, jak i w pRB. Dlatego skonstruowano wektor **AxdAdB-3**, w którym mutacje wprowadzono do genomu wirusa w regionie kodującym CR2 E1A i do genu E1B-55kDa. Wektor ten dawał pozytywne wyniki w leczeniu raka pęcherzyka żółciowego i nowotworów trzustki, które mają zmutowane białka p53 i pRB oraz jest mniej toksyczny niż ONYX-015 względem komórek prawidłowych [14, 15].

Do konstrukcji wektorów wirusowych wykorzystuje się także odpowiednie promotory, kontrolujące ekspresję wczesnych genów wirusowych i wykazujące zwiększoną aktywność transkrypcyjną w komórkach nowotworowych. Strategię tę zastosowano do konstrukcji **Ar6pAE2ff** i **Ar6pAE2fe3F**. Zdolność tych wektorów do replikacji w komórkach nowotworowych otrzymano przez zastąpienie wirusowego promotora E1A sekwencją 270 pz ludzkiego promotora E2F-1. Fragment promotora E2F-1, z zachowanym miejscem wiązania E2F, ogranicza ekspresję E1A do komórek nowotworowych z wadliwym szlakiem pRB. Komórki nowotworowe z niefunkcjonalnym pRB mają wyższą aktywność transkrypcyjną E2F-1 niż komórki prawidłowe. W **Ar6pAE2ff**, w odróżnieniu od **Ar6pAE2fe3F**, brakuje regionu kodującego białko E3. Obydwa wektory, w porównaniu z ONYX-015, mają większą aktywność przeciwnowotworową i mniejszą hepatotoksyczność [16].

Stosując modyfikacje genetyczne adenowirusów, otrzymano także wektory **CV787** i **TRAD**. Podczas konstrukcji wektora CV787 zastąpiono wirusowy promotor E1B promotorem specyficznego antygenu prostaty PSA (ang. *prostate-specific antigen promoter*) i równocześnie wstawiono promotor PSRP (ang. *prostate-specific rat probasin promoter*) w miejsce wirusowego promotora E1A. Obydwa promotory wykazują zwiększoną aktywność transkrypcyjną w komórkach raka prostaty. Obecnie wektor CV787 znajduje się w I/II fazie prób klinicznych na pacjentach z nowotworami prostaty [2, 3, 17]. Badania wykazały, że terapia przeciwnowotworowa jest bardziej efektywna, kiedy CV787 stosuje się łącznie z takimi chemioterapeutykami, jak paklitaksel i docetaksel [18]. Wektor TRAD otrzymano natomiast, wprowadzając promotor odwrotnej transkryptazy ludzkiej telomerazy (hTERT) w miejsce wirusowych promotorów E1A i E1B. Ponad 85 proc. ludzkich nowotworów wykazuje aktywność telomerazy. Badania wskazują, że zdolne do replikacji wektory adenowirusowe, zawierające promotor odwrotnej transkryptazy ludzkiej telomerazy

(hTERT), kierujący ekspresją genów E1, mogą być zastosowane w terapii nowotworów ludzkich różnych typów [7].

