

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЛЬФАВИРУСОВ В ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ



А.С. Назаренко¹, Ю.К. Бирюкова¹, Н.М. Колясникова¹, М.Ф. Ворович^{1,2}, Н.Б. Пестов¹,
А.А. Ишмухаметов^{1,2}

¹ ФГАНУ Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов
им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва, Россия

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский университет), Москва, Россия

Резюме. Онколитическая вирусная терапия признана многообещающим терапевтическим подходом к лечению опухолей. Онколитические вирусы способны оказывать как прямое лизирующее действие на опухолевые клетки, так и опосредованное — через активацию противоопухолевого иммунитета. Альфавирусы в качестве онколитических вирусов могут быть весьма перспективными из-за низкой патогенности некоторых из них, способности селективно заражать и лизировать опухолевые клетки, ремодулировать микроопухолевое окружение, вызывать иммуноопосредованный лизис опухолевых клеток. Кроме того, альфавирусы могут выступать удобной платформой для доставки трансгенов. С целью повышения безопасности при использовании методов генной