

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2023.06.009

· 综述 ·

溶瘤呼肠孤病毒在肿瘤生物治疗中作用的研究进展

Advances in the role of oncolytic adenovirus in tumor biotherapy

石华冉 综述;杨帆 审阅(昆明理工大学医学院 药物转化与研究实验室,云南省临床病毒学重点实验室,云南 昆明 650500)

[摘要] 肿瘤生物治疗的重要性日渐获得各方关注,而溶瘤病毒疗法作为肿瘤免疫治疗的一个分支也已成为研究热点。呼肠孤病毒(ReoV)地缘分布广泛,因其天然对肿瘤细胞具有靶向性及人体感染后几乎无症状而被认为是理想的溶瘤病毒载体,目前被广泛应用于临床试验。肿瘤细胞常伴有RAS基因的过度表达,会抑制对病毒有拮抗作用的激酶表达,造成ReoV大量复制致使肿瘤细胞发生凋亡、坏死、自噬等直接溶瘤效应;此外,ReoV感染肿瘤细胞后释放的促炎性细胞因子和趋化因子逆转了TME的免疫抑制状态,可激活并招募固有免疫效应细胞杀死肿瘤细胞,并促进适应性抗肿瘤免疫反应的产生。另外,ReoV与放疗、其他免疫制剂的联用可增强了肿瘤治疗的效果。本文从溶瘤ReoV的生物学特性方面,重点介绍了ReoV的基本特征与感染机制及ReoV的肿瘤嗜性;同时,总结了溶瘤ReoV的溶瘤机制,主要包括ReoV诱导程序性细胞死亡及ReoV诱导非程序性死亡;概括了溶瘤ReoV所诱导的抗肿瘤免疫反应,如溶瘤ReoV诱导的抗肿瘤固有免疫、溶瘤ReoV诱导的获得性抗肿瘤免疫等,并介绍了溶瘤ReoV联合用药的效果。随着溶瘤作用机制的探明及临床试验的开展,溶瘤ReoV在肿瘤的生物治疗中的应用将更为广阔。

[关键词] 溶瘤病毒(OV);呼肠孤病毒(ReoV);抗肿瘤免疫;联合治疗

[中图分类号] R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2023)06-0517-06

2021年发布的全球癌症报告显示,全球癌症患者新增和死亡人数逐年上涨^[1],研发更加有效的抗肿瘤疗法迫在眉睫。溶瘤病毒(oncolytic virus, OV)是一种可以选择性感染肿瘤细胞并在其内特异性复制最终导致细胞裂解,而不影响正常组织细胞生长状态的病毒;呼肠孤病毒(reovirus, ReoV)对肿瘤细胞有较强的靶向性与溶瘤能力且感染人群后不造成严重的感染,所以被认为是理想的溶瘤病毒载体^[2]。ReoV的第3血清型的Dering株在未经过基因修饰的情况下比其他毒株具备更强的诱导肿瘤细胞凋亡的能力^[3],加拿大Oncolytics Biotech公司于2004年基于上述病毒开发了Reolysin®(现更名为Pelareorep)溶瘤病毒制剂。Pelareorep在2015年被FDA批准用于治疗恶性胶质瘤,后其适应证逐渐扩大至转移性乳腺癌、转移性胰腺癌,并于2019年在中国开展了III期临床试验。研究^[4]表明Pelareorep在瘤内注射或静脉注射治疗各类肿瘤中具有良好的安全性,在与免疫抑制剂联合治疗的情况下也未出现严重不良反应。随着临床研究的深入,发现单一使用ReoV治疗对癌症患者的缓解效果有限。本文将对ReoV的溶瘤机制、溶瘤ReoV所诱导的免疫反应、与其他疗法的联合治疗效果三个方面对溶瘤ReoV在肿瘤生物治疗中的研究进展进行综述,以期为研究者或临床医生在肿瘤生物治疗的基础研究与临床治疗方面提供较为全面的理论参考资料。

