



林园, 中山大学药理学副教授, 国家重点研发计划青年科学家, 中山大学逸仙计划新锐学者。长期从事新型溶瘤病毒的基础和应用基础研究, 发现了我国原创的静脉注射型溶瘤病毒M1, 并围绕其靶向性、安全性和耐药性机制展开研究, 获得了预测性生物标志物组合以及系列增效药物。在溶瘤病毒领域发表了30篇具有国际影响力的学术论文, 刊登于*Sci Transl Med*、*PNAS*、*Nat Commun*等期刊。主持国家重点研发计划、国家自然科学基金、广东省自然科学基金等科研项目。系列基础研究工作推动了新型溶瘤病毒M1在中国和日本进入I期临床试验。

溶瘤病毒的肿瘤治疗进展

赵语瞳 林园*

(中山大学中山医学院, 广州 510080)

摘要 溶瘤病毒(oncolytic viruses, OV)是一种具有发展潜力的肿瘤免疫治疗方法, 是天然或经基因改造后对肿瘤具有靶向性的DNA病毒和RNA病毒。溶瘤病毒具有肿瘤靶向性、作为载体传递多种转基因表达、诱导免疫性细胞死亡和促进抗肿瘤免疫反应等优点, 而且具有可耐受的安全性。该文将从溶瘤病毒的发展历程、分类、作用机制、改造策略、生物标志物和临床应用的研究现状和现存问题展开综述。

关键词 肿瘤; 溶瘤病毒; 免疫治疗; 基因改造; 生物标志物

Advances of Oncolytic Viruses in Tumor Therapy

ZHAO Yutong, LIN Yuan*

(Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract OV (oncolytic viruses) are promising immunotherapy for tumors, which are DNA viruses and RNA viruses that are naturally or genetically modified to target tumors. Oncolytic viruses have the advantages of tumor targeting, acting as vectors to deliver multiple transgene expressions, inducing immune cell death, and promoting anti-tumor immune responses, and they have a tolerable safety profile. This paper will review the current research status and existing problems of oncolytic viruses in terms of their developmental history, classification, mechanism of action, modification strategies, biomarkers, and clinical applications.

Keywords tumor; oncolytic viruses; immunotherapy; genetic modification; biomarker

随着医学技术的发展, 现代医疗水平有了极大的提升, 然而恶性肿瘤仍然是严重威胁人类健康的重大疾病之一。传统的肿瘤治疗方法包括手术切除、

化疗和放疗三种, 都具有其各自的局限性。肿瘤免疫治疗是一种通过激活自身免疫系统来治疗癌症的方法, 由于具有副作用小、疗效持久和治疗可个性化

收稿日期: 2023-10-30 接受日期: 2023-12-06

国家重点研发计划(批准号: 2021YFA0909800)资助的课题

*通讯作者: Tel: 020-87333258, E-mail: liny96@mail.sysu.edu.cn

Received: October 30, 2023

Accepted: December 6, 2023

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant No.2021YFA0909800)

*Corresponding author. Tel: +86-20-87333258, E-mail: liny96@mail.sysu.edu.cn

等优点被广泛研究并成为肿瘤治疗的第四种手段。溶瘤病毒(oncolytic viruses, OV)作为肿瘤免疫治疗的一种方式,是天然存在或经基因工程改造,能选择性感染并杀伤肿瘤细胞且对正常细胞无毒副作用的病毒的总称。目前为止,在全球范围内共有四款溶瘤病毒药物被批准上市。此外,目前还有多达几十种溶瘤病毒药物处于临床试验阶段^[1]。溶瘤病毒最初是作为直接细胞毒性制剂开发的,目前作为一种免疫疗法,已被越来越多的人所认识,然而其药物的临床转化也面临诸多挑战。

1 溶瘤病毒的发现历程及分类

1.1 溶瘤病毒发现历程

20世纪初期,意外出现恶性肿瘤病人在严重病毒感染或接种病毒减毒疫苗后,病情好转的情况,引发了对于病毒潜在的抗癌作用的研究,开启了病毒治疗肿瘤的历史^[2-3]。20世纪50—70年代出现过短暂的溶瘤病毒研究热潮,这一时期的病毒疗法临床试验多采用野生型病毒进行^[4]。但由于溶瘤病毒易于被人体免疫系统清除而导致疗效持续性差,相关研究陷入瓶颈。直到上个世纪90年代,分子生物学和生物技术的进步推动了重组病毒基因组改造技术的发展,溶瘤病毒在溶瘤效果、安全性及特异性方面都有了显著进步。1991年,人类首次对1型单纯疱疹病毒(herpes simplex virus-1, HSV-1)进行了胸苷激酶敲除基因改造,建立了能抑制恶性脑肿瘤细胞并具复制活性的

溶瘤病毒株,溶瘤病毒治疗开始了快速发展^[5]。1997年,一种E1B基因减弱的腺病毒ONYX-015被证明具有肿瘤细胞特异性溶解能力^[6]。2004年第一款溶瘤病毒药物非致病性的7型人类肠道细胞病变孤儿病毒(enteric cytopathic human orphan virus-7, ECHO-7) Rigvir在拉脱维亚被批准用于治疗黑色素瘤^[7]。2005年,中国批准重组人5型腺病毒H101与细胞毒化疗联合用于鼻咽癌的治疗^[8]。2015年,美国食品和药物管理局批准了T-VEC(Talimogene laherparepvec),一种插入了粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)编码基因的HSV-1减毒剂,用于初次手术后复发黑色素瘤患者不可切除的皮肤、皮下和结节病变的局部治疗^[9]。2017年,溶瘤病毒T-VEC与PD-1抗肿瘤药物联合用于黑色素瘤,肿瘤缓解率高达62%,其中33%达到了完全缓解,掀起了溶瘤病毒免疫联合疗法研究的热潮^[10]。2021年Tespaturev/G47Δ(Delytact)在日本附条件上市,被批准用于治疗恶性胶质瘤^[11](图1)。

1.2 DNA溶瘤病毒与RNA溶瘤病毒

溶瘤病毒与其他病毒一样主要由遗传物质和外层蛋白衣壳构成,部分在衣壳外还有脂质包膜^[12]。根据遗传物质类型和结构的不同,可以将溶瘤病毒分为单链或双链DNA或RNA溶瘤病毒。虽然在哺乳动物细胞中能够发挥溶瘤活性的DNA病毒和RNA病毒都有,但由于目前对DNA病毒的分子生物学和生命周期了解得更透彻,大多数溶瘤病毒临床