Aktywność przeciwnowotworowa wspomnianych dotychczas wektorów adenowirusowych wynika z ich zdolności do intensywnej replikacji, doprowadzającej do lizy komórek nowotworowych. W celu osiągnięcia bardziej wydajnego efektu terapeutycznego opracowano metodę, w której zastosowano 2 zrekombinowane wektory wirusowe, przenoszące czynnik terapeutyczny. Jeden z nich jest nosicielem proleku, który po wprowadzeniu do komórki nowotworowej ulega przekształceniu w czynnik cytotoksyczny. Wektor z prolekiem nie jest zdolny do replikacji, dlatego musi współistnieć z drugim wektorem, tzn. *pomocnikiem*, pomagającym w replikacji obu wektorów w komórkach nowotworowych. Jedną z takich par wektorów zastosowanych w terapii przeciwnowotworowej jest niezdolny do replikacji wektor Adeno-P450, w kombinacji z wektorem pomocnikiem ONYX-017. Wektor **Adeno-P450** jest nosicielem proleku cyklofosfamidu – CPA (ang. *cyclophosphamide*) oraz genów P450 (CYP2B6) i P450R, których ekspresja w komórkach nowotworowych prowadzi do konwersji CPA w cytotoksyczny produkt. Wektor pomocniczy ONYX-017 umożliwia replikację i rozprzestrzenianie się Adeno-P450 do komórek nowotworowych z niefunkcyjnym p53. Terapia korzystająca z dwóch wektorów charakteryzuje się wyższą aktywnością przeciwnowotworową. Jej trudność polega na skoordynowaniu pracy dwóch wektorów w komórce docelowej [19].

Duże możliwości modyfikacji genetycznych adenowirusów pozwalają na stworzenie wektorów zarówno o wąskim zakresie działania, posiadających specyficzny narządowo promotor, jak i wektorów o szerszym zakresie aktywności przeciwnowotworowej, dostarczających proleki [19].

Wirusy herpes (HSV – herpes simplex viruses)

Genom wirusów HSV stanowi liniowy dsDNA, zawierający ok. 152 tpz. Ich genom jest znacznie większy od genomu adenowirusów (ok. 38 tpz). Zbadano, że blisko 30 tpz genomu HSV-1 może być zastąpionych przez różnorodne transgeny i promotory, które mają zastosowanie w terapii. Zdolność wirusów HSV do produkcji białek warunkujących ich namnażanie się w neuronach stała się tematem licznych badań, m.in. nad możliwością zastosowania HSV-1 w terapii nowotworów mózgu. Konstrukcja wektorów herpeswirusowych ukierunkowana jest na inaktywację genów, których produkty pozwalają na wydajną replikację HSV w komórkach prawidłowych. Delecja genów kodujących białka, jak reduktaza rybonukleotydów, czynnik wirulencji $\gamma_134.5$ i kinaza tymidynowa, ogranicza replikację zmutowanego wirusa do komórek nowotworowych. Dodatkową cechą zwiększającą aktywność przeciwnowotworową konstruowanych wektorów, na bazie wirusa HSV, jest ich zdolność do tworzenia połączeń międzykomórkowych. Uformowanie syncytium jest możliwe tylko w dzielących się komórkach, w których wektor może się wydajnie replikować [2, 6]. Przykłady konstrukcji takich wektorów HSV-1 zostały zamieszczone poniżej.

Obiecujący potencjał przeciwnowotworowy wykazuje m.in. zrekombinowany HSV-wektor G207. Ma on delecję w obydwu kopiach genu $\gamma 34.5$, natomiast zawiera gen kodujący *lac Z E. coli* i gen *UL39*, kodujący dużą podjednostkę reduktazy rybonukleotydów ICP6. Taka zmiana osłabia neurowirulen-

cję i zapewnia wydajną replikację zmodyfikowanego wirusa tylko w komórkach nowotworowych, które w odróżnieniu od komórek dzielących się, mają wysoki poziom reduktazy rybonukleotydów. G207 jest także nadwrażliwy na acyklowir i gancyklowir. Wektor ten znajduje się w II fazie prób klinicznych na pacjentach z nowotworami mózgu. Prowadzi się także badania przedkliniczne nad zastosowaniem G207 w leczeniu raka odbytnicy, jajnika i prostaty. Liczne testy wskazują również na możliwość wykorzystania G207, w połączeniu z radioterapią, do leczenia raka głowy i szyi [2, 6, 20, 21].

