



靶向宿主代谢重编程的溶瘤病毒调控策略*

孔令凯 吴俊华**

(南京大学医学院, 江苏省医学分子技术重点实验室, 南京 210093)

摘要 溶瘤病毒是一类天然的或经过基因编辑后能特异性在肿瘤细胞中复制、发挥抗肿瘤效应的病毒。溶瘤病毒的抗肿瘤效应主要通过以下两个方面实现: a. 直接的溶瘤效应, 例如诱导肿瘤细胞发生凋亡、促使细胞裂解等; b. 溶瘤病毒作为一种激活免疫的药物, 通过诱导机体产生强烈的抗肿瘤免疫, 达到清除肿瘤的目的。溶瘤病毒疗法作为免疫疗法的一个重要分支, 因其具有肿瘤特异性, 便于基因改造等优点, 成为该领域的研究热点。截至目前, 处在临床实验招募和完成阶段的溶瘤病毒疗法虽然已达 100 多例, 但已批准上市的产品仅有 4 款。溶瘤疗法应用于肿瘤治疗领域还面临着诸多挑战。因此, 系统性回顾溶瘤病毒的改造策略, 深入了解溶瘤病毒的生物学过程显得尤为必要。病毒依赖于宿主完成复制、增殖过程, 其生物学过程与宿主的代谢状态密切相关。肿瘤的标志性特征为代谢重编程, 即肿瘤细胞重新构建代谢网络以满足指数生长和增殖的需求并防止氧化应激的过程。通常包括糖酵解的增强和谷氨酰胺分解, 以及线粒体功能和氧化还原稳态的变化。通过靶向宿主代谢重编程增强溶瘤病毒的复制、溶瘤能力是当前极具前景的方向。本文综述溶瘤病毒的临床应用现状及与代谢相关的调控机制, 为进一步开发新型溶瘤病毒以及联用方式提供新的思路。

关键词 溶瘤病毒, 免疫疗法, 临床试验, 代谢重编程, 基因改造

中图分类号 R730.5

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0332

目前针对癌症的治疗方法总体分为手术、放疗、化疗、靶向治疗及免疫疗法。其中免疫疗法是目前极具潜力的肿瘤治疗方法。肿瘤免疫治疗是指外源干预机体免疫系统, 重新启动并维持“肿瘤-免疫”循环, 恢复、提高机体的抗肿瘤免疫反应, 加强对肿瘤细胞的识别和杀伤能力, 从而达到控制甚至特异性清除肿瘤的治疗效果。目前, 已在临床上应用的肿瘤免疫治疗方法主要包括免疫检查点抑制剂治疗、过继性细胞免疫治疗、癌症疫苗及溶瘤病毒等。

其中, 溶瘤病毒因其能特异性在肿瘤细胞中复制、扩增, 成为理想的肿瘤靶向载体。截止到 2021 年, 已批准上市的溶瘤病毒仅仅只有 4 款产品: Rigvir、安柯瑞、Imlygic 和 Delytact。目前研究表明单独的溶瘤病毒治疗效果并不理想, 溶瘤病毒疗法在肿瘤治疗领域仍然面临着诸多挑战。如何充分发挥溶瘤疗法的潜力, 克服溶瘤病毒的局限性成为当前亟需解决的难题。本文系统性梳理了溶瘤病毒应用于肿瘤治疗的发展历程, 重点介绍了已应用于临床的溶瘤病毒改造策略及与细胞代谢相关的

调控机制, 为加快溶瘤病毒的临床应用提供参考。

1 溶瘤病毒的临床应用进程

人类利用病毒治疗肿瘤最早可追溯到 1912 年, De Pace^[1] 首次发现在人体接种减毒狂犬病疫苗后, 可以促进宫颈癌消退的现象。这一发现可能启发了人们将溶瘤病毒应用于肿瘤治疗领域的研究。人们利用溶瘤病毒治疗肿瘤的进程主要经历了三个阶段。a. 直接利用天然的溶瘤病毒。该阶段的代表性产品为 Reolysin, 这是一种未经改造的呼肠孤病毒血清型 3-Dearing 株, 在临床 I/II 期实验中已被证明对黑色素瘤、多发性骨髓瘤、胰腺癌具有显著疗效^[2-4]。然而天然的溶瘤病毒具有不稳定的治疗效果以及不可控的毒副作用, 这极大限制了溶瘤病毒的发展。b. 基因改造的溶瘤病毒。随着基因工程技

* 国家自然科学基金 (81972888) 资助项目。

** 通讯联系人。

Tel: 13770920883, E-mail: wujunhua@nju.edu.cn

收稿日期: 2022-07-19, 接受日期: 2022-11-29

术的成熟, 以及人们对溶瘤病毒基因组的深入了解, 利用基因编辑技术改造溶瘤病毒, 使之具有更强的肿瘤靶向性并显著降低其对正常组织的毒副作用。这一阶段代表性的产品为H101 (商品名安柯瑞), 安柯瑞是利用基因工程技术删除人5型腺病毒E1B-55 ku基因片段和E3-19 ku基因片段后重新获得的一种溶瘤腺病毒, 其在p53基因缺乏或异常的肿瘤中能特异性复制并产生复制依赖性细胞毒作用, 而对正常人体细胞无明显的细胞毒作用^[5]。然而随着研究的深入, 人们发现单独的溶瘤病毒的疗效有限, 即使前期能看到局部的溶瘤效果, 但随后机体的抗病毒免疫迅速被激活, 从而分泌出大量中和抗体清除病毒, 导致肿瘤重新生长^[6], 这一发现让溶瘤病毒的发展陷入停滞。c. 溶瘤病毒应用于免疫治疗。最近十几年, 人们认识到溶瘤病毒作为一种免疫制剂, 能提高肿瘤内免疫细胞的浸润, 诱导抗肿瘤免疫^[7-8]。基于这种理念而开发的携带粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF) 编码基因的1型单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus-1, HSV-1) T-Vec于2015年获得美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 批准, 用于治疗恶性黑色素瘤。成为溶瘤病毒发展史上的一个里程碑事件^[7]。