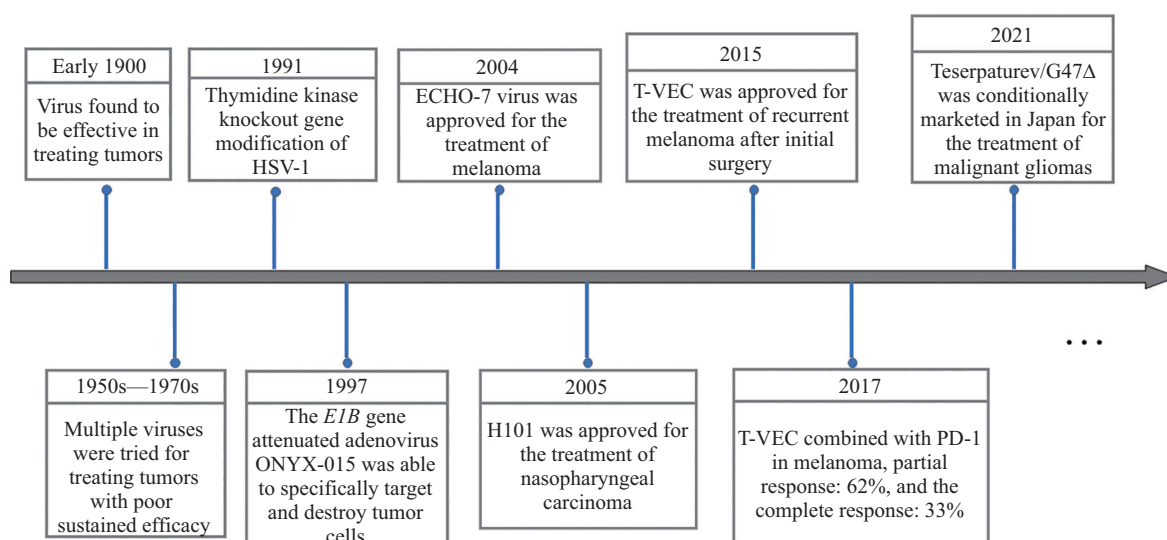


图1 溶瘤病毒发展历程

Fig.1 Development history of oncolytic viruses

表1 部分溶瘤病毒分类及特性

Table 1 Classification and characterization of selected oncolytic viruses

基因组 Genome	病毒家族 Virus family	举例 Examples	天然肿瘤靶向性 Natural tumor targeting
ssDNA	Parvovirus	H-1PV ^[18]	Yes
	Adenoviruses	Onyx-15, H101 ^[19]	No
dsDNA	Herpes simplex viruses	T-VEC ^[20] , Delytact ^[11]	No
	Vaccinia viruses	Pexa-Vec ^[21]	No
ss(+)RNA	Alphaviruses	M1 ^[22]	Yes
	Poliovirus	PVSRIP0 ^[23]	Yes
ss(-)RNA	Newcastle disease viruses	PV701 ^[24]	Yes
dsRNA	Reoviruses	Reolysin ^[25]	Yes

研究使用的是DNA病毒^[1]。DNA病毒基因组容量较大,可以在不影响病毒复制的情况下进行编辑以表达大型真核转基因,提高治疗活性或免疫调节能力;DNA聚合酶的高保真性使得病毒基因组的完整性和高效复制得以保证;并且DNA病毒基因组的核整合风险较低^[13]。RNA病毒比DNA病毒小,尽管小基因组限制了它们编码大型转基因的能力,但它们可以穿过血脑屏障,从而可以靶向中枢神经系统的肿瘤^[14];由于人类对某些RNA病毒的原有免疫力较低,因此,它们更适合全身给药^[12];另外RNA病毒通常复制速度更快,且能诱导较强的I型干扰素反应^[15]。目前常被研究的DNA溶瘤病毒包括腺病毒、单纯疱疹病毒和痘苗病毒等, RNA溶瘤病毒包括呼肠孤病毒和甲病毒等。两者各有优势,不同病毒家族的溶瘤能力、免疫原性、转基因包装能力以及安全性等特性是指导研究者们根据不同肿瘤类型选择合适溶瘤病毒的重要指标。

1.3 天然溶瘤病毒与基因改造溶瘤病毒

至今已有数十种病毒用于溶瘤病毒的研究。根据来源可以将其分为天然具有肿瘤选择性的病毒以及经过基因重组的病毒。具有代表性的天然溶瘤病毒有呼肠孤病毒、溶瘤病毒M1和新城疫病毒等。而腺病毒、单纯疱疹病毒和痘苗病毒等可通过基因改造而广泛应用于溶瘤病毒的抗肿瘤治疗研究^[16]。这三种病毒的抗肿瘤特性被广泛研究, Clinical Trials网站的注册数据显示,基于这三种病毒改造的溶瘤病毒的临床研究数量较多^[17](表1)。

2 溶瘤病毒的抗肿瘤机制

2.1 直接裂解肿瘤细胞

溶瘤病毒的“嗜瘤”特性主要来自:(1)病毒可以与

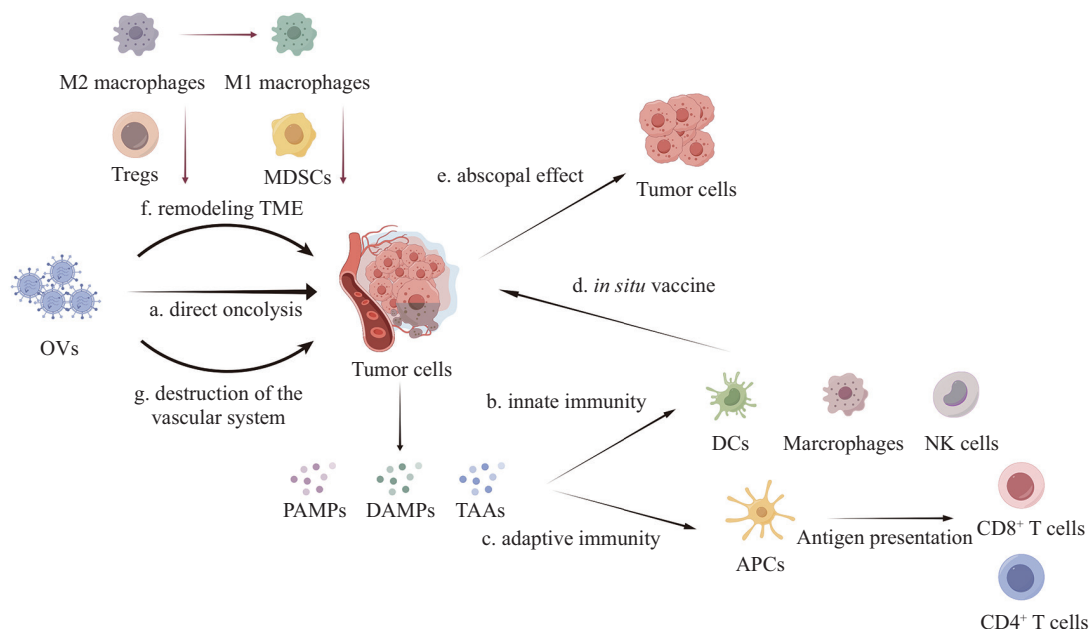
肿瘤细胞表面异常表达的受体结合进入肿瘤细胞^[26];(2)肿瘤细胞由于免疫反应缺陷,缺乏抗病毒反应的激活因子^[27];(3)将病毒基因置于组织特异性启动子的调节控制之下,调控转录过程可实现选择性复制^[12]。由于溶瘤病毒天然或经基因改造后具有对肿瘤细胞的趋向性,加之肿瘤细胞为确保自身增殖而产生的变化,例如表面受体表达能力增强、抗病毒信号转导和反应被破坏、新陈代谢活性升高、脱离细胞周期控制、有丝分裂通路过度激活以及避免细胞凋亡,都使恶性细胞环境非常有利于病毒复制^[28]。病毒的蛋白质和核酸合成影响了肿瘤细胞的相关合成机制,抑制肿瘤细胞蛋白质和核酸合成。形成的子代病毒颗粒通过细胞裂解被释放出来,破坏肿瘤细胞^[29]。接下来,释放的子代病毒会继续扩散到周围的肿瘤细胞,继续发挥溶瘤作用。

2.2 激活抗肿瘤免疫反应

溶瘤病毒裂解肿瘤细胞后,会诱导内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ER stress)和免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD),有助于激活肿瘤特异性免疫反应^[31]。ICD进一步造成细胞损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs)、病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)和肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAAs)的释放, DAMPs招募树突状细胞等固有免疫细胞浸润于肿瘤部位,激活固有免疫应答^[32]。树突状细胞等抗原递呈细胞(antigen-presenting cells, APCs)将处理过的肿瘤相关抗原与MHC II类和MHC I类分子复合物分别呈递给CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞,诱发适应性免疫^[33]。

2.3 原位疫苗及远端效应

溶瘤病毒裂解肿瘤细胞后造成DAMPs、PAMPs



DCs: 树突状细胞; TME: 肿瘤微环境; Tregs: 调节性T细胞; MDSCs: 骨髓来源的抑制性细胞。

DCs: dendritic cells; TME: tumor microenvironment; Tregs: regulatory T cells; MDSCs: myeloid-derived suppressor cells.