Innym wektorem herpeswirusowym o wysokim potencjale przeciwnowotworowym jest **Synco-2D**. Mechanizm jego działania opiera się na połączeniu efektu onkolitycznego z formowaniem syncytium. Zdolność wektora Synco-2D do fuzji błon komórkowych umożliwia wywołanie odporności przeciwnowotworowej. Możliwości tej nie mają natomiast konwencjonalne wirusy onkolityczne. Aktywność fuzogenną wektora Synco-2D otrzymano poprzez wprowadzenie do onkolitycznych wektorów fuzogennej glikoproteiny błonowej, pochodzącej z małego wirusa białaczki (GALVfus). Na podstawie przeprowadzonych badań uznano wektor Synco-2D za efektywny czynnik terapeutyczny dla nowotworów prostaty [22–24].

Wektory herpeswirusowe, podobnie jak adenowirusowe, mogą być także nosicielami proleków. Przykładem takiego wektora jest **rRp450**, w który wprowadzono dużą delecję genu *UL39* oraz insercję transgeny szczurzego *CYP2B1*. Wektor ten jest nosicielem proleku CPA (cyklofosfamid). Enzym kodowany przez gen *CYP2B1* umożliwia aktywację proleku CPA, natomiast delecja genu *UL39* zapewnia zdolność replikacji rRp450 w komórkach nowotworowych. W odróżnieniu od wektorów adenowirusowych, wektory herpeswirusowe mają endogenny gen *HSV-TK*, kodujący enzym odpowiedzialny za aktywację proleku GCV (gancyklowir). Synergizm tych dwóch proleków zapewnia lepszy efekt terapeutyczny. Onkolityczną aktywność wektora rRp450 zaobserwowano w komórkach raka okrężnicy [3, 25–27].

Wirusy *herpes* są obiecującymi kandydatami do terapii przeciwnowotworowej. Atrakcyjność ta wynika m.in. z dużej pojemności genetycznej ich genomu oraz możliwości wprowadzenia modyfikacji, doprowadzających do stworzenia wydajnego wektora onkolitycznego.

Rabdowirusy

Wrodzona wrażliwość wirusów VSV (ang. *vesicular stomatitis virus*) na interferon (IFN) stała się podstawą badań nad możliwością zastosowania tych wirusów w terapii przeciwnowotworowej. VSV są (-)ssRNA wirusami (należą do rabdowirusów), zawierającymi 5 genów. Ich otoczka glikoproteinowa wykazuje tropizm do komórek wielu typów. Replikacja wirusów VSV jest zahamowana w komórkach prawidłowych z funkcjonalnym IFN. Komórki nowotworowe z zaburzoną aktywnością antywirusową IFN umożliwiają wirusowi efektywne namnażanie się, prowadzące do lizy tych komórek. Zdolność VSV do ujawnienia potencjalnej aktywności onkolitycznej w komórkach nowotworowych z aberracjami chromosomowymi i zaburzeniami w szlakach sygnalizacyjnych z udziałem białek c-RAS, c-MYC i p53, które występują w 90 proc. nowotworów, stwarza szerokie możliwości zastosowania tych wirusów w leczeniu nowotworów wielu typów.

Poniżej przedstawiono niektóre dotychczas proponowane możliwości modyfikacji VSV, które mają na celu uzyskanie zrekombinowanych wirusów o dużej efektywności w walce z rakiem [28–32].

W celu osiągnięcia większej wydajności przeciwnowotworowej, do genomu wirusa VSV wprowadzono gen kinazy tymidynowej wirusów *herpes* (VSV-TK) lub interleukiny 4 (VSV-IL-4). Kinaza tymidynowa aktywuje poprzez fosforylację, nie toksyczny produkt gancyklowir (GCV), który następnie włącza się w komórkowy DNA podczas replikacji, doprowadzając do jej terminacji i w efekcie śmierci komórki. Tak zmodyfikowane wirusy mają zwiększoną aktywność onkolityczną przez rozprzestrzenianie się litycznego efektu na sąsiednie komórki nowotworowe oraz generowanie specyficznej odporności przeciwnowotworowej CTL. IL-4 wpływa natomiast na wzrost komórek efektorowych, jak eozynofile i komórek prezentujących antygen (APC). Działa także na limfocyty pomocnicze, regulując ich różnicowanie w kierunku komórek Th2 i uczestniczy w stymulacji odporności humoralnej. Potencjał onkolityczny zrekombinowanych VSV, zawierających IL-4, jest większy niż niemodyfikowanych VSV. Prawdopodobnie jest to spowodowane pojawieniem się eozynofili i neutrofilii, które wykazują aktywność przeciwnowotworową [29, 31].