目前应用于临床研究的溶瘤病毒分为腺病毒 (adenovirus)、HSV-1、呼肠孤病毒 (reovirus)、痘病毒等。本文总结了目前已经部分完成临床实验II/III期的溶瘤病毒 (表1), 已经完成临床三期的溶瘤疗法共5例, T-Vec 2例, JX-594、呼肠孤病毒血清型3-Dearing、TNFerade各1例。

1.1 T-vec

T-Vec是以HSV-1/JS-1病毒株为模板, 敲除ICP34.5和ICP47, 并以巨噬细胞启动子CMV、人源GM-CSF替换ICP34.5序列。ICP34.5也被称为神经毒性因子, 能够阻断干扰素介导的抑制病毒复制的功能, 由于肿瘤细胞中干扰素普遍低表达水平, 因此ICP34.5的敲除不影响HSV在肿瘤中的复制^[9]。敲除ICP47一方面增强US11的表达, 且高表达US11已经证实能促进HSV的复制, 另一方面, ICP47主要拮抗宿主细胞的抗原呈递功能, 敲除ICP47理论上能促进机体的免疫应答。同时为了进一步增强病毒的免疫激活效应, 在突变的HSV-1中插入GM-CSF, 这已经在临床实验中显示出良好的前景^[10-13]。

1.2 JX-594

JX-594是以牛痘病毒 (vaccinia virus, VV) 为载体, 利用同源重组技术将人GM-CSF插入牛痘病毒的胸腺激酶 (thymus kinase, TK) 区, 在分泌GM-CSF的同时, 干扰了TK的表达^[14]。JX-594的复制依赖于细胞中TK的表达, 而肿瘤细胞中高表达TK, 导致JX-594特异性裂解肿瘤, 诱导抗肿瘤免疫^[15]。目前JX-594临床试验应用于治疗黑色素瘤、肝癌、肺癌等。有临床试验显示, 静脉注射高剂量的JX594 (109 PFU) 能够显著延长肝癌患者的中位生存时间^[16]。

1.3 Reolysin

Reolysin是一种未经改造的呼肠孤病毒血清型3-Dearing株, 这是一种双链可复制RNA非包膜二十面体病毒, 其增殖依赖Ras信号通路的激活, 所以仅能在Ras激活的癌细胞中特异性增殖^[17]。在一项胰腺导管癌中开展的II期临床试验中, Reolysin将患者的一年生存率从18%提高到45%, 且耐受性良好^[18]。此外, 还有一项针对黑色素瘤的II期临床试验显示, Reolysin与紫杉醇/卡铂联合相较于单独化疗组显著延长了患者无进展生存期^[19]。

1.4 TNFerade

TNFerade是一种复制缺陷腺病毒载体, 包含由辐照诱导启动子 (Egr-1) 控制的肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 基因^[20-21]。这使得TNF- α 的表达在接受辐射的区域最高。虽然TNF- α 的抗肿瘤效应早已被验证, 但由于全身给药具有显著的副作用, TNF- α 的局部递送显得更具可行性。

总体上, 目前处于临床II/III期的溶瘤病毒改造策略主要分为三类: a. 表达肿瘤相关或特异性抗原, 如P53、MAGEA3、PSA、rV-NY-ESO-1等, 诱导机体产生更强的适应性免疫; b. 表达能够激活机体免疫的细胞因子类物质, 如IL-12、IL2、GM-CSF、CD40L、TNF- α 等; c. 基于病毒衣壳的改造, 以增强溶瘤病毒对肿瘤细胞特异性的感染、复制能力。如Delta-24-RGD、HSV-1中删除G207以及突变 γ 34.5和ICP6等。

由表1可知, 在临床实验中, 溶瘤病毒与其他药物联用占据了绝大部分比例。这提示单独的溶瘤病毒疗效较为有限, 深入了解病毒感染肿瘤细胞后发生的生物学过程以及对肿瘤微环境的影响, 并以此为依据提出协同增强溶瘤病毒疗效的方案是未来值得探索的方向。

Table 1 Some oncolytic viruses that completed clinical trials of stage II/III						
表1 部分完成临床实验II/III期的溶瘤病毒						
病毒类型	基因修饰	临床试验注册号	给药方式	肿瘤类型	临床 状态	联合治疗方式
腺病毒 (adenovirus)	人IL-12	NCT01703754	瘤内注射	乳腺癌	II	Palifosfamide
		NCT00082641	DC疫苗	乳腺癌	II	否
		NCT00049218	DC疫苗	肺癌	II	Carboplati、Etoposide
	HSV-TK	NCT01042535	DC疫苗	乳腺癌	II	1-methyl-d-tryptophan
		NCT00870181	瘤内注射	胶质瘤	II	化疗
		NCT02202564	瘤内注射	肝癌	II	ganciclovir
		NCT00589875	瘤内注射	胶质瘤	II	Valacyclovir
		NCT00891748	瘤内注射	黑色素瘤	II	否
	Delta-24-RGD	NCT02798406	瘤内注射	胶质瘤	II	Pembrolizumab (anti PD-1)
	TNF-α	NCT00051480	瘤内注射	食道癌	II	5-FU、Cisplatin、放疗
		NCT00051467	瘤内注射	胰腺癌	III	5-FU、放疗
		NCT00261404	瘤内注射	黑色素瘤	II	放疗
		NCT00137878	瘤内注射	直肠癌	II	Capecitabine、放疗
		NCT00496535	瘤内注射	头颈癌	II	5-FU、HU、放疗
HSV-1	G207: 敲除γ34.5; ICP6插入突变	NCT00028158	瘤内注射	神经胶质瘤、胶质母细胞瘤、星形胶质瘤	II	否
	HF10: UL56表达缺失	NCT03153085	瘤内注射	黑色素瘤	II	Ipilimumab (anti-CTLA-4)
		NCT02272855	瘤内注射			
	GM-CSF	NCT01368276	瘤内注射	黑色素瘤	III	否
		NCT00769704	瘤内注射			
牛痘病毒 (vaccinia virus)	GM-CSF	NCT02562755	瘤内注射	肝癌	III	Sorafenib
		NCT01171651	瘤内注射		II	
		NCT00554372	瘤内注射			
		NCT00429312	瘤内注射	黑色素瘤	II	否
		NCT01394939	静脉注射	结直肠癌	II	Irinotecan
	rV-NY-ESO-1	NCT00112957	皮下注射	输卵管癌; 卵巢癌; 腹膜腔癌	II	否
	Human papillomavirus 16 E7 peptide	NCT00002916	皮下注射	宫颈癌	II	否
		NCT02823990	静脉注射	非小细胞肺癌	II	Nivolumab (anti PD-1)
酪氨酸酶抗原 (tyrosinase antigen)		NCT00019734	瘤内注射	黑色素瘤	II	IL-2
		NCT00054535	瘤内注射			
	前列腺特异抗原 (PSA antigen)	NCT00045227	瘤内注射	前列腺癌	II	Docetaxel
	无	NCT01280058	静脉注射	胰腺癌		
		NCT00861627	静脉注射	非小细胞肺癌	II	Carboplatin、Paclitaxel
		NCT00753038	静脉注射	头颈癌		
		NCT01166542	静脉注射	头颈癌	III	Carboplatin、Paclitaxel、 Carboplatin、Paclitaxel
麻疹病毒 (measles virus)	NIS	NCT02192775	静脉注射	多发性骨髓瘤	II	Cyclophosphamide
		NCT00450814	静脉注射	浆细胞骨髓瘤		
	MAGEA3抗原	NCT02879760	静脉注射	非小细胞肺癌	II	Pembrolizumab (anti PD-1)