1 溶瘤ReoV的生物学特性

1.1 ReoV的基本特征与感染机制

ReoV属于呼肠孤病毒科(reoviridae),病毒的宿主范围广泛,包括脊椎动物、无脊椎动物、植物、原生生物和真菌等^[2]。其名字是由呼吸道(respiratory)、消化道(enteric)、孤儿(orphan,是指这些病毒中的一些与任何已知疾病无关联),三个单词的首个字母缩写组成。ReoV可分为4种血清型,是一种直径约为85 nm的无包膜双链(ds)RNA病毒,病毒衣壳由两个独立的二十面体组成,外层衣壳是由 $\mu 1$ 、 $\sigma 1$ 、 $\sigma 3$ 三种蛋白组成,衣壳内包裹了总长度约为23 500 bp的10个dsRNA片段,分别由三个大片段(3 900 bp)、三个中等片段(2 200 bp)和四个小片段(1 300 bp)组成^[5]。ReoV感染宿主细胞由病毒表面突触蛋白 $\sigma 1$ 结合细胞表面的唾液酸,随后 $\sigma 1$ 与结合适配分子A(junctional adhesion molecule-A, JAM-A)进一步结合^[6],在 $\sigma 3$ 的脱离和 $\mu 1$ 的变构后,病毒颗粒在宿主细胞内经历酸依赖性的蛋白酶介导的蛋白水解形成中间亚病毒颗粒(intermediate subviral particle, ISVP)而开启病毒在细胞内的复制过程^[7]。

1.2 ReoV的肿瘤嗜性

ReoV具有天然肿瘤细胞嗜性,具有潜在的溶瘤

[基金项目] 国家自然科学基金地区项目(No. 81960555),云南省临床病毒学重点实验室开放课题(No. 202205AG070053-02),云南省科技厅面上项目(No. 202101AT070109),云南省教育厅科学研究基金项目(No. 2023Y0434),云南省基础研究计划面上项目(No. 202201AT070933)

[作者简介] 石华冉(1997—),男,硕士生,主要从事溶瘤流感病毒构建及评价的研究,E-mail:shr.shi@qq.com

[通信作者] 杨帆,E-mail:64561651@qq.com

潜力^[8]。目前认为有以下三种机制:(1)在健康细胞中, ReoV 的 dsRNA 与双链 RNA 依赖性蛋白激酶(double-stranded RNA-dependent protein kinase, PKR)的结合会导致其二聚化而激活。激活的 PKR 随后会磷酸化真核细胞翻译起始因子 2 α (eukaryotic initiation factor, eIF2 α)使其失活从而阻止病毒转录本的翻译^[9]。但是在 RAS 信号通路被激活的细胞中, PKR 的磷酸化和活性受到损害, ReoV 可以不断复制并在宿主细胞中积累,最终导致细胞的裂解并释放出子代病毒。(2)其次,突变的 RAS 可以通过激活磷酸肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)、裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)与胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase, ERK),抑制 Ddx58mRNA(编码 RIG-I)的翻译使 RIG-I 的蛋白水平降低^[10],而模式识别受体 RIG-I 水平的降低进一步导致机体检测病毒入侵的能力减弱。(3)最后 ReoV 本身具有抑制细胞固有免疫途径的能力, $\sigma 3$ 蛋白可隐藏病毒 dsRNA 防止 PKR 激活,使病毒蛋白的翻译不受固有免疫系统阻碍^[11]; ReoV 病毒粒子的蛋白分解是病毒能否大量复制的关键决定因素, RAS 基因的活化会刺激肿瘤细胞的增殖和生长,会增强胞内组织蛋白酶 B/L 的活性,而病毒在肿瘤细胞内的脱壳效率也随之被提高^[12]。高达 30% 的肿瘤细胞存在 RAS 基因的激活;某些肿瘤细胞的 PI3K-Akt、mTOR 和 NF- κ B 的突变也利于 ReoV 的复制^[13],在经历肿瘤向转化时细胞活力提升、合成代谢产物也促进了 ReoV 的复制。综上所述,细胞在经历肿瘤转化时内部天然抗病毒免疫反应紊乱或阻断,为 ReoV 提供了能否复制的决定性条件,在 RAS 活化的细胞中促进 ReoV 形成 ISVP 提升了病毒致病性,上述这些原因都是 ReoV 对肿瘤细胞敏感性高的原因。

2 溶瘤 ReoV 的溶瘤机制

2.1 ReoV 诱导程序性细胞死亡

ReoV 通过诱导细胞凋亡是最早被发现的溶瘤途径^[3],同时也是最具特征性的程序性细胞死亡机制。被感染的肿瘤细胞由一系列 RNA 感应蛋白(如 PKR、RIG-I 或黑色素瘤分化相关蛋白 5 等)检测胞质中 ReoV-dsRNA 来触发内源性凋亡与外源性凋亡。内源性凋亡途径由 RNA 感应蛋白接受信号后激活下游转录因子 NF- κ B 或干扰素调节因子 3(interferon regulatory factor 3, IRF3)的响应,诱导促凋亡分子 Noxa 与 PUMA 的表达,随后 Noxa 和 PUMA 通过抑制 Bcl2 来激活 Bax 与 Bak 从而导致线粒体膜电位变化而释放细胞色素 C,发生由 caspase 9/3 介导的内源性