Innymi modyfikacjami dokonywanymi na wirusie VSV, w celu polepszenia jego efektywności przeciwnowotworowej, jest wprowadzenie do jego genomu, na drodze inżynierii genetycznej genu *INF-β*. Tak zrekombinowany wirus sukcesywnie namnaża się w komórkach nowotworowych bez receptora dla *INF-β*, doprowadzając do lizy komórek nowotworowych. Dodatkowo, VSV-*INF-β* ma pewnego rodzaju *zawór bezpieczeństwa*, ponieważ prawdopodobnie może aktywować szlak *INF* w komórkach prawidłowych, otaczających guz nowotworowy, chroniąc tym samym przed rozprzestrzenieniem się VSV na komórki zdrowych tkanek. Przypuszczalnie może także podnosić przeciwnowotworową reakcję odpornościową, poprzez stymulację NK i limfocytów T cytotoksycznych oraz aktywację komórek dendrytycznych (DC) [31, 33].

W celu otrzymania wirusów VSV, zdolnych do indukcji ekspresji interferonu w komórkach prawidłowych, wprowadza się taką mutację punktową, która doprowadzi do substitucji Arg przez Met w 51 pozycji 229-AA wirusowego białka M (rM51R-M). Wirusy ze zmodyfikowanym białkiem tracą zdolność do hamowania syntezy RNA i białek gospodarza, natomiast indukują syntezę interferonu w komórkach prawidłowych. Przypuszcza się, że w natywnej formie białko M wirusa VSV zapobiega transportowi mRNA *IFN-β* do cytoplazmy. Prawdopodobnie przyczyną tej blokady jest tworzenie kompleksu białka M z białkami porów jądrowych. Wirusy VSV z mutacją w białku M tracą zdolność do hamowania produkcji *IFN-β*, dlatego w prawidłowych komórkach aktywują odporność przeciwwirusową, zapobiegając tym samym rozprzestrzenianiu się wirusa do komórek zdrowych tkanek. W komórkach nowotworowych z zaburzeniami w odporności przeciwwirusowej wirus rM51R-M wykazuje natomiast aktywność cytolityczną [30, 32, 34, 35].

Naturalny tropizm wirusa VSV do komórek z nieprawidłowym systemem *INF* zdecydował o większości dokonywanych na nim manipulacji. Obecne modyfikacje opierają się głównie na wprowadzaniu do genomu wirusa genów samobójczych oraz immunomodulatorów, które zwiększają aktywność onkolityczną wirusa VSV.

Reowirusy

Ludzkie reowirusy są nieostoniętymi dsRNA wirusami, infekującymi głównie drogi oddechowe i żołądkowo-jelitowe. Infekcja ma zwykle charakter łagodny lub bezobjawowy. Liczne badania sygnalizują możliwość wykorzystania reowirusów w terapii przeciwnowotworowej. Infekują one komórki z nadaktywnym szlakiem sygnalizacyjnym, w którym pośredniczy białko c-RAS. Replikację reowirusów w komórkach prawidłowych hamuje kinaza białkowa, aktywowana przez dsRNA (PKR). Aktywność PKR jest osłabiona w komórkach z nadaktywnym szlakiem c-RAS, dzięki czemu wirus może przejść pełen cykl lityczny. Ponieważ w ponad 30 proc. ludzkich nowotworów mutacje zachodzą w genie *c-RAS*, specyficzne właściwości reowirusów do tego typu komórek stały się podstawą dalszych testów na tej grupie wirusów, jako potencjalnych czynników onkolitycznych.