续表1

病毒类型	基因修饰	临床试验注册号	给药方式	肿瘤类型	临床状态	联合治疗方式
柯萨奇病毒 (coxsackie virus) (CVA21)	无	NCT01227551 NCT01636882	静脉注射 静脉注射	黑色素瘤	II	否

溶瘤病毒是一类具有复制能力的肿瘤杀伤型病毒,能利用靶细胞中抑癌基因的失活或缺陷选择性感染肿瘤细胞,在肿瘤细胞内大量复制并最终导致肿瘤细胞裂解,同时激发机体的抗肿瘤免疫。溶瘤病毒的复制能力是其发挥抗肿瘤作用的基础,而病毒只能在活细胞内寄生完成自己的复制过程,其复制能力依赖于宿主的代谢状态。因此,本文重点阐述了宿主代谢重编程对溶瘤病毒生物学行为的影响,以及靶向代谢重编程增强溶瘤病毒疗效的机制,为后续开发新的重组病毒或联用策略提供参考。

2 溶瘤病毒发挥功能依赖宿主的代谢水平

溶瘤病毒的复制需要生物大分子的合成,如氨基酸、脂质、核苷酸等。而病毒本身并不编码相关的酶,因此,它们往往需要利用宿主细胞的代谢途径,合成自身所需的物质(图1)。

代谢重编程是肿瘤细胞的重要特征之一^[22]。肿瘤细胞通过自主改变各种代谢途径通量,以满足增加的生物能量和物质合成需求。该过程涉及糖类、脂质、氨基酸、核苷酸等代谢途径。

溶瘤病毒能够特异性地在肿瘤细胞中复制,其具体机制尚不清楚,可能通过以下几种途径。**a.** 人工改造的溶瘤病毒复制往往依赖于肿瘤细胞中某类基因的突变。例如,Delta-24-RGD,是以腺病毒5型为基础进行改造的一种溶瘤腺病毒。其E1A区缺失24 bp的碱基对,使重组病毒可以在RB基因突变的肿瘤细胞内复制;而在病毒衣壳蛋白中插入Arg-Gly-Asp(RGD)基序,增强了病毒对肿瘤细胞的感染能力。有研究对病毒的Fiber部分进行RGD修饰,修饰后的病毒可以与细胞表面的整合素 $\alpha\beta 3$ 和 $\alpha\beta 5$ 结合并相互作用使病毒进入细胞,提高了病毒的感染性^[23-24]。**b.** 通常病毒感染细胞依赖于表面受体,而这些受体往往在肿瘤细胞中高表达,例如柯萨奇病毒和腺病毒受体(coxsackie virus and adenovirus receptors, CAR)是B组柯萨

奇病毒和C亚组腺病毒的病毒受体,它介导了腺病毒对肿瘤细胞的感染过程^[25-26]。**c.** 哺乳动物中主要由I型干扰素介导抗病毒反应,而肿瘤细胞中普遍缺乏I型干扰素信号,这有利于病毒在肿瘤细胞中的感染和复制^[27-28]。**d.** 相对于正常细胞,肿瘤细胞的标志之一为能量代谢的重编程^[29],其异常的代谢途径为病毒的感染、复制提供了得天独厚的条件。目前人们认识到肿瘤微环境和免疫细胞的代谢状态显著影响抗肿瘤免疫效应^[30],同样这也是影响病毒复制及发挥抗肿瘤作用的关键因素。这部分内容将从脂质、糖、核苷酸代谢对溶瘤病毒复制的影响做一总结,为今后利用代谢靶点增强溶瘤病毒疗效提供参考。

2.1 溶瘤病毒的感染、复制依赖宿主的脂质代谢水平

脂质代谢及中间产物是病毒与宿主实现交互的途径之一,宿主细胞膜上脂筏的完整性影响了病毒的感染效率;同样多数病毒的复制需要利用宿主细胞的脂质代谢途径^[31]。有研究表明,脂筏的完整性是病毒感染和发挥溶瘤作用所必须的。Lv等^[32]发现甲基- β -环糊精破坏脂筏完整性显著抑制了重组麻疹病毒(measles virus, MV)株rMV-Hu191中MV-P蛋白在胃癌细胞中的表达,但不影响MV的复制。同样Byrd等^[33]发现,在易于VV感染的原发性人类白细胞(primary human leukocyte, PHLs)亚群中,CD29和CD98在脂筏上富集,这两种蛋白质对VV感染HeLa细胞至关重要。同样破坏脂筏的完整性抑制了牛痘病毒对肿瘤细胞的感染能力^[34]。