细胞凋亡^[14]。外源性凋亡由激活的 NF- κ B 与 IRF3 协同诱导 IFN- β 的表达,引起促凋亡 ISG 产物(如 TRAIL 等)的激活与上调,从而触发由 caspase 7/3 介导的细胞外源性凋亡^[15]。但最近的研究^[16]表明,阻断凋亡 caspases 并不总是抑制 ReoV 诱导的细胞死亡,从而导致细胞形态出现肿胀与质膜破裂;ReoV 也可能诱导细胞坏死性凋亡,ReoV 通过激活 NF- κ B 诱导 IFN- β 表达,当新合成病毒 dsRNA 时引发细胞坏死性凋亡。坏死性凋亡的发生通常伴随着强烈的炎症反应。

2.2 ReoV 诱导非程序性死亡

急性内质网应激后发生的自噬也被确认为 ReoV 感染所导致的细胞死亡方式^[17-18]。ReoV 感染细胞后通过抑制 Bcl2 破坏了 Bcl2:Beclin-1 复合物,从而促进自噬的发生。此外,ReoV 通过上调 LC3 与抑制自噬信号的负调节因子 mTOR 来促进自噬的发生。目前发现 ReoV 诱导细胞的死亡方式主要是凋亡、细胞坏死性凋亡与自噬,死亡类型与靶细胞和周围 TME 的表型密切相关。FIONA 实验室的最新研究^[4]表明,在与基质细胞共培养时,ReoV 感染恶性 B 淋巴瘤细胞后,从而促凋亡蛋白与抗凋亡蛋白之比发生了逆转,从而阻止了肿瘤细胞的凋亡。因此在不同的癌症模型中,结合 TME 研究病毒复制和肿瘤溶解作用来阐明癌症选择性活性和细胞死亡的机制对进一步研究 ReoV 的溶瘤能力是日后研究的方向。

3 溶瘤 ReoV 所诱导的抗肿瘤免疫反应

在 ReoV 的肿瘤治疗中,宿主的固有免疫和获得性免疫对治疗效果起着至关重要的作用,一旦 ReoV 进入机体,免疫细胞和被感染的肿瘤细胞就会释放促炎性细胞因子和趋化因子,这是通过诱导病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)或损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMP)的表达,并与模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)相互作用而实现的。这种反应会导致肿瘤相关抗原(TAA)、促炎细胞因子和趋化因子的释放,并招募免疫细胞群体^[19]。这些变化产生的促炎环境逆转了 TME 的免疫抑制状态,诱导细胞毒效应因子的释放,激活并招募固有免疫效应细胞杀死肿瘤细胞,并促进适应性抗肿瘤免疫反应的产生^[20]。

3.1 溶瘤 ReoV 诱导的抗肿瘤固有免疫

IFN- β 途径是 ReoV 所引起的机体固有免疫反应中关键一环。ReoV 侵染宿主后, RIG-I、MDA5、PKR 或 TLR-3 等 PRR 会检测胞浆中的病毒 dsRNA,其中病毒的长、短基因片段分别激活 MDA5 与

RIG- I, 被 PRR 激活的肿瘤细胞和免疫细胞转录与分泌 IFN- I, DC 与 NK 细胞被募集至 TME^[21]; 激活的 DC 和 NK 细胞通过细胞间的相互作用激活 TME 和淋巴结中未被激活的 DC 与 NK 细胞, 提升 DC 和 NK 细胞群体激活程度与数量。除了招募和激活 NK 细胞外, ReoV 以 TLR-3 依赖的方式抑制 MDSC 的活性进一步激活抗肿瘤免疫^[22]。