图2 溶瘤病毒抗肿瘤机制(本图采用Figdraw绘制)

Fig.2 Anti-tumor mechanism of oncolytic viruses (by Figdraw)

以及TAAs大量释放,将自然杀伤细胞(natural kill cells, NK cells)和APCs招募到感染部位,最终激活肿瘤特异性T细胞。活化的免疫细胞释放细胞因子和趋化因子,形成一个具有强烈炎症反应的免疫炎症部位,起到原位疫苗作用^[34]。此外,溶瘤病毒还可以通过交叉递呈作用,促使远端未受感染的病灶产生免疫反应而发生肿瘤消退的现象,产生远端效应^[35]。基于以上两个机制,溶瘤病毒可能适合用作肿瘤的新辅助治疗。

2.4 调节肿瘤微环境

肿瘤微环境是肿瘤发生及生长的环境,由免疫细胞和成纤维细胞等细胞、细胞外基质和各类信号分子等组成的复杂的网络系统。癌症的一些关键特征如维持增殖信号、抵抗细胞死亡、诱导血管生成、激活侵袭和转移、引发肿瘤促进炎症以及逃避免疫破坏都在一定程度上依赖于肿瘤微环境^[36]。在肿瘤微环境中血管功能失调会影响免疫细胞浸润;成纤维细胞分泌的趋化因子可选择性地排斥效应T细胞,并且有利于免疫抑制性细胞的招募;同时基质细胞也能通过多种机制积极阻碍抗肿瘤免疫,包括表达抑制性受体、产生诱导T细胞凋亡的分子和分泌免疫抑制因子^[37]。这种微环境处于免疫抑制状态的肿瘤可以被称为在免疫学上的“冷”肿瘤。溶瘤病毒的感染可增

强免疫细胞在肿瘤部位的浸润能力和活性并且减少免疫抑制型细胞的数量,使其转为抗肿瘤表型,从而克服肿瘤组织内的免疫抑制,将“冷”肿瘤转变为“热”肿瘤^[38]。这对于提升其余抗肿瘤免疫疗法的反应性,扩大治疗肿瘤类型和患者群体具有显著意义^[39]。

2.5 破坏肿瘤血管

肿瘤的发展需要细胞持续的分裂增殖,该过程亟需充足的营养供应,因此破坏肿瘤的血管系统并阻止新生血管形成,也有利于抑制肿瘤生长。目前针对抗血管生成治疗肿瘤的药物已有多款被美国FDA所批准^[40]。目前也有多个研究证明溶瘤病毒可以通过破坏肿瘤血管发挥抗肿瘤作用。例如,静脉注射水泡性口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)可直接感染并破坏体内肿瘤血管,病毒在肿瘤新生血管中复制并在肿瘤块内扩散,引发炎症反应,并且正常血管不受影响^[41]。然而血管的关闭往往也伴随溶瘤病毒无法在肿瘤部位驻留和复制,且影响后续免疫细胞的运输和浸润^[42]。因此,溶瘤病毒通过破坏肿瘤血管新生对肿瘤治疗产生的作用还需要进一步深入研究,以达到对溶瘤病毒机制的深入理解(图2)。

3 溶瘤病毒的基因改造方法

在溶瘤病毒研究的早期,主要针对的是野生型

或天然存在的病毒,例如西尼罗河病毒、狂犬病病毒、黄热病病毒和肝炎病毒等,其抗肿瘤机制也被简单认为是病毒固有的细胞溶解能力^[3]。进入21世纪,研究者们开始通过基因工程对野生型病毒进行一系列改造。随着对溶瘤病毒作用机制的深入理解,基因改造的目的也从一开始的提高靶标特异性、选择性复制和溶瘤效果,拓展到现在通过病毒载体增强肿瘤内的免疫反应,调整肿瘤新生血管、肿瘤代谢等其他方面^[43](图3)。

3.1 提高溶瘤病毒的肿瘤靶向性、复制能力

不同的病毒对于各类型的肿瘤细胞具有不同的亲和性,具有天然肿瘤靶向性的溶瘤病毒往往可以与肿瘤细胞表面过表达的受体结合,例如脊髓灰质炎病毒可以与肿瘤细胞表面广泛过表达的CD155结合,因此脊髓灰质炎病毒对肿瘤具有天然选择性^[44]。或者肿瘤细胞中信号通路蛋白表达的异常恰好提供病毒复制的条件,例如多种肿瘤中存在大鼠肉瘤(rat sarcoma, *RAS*)基因突变,而激活的RAS通路有利于呼肠孤病毒的复制及后续溶瘤作用的发挥^[45]。溶瘤病毒M1也是因为肿瘤细胞中广泛缺乏干扰其复制的锌指抗病毒蛋白而具有选择性的溶瘤效应^[46]。因此,在针对溶瘤病毒的靶向性和复制能力进行改造的过程中可以从这两个方面进行尝试。

首先是提高病毒与肿瘤表面过表达受体的识别能力和结合活性。C亚群腺病毒可以通过柯萨奇腺病毒受体(coxsackie and adenovirus receptor, CAR)进入肿瘤细胞发挥溶瘤效果,但其作用往往受限于肿瘤细胞表面该受体的低表达水平^[47]。针对这个问题,研究者将两种血清型的腺病毒进行嵌合构建出Ad5/3luc1,这种重组病毒既可以通过CAR进入肿瘤细胞,也可以通过肿瘤细胞表面广泛表达的CD46进入细胞发挥溶瘤效果^[48]。也有研究者采用具有双特异性异源再靶向配体进行病毒改造,该配体能与病毒纤维旋钮结构域和肿瘤相关抗原结合,在HSV-1中使用P-V528LH配体与表皮生长因子受体特异性单克隆抗体融合,可以达到病毒在乳腺癌和结直肠癌中的靶向作用^[49]。

其次可以利用肿瘤细胞中通路/蛋白表达的异常来差异化地提高病毒复制效率,从而提高靶向准确性。上市药物T-VEC就是通过删除编码感染细胞蛋白34.5(infected cell protein 34.5, ICP34.5)的基因*RL1*和编码ICP47的基因*US12*阻止病毒在正常细胞中的复制,同时不影响病毒在肿瘤细胞中的复制,从而实现肿瘤的靶向性^[9]。