相对于脂筏在溶瘤病毒发挥抗肿瘤免疫过程中的重要性,胆固醇的功能呈现出矛盾的特点。有报道利用洛伐他汀耗竭脂筏中的胆固醇,可以增加前列腺癌细胞中CAR和整合素的表达,进一步提高了溶瘤腺病毒的感染和复制能力^[35]。外源添加7-脱氢胆固醇可以促进巨噬细胞的抗感染能力,其机制为7-脱氢胆固醇的累积通过活化AKT3和

IRF3, 提高了巨噬细胞中 IFN β 的表达^[36], 加速对溶瘤病毒的清除。也有研究表明, 胆固醇增强了溶瘤病毒的免疫逃逸能力, 促进其在宿主细胞中的复制。E3 区域是腺病毒在细胞中复制必不可少的结构, 有文献证明在病毒感染的早期, E3 区域编码的 RID α 直接与胆固醇结合蛋白 ORP1L 相互作用介导脂质运输到内质网, 这是一种区别于 NPC1 调节脂筏胆固醇的新途径, 可能影响宿主对腺病毒应答的固有免疫^[37]。新城疫病毒 (newcastle disease virus, NDV) 感染 DF-1 细胞提高了脂肪生成基因的表达, 而过表达 ATP 结合盒转运子 A1, 促进细胞内游离胆固醇流出至细胞外, 抑制了 NDV 的感染能力, 这一现象可以通过回补胆固醇逆转^[38]。同样, Wudiri 等^[39] 发现细胞内胆固醇的消耗显著抑制了 HSV-1 的复制。

2.2 溶瘤病毒的复制依赖宿主糖酵解水平

与正常细胞不同的是, 肿瘤细胞主要以有氧糖酵解 (warburg effect) 的方式提供能量, 葡萄糖分子经己糖激酶 (hexokinase, HK)、磷酸果糖激酶 (phosphofructokinase, PFK)、丙酮酸激酶 (pyruvate kinase, PK)、丙酮酸脱氢酶激酶 (pyruvate dehydrogenase kinase, PDK) 和乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 等酶的催化, 最终生成乳酸^[40]。糖酵解生成的中间产物可作为肿瘤细胞中生物大分子合成的前体^[29, 41]。而病毒的复制与蛋白质合成依赖于宿主细胞提供的原料, 因此, 宿主细胞的糖酵解水平与溶瘤病毒的生物学功能息息相关。

鉴于糖酵解对肿瘤细胞具有重要作用, 病毒的复制能力或许与宿主糖酵解水平密切相关。目前这一结论在多种溶瘤病毒中得到证实。例如, 腺病毒感染增强了宿主细胞的糖酵解水平, 机制为腺病毒 E4ORF1 与 MYC 的结合, 增强了 MYC 对糖酵解基因的调控, 宿主糖酵解能力的增强进一步促进了病毒的复制^[42]。溶瘤 HSV-1 病毒感染增加了细胞中磷酸果糖激酶 1 (phosphofructokinase-1, PFK-1) 的表达^[43], 在对病毒感染不敏感的细胞中, 呼肠孤病毒的感染抑制了丙酮酸脱氢酶 (pyruvate dehydrogenase, PDH) 活性, 促进细胞有氧糖酵解的紊乱。而利用二氯乙酸盐 (sodium dichloroacetate, DCA) (PDH 激活剂) 处理或敲低 PDK1 增强 PDH 酶活性, 促进了病毒的感染、溶瘤能力^[44], 同样 DCA 也促进了新城疫病毒 NDV 的复制, 增强机体的抗肿瘤免疫^[45]。而抑制糖酵解

通路显著抑制了水疱性口炎病毒 (vesicular stomatitis virus, VSV) 的复制^[46]。令人意外的是, 也有文献表明抑制宿主糖酵解过程可以增强溶瘤病毒的抗肿瘤效应, 如联合 2-脱氧-D-葡萄糖 (2-deoxy-D-glucose, 2-DG) (被己糖激酶磷酸化生成 2-DG-P, 不能被磷酸葡萄糖异构酶进一步代谢) 抑制糖酵解过程, 可以提高腺病毒的复制能力, 进而增强病毒的溶瘤效应^[47]。利用 HK 抑制剂 D-甘露庚糖 (通过竞争性地与己糖激酶结合来阻断葡萄糖的磷酸化)、2-DG 在 NDV 上也得到了类似结论^[48-49]。

2.3 溶瘤病毒的复制依赖宿主的谷氨酰胺、核苷酸代谢水平

溶瘤病毒的感染、复制除了依赖宿主的糖代谢途径, 谷氨酰胺代谢途径同样必不可少。谷氨酰胺作为肿瘤细胞重要的能量来源, 被转化为 α 酮戊二酸 (α -ketoglutaric acid, α KG), 作为三羧酸循环的中间体, 参与生物大分子的合成。最新研究发现, 相对于葡萄糖, 肿瘤细胞更依赖于谷氨酰胺代谢维持增殖状态^[50]。溶瘤病毒的复制一定程度上与增殖的肿瘤细胞类似, 都依赖于谷氨酰胺代谢参与生物大分子的合成。例如, VSV 感染的肿瘤细胞中谷氨酰胺代谢增强, 促进了 VSV 的复制, 而抑制宿主的谷氨酰胺代谢, 病毒的复制显著降低^[46]。同样, 腺病毒的复制也依赖于谷氨酰胺代谢, 在无谷氨酰胺的 A549 细胞中, 腺病毒的基因组以极低水平进行复制, 这种状态可通过添加外源性二甲基 α 酮戊二酸 (dimethyl α -ketoglutaric acid, dmaKG) 逆转^[47]。

核苷酸代谢在溶瘤病毒的复制中同样起到重要作用。核苷酸是组成核酸的基本单位。核苷酸可以进一步水解为核苷 (nucleoside) 和磷酸, 核苷又可以水解为戊糖 (pentose) 和碱基 (base)。核苷酸根据碱基组成不同分为嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸两大类。5-磷酸核糖是核酸和核苷酸的组成成分, 是嘌呤核苷酸合成的原料, 在人体中主要由磷酸戊糖途径生成。这两种核苷酸的代谢均包括合成和分解代谢。其中合成代谢包括从头合成和补救合成两种途径。与正常细胞不同的是, 肿瘤细胞快速增殖所需的嘧啶核苷酸合成以补救途径为主, TK 是该途径的限速酶。因此, HSV 中 TK 功能的缺失, 使得病毒只能在肿瘤细胞中特异性复制。