3.2 溶瘤 ReoV 诱导的获得性抗肿瘤免疫

除了固有免疫中发挥重要作用的 PAMP 和 DAMP 外, ReoV 使肿瘤细胞坏死或裂解的过程中肿瘤相关抗原(tumour-associated antigen, TAA)被释放到 TME 中, 被 DC 等抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)吞噬识别, 富含细胞因子的 TME 刺激 DC 使其成熟^[23]。激活状态的 DC 通过 I 型主要组织相容复合体(major histocompatibility complex, MHC- I)以交叉提呈的方式向原始 CD8⁺ T 细胞递送 TAA, 促进肿瘤特异性 CTL 激活与募集^[24]。ReoV 治疗的患者血清中促炎因子与干扰素表达上调, 促进 APC 成熟, 激活 NK 细胞与 T 细胞, 并且上调 CD69⁺ 髓系细胞^[19,25]。新近研究^[25-26]显示, 人体静脉注射 ReoV 48~72 h 后, 肿瘤组织中促募集趋化因子(巨噬细胞炎性蛋白-1 α 和 1 β) 转录增加, T 细胞中细胞间黏附分子-1 表达水平上升, CD8⁺ T 细胞数量更多, 这与良好的预后密切相关。机体在感染正常的 ReoV 后可通过体液免疫产生中和抗体, 由于 ReoV 在环境中广泛存在, 全球成年人群中 ReoV 血清阳性率通常超过 50%^[27], 特异性的中和抗体会阻碍病毒持续感染与传播, 同样也会对用于治疗的病毒进行拦截, 阻碍其进入肿瘤, 对 ReoV 特异的中和抗体在抗肿瘤治疗中所起的作用目前任存在争议, 但可以确定的一点是免疫系统的在清除病毒与抑制病毒复制的过程中也可增强对抗肿瘤的免疫能力。

4 联合用药增强肿瘤治疗

最早一批临床试验中将溶瘤 ReoV 作为单一抗癌药物使用, 无论是采用静脉注射或瘤内注射的方式, 几乎所有的临床试验对象都未出现严重不良反应^[2], 但在二期临床实验中发现单一 ReoV 疗法效果不明显, 并未达到预期良好地溶瘤效果^[28]。考虑到 ReoV 对于 TME 关键性重构与免疫抑制的突破及体内预存抗体的作用, 目前的研究聚焦在放疗、化疗以及免疫疗法的联合治疗策略。

4.1 联合用药增强直接溶瘤能力

目前, 放疗虽然是多种癌症的重要治疗方法, 但还是存在明显的缺陷, 如部分存在 EGFR 过度表达、RAS 激活突变或者 AKT 磷酸化的肿瘤对放射疗法存

在抵抗性^[29]。这就为放射疗法与溶瘤 ReoV 联用提供了理论可行性: 放疗消除 RAS 未突变的肿瘤细胞, ReoV 则对 RAS 突变的肿瘤细胞具备高度敏感性。ReoV 与放疗的联合使用通过增强细胞凋亡、细胞毒性与减少血管生成来协同增强肿瘤杀伤。在体外实验中发现, 放射疗法与 ReoV 联用对黑色素细胞瘤、头颈癌与结直肠癌细胞杀伤效果显著优于单一疗法^[30]。在随后开展的采取瘤内注射病毒与姑息性放疗联合治疗实体瘤晚期患者的一期临床试验与二期临床实验中, 所有的临床不良反应皆不大于 2 级, 少数患者出现部分症状减轻, 多数患者症状稳定, 并发现其治疗效果存在剂量依赖性^[31]。化疗诱导 DNA 损伤与细胞周期阻滞促进细胞的凋亡, 同时诱导细胞内活性氧的增加增强细胞毒性。而 ReoV 则诱导凋亡相关信号通路激活、抑制 DNA 修复相关蛋白的表达并不断在肿瘤细胞内复制产生子代病毒引起细胞毒性反应, 各自不同的细胞杀伤途径形成互补协同增强了肿瘤细胞凋亡与细胞毒性。同时, ReoV 能够直接感染并杀伤肿瘤血管内皮细胞, 增强放疗对肿瘤血管内皮细胞的杀伤作用。