3.2 提高溶瘤病毒诱发肿瘤免疫反应的能力

溶瘤病毒可以被设计携带免疫调节基因以增

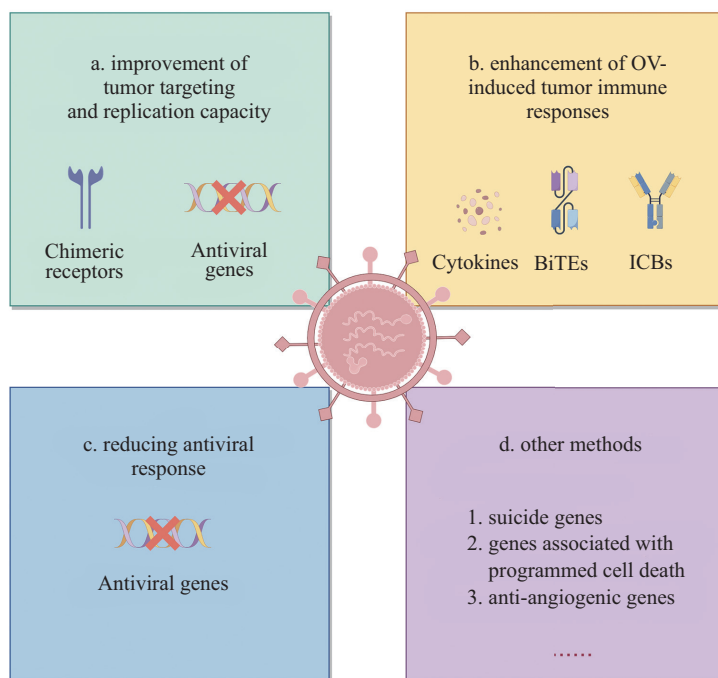


图3 溶瘤病毒基因改造方法(本图采用Figdraw绘制)

Fig.3 Genetic modification methods of oncolytic viruses (by Figdraw)

强免疫反应。其中最常使用的免疫调节基因之一是细胞因子。GM-CSF是一种调节细胞因子,在抗原递呈细胞的招募和成熟过程中发挥作用进而促进T细胞和NK细胞的募集从而发挥免疫促进作用^[50]。在溶瘤病毒T-VEC、基于痘苗病毒的JX-594以及5型腺病毒CG0070等多种溶瘤病毒的改造中都应用了这个方法^[51-53]。另外还可以设计编码白介素(IL-2、IL-12)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)或其他细胞因子的病毒,这些病毒可在局部激活后刺激淋巴细胞群的扩增^[54]。除了细胞因子以外,设计病毒携带趋化因子、双特异性或三特异性T细胞吞噬器(bi- or tri-specific T cell engager, BiTE or TriTE)或一些帮助逆转肿瘤抑制的结构也有利于溶瘤病毒引发抗肿瘤免疫的作用提升^[43]。另外,溶瘤病毒改造后携带具有调节免疫抑制分子作用的基因,有利于溶瘤病毒发挥逆转免疫抑制微环境的作用。

3.3 降低抗病毒反应

病毒进入正常细胞后,通过细胞表面受体和细胞质受体检测病毒颗粒,进而引发机体抗病毒反应^[55]。虽然与受感染的正常细胞相比,在肿瘤细胞中的抗病毒机制可能存在缺陷,但抗病毒反应仍然会影响病毒的持续存在及复制时间。对此研究者们开发出可以产生牛疱疹病毒UL49.5的HSV-1,UL49.5可以使与抗原处理相关的转运体(transporter associated with antigen processing, TAP)失活,从而使HSV-1能够躲避CD8⁺ T细胞介导的抗病毒反应^[56]。

3.4 溶瘤病毒改造的其他方法

在溶瘤病毒改造中,还可以利用肿瘤富集或组织特异性启动子在癌细胞中优先表达自杀基因,该自杀基因可以驱动一种特定的酶在肿瘤细胞中发挥作用,使惰性原药转化为细胞毒剂,从而发挥抗肿瘤作用^[13]。将与各类细胞程序性死亡相关的基因装配到溶瘤病毒的基因组中,有利于病毒诱导肿瘤细胞发生对应的细胞死亡^[43]。其他的改造方法包括插入抗血管生成、逆转代谢重编程、提高溶瘤病毒安全性等相关基因以达到对应方向的治疗作用提升。

4 溶瘤病毒相关生物标志物

生物标志物是经过客观测量和评估,作为正常生物过程、致病过程或治疗干预的药理反应的指

标^[57]。其中用于预测患者对某种治疗或干预措施疗效应答情况的生物标志物叫做预测性生物标志物,研究人员通过对其进行富集研究设计,可精准筛选出潜在获益的患者人群开展临床试验^[58]。在溶瘤病毒的治疗过程中,鉴别其对应生物标志物并开展伴随诊断对于药物合理使用具有重要意义。虽然目前还没有经临床确证的溶瘤病毒临床获益的预测性生物标志物,但潜在的生物标志物可以从肿瘤内在特征、免疫相关特征和全身特征中得到启发^[59]。例如,由于JAK激酶(Janus kinase, JAK)信号通路的缺乏可能影响抗病毒免疫反应的发生,与JAK1/2野生型细胞相比,携带JAK1/2功能缺失突变的肿瘤细胞在暴露于HSV-1和VSV时病毒具有更强的复制能力^[60]。临床前试验表明,在干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)缺陷的小鼠中,T-VEC的复制和肿瘤裂解能力上升^[61]。基于类似的研究,发现与细胞内抗病毒活性有关的因素可能是溶瘤病毒治疗的潜在生物标志物。另外,肿瘤细胞表面与溶瘤病毒相互识别并促进病毒进入肿瘤细胞的受体,也是溶瘤病毒治疗的潜在预测性生物标志物。例如,HSV-1可以通过肿瘤细胞表面疱疹病毒进入介质(herpes virus entry mediator, HVEM)和Nectin-1受体进入细胞发挥作用^[62]。另外,研究者通过表达克隆技术确定交界黏附分子(junction adhesion molecule, JAM)能够介导呼肠孤病毒附着、感染和细胞内信号转导^[63]。对肿瘤细胞表面过表达受体的筛查,有助于溶瘤病毒的选择及治疗的开展,但是这也需要进一步的临床试验进行验证。

另外对溶瘤病毒药效学生物标志物进行检测可以反映治疗的有效性,为剂量的确认和概念验证阶段适应症探索提供支撑。目前主要采用了四种基因表达策略进行溶瘤病毒药效学的检测:分析肿瘤细胞的整体基因表达、观察肿瘤细胞中几个特定基因的表达、关注病毒中引入的特定转基因的表达和跟踪某些病毒基因的表达^[64]。例如,研究者评估T细胞在暴露于被编码人类基因的重组痘苗病毒感染的自体树突状细胞后的基因表达变化,发现免疫球蛋白样转录物2(immunoglobulin-like transcript 2, ILT2)是痘苗病毒治疗反应的生物标志物^[65]。除了病毒本身进入体内后引起的基因表达变化外,如果病毒经改造后表达报告蛋白,对治疗后血清中报告蛋白含量的检测,也可反映病毒在肿瘤细胞中的感染情况^[66]。

5 溶瘤病毒的临床应用

5.1 单独使用溶瘤病毒

目前已上市并且仍在使用的T-VEC和Tesorparev均被批准用于单药治疗。除此以外还有许多处于临床试验及临床前试验阶段的病毒,其中大多是经过改造的(表2)。溶瘤病毒单药治疗主要可以通过瘤内注射和静脉内注射进行给药,目前已上市的几款溶瘤病毒药物均是采用瘤内注射的给药方式,同时T-VEC也是美国FDA批准的第一个瘤内注射免疫药物。瘤内注射具有治疗指数高、全身毒性低等优点;但同时存在操作难度高、不适用于转移瘤等缺陷^[67]。相应地,静脉注射虽然操作方便,但可能存在脱靶效应并引起全身不良反应。由于人类肿瘤在基因和表观上存在异质性,因此单药使用溶瘤病毒的范围受到限制^[68]。