Boviatis 等^[51] 研究表明, HSV 中参与核酸代谢的酶如 TK 和核糖核酸还原酶 (RNA reductase,

RR) 突变, 可使病毒优先靶向于大鼠脑胶质瘤。RR 由两个亚基 R1 和 R2 组成, 是宿主细胞中 dNTP 合成的限速步骤。有的病毒如 HSV、VV 也能编码 RR。有报道显示, 痘病毒 R2 亚基与宿主中 R1 亚

基能够形成复合物, 为病毒的复制提供足够 dNTP^[52]。与之相对应的是, 利用双嘧达莫和地拉卓片, 两种平衡核苷转运体 1 抑制剂, 增强 RR 的活性可以促进溶瘤 HSV 在肿瘤细胞中的复制^[53]。

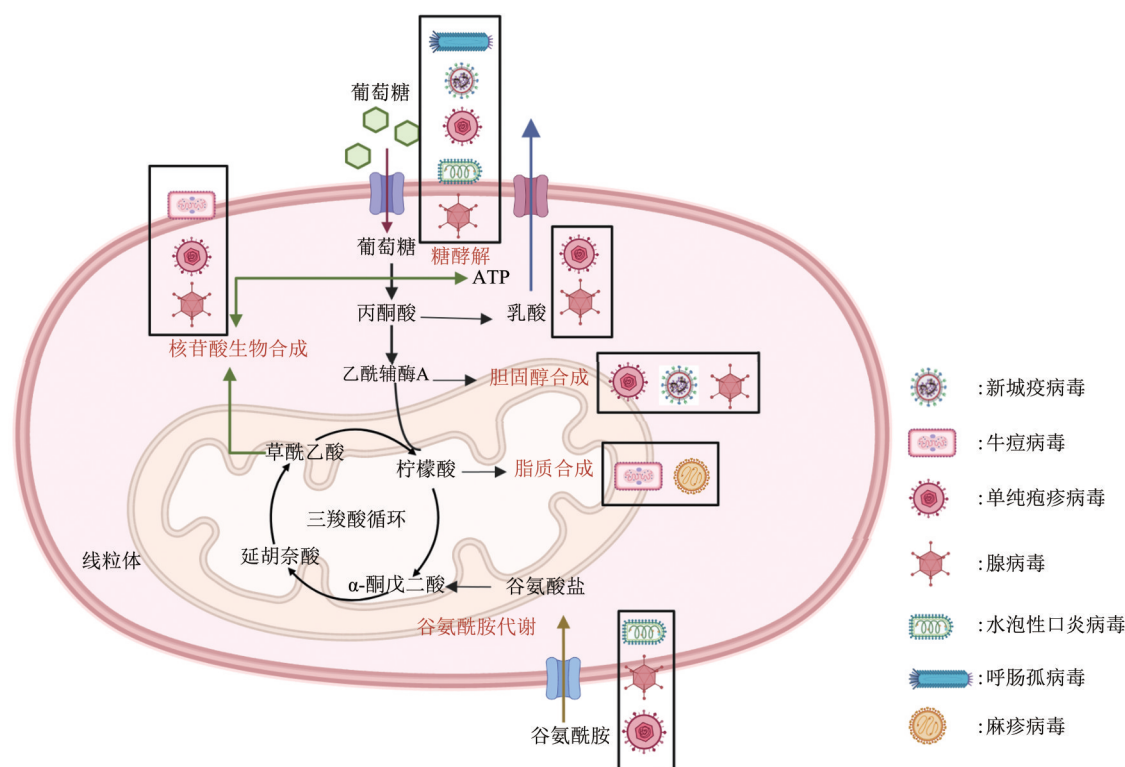


Fig. 1 Interaction of oncolytic virus and cell metabolism

图1 溶瘤病毒与细胞代谢的相互作用

溶瘤病毒的生物学功能依赖于肿瘤细胞的多种代谢途径 (Biorender网站绘制)。

3 前景与展望

溶瘤病毒因具有特异性靶向肿瘤、诱导抗肿瘤免疫等特征, 作为一种理想的药物递送系统而获得人们更多的关注。但目前对溶瘤病毒的认识和改造仍有许多局限, 即便是当前已经应用于临床的溶瘤病毒药物, 如 H101 和 T-Vec, 其抗肿瘤效果也不尽如人意。如何进一步开发溶瘤病毒的潜力依然是一项充满挑战的课题。本文系统讨论了宿主细胞代谢与溶瘤病毒的联系, 试图就这一问题给出可能的答案。

联合溶瘤病毒靶向肿瘤或免疫细胞的代谢途径的调控策略是一个值得探索的方向。由于病毒依赖于宿主细胞的代谢途径完成其生物学过程, 调控宿主的代谢可以增强溶瘤病毒的感染、复制能力, 发

挥抗肿瘤效应。同时, 肿瘤细胞的代谢过程塑造了抑制性免疫微环境, 实验证明利用痘病毒表达毒素可以增强免疫微环境中 T 细胞对肿瘤的杀伤能力^[54]。这提示进一步开发溶瘤病毒离不开对肿瘤或免疫细胞中代谢变化的深入研究。

参 考 文 献

- [1] De Pace N. On the disappearance of an enormous vegetative cancer of the cervix without cure surgical. Ginecologia, 1912, 9: 82-89
- [2] Galanis E, Markovic S N, Suman V J, *et al*. Phase II trial of intravenous administration of Reolysin((R)) (Reovirus serotype-3-declaring strain) in patients with metastatic melanoma. Mol Ther, 2012, 20(10): 1998-2003
- [3] Sborov D W, Nuovo G J, Stiff A, *et al*. A phase I trial of single-agent reolysin in patients with relapsed multiple myeloma. Clin Cancer Res, 2014, 20(23): 5946-5955