Prowadzone obecnie badania zmierzają do poznania innych czynników, które umożliwią wydajną infekcję reowirusową. Opublikowane dane donoszą, że reowirusy, oprócz szlaku sygnalizacyjnego c-RAS, potrzebują do przeprowadzenia efektywnej replikacji także aktywności RalGEF i p38. Ponieważ aktywność szlaków RalGEF i p38, podobnie jak szlaku c-RAS, zaobserwowano w wielu ludzkich nowotworach, sądzi się, że reowirusy są atrakcyjnym kandydatem do badań w terapii przeciwnowotworowej. Proponuje się ich zastosowanie m.in. w terapii *medulloblastomy* (MB), raka trzustki, jelita grubego, płuc, jajnika i piersi [2, 5, 36–43].

Zbadane dotychczas właściwości reowirusów umożliwiają szerokie ich zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej. Do pełnego zrozumienia złożoności czynników, pozwalających na ujawnienie się onkolitycznych cech reowirusów, niezbędne są jednak dalsze badania.

Uwagi końcowe

Celem terapii wirusowej jest selektywne zakażenie i niszczenie przez wirusy chorych komórek. Podejmowane są również próby takiej modyfikacji wirusów, aby zawierały odpowiednie znaczniki, np. fluorescencyjne, co pozwoliłoby przy ich pomocy śledzić drogi przerzutu komórek nowotworowych w organizmie. Stosowanie wirusów w terapii budzi jednak obawy przed wystąpieniem specyficznej reakcji odpornościowej. Modyfikacje wirusów idą więc także w kierunku zapobiegania lub osłabiania reakcji niepożądanych, jak również próbuje się podawać równocześnie leki immunosupresyjne.

Piśmiennictwo

1. Jin-Hui W, Xin-Yuan L. Targeting Strategies in Cancer Gene Therapy. *Acta Biochim Biophys Sin* 2003; 35 (9): 311-6.
2. Mullen JT, Tanabe KK. Viral oncolysis. *Oncologist* 2002; 7 (2): 106-19.
3. Ring CJ. Cytolytic viruses as potential anti-cancer agents. *J Gen Virol* 2002; 83: 491-502.
4. Balachandran S, Porosnicu M, Barber GN. Oncolytic activity of vesicular stomatitis virus is effective against tumors exhibiting aberrant p53, Ras, or myc function and involves the induction of apoptosis. *J Virol* 2001; 75 (7): 3474-9.
5. Etoh T, Himeno Y, Matsumoto T, et al. Oncolytic viral therapy for human pancreatic cancer cells by reovirus. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1218-23.