经体外研究发现, 化疗药物在增强溶瘤 ReoV 杀伤肿瘤的方面具有极强的潜力。ReoV 通过两者之间的协同作用增加了肿瘤细胞杀伤。例如: ReoV 利用化疗药物治疗时上调了促凋亡因子从而造成杀伤。ReoV 和吉西他滨的联合使用与单独使用任何一种药物相比, 显著提高了小鼠卵巢表面上皮细胞 ID8 腹膜内荷瘤的 C57BL/6 小鼠的存活率^[32]; ReoV 同紫杉醇和顺铂联合治疗显著提高了人舌上皮细胞 Cal27 裸鼠肿瘤模型的存活率^[33]; ReoV 同他莫昔芬和吉西他滨联用可激活 MAPK 和 P53 依赖性途径并上调促凋亡因子^[34], 以上这些研究数据表明, 将 ReoV 与化疗药物结合所产生的疗效通常是通过增强肿瘤溶解能力而不是免疫介导机制来介导的。结合 ReoV 诱导细胞凋亡的能力, 临床中联用疗效的提升可能是因为化疗药物与病毒的协同作用导致凋亡增加。癌细胞内的能量代谢现在正在成为 OV 敏感性的重要因素也是联合治疗中另一个热点, OV(如 ReoV)利用宿主内的核苷酸、脂质和氨基酸进行复制, 如何将肿瘤细胞抑制的病毒代谢即代谢重编程也是增强 OV 疗效的策略^[35]。ReoV 的易感性与宿主细胞丙酮酸代谢和氧化应激相关, 其中丙酮酸脱氢酶(PDH)起着核心作用, ReoV 感染后的早期氧化应激反应通过 PDH 激酶(PDK)磷酸化抑制 PDH, 并诱导细胞形成不利于 ReoV 复制的状态, 在使用 PDK 抑制剂二氯乙酸盐和 AZD7545 对 PDH 的重激活增强了 ReoV 在体内外的溶瘤能力。早期的临床试验中并未特意选择患者

是否为RAS突变类型,随着溶瘤ReoV和化疗的组合在临床开发中的进步,后续试验可预先选择那些更有可能从治疗中受益的患者,比如:将KRAS、BRAF或EGFR激活与否纳入试验中患者的选择标准,有效地将患者与治疗方法相匹配,及其有利于高度异质化的肿瘤的治疗。

4.2 联合用药增强免疫介导的抗肿瘤作用

随着抗肿瘤免疫治疗药物的问世与临床试验的成功,ReoV与其他免疫制剂连用的研究也逐渐成为研究热点。第一种策略是和其他溶瘤病毒联用,将ReoV与溶瘤性水泡性口腔炎病毒(*vesicular stomatitis virus*, VSV)联用后,通过VSV诱导肿瘤特异性TH17反应,增强了ReoV诱导的TH1反应改善了对黑色素瘤的疗效^[36]。第二种是和免疫检查点抑制剂(如抗PD-1抗体)的联用,研究^[37]表明ReoV感染后可增加PD-L1的表达使得抗PD-1抗体的作用更明显:ReoV增加了肿瘤细胞上PD-L1的表达和小鼠乳腺癌模型中肿瘤内Treg细胞的数量,ReoV同PD-1抑制剂的联合治疗减少Treg细胞的数量并增强肿瘤特异性CTL反应来进一步提高生存率。ReoV同CD3双特异性抗体联合使用也显示了更好的疗效,ReoV诱导的IFN- γ 大量产生后激活的NK细胞和ReoV特异性CD8⁺T细胞向肿瘤部位的募集,这些细胞通CD3双特异性抗体协同作用,减少包括胰腺癌、黑色素瘤和乳腺癌等多种肿瘤细胞的生长,并对远端未注射病毒的转移病灶也有效^[38]。在更为激进的研究中,甚至将溶瘤ReoV、溶瘤VSV与抗PD-1抗体三者结合,显著提升了长期治疗的患者生存率^[39],这充分表明了ReoV免疫治疗的临床价值。

5 结 语

目前世界范围内有超过三十余项溶瘤ReoV临床试验的开展,ReoV扩大适应证造福更多癌症患者的步伐正在加快,虽然其在各种临床前研究及体内外模型中取得了良好的肿瘤杀伤效果,但不是所有受治疗人群都从中受益^[40]。宿主的免疫应答是限制ReoV应用的最大障碍之一,宿主接触ReoV后,快速产生的IFN- γ 与其他炎性细胞因子可激活抗病毒的固有免疫应答防止ReoV的扩散;在随后的免疫过程中机体的T细胞和B细胞也可以发挥作用,限制病毒复制并阻止其扩散。另一个限制ReoV在临床应用中的因素是静脉给药无法很好地将ReoV传递到肿瘤组织,如中和抗体、组织器官的吸收以及免疫细胞的清除等。因此后续的研究方向是在不影响抗肿瘤应答的前提下,控制特异性的抗病毒免疫应答,并尝试不同的策略来改善ReoV的传递问题。采用何种