- [4] Noonan A M, Farren M R, Geyer S M, *et al.* Randomized phase 2 trial of the oncolytic virus pelareorep (Reolysin) in upfront treatment of metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Mol Ther*, 2016, **24**(6): 1150-1158
- [5] Liang M. Oncorine, the world first oncolytic virus medicine and its update in China. *Curr Cancer Drug Targets*, 2018, **18**(2): 171-176
- [6] Sinkovics J, Horvath J. New developments in the virus therapy of cancer: a historical review. *Intervirology*, 1993, **36**(4): 193-214
- [7] Lawler S E, Speranza M C, Cho C F, *et al.* Oncolytic viruses in cancer treatment: a review. *JAMA Oncol*, 2017, **3**(6): 841-849
- [8] Kaufman H L, Kohlhapp F J, Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, **14**(9): 642-662
- [9] Liu B L, Robinson M, Han Z Q, *et al.* ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Ther*, 2003, **10**(4): 292-303
- [10] Hu J C, Coffin R S, Davis C J, *et al.* A phase I study of OncoVEXGM-CSF, a second-generation oncolytic herpes simplex virus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin Cancer Res*, 2006, **12**(22): 6737-6747
- [11] Andtbacka R H, Kaufman H L, Collichio F, *et al.* Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol*, 2015, **33**(25): 2780-2788
- [12] Andtbacka R H I, Collichio F, Harrington K J, *et al.* Final analyses of OPTiM: a randomized phase III trial of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in unresectable stage III-IV melanoma. *J Immunother Cancer*, 2019, **7**(1): 145
- [13] Kaufman H L, Andtbacka R H I, Collichio F A, *et al.* Durable response rate as an endpoint in cancer immunotherapy: insights from oncolytic virus clinical trials. *J Immunother Cancer*, 2017, **5**(1): 72
- [14] Mastrangelo M J, Maguire H C, Jr., Eisenlohr L C, *et al.* Intratumoral recombinant GM-CSF-encoding virus as gene therapy in patients with cutaneous melanoma. *Cancer Gene Ther*, 1999, **6**(5): 409-422
- [15] Park B H, Hwang T, Liu T-C, *et al.* Use of a targeted oncolytic poxvirus, JX-594, in patients with refractory primary or metastatic liver cancer: a phase I trial. *Lancet Oncol*, 2008, **9**(6): 533-542
- [16] Heo J, Reid T, Ruo L, *et al.* Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer. *Nat Med*, 2013, **19**(3): 329-336
- [17] Gollamudi R, Ghalib M H, Desai K K, *et al.* Intravenous administration of Reolysin, a live replication competent RNA virus is safe in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs*, 2010, **28**(5): 641-649
- [18] Mahalingam D, Goel S, Aparo S, *et al.* A phase II study of pelareorep (REOLYSIN((R))) in combination with Gemcitabine for patients with advanced pancreatic adenocarcinoma. *Cancers (Basel)*, 2018, **10**(6): 160
- [19] Mahalingam D, Fountzilias C, Moseley J, *et al.* A phase II study of REOLYSIN((R)) (pelareorep) in combination with carboplatin and paclitaxel for patients with advanced malignant melanoma. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2017, **79**(4): 697-703
- [20] Senzer N, Mani S, Rosemurgy A, *et al.* TNFerade biologic, an adenovector with a radiation-inducible promoter, carrying the human tumor necrosis factor alpha gene: a phase I study in patients with solid tumors. *J Clin Oncol*, 2004, **22**(4): 592-601
- [21] Herman J M, Wild A T, Wang H, *et al.* Randomized phase III multi-institutional study of TNFerade biologic with fluorouracil and radiotherapy for locally advanced pancreatic cancer: final results. *J Clin Oncol*, 2013, **31**(7): 886-894
- [22] Martinez-Reyes I, Chandel N S. Cancer metabolism: looking forward. *Nat Rev Cancer*, 2021, **21**(10): 669-680
- [23] Martinez-Velez N, Garcia-Moure M, Marigil M, *et al.* The oncolytic virus Delta-24-RGD elicits an antitumor effect in pediatric glioma and DIPG mouse models. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 2235
- [24] Garcia-Moure M, Gonzalez-Huarriz M, Labiano S, *et al.* Delta-24-RGD, an oncolytic adenovirus, increases survival and promotes proinflammatory immune landscape remodeling in models of AT/RT and CNS-PNET. *Clin Cancer Res*, 2021, **27**(6): 1807-1820
- [25] Baker A T, Boyd R J, Sarkar D, *et al.* ChAdOx1 interacts with CAR and PF4 with implications for thrombosis with thrombocytopenia syndrome. *Sci Adv*, 2021, **7**(49): eabl8213
- [26] Xu L, Zheng Q, Zhu R, *et al.* Cryo-EM structures reveal the molecular basis of receptor-initiated coxsackievirus uncoating. *Cell Host Microbe*, 2021, **29**(3): 448-462. e5
- [27] Wu D, Sanin D E, Everts B, *et al.* Type 1 interferons induce changes in Core Metabolism that are critical for immune function. *Immunity*, 2016, **44**(6): 1325-1336
- [28] Van Eyndhoven L C, Singh A, Tel J. Decoding the dynamics of multilayered stochastic antiviral IFN-I responses. *Trends Immunol*, 2021, **42**(9): 824-839
- [29] Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, **144**(5): 646-674
- [30] Rivadeneira D B, Delgoffe G M. Antitumor T-cell reconditioning: improving metabolic fitness for optimal cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res*, 2018, **24**(11): 2473-2481
- [31] Lange P T, Lagunoff M, Tarakanova V L. Chewing the fat: the conserved ability of DNA viruses to hijack cellular lipid metabolism. *Viruses*, 2019, **11**(2): 119
- [32] Lv Y, Zhou D, Hao X Q, *et al.* A recombinant measles virus vaccine strain rMV-Hu191 has oncolytic effect against human gastric cancer by inducing apoptotic cell death requiring integrity of lipid raft microdomains. *Cancer Lett*, 2019, **28**(460): 108-118
- [33] Byrd D, Amet T, Hu N, *et al.* Primary human leukocyte subsets differentially express vaccinia virus receptors enriched in lipid rafts. *J Virol*, 2013, **87**(16): 9301-9312
- [34] Chung C S, Huang C Y, Chang W. Vaccinia virus penetration requires cholesterol and results in specific viral envelope proteins associated with lipid rafts. *J Virol*, 2005, **79**(3): 1623-1634
- [35] Liu Y, Chen L, Gong Z, *et al.* Lovastatin enhances adenovirus-mediated TRAIL induced apoptosis by depleting cholesterol of