5.2 溶瘤病毒联合其他方法治疗肿瘤

在溶瘤病毒的单药治疗过程中往往存在注射处病灶治疗效果优于远处病灶、病毒容易被体内免疫反应清除等问题。不过溶瘤病毒杀伤肿瘤的作用机制与其他抗肿瘤药物机制不同,并且毒性可控,这为溶瘤病毒与其他药物进行联合用药提供了机会。另外,溶瘤病毒由于其具有的肿瘤靶向性,还可以作为药物载体携带其他类型的抗肿瘤药物至肿瘤部位发挥作用。目前与溶瘤病毒进行联合用药研究的治疗方式包括各类免疫治疗、化疗、放疗和分子靶向药物等。

5.2.1 溶瘤病毒联合免疫治疗 肿瘤免疫治疗是通过主动或被动方式使机体产生肿瘤特异性免疫应

答,发挥其抑制和杀伤肿瘤细胞功能的治疗方法,主要作用靶标是机体的免疫系统而非肿瘤细胞,通过增强机体对肿瘤的自然免疫防御、重塑免疫微环境等方式清除肿瘤细胞,具有特异高效、副作用小等优点^[69]。目前研究较多的肿瘤免疫治疗包括免疫检查点抑制剂、过继性免疫细胞治疗、细胞因子疗法、溶瘤病毒疗法和肿瘤疫苗等。但是由于免疫系统的复杂性和高度调节性,单一的免疫治疗往往存在响应率低、个体差异大的缺点,限制了肿瘤免疫药物的应用范围^[70]。溶瘤病毒能够直接裂解肿瘤细胞,释放肿瘤相关抗原等免疫刺激因子招募免疫细胞,激活身体抗肿瘤免疫反应;通过抗原交叉呈递,溶瘤病毒引发机体产生肿瘤特异性的免疫反应攻击远端未受感染的肿瘤细胞;另外,若通过基因编辑使溶瘤病毒表达免疫调节基因,还可进一步增强溶瘤病毒引发的机体免疫反应。溶瘤病毒的治疗作用在很大程度上依赖于免疫反应的发生,这也为溶瘤病毒疗法与其他肿瘤免疫治疗的联合提供了机会。以免疫检查点抑制剂PD-1单抗为例,如果肿瘤内缺乏被PD-1及其配体PD-L1相互作用抑制的CD8⁺ T细胞,那么PD-1单抗将无法发挥作用^[71]。溶瘤病毒在肿瘤部位可以诱发免疫反应,并引发可溶性肿瘤抗原、危险信号和促炎细胞因子的释放,增加CD8⁺ T细胞在肿瘤微环境的浸润数量,有助于PD-1单抗发挥作用;另外,溶瘤病毒治疗会造成PD-L1在肿瘤微环境中的反应性表达,从而引发耐药,使用PD-1阻断剂则可以避免这种耐药机制,以上两个方面为溶瘤

表2 部分最新溶瘤病毒临床试验

Table 2 Selected recent oncolytic virus clinical trials

病毒 Virus	适应症 Indication	试验阶段 Status	给药方式 Route of administration	联合治疗 Combination therapy
DNX-2401 ^[86]	GBM	Phase I/II	Intratumoral	Pembrolizumab
CAN-3110 ^[87]	GBM	Phase I	Intratumoral	None
OBP-301 ^[88]	HCC	Phase I	Intratumoral	None
PexaVec ^[89-90]	CRC	Phase I/II	Intravenous	Durvalumab/tremelimumab
	STS	Phase II	Intravenous	Cyclophosphamide
ONCOS-102 ^[91]	MPM	Phase II	Intratumoral	Pemetrexed/platinum
T-VEC ^[20]	TNBC	Phase II	Intratumoral	NAC
M1-c6v1 (NCT06046742)	Solid tumors	Phase I	Intravenous	None
Enadenotucirev ^[92]	Epithelial cancer	Phase I	Intravenous	Nivolumab
V937 ^[93]	Solid tumors	Phase I	Intravenous	Pembrolizumab

GBM: 胶质母细胞瘤; HCC: 肝细胞癌; CRC: 结直肠癌; STS: 软组织肉瘤; MPM: 恶性胸膜间皮瘤; TNBC: 三阴性乳腺癌; NAC: 新辅助化学疗法。
GBM: glioblastoma; HCC: hepatocellular carcinoma; CRC: colorectal cancer; STS: soft-tissue sarcomas; MPM: malignant pleural mesothelioma; TNBC: triple-negative breast cancer; NAC: neoadjuvant chemotherapy.

病毒与PD-1阻断剂联合用药提供了理论支持。临床试验通过瘤内注射T-VEC和全身给药抗PD-1抗体Pembrolizumab对21例黑色素瘤进行治疗, 肿瘤缓解率高达62%, 其中33%为完全缓解^[10]。溶瘤病毒与过继性细胞疗法联用也展现出一定的潜能。嵌合抗原受体T(chimeric antigen receptor T, CAR-T)细胞在血液恶性肿瘤中取得了较好的临床抗肿瘤效果, 但恶性实体瘤的肿瘤微环境的高度免疫抑制作用以及CAR-T细胞的肿瘤浸润不足限制了它在实体瘤中的应用^[72]。研究者设计了一种含有趋化因子CXCL11的溶瘤腺病毒, 结果显示与单独使用CAR-T细胞相比, 联合用药促进了CAR-T细胞的后续招募, 同时对免疫抑制性肿瘤微环境进行了重编程^[73]。然而, 也有报道关于溶瘤病毒引发的I型干扰素反应限制了CAR-T细胞发挥抗肿瘤作用^[74]。因此目前仍需要进一步的研究以优化溶瘤病毒与其他免疫治疗的联合用药。

5.2.2 溶瘤病毒联合化疗 化疗药物作为肿瘤治疗的传统方式, 应用范围广, 特别是对于一些已经扩散转移的肿瘤, 化疗可作为首选的治疗方式。但由于其靶向性差, 副作用往往较大。化疗药物杀死肿瘤细胞后导致可溶性抗原的释放, 可能会增强溶瘤病毒进入暴露细胞的能力。ONYX-015是经过改造的腺病毒, 单独使用治疗复发性头颈癌的反应率仅为15%, 在一项II期临床试验中与化疗药物顺铂和5-氟尿嘧啶联合疗法使注射肿瘤的反应率达到65%^[75]。值得注意的是, 有报道指出化疗和溶瘤病毒用药的不同顺序导致不同疗效的现象^[76]。这也是未来在考虑化疗药物与溶瘤病毒联合药要时应该探究和解决的问题。

5.2.3 溶瘤病毒联合放疗 溶瘤病毒与放疗联用可以通过辐射增强病毒的溶解能力或增加病毒介导细胞对放疗的敏感性从而产生协同作用^[77]。例如, 临床前研究表明, 肿瘤选择性复制的溶瘤腺病毒Delta-24-RGD治疗会导致相关DNA损伤修复蛋白的下调, 从而使肿瘤细胞对放疗更加敏感, 与单一疗法相比, 联合治疗能显著增加免疫细胞在肿瘤微环境中的浸润数量^[78]。随后一项临床试验通过对患有弥漫性脑桥胶质瘤的患者注射Delta-24-RGD后采用放射疗法, 发现部分患者的T细胞活性发生了变化, 肿瘤体积缩小或趋于稳定, 为二者的联合治疗提供了支持^[79]。此外, T-VEC联合放疗在局部晚期软组织