6. Fu X, Zhang X. Potent systemic antitumor activity from an oncolytic herpes simplex virus of syncytial phenotype. *Cancer Res* 2002; 62: 2306-12.
7. Kawashima T, Kagawa S, Kobayashi N, et al. Telomerase-specific replication-selective virotherapy for human cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 285-92.
8. Tatsis N, Ertl HCJ. Adenoviruses as vaccine vectors. *Mol Ther* 2004; 10 (4): 616-29.
9. Doronin K, Kuppaswamy M, Toth K, et al. Tissue-specific, tumor-selective, replication-competent adenovirus vector for cancer gene therapy. *J Virol* 2001; 75 (7): 3314-24.
10. Edwards SJ, Dix BR, Myers CJ, et al. Evidence that replication of the antitumor adenovirus ONYX-015 is not controlled by the p53 and p14 (ARF) tumor suppressor genes. *J Virol* 2002; 76 (24): 12483-90.
11. Galanis E, Okuno SH, Nascimento AG, et al. Phase I-II trial of ONYX-015 in combination with MAP chemotherapy in patients with advanced sarcomas. *Gene Ther* 2005; 12 (5): 437-45.
12. Hann B, Balmain A. Replication of an E1B 55-kilodalton protein-deficient adenovirus (ONYX-015) is restored by gain-of-function rather than loss-of-function p53 mutants. *J Virol* 2003; 77 (21): 11588-95.
13. Hsieh JL, Wu CL, Lee CH, Shiau AL. Hepatitis B virus X protein sensitizes hepatocellular carcinoma cells to cytotoxicity induced by E1B-deleted adenovirus through the disruption of p53 function. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 338-45.
14. Fukuda K, Abei M, Ugai H, et al. E1A, E1B double-restricted adenovirus for oncolytic gene therapy of gallbladder cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 4434-40.
15. Sunamura M, Hamada H, Motoi F, et al. Oncolytic virotherapy as a novel strategy for pancreatic cancer. *Pancreas* 2004; 28 (3): 326-9.
16. Jakubczak JL, Ryan P, Gorziglia M, et al. An oncolytic adenovirus selective for retinoblastoma tumor suppressor protein pathway-defective tumors: dependence on E1A, the E2F-1 promoter, and viral replication for selectivity and efficacy. *Cancer Res* 2003; 63: 1490-9.
17. Yu DC, Chen Y, Seng M, Dilley J, Henderson DR. The addition of adenovirus type 5 region E3 enables calydon virus 787 to eliminate distant prostate tumor xenografts. *Cancer Res* 2000; 60 (4): 1150.
18. Yu DC, Chan Y, Dilley J, et al. Antitumor synergy of CV787, a prostate cancer-specific adenovirus, and paclitaxel and docetaxel. *Cancer Res* 2001; 61 (2): 517-25.
19. Jounaidi Y, Waxman DJ. Use of replication-conditional adenovirus as a helper system to enhance delivery of P450 prodrug-activation genes for cancer therapy. *Cancer Res* 2004; 64: 292-303.
20. Kim SH, Wong RJ, Kooby DA, et al. Combination of mutated herpes simplex virus type 1 (G207 virus) with radiation for the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Eur J Cancer* 2005; 41 (2): 313-22.
21. Todo T, Martuza RL, Rabkin SD, Johnson PA. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98 (11): 6396-401.
22. Nakamori M, Fu X, Meng F, et al. Effective therapy of metastatic ovarian cancer with an oncolytic herpes simplex virus incorporating two membrane fusion mechanisms. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2727-33.
23. Nakamori M, Fu X, Pettaway CA, Zhang X. Potent antitumor activity after systemic delivery of a doubly fusogenic oncolytic herpes simplex virus against metastatic prostate cancer. *Prostate* 2004; 60 (1): 53-60.
24. Nakamori M, Fu X, Rousseau R, Chen SY, Zhang X. Destruction of nonimmunogenic mammary tumor cells by a fusogenic oncolytic herpes simplex virus induces potent antitumor immunity. *Mol Ther* 2004; 9 (5): 658-65.
25. Aghi M, Chou TC, Suling K, Breakefield XO, Chioocca EA. Multimodal cancer treatment mediated by a replicating oncolytic virus that delivers the oxazaphosphorine/rat cytochrome P450 2B1 and ganciclovir/herpes simplex virus thymidine kinase gene therapies. *Cancer Res* 1999; 59: 3861-5.