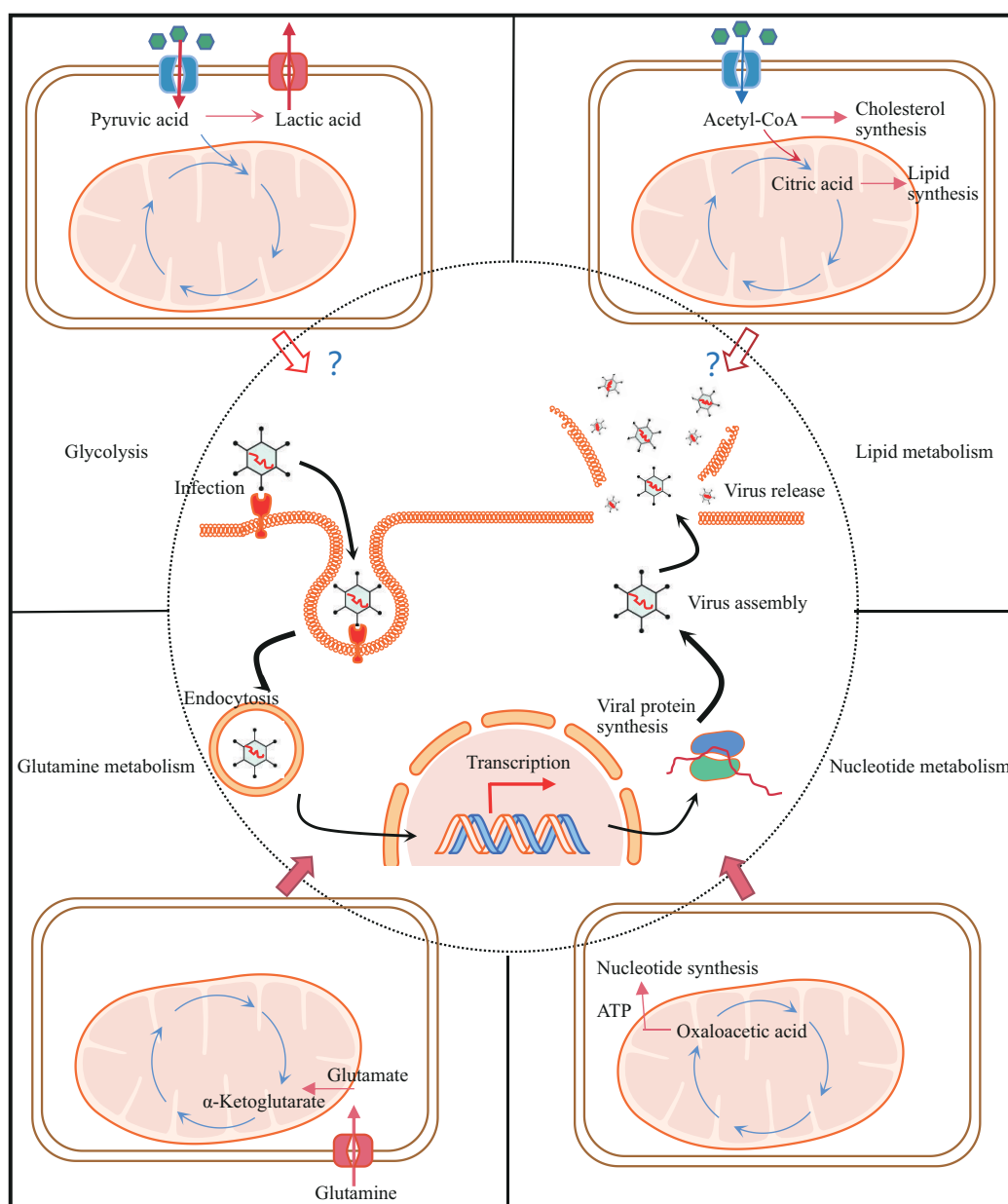
- lipid rafts and affecting CAR and death receptor expression of prostate cancer cells. *Oncotarget*, 2015, **6**(5): 3055-3070
- [36] Xiao J, Li W, Zheng X, *et al.* Targeting 7-dehydrocholesterol reductase integrates cholesterol metabolism and IRF3 activation to eliminate infection. *Immunity*, 2020, **52**(1): 109-122 e106
- [37] Cianciola N L, Chung S, Manor D, *et al.* Adenovirus modulates Toll-Like Receptor 4 signaling by reprogramming ORP1L-VAP protein contacts for cholesterol transport from endosomes to the endoplasmic reticulum. *J Virol*, 2017, **91**(6): e01904-16
- [38] Sheng X X, Sun Y J, Zhan Y, *et al.* The LXR ligand GW3965 inhibits Newcastle disease virus infection by affecting cholesterol homeostasis. *Arch Virol*, 2016, **161**(9): 2491-2501
- [39] Wudiri G A, Nicola A V. Cellular cholesterol facilitates the postentry replication cycle of herpes simplex virus 1. *J Virol*, 2017, **91**(14): e00445-17
- [40] 左茹娟, 杨增明. 瓦氏效应——哺乳动物生殖过程中的有氧糖酵解. *生物化学与生物物理进展*, 2015, **42**(2): 132-139
- Zuo R J, YANG Z M. *Prog Biochem Biophys*, 2015, **42**(2): 132-139
- [41] Vander Heiden M G, Cantley L C, Thompson C B. Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation. *Science*, 2009, **324**(5930): 1029-1033
- [42] Thai M, Graham N A, Braas D, *et al.* Adenovirus E4ORF1-induced MYC activation promotes host cell anabolic glucose metabolism and virus replication. *Cell Metab*, 2014, **19**(4): 694-701
- [43] Abrantes J L, Alves C M, Costa J, *et al.* Herpes simplex type 1 activates glycolysis through engagement of the enzyme 6-phosphofructo-1-kinase (PFK-1). *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1822**(8): 1198-1206
- [44] Kennedy B E, Murphy J P, Clements D R, *et al.* Inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase enhances the antitumor efficacy of oncolytic reovirus. *Cancer Res*, 2019, **79**(15): 3824-3836
- [45] Meng G, Li B, Chen A, *et al.* Targeting aerobic glycolysis by dichloroacetate improves Newcastle disease virus-mediated viro-immunotherapy in hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer*, 2020, **122**(1): 111-120
- [46] Zhou Y, Wen F, Zhang P, *et al.* Vesicular stomatitis virus is a potent agent for the treatment of malignant ascites. *Oncol Rep*, 2016, **35**(3): 1573-1581
- [47] Dyer A, Schoeps B, Frost S, *et al.* Antagonism of glycolysis and reductive carboxylation of glutamine potentiates activity of oncolytic adenoviruses in cancer cells. *Cancer Res*, 2019, **79**(2): 331-345
- [48] Al-Ziaydi A G, Al-Shammari A M, Hamzah M I, *et al.* Hexokinase inhibition using D-mannoheptulose enhances oncolytic newcastle disease virus-mediated killing of breast cancer cells. *Cancer Cell Int*, 2020, **28**(20): 420
- [49] Al-Shammari A M, Abdullah A H, Allami Z M, *et al.* 2-Deoxyglucose and Newcastle disease virus synergize to kill breast cancer cells by inhibition of glycolysis pathway through glyceraldehyde3-phosphate downregulation. *Front Mol Biosci*, 2019, **27**(6): 90
- [50] Reinfield B I, Madden M Z, Wolf M M, *et al.* Cell-programmed nutrient partitioning in the tumour microenvironment. *Nature*, 2021, **593**(7858): 282-288
- [51] Boviatsis E J, Scharf J M, Chase M, *et al.* Antitumor activity and reporter gene transfer into rat brain neoplasms inoculated with herpes simplex virus vectors defective in thymidine kinase or ribonucleotide reductase. *Gene Ther*, 1994, **1**(5): 323-331
- [52] Gammon D B, Gowrishankar B, Durafour S, *et al.* Vaccinia virus-encoded ribonucleotide reductase subunits are differentially required for replication and pathogenesis. *PLoS Pathog*, 2010, **6**(7): e1000984
- [53] Passer B J, Cheema T, Zhou B, *et al.* Identification of the ENT1 antagonists dipyridamole and dilazep as amplifiers of oncolytic herpes simplex virus-1 replication. *Cancer Res*, 2010, **70**(10): 3890-3895
- [54] Rivadeneira D B, Depeaux K, Wang Y, *et al.* Oncolytic viruses engineered to enforce leptin expression reprogram tumor-Infiltrating T cell metabolism and promote tumor clearance. *Immunity*, 2019, **51**(3): 548-560. e544