给药方式以取得安全有效的治疗效果还需要进一步研究,原位瘤最大治疗效果的给药方式未必等同于促进全身抗肿瘤免疫的治疗路线,虽然目前的研究都表明ReoV在静脉注射时可以到达肿瘤部位,但是在实际给药过程中应该更多地了解体液和细胞介导的抗病毒效果,在抗肿瘤与机体抗病毒之间达到平衡,最大限度地发挥其疗效^[41]也是需要关注的研究方向。其次,临床试验中采用的治疗方案对最佳给药方案没有达成共识,比如在28d的治疗周期内有第1、2、8、9、15、16天静脉注射、第1、2、3、4、5天或在第一个21d周期的第1、2、3、8天给药的多种方案,随着研究的进一步深入这些治疗方案还需要进一步优化。ReoV通常与放疗、化疗与免疫疗法等手段联用,在疗效提升的同时通常伴随着细胞毒性的增加,这要求对每种疗法所引起的死亡机制与肿瘤微环境的变化应具有全面的理解,由于肿瘤高度异质性与临床前模型的局限性,在理想情况下应对肿瘤和免疫微环境的下游与癌症相关的成纤维细胞、免疫细胞成分和可溶性因子与细胞外小泡等进行检测,以提高免疫治疗的效果;某些诱导淋巴细胞减少的化疗药物可能会抑制TME的免疫,其造成的T细胞耗竭的对ReoV的联合治疗的机制还需进一步评价。除了对已上市的Pelareorep进一步研究以外,对ReoV以反向遗传学进行改造以携带增强特异杀伤力的外源基因或筛选重组病毒也是日后研究的重点^[42-43]。随着对其作用机理的深入研究和技术的不断进步,相信将来ReoV治疗肿瘤的安全性会更高,且更有效。

[参 考 文 献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* Cancer statistics, 2021[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(1): 7-33. DOI: 10.3322/caac.21654.
- [2] GONG J, SACHDEV E, MITA A C, *et al.* Clinical development of reovirus for cancer therapy: an oncolytic virus with immune-mediated antitumor activity[J]. *World J Methodol*, 2016, 6(1): 25-42. DOI: 10.5662/wjm.v6.i1.25.
- [3] TYLER K L, SQUIER M K, RODGERS S E, *et al.* Differences in the capacity of reovirus strains to induce apoptosis are determined by the viral attachment protein sigma 1[J]. *J Virol*, 1995, 69(11): 6972-6979. DOI: 10.1128/JVI.69.11.6972-6979.1995.
- [4] MÜLLER L, BERKELEY R, BARR T, *et al.* Past, present and future of oncolytic reovirus[J/OL]. 2020, 12(11):3219[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33142841/>. DOI: 10.3390/cancers12113219.
- [5] TAKAHIRO K, YUTA K N, RYOTARO N, *et al.* Generation of genetically RGD σ 1-modified oncolytic reovirus that enhances JAM-A-independent infection of tumor cells[J/OL]. *J Virol*, 2020, 94(23): 94(23): e01703-20[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33142841/>.