肉瘤肿瘤患者中正在进行临床试验^[80]。然而在一项研究中将前列腺癌特异性腺病毒CV706与放疗联用后, 发现注射病毒后在不同时间进行放疗会产生不同的抗肿瘤效果, 提示在进行二者联用时把握给药的顺序和时机十分重要^[81]。

5.2.4 溶瘤病毒联合分子靶向药物 靶向药物可以辅助溶瘤病毒发挥作用, 以达到协同作用。首先是一些靶向药物可以拮抗体内的抗病毒途径以降低溶瘤病毒的免疫清除率。例如, JAK-1/2特异性抑制剂Ruxolitinib通过拮抗具有抗病毒作用的JAK/STAT信号转导, 促进VSV-IFN β 在非小细胞肺癌细胞中的复制, 同时增强其活性^[82]。其次靶向药物还可以增强肿瘤细胞对溶瘤病毒的敏感性, 逆转耐药性。例如, 使用BCL-2抑制剂EM20-25可能会改善耐药血液恶性肿瘤的VSV溶瘤效果^[83]。另外溶瘤病毒与靶向药物Bevacizumab联用还可以抑制血管生成, 并增加病毒在受感染组织中的数量, 提高其存活率^[84-85]。

6 展望

溶瘤病毒历经百年发展, 如今已成为最有潜力的抗肿瘤免疫治疗手段之一。溶瘤病毒的肿瘤靶向性使其具有毒副作用小的优势, 为肿瘤精准治疗提供了可能性。基因编辑技术的发展以及研究者们对病毒基因的深入认识实现了溶瘤病毒基因表达的调控, 更进一步为溶瘤病毒的有效性、安全性和治疗可持续性提供了保障。溶瘤病毒目前正处于快速发展的时期, 除了已经上市的四款药物以外, 大量溶瘤病毒单药或联合用药用于治疗肿瘤正在临床试验推进中。然而目前溶瘤病毒的发展也面临一些亟需解决的问题。多次给药后, 机体往往会产生抗病毒免疫反应, 因此调控抗肿瘤免疫与抗病毒免疫之间的平衡对于溶瘤病毒稳定发挥抗肿瘤疗效具有重要作用。目前溶瘤病毒的给药方式主要是瘤内注射, 这种给药方式一定程度上限制了溶瘤病毒在血液恶性肿瘤和转移性肿瘤病灶中的疗效。临床前研究动物模型也具有局限性, 例如人类红细胞表面存在CAR受体, 会阻止5型腺病毒的血液传播, 不利于病毒到达病灶部位, 然而在小鼠和恒河猴的红细胞上都不存在CAR^[94], 这提示临床前研究动物与人体的差异会影响药物的临床研究和应用。另外联合用药给药策略的制定、溶瘤病毒预测性生物标志物的鉴定和开发以及转基因编辑策略的拓展等都是溶瘤病毒仍

需研究的方向。

参考文献 (References)

- [1] MACEDO N, MILLER D M, HAQ R, et al. Clinical landscape of oncolytic virus research in 2020 [J]. *J Immunother Cancer*, 2020, 8(2): e001486.
- [2] DOCK G. Influence of complicating diseases upon leukemia [J]. *Am J Med Sci*, 1904, 127(4): 563-92.
- [3] KELLY E, RUSSELL S J. History of oncolytic viruses: genesis to genetic engineering [J]. *Mol Ther*, 2007, 15(4): 651-9.
- [4] ALEMANY R. Viruses in cancer treatment [J]. *Clin Transl Oncol*, 2013, 15(3): 182-8.
- [5] MARTUZA R, MALICK A, MARKERT J, et al. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant [J]. *Science*, 1991, 252(5007): 854-6.
- [6] HEISE C, SAMPSON-JOHANNES A, WILLIAMS A, et al. ONYX-015, an E1B gene-attenuated adenovirus, causes tumor-specific cytolysis and antitumoral efficacy that can be augmented by standard chemotherapeutic agents [J]. *Nat Med*, 1997, 3(6): 639-45.
- [7] ALBERTS P, TILGASE A, RASA A, et al. The advent of oncolytic virotherapy in oncology: the rigvir® story [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 837: 117-26.
- [8] LIANG M. Oncorine, the world first oncolytic virus medicine and its update in China [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2018, 18(2): 171-6.
- [9] ANDTBACKA R H, KAUFMAN H L, COLLICHIO F, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(25): 2780-8.
- [10] RIBAS, ANTONI, DUMMER, et al. Oncolytic virotherapy promotes intratumoral T cell infiltration and improves anti-PD-1 immunotherapy [J]. *Cell*, 2018, 174(4): 1031-2.
- [11] FRAMPTON J E. Teserpaturev/g47δ: first approval [J]. *BioDrugs*, 2022, 36(5): 667-72.
- [12] BOMMAREDDY P K, SHETTIGAR M, KAUFMAN H L. Integrating oncolytic viruses in combination cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(8): 498-513.
- [13] KAUFMAN H L, KOHLHAPP F J, ZLOZA A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14(9): 642-62.
- [14] HASELEY A, ALVAREZ-BRECKENRIDGE C, CHAUDHURY A R, et al. Advances in oncolytic virus therapy for glioma [J]. *Recent Pat CNS Drug Discov*, 2009, 4(1): 1-13.
- [15] BAUM A, GARCÍA-SASTRE A. Induction of type I interferon by RNA viruses: cellular receptors and their substrates [J]. *Amino Acids*, 2010, 38(5): 1283-99.
- [16] BOMMAREDDY P K, PATEL A, HOSSAIN S, et al. Talimogene laherparepvec (T-VEC) and other oncolytic viruses for the treatment of melanoma [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2016, 18(1): 1-15.
- [17] DE GRAAF J F, HUBERTS M, FOUCHIER R A M, et al. Determinants of the efficacy of viro-immunotherapy: a review [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2020, 56: 124-32.
- [18] HARTLEY A, KAVISHWAR G, SALVATO I, et al. A roadmap for the success of oncolytic parvovirus-based anticancer therapies [J]. *Annu Rev Virol*, 2020, 7(1): 537-57.
- [19] TSEHA S T. Role of adenoviruses in cancer therapy [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 772659.
- [20] SOLIMAN H, HOGUE D, HAN H, et al. Oncolytic T-VEC virotherapy plus neoadjuvant chemotherapy in nonmetastatic triple-negative breast cancer: a phase 2 trial [J]. *Nat Med*, 2023, 29(2): 450-7.
- [21] SAMSON A, WEST E J, CARMICHAEL J, et al. Neoadjuvant intravenous oncolytic vaccinia virus therapy promotes anticancer immunity in patients [J]. *Cancer Immunol Res*, 2022, 10(6): 745-56.
- [22] SONG D, JIA X, GAO Y, et al. STT3A-mediated viral N-glycosylation underlies the tumor selectivity of oncolytic virus M1 [J]. *Oncogene*, 2023, 42(48): 3575-88.
- [23] YANG Y, BROWN M C, ZHANG G, et al. Polio virotherapy targets the malignant glioma myeloid infiltrate with diffuse microglia activation engulfing the CNS [J]. *Neuro Oncol*, 2023, 25(9): 1631-43.
- [24] PECORA A L, RIZVI N, COHEN G I, et al. Phase I trial of intravenous administration of PV701, an oncolytic virus, in patients with advanced solid cancers [J]. *J Clin Oncol*, 2002, 20(9): 2251-66.
- [25] 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): 865-76.
- [26] HAMAD A, YUSUBALIEVA G M, BAKLAUSHEV V P, et al. Recent developments in glioblastoma therapy: oncolytic viruses and emerging future strategies [J]. *Viruses*, 2023, 15(2): 547.
- [27] XIA T, KONNO H, BARBER G N. Recurrent loss of STING signaling in melanoma correlates with susceptibility to viral oncolysis [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(22): 6747-59.
- [28] ILKOW C S, SWIFT S L, BELL J C, et al. From scourge to cure: tumour-selective viral pathogenesis as a new strategy against cancer [J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10(1): e1003836.
- [29] GROENEVELDT C, VAN DEN ENDE J, VAN MONTFOORT N. Preexisting immunity: barrier or bridge to effective oncolytic virus therapy [J]? *Cytokine Growth Factor Rev*, 2023, 70: 1-12.
- [30] DAVOLA M E, MOSSMAN K L. Oncolytic viruses: how "lytic" must they be for therapeutic efficacy [J]? *OncoImmunology*, 2019, 8(6): e1581528.
- [31] KROEMER G, GALASSI C, ZITVOGEL L, et al. Immunogenic cell stress and death [J]. *Nat Immunol*, 2022, 23(4): 487-500.
- [32] GARG A D, GALLUZZI L, APETO H, et al. Molecular and translational classifications of DAMPs in immunogenic cell death [J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 588.
- [33] JOFFRE O P, SEGURA E, SAVINA A, et al. Cross-presentation by dendritic cells [J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(8): 557-69.
- [34] JAHAN N, GHOUSE S M, MARTUZA R L, et al. *In situ* cancer vaccination and immunovirotherapy using oncolytic HSV [J]. *Viruses*, 2021, 13(9): 1740.
- [35] SAXENA M, VAN DER BURG S H, MELIEF C J M, et al. Therapeutic cancer vaccines [J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(6): 360-78.
- [36] XIAO Y, YU D. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107753.
- [37] TURLEY S J, CREMASCO V, ASTARITA J L. Immunological