26. Ichikawa T, Petros WP, Ludeman SM, et al. Intraneoplastic polymer-based delivery of cyclophosphamide for intratumoral bioconversion by a replicating oncolytic viral vector. *Cancer Research* 2001; 61 (3): 864-8.
27. Pawlik TM, Nakamura H, Mullen JT, et al. Prodrug bioactivation and oncolysis of diffuse liver metastases by a herpes simplex virus 1 mutant that expresses the CYP2B1 transgene. *Cancer* 2002; 95 (5): 1171-81.
28. Barber GN. Vesicular stomatitis virus as an oncolytic vector. *Viral Immunol* 2004; 17 (4): 516-27.
29. Fernandez M, Porosnicu M, Markovic D, Barber GN. Genetically engineered vesicular stomatitis virus in gene therapy: application for treatment of malignant disease. *J Virol* 2002; 76 (2): 895-904.
30. Giedlin MA, Cook DN, Dubensky TW. Vesicular stomatitis virus: an exciting new therapeutic oncolytic virus candidate for cancer or just another chapter from Field's Virology? *Cancer Cell* 2003; 4 (4): 241-3.
31. Obuchi M, Fernandez M, Barber GN. Development of recombinant vesicular stomatitis viruses that exploit defects in host defense to augment specific oncolytic activity. *J Virol* 2003; 77 (16): 8843-56.
32. Stojdl DF, Lichty BD, TenOever BR, et al. VSV strains with defects in their ability to shutdown innate immunity are potent systemic anti-cancer agents. *Cancer Cell* 2003; 4 (4): 263-75.
33. Duntsch ChD, Zhou Q, Jayakar HR, et al. Recombinant vesicular stomatitis virus vectors as oncolytic agents in the treatment of high-grade gliomas in an organotypic brain tissue slice-glioma coculture model. *J Neurosurg* 2004; 100: 1049-59.
34. Ahmed M, Cramer SD, Lyles DS. Sensitivity of prostate tumors to wild type and M protein mutant vesicular stomatitis viruses. *Virology* 2004; 330: 34-49.
35. Ahmed M, McKenzie MO, Puckett S, Hojnacki M, Poliquin L, Lyles DS. Ability of the matrix protein of vesicular stomatitis virus to suppress beta interferon gene expression is genetically correlated with the inhibition of host RNA and protein synthesis. *J Virol* 2003; 77 (8): 4646-57.
36. Chen G, Hitomi M, Han J, Stacey DW. The p38 pathway provides negative feedback for Ras proliferative signaling. *J Biol Chem* 2000; 275 (50): 38973-80.
37. Hirasawa K, Nishikawa SG, Norman KL, Alain T, Kossakowska A, Lee PW. Oncolytic reovirus against ovarian and colon cancer. *Cancer Res* 2002; 62 (6): 1696-701.
38. Jansen B, Schlagbauer-Wadl H, Kahr H, et al. Novel Ras antagonist blocks human melanoma growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96 (24): 14019-24.
39. Norman KL, Hirasawa K, Yang AD, Shields MA, Lee PW. Reovirus oncolysis: the Ras/RalGEF/p38 pathway dictates host cell permissiveness to reovirus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101 (30): 11099-104.
40. Strong JE, Coffey MC, Tang D, Sabinin P, Lee PW. The molecular basis of viral oncolysis: usurpation of the Ras signaling pathway by reovirus. *EMBO J* 1998; 17: 3351-62.
41. Wilcox ME, Yang W, Senger D, et al. Reovirus as an oncolytic agent against experimental human malignant gliomas. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93 (12): 903-12.
42. Yang WQ, Senger DL, Lun XQ, et al. Reovirus as an experimental therapeutic for brain and leptomeningeal metastases from breast cancer. *Gene Ther* 2004; 11 (21): 1579-89.
43. Yang WQ, Senger D, Muzik H, et al. Reovirus prolongs survival and reduces the frequency of spinal and leptomeningeal metastases from medulloblastoma. *Cancer Res* 2003; 63: 3162-72.

Adres do korespondencji

Paulina Błażejewska

studentka

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza

ul. Lewkoniowa 28

60-175 Poznań

tel. +48 61 867 83 00

e-mail: paulinablazejewska@op.pl

prof. dr hab. **Anna Goździcka-Józefiak**

Zakład Wirusologii Molekularnej

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza

ul. Międzychodzka 5

60-371 Poznań