- nih.gov/32907973/. DOI: 10.1128/JVI.01703-20.
- [6] KEMP V, DAUTZENBERG I J C, CRAMER S J, *et al.* Characterization of a replicating expanded tropism oncolytic reovirus carrying the adenovirus E4orf4 gene[J]. *Gene Ther*, 2018, 25(5): 331-344. DOI: 10.1038/s41434-018-0032-9.
- [7] GUMMERSHEIMER S L, DANTHI P. Reovirus core proteins lambda1 and sigma2 promote stability of disassembly intermediates and influence early replication events[J/OL]. *J Virol*, 2020, 94(17): e00491-20[2023-02-03]. <https://doi.org/10.1128/JVI.00491-20>. DOI: 10.1128/JVI.00491-20.
- [8] STRONG J E, TANG D, LEE P W. Evidence that the epidermal growth factor receptor on host cells confers reovirus infection efficiency[J]. *Virology*, 1993, 197(1): 405-411. DOI: 10.1006/viro.1993.1602.
- [9] GUMMERSHEIMER S L, SNYDER A J, DANTHI P. Control of capsid transformations during reovirus entry[J/OL]. *Viruses*, 2021, 13(2): 153[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33494426/>. DOI: 10.3390/v13020153.
- [10] PHILLIPS M B, STUART J D, RODRÍGUEZ STEWART R M, *et al.* Current understanding of reovirus oncolysis mechanisms[J]. *Oncolytic Virother*, 2018, 7: 53-63. DOI: 10.2147/OV.S143808.
- [11] MCNAMARA A J, BROOKS A D, DANTHI P. The reovirus $\sigma 3$ protein inhibits NF- κ B-dependent antiviral signaling[J/OL]. *J Virol*, 2022, 96(9): e0051522[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35416720/>. DOI: 10.1128/jvi.00515-22.
- [12] COLLETTE J, ULKU A S, DER C J, *et al.* Enhanced cathepsin L expression is mediated by different Ras effector pathways in fibroblasts and epithelial cells[J]. *Int J Cancer*, 2004, 112(2): 190-199. DOI: 10.1002/ijc.20398.
- [13] VAN DEN WOLLENBERG D J M, KEMP V, RABELINK M J W E, *et al.* Reovirus type 3 dearing variants do not induce necroptosis in RIPK3-expressing human tumor cell lines[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2320[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36768641/>. DOI: 10.3390/ijms24032320.
- [14] BUSSIERE L D, MILLER C L. Reovirus and the host integrated stress response: on the frontlines of the battle to survive[J/OL]. *Viruses*, 2021, 13(2): 200[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33525628/>. DOI: 10.3390/v13020200.
- [15] ABAD A T, DANTHI P. Recognition of reovirus RNAs by the innate immune system[J]. *Viruses*, 2020, 12(6): 667[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32575691/>. DOI: 10.3390/v12060667.
- [16] BERGER A K, DANTHI P. Reovirus activates a caspase-independent cell death pathway[J/OL]. *mBio*, 2013, 4(3): e00178-e00113[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23674612/>. DOI: 10.1128/mBio.00178-13.
- [17] JIFFRY J, THAVORNWATANAYONG T, RAO D, *et al.* Oncolytic reovirus (pelareorep) induces autophagy in KRAS-mutated colorectal cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(3): 865-876. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2385.
- [18] DEANTONEO C, DANTHI P, BALACHANDRAN S. Reovirus activated cell death pathways[J/OL]. *Cells*, 2022, 11(11): 1757[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35681452/>. DOI: 10.3390/cells11111757.
- [19] EL-SHERBINY Y M, HOLMES T D, WETHERILL L F, *et al.* Controlled infection with a therapeutic virus defines the activation kinetics of human natural killer cells *in vivo*[J]. *Clin Exp Immunol*, 2015, 180(1): 98-107. DOI: 10.1111/cei.12562.
- [20] MÜLLER L M E, MIGNECO G, SCOTT G B, *et al.* Reovirus-induced cell-mediated immunity for the treatment of multiple myeloma within the resistant bone marrow niche[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(3): e001803[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33741729/>. DOI: 10.1136/jitc-2020-001803.
- [21] GHASEMI M, ABBASI L, GHANBARI NAEINI L, *et al.* Dendritic cells and natural killer cells: the road to a successful oncolytic virotherapy[J/OL]. *Front Immunol*, 2023, 13: 950079[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36703982/>. DOI: 10.3389/fimmu.2022.950079.
- [22] KUMAR V, GIACOMANTONIO M A, GUJAR S. Role of myeloid cells in oncolytic reovirus-based cancer therapy[J/OL]. *Viruses*, 2021, 13(4): 654[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33920168/>. DOI: 10.3390/v13040654.
- [23] PRESTWICH R J, ERRINGTON F, ILETT E J, *et al.* Tumor infection by oncolytic reovirus primes adaptive antitumor immunity [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(22): 7358-7366. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0831.
- [24] GUJAR S A, PAN D A, MARCATO P, *et al.* Oncolytic virus-initiated protective immunity against prostate cancer[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(4): 797-804. DOI: 10.1038/mt.2010.297.
- [25] SAMSON A, SCOTT K J, TAGGART D, *et al.* Intravenous delivery of oncolytic reovirus to brain tumor patients immunologically primes for subsequent checkpoint blockade[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(422): eaam7577[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29298869/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.aam7577.
- [26] GOODEN M M, DE BOCK G H, LEFFERS N, *et al.* The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis[J]. *Br J Cancer*, 2011, 105(1): 93-103. DOI: 10.1038/bjc.2011.189.
- [27] GROENEVELDT C, VAN DEN ENDE J, VAN MONTFOORT N. Preexisting immunity: barrier or bridge to effective oncolytic virus therapy? [J/OL]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2023: S1359-6101(23)00002[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36732155/>. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2023.01.002.
- [28] HARRINGTON K J, VILE R G, MELCHER A, *et al.* Clinical trials with oncolytic reovirus: moving beyond phase I into combinations with standard therapeutics[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2010, 21(2/3): 91-98. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2010.02.006.
- [29] LIANG K, ANG K K, MILAS L, *et al.* The epidermal growth factor receptor mediates radioresistance[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2003, 57(1): 246-254. DOI: 10.1016/s0360-3016(03)00511-x.
- [30] TWIGGER K, VIDAL L, WHITE C L, *et al.* Enhanced *in vitro* and *in vivo* cytotoxicity of combined reovirus and radiotherapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(3): 912-923. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1400.
- [31] HARRINGTON K J, KARAPANAGIOTOU E M, ROULSTONE V, *et al.* Two-stage phase I dose-escalation study of intratumoral reovirus type 3 dearing and palliative radiotherapy in patients with advanced cancers[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(11): 3067-3077. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0054.

- [32] GUJAR S A, CLEMENTS D, DIELSCHNEIDER R, *et al.* Gemcitabine enhances the efficacy of reovirus-based oncotherapy through anti-tumour immunological mechanisms[J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(1): 83-93. DOI: 10.1038/bjc.2013.695.
- [33] SEI S, MUSSIO J K, YANG Q E, *et al.* Synergistic antitumor activity of oncolytic reovirus and chemotherapeutic agents in non-small cell lung cancer cells[J/OL]. *Mol Cancer*, 2009, 8: 47[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19594950/>. DOI: 10.1186/1476-4598-8-47.
- [34] ROUHIMOGHADAM M, SAFARIAN S, CARROLL J S, *et al.* Tamoxifen-induced apoptosis of MCF-7 cells *via* GPR30/PI3K/MAPKs interactions: verification by ODE modeling and RNA sequencing[J/OL]. *Front Physiol*, 2018, 9: 907[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30050469/>. DOI: 10.3389/fphys.2018.00907.
- [35] KENNEDY B E, SADEK M, GUJAR S A. Targeted metabolic reprogramming to improve the efficacy of oncolytic virus therapy [J]. *Mol Ther*, 2020, 28(6): 1417-1421. DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.03.014.
- [36] ILETT E, KOTTKE T, THOMPSON J, *et al.* Prime-boost using separate oncolytic viruses in combination with checkpoint blockade improves anti-tumour therapy[J]. *Gene Ther*, 2017, 24(1): 21-30. DOI: 10.1038/gt.2016.70.
- [37] MOSTAFA A A, MEYERS D E, THIRUKKUMARAN C M, *et al.* Oncolytic reovirus and immune checkpoint inhibition as a novel immunotherapeutic strategy for breast cancer[J/OL]. *Cancers*, 2018, 10(6): 205[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29914097/>. DOI: 10.3390/cancers10060205.
- [38] GROENEVELDT C, KINDERMAN P, VAN DEN WOLLENBERG D J M, *et al.* Preconditioning of the tumor microenvironment with oncolytic reovirus converts CD3-bispecific antibody treatment into effective immunotherapy[J/OL]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e001191[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33082167/>. DOI: 10.1136/jitc-2020-001191.
- [39] CHIU M, ARMSTRONG E J L, JENNINGS V, *et al.* Combination therapy with oncolytic viruses and immune checkpoint inhibitors [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2020, 20(6): 635-652. DOI: 10.1080/14712598.2020.1729351.
- [40] GHAJAR-RAHIMI G, KANG K D, TOTSCH S K, *et al.* Clinical advances in oncolytic virotherapy for pediatric brain tumors[J/OL]. *Pharmacol Ther*, 2022, 239: 108193[2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35487285/>. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2022.108193.
- [41] CHAURASIYA S, FONG Y, WARNER S G. Oncolytic virotherapy for cancer: clinical experience[J/OL]. *Biomedicines*, 2021, 9(4): 419 [2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33924556/>. DOI: 10.3390/biomedicines9040419.
- [42] BERRY J T L, MUÑOZ L E, RODRÍGUEZ STEWART R M, *et al.* Doxorubicin conjugation to reovirus improves oncolytic efficacy in triple-negative breast cancer[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2020, 18: 556-572. DOI: 10.1016/j.omto.2020.08.008.
- [43] ZHANG X Y, WEN F. Recent advances in Reovirales viruses reverse genetics research[J/OL]. *Virus Res*, 2022, 321: 198911 [2023-02-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36113355/>. DOI: 10.1016/j.virusres.2022.198911.

[收稿日期] 2023-02-06

[修回日期] 2023-05-20

[本文编辑] 向正华