- hallmarks of stromal cells in the tumour microenvironment [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(11): 669-82.
- [38] MA R, LI Z, CHIOCCA E A, et al. The emerging field of oncolytic virus-based cancer immunotherapy [J]. *Trends Cancer*, 2023, 9(2): 122-39.
- [39] HARRINGTON K, FREEMAN D J, KELLY B, et al. Optimizing oncolytic virotherapy in cancer treatment [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(9): 689-706.
- [40] LUGANO R, RAMACHANDRAN M, DIMBERG A. Tumor angiogenesis: causes, consequences, challenges and opportunities [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 77(9): 1745-70.
- [41] BREITBACH C J, DE SILVA N S, FALLS T J, et al. Targeting tumor vasculature with an oncolytic virus [J]. *Mol Ther*, 2011, 19(5): 886-94.
- [42] SANTRY L A, VAN VLOTEN J P, KNAPP J P, et al. Tumour vasculature: friend or foe of oncolytic viruses [J]? *Cytokine Growth Factor Rev*, 2020, 56: 69-82.
- [43] LIN D, SHEN Y, LIANG T. Oncolytic virotherapy: basic principles, recent advances and future directions [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 156.
- [44] PAOLINI R, MOLFETTA R. CD155 and its receptors as targets for cancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(16): 12958.
- [45] CHENG X, WANG W, XU Q, et al. Genetic modification of oncolytic newcastle disease virus for cancer therapy [J]. *J Virol*, 2016, 90(11): 5343-52.
- [46] LIN Y, ZHANG H, LIANG J, et al. Identification and characterization of alphavirus M1 as a selective oncolytic virus targeting ZAP-defective human cancers [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(42): E4504-E12.
- [47] YANG M, YANG C S, GUO W, et al. A novel fiber chimeric conditionally replicative adenovirus-Ad5/F35 for tumor therapy [J]. *Cancer Biol Ther*, 2017, 18(11): 833-40.
- [48] KANERVA A, MIKHEEVA G V, KRASNYKH V, et al. Targeting adenovirus to the serotype 3 receptor increases gene transfer efficiency to ovarian cancer cells [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(1): 275-80.
- [49] NAKANO K, ASANO R, TSUMOTO K, et al. Herpes simplex virus targeting to the EGF receptor by a gd-specific soluble bridging molecule [J]. *Mol Ther*, 2005, 11(4): 617-26.
- [50] BHATTACHARYA P, BUDNICK I, SINGH M, et al. Dual role of GM-CSF as a pro-inflammatory and a regulatory cytokine: implications for immune therapy [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2015, 35(8): 585-99.
- [51] KAUFMAN H L, KIM D W, DERAFFELE G, et al. Local and distant immunity induced by intralesional vaccination with an oncolytic herpes virus encoding GM-CSF in patients with stage IIIc and IV melanoma [J]. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17(3): 718-30.
- [52] KIM J H, OH J Y, PARK B H, et al. Systemic armed oncolytic and immunologic therapy for cancer with JX-594, a targeted poxvirus expressing GM-CSF [J]. *Mol Ther*, 2006, 14(3): 361-70.
- [53] BURKE J M, LAMM D L, MENG M V, et al. A first in human phase 1 study of CG0070, a GM-CSF expressing oncolytic adenovirus, for the treatment of nonmuscle invasive bladder cancer [J]. *J Urol*, 2012, 188(6): 2391-7.
- [54] TÄHTINEN S, BLATTNER C, VÄHÄ-KOSKELA M, et al. T-cell therapy enabling adenoviruses coding for IL2 and TNF alpha induce systemic immunomodulation in mice with spontaneous melanoma [J]. *J Immunother*, 2016, 39(9): 343-54.
- [55] GUJAR S, POL J G, KIM Y, et al. Antitumor benefits of antiviral immunity: an underappreciated aspect of oncolytic virotherapies [J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(3): 209-21.
- [56] POURCHET A, FUHRMANN S R, PILONES K A, et al. CD8⁺ T-cell immune evasion enables oncolytic virus immunotherapy [J]. *EBioMedicine*, 2016, 5: 59-67.
- [57] ATKINSON A J, COLBURN W A, DEGRUTTOLA V G, et al. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2001, 69(3): 89-95.
- [58] CAGNEY D N, SUL J, HUANG R Y, et al. The FDA NIH biomarkers, endpoints, and other tools (best) resource in neuro-oncology [J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(9): 1162-72.
- [59] SHALHOUT S Z, MILLER D M, EMERICK K S, et al. Therapy with oncolytic viruses: progress and challenges [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(3): 160-77.
- [60] NGUYEN T T, RAMSAY L, AHANFESHAR-ADAMS M, et al. Mutations in the IFN γ -JAK-STAT pathway causing resistance to immune checkpoint inhibitors in melanoma increase sensitivity to oncolytic virus treatment [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(12): 3432-42.
- [61] BOMMAREDDY P K, ZLOZA A, RABKIN S D, et al. Oncolytic virus immunotherapy induces immunogenic cell death and overcomes STING deficiency in melanoma [J]. *Oncoimmunology*, 2019, 8(7): 1591875.
- [62] ZHANG N, YAN J, LU G, et al. Binding of herpes simplex virus glycoprotein D to nectin-1 exploits host cell adhesion [J]. *Nat Commun*, 2011, 2(1): 577.
- [63] BARTON E S, FORREST J C, CONNOLLY J L, et al. Junction adhesion molecule is a receptor for reovirus [J]. *Cell*, 2001, 104(3): 441-51.
- [64] ANSEL A, ROSENZWEIG J P, ZISMAN P D, et al. Monitoring the efficacy of oncolytic viruses via gene expression [J]. *Front Oncol*, 2017, 7: 264.
- [65] ZLOZA A, KIM D W, KIM-SCHULZE S, et al. Immunoglobulin-like transcript 2 (ILT2) is a biomarker of therapeutic response to oncolytic immunotherapy with vaccinia viruses [J]. *J Immunother Cancer*, 2014, 2: 1.
- [66] TSONEVA D, STRITZKER J, BEDENK K, et al. Drug-encoded biomarkers for monitoring biological therapies [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137573.
- [67] MELERO I, CASTANON E, ALVAREZ M, et al. Intratumoural administration and tumour tissue targeting of cancer immunotherapies [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2021, 18(9): 558-76.
- [68] MARTIN N T, BELL J C. Oncolytic virus combination therapy: killing one bird with two stones [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(6): 1414-22.
- [69] YANG Y. Cancer immunotherapy: harnessing the immune system to battle cancer [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(9): 3335-7.
- [70] HEGDE P S, CHEN D S. Top 10 challenges in cancer immunotherapy [J]. *Immunity*, 2020, 52(1): 17-35.
- [71] PARDOLL D M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 252-64.
- [72] MAGGS L, CATTANEO G, DAL A E, et al. CAR T cell-based immunotherapy for the treatment of glioblastoma [J]. *Front Neurosci*, 2021, 15: 662064.