The Regulation Strategy of Oncolytic Viruses by Targeting Host Metabolic Reprogramming*

KONG Ling-Kai, WU Jun-Hua**

(Jiangsu Key Laboratory of Molecular Medicine, Medical School of Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Graphical abstract



* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (81972888).

** Corresponding author.

Tel: 86-13770920883, E-mail: wujunhua@nju.edu.cn

Received: July 19, 2022 Accepted: November 29, 2022

Abstract Oncolytic viruses are a class of viruses that are naturally or genetically engineered to replicate specifically in tumor cells and exert anti-tumor effects. The anti-tumor effect of oncolytic virus is mainly achieved through the following two aspects: (1) direct oncolytic effect, such as inducing apoptosis of tumor cells and promoting cell lysis; (2) as a drug that activates immunity, oncolytic viruses induce the body to produce strong anti-tumor immunity and achieve the purpose of clearing tumors. As an important branch of immunotherapy, oncolytic viral therapy has become a research hotspot in this field due to its tumor specificity and convenient genetic modification. Until now, only four products have been approved for marketing, despite more than 100 cases of oncolytic viral therapies in the recruitment and completion stages of clinical trials. There continue to be many challenges in the application of oncolytic therapy in oncology treatment. Therefore, a systematic review of oncolytic virus modification strategies and an in-depth understanding of the biological processes of oncolytic viruses are all the more necessary. Viruses are host-dependent in their replication and proliferation processes, and their biological processes are closely related to the metabolic state of the host. The hallmark feature of tumors is metabolic reprogramming, the process by which tumor cells reconsider their metabolic networks to meet the demands of exponential growth and proliferation and to prevent oxidative stress. This typically includes enhanced glycolysis and glutaminolysis, as well as changes in mitochondrial function and redox homeostasis. The replication of oncolytic viruses requires the synthesis of biological macromolecules, such as amino acids, lipids, nucleotides, *etc.* Viruses themselves do not encode relevant enzymes, so they often need to use the metabolic pathways of their host cells to synthesize the substances they need. Enhancing the replication and oncolytic ability of oncolytic viruses by targeting host metabolic reprogramming is a promising direction. It has been shown that lipid metabolism and intermediates are one of the ways in which viruses engage in dialogue with their hosts, and lipid rafts are essential components for oncolytic viruses to perform their infection and replication functions. Cholesterol depletion in host cells has shown conflicting results, presumably related to the type of virus. For example, the dependence of envelope and non-envelope viruses on lipid synthesis may differ, although this needs more literature support. The idea that enhanced glycolytic levels in host cells promote the infection, replication, and anti-tumor effects of oncolytic viruses is equally controversial. Oncolytic viruses replicate to a degree comparable to that of proliferative tumor cells, and both rely on glutamine metabolism to participate in the synthesis of biological macromolecules. Adenoviruses and VSV are significantly less able to replicate in states where the glutamine metabolic pathway is suppressed. Similarly, the level of host nucleotide metabolism is closely related to the replication capacity of oncolytic viruses, and enhancing RNA reductase (RR) activity can promote HSV replication in tumors. Therefore, the use of oncolytic viruses to regulate host metabolic reprogramming, or in combination with drugs that can regulate host metabolism, is one of the directions to further improve oncolytic virus anti-tumor efficacy.

Key words oncolytic virus, immunotherapy, clinical trials, metabolic reprogramming, genetic modification

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0332