- [73] WANG G, ZHANG Z, ZHONG K, et al. CXCL11-armed oncolytic adenoviruses enhance CAR-T cell therapeutic efficacy and reprogram tumor microenvironment in glioblastoma [J]. *Mol Ther*, 2023, 31(1): 134-53.
- [74] EVGIN L, HUFF A L, WONGTHIDA P, et al. Oncolytic virus-derived type I interferon restricts CAR T cell therapy [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3187.
- [75] KHURI F R, NEMUNAITIS J, GANLY I, et al. A controlled trial of intratumoral ONYX-015, a selectively-replicating adenovirus, in combination with cisplatin and 5-fluorouracil in patients with recurrent head and neck cancer [J]. *Nat Med*, 2000, 6(8): 879-85.
- [76] SHEN Y, SONG W, LIN D, et al. VG161 activates systemic anti-tumor immunity in pancreatic cancer models as a novel oncolytic herpesvirus expressing multiple immunomodulatory transgenes [J]. *J Med Virol*, 2023, 95(1): e28108.
- [77] OTTOLINO-PERRY K, DIALLO J S, LICHTY B D, et al. Intelligent design: combination therapy with oncolytic viruses [J]. *Mol Ther*, 2010, 18(2): 251-63.
- [78] MARTINEZ-VELEZ N, MARIGIL M, GARCÍA-MOURE M, et al. Delta-24-RGD combined with radiotherapy exerts a potent antitumor effect in diffuse intrinsic pontine glioma and pediatric high grade glioma models [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2019, 7(1): 64.
- [79] GÁLLEGO PÉREZ-LARRAYA J, GARCIA-MOURE M, LABIANO S, et al. Oncolytic DNX-2401 virus for pediatric diffuse intrinsic pontine glioma [J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(26): 2471-81.
- [80] MONGA V, MILLER B J, TANAS M, et al. Intratumoral talimogene laherparepvec injection with concurrent preoperative radiation in patients with locally advanced soft-tissue sarcoma of the trunk and extremities: phase IB/II trial [J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(7): e003119.
- [81] CHEN Y, DEWEESE T, DILLEY J, et al. CV706, a prostate cancer-specific adenovirus variant, in combination with radiotherapy produces synergistic antitumor efficacy without increasing toxicity [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(14): 5453-60.
- [82] PATEL M R, DASH A, JACOBSON B A, et al. JAK/STAT inhibition with ruxolitinib enhances oncolytic virotherapy in non-small cell lung cancer models [J]. *Cancer Gene Ther*, 2019, 26(11/12): 411-8.
- [83] TUMILASCI V F, OLIÈRE S, NGUYÊN T L, et al. Targeting the apoptotic pathway with BCL-2 inhibitors sensitizes primary chronic lymphocytic leukemia cells to vesicular stomatitis virus-induced oncolysis [J]. *J Virol*, 2008, 82(17): 8487-99.
- [84] TOMITA Y, KUROZUMI K, YOO J Y, et al. Oncolytic herpes virus armed with vasculostatin in combination with bevacizumab abrogates glioma invasion via the CCN1 and AKT signaling pathways [J]. *Mol Cancer Ther*, 2019, 18(8): 1418-29.
- [85] TAN G, KASUYA H, SAHIN T T, et al. Combination therapy of oncolytic herpes simplex virus HF10 and bevacizumab against experimental model of human breast carcinoma xenograft [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(7): 1718-30.
- [86] NASSIRI F, PATIL V, YEFET L S, et al. Oncolytic DNX-2401 virotherapy plus pembrolizumab in recurrent glioblastoma: a phase 1/2 trial [J]. *Nat Med*, 2023, 29(6): 1370-8.
- [87] LING A L, SOLOMON I H, LANDIVAR A M, et al. Clinical trial links oncolytic immunoactivation to survival in glioblastoma [J]. *Nature*, 2023, 623(7985): 157-66.
- [88] HEO J, LIANG J D, KIM C W, et al. Safety and dose escalation of the targeted oncolytic adenovirus OBP-301 for refractory advanced liver cancer: phase I clinical trial [J]. *Mol Ther*, 2023, 31(7): 2077-88.
- [89] MONGE C, XIE C, MYOJIN Y, et al. Phase I/II study of pexavec in combination with immune checkpoint inhibition in refractory metastatic colorectal cancer [J]. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(2): e005640.
- [90] TOULMONDE M, COUSIN S, KIND M, et al. Randomized phase 2 trial of intravenous oncolytic virus JX-594 combined with low-dose cyclophosphamide in patients with advanced soft-tissue sarcoma [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 149.
- [91] PONCE S, CEDRÉS S, RICORDEL C, et al. ONCOS-102 plus pemetrexed and platinum chemotherapy in malignant pleural mesothelioma: a randomized phase 2 study investigating clinical outcomes and the tumor microenvironment [J]. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(9): e007552.
- [92] FAKIH M, HARB W, MAHADEVAN D, et al. Safety and efficacy of the tumor-selective adenovirus enadenotucirev, in combination with nivolumab, in patients with advanced/metastatic epithelial cancer: a phase I clinical trial (SPICE) [J]. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(4): e006561.
- [93] RUDIN C M, PANDHA H S, ZIBELMAN M, et al. Phase 1, open-label, dose-escalation study on the safety, pharmacokinetics, and preliminary efficacy of intravenous coxsackievirus A21 (V937), with or without pembrolizumab, in patients with advanced solid tumors [J]. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(1): e005007.
- [94] CARLISLE R C, DI Y, CERNY A M, et al. Human erythrocytes bind and inactivate type 5 adenovirus by presenting Coxsackie virus-adenovirus receptor and complement receptor 1 [J]. *Blood*, 2009, 113(9): 1909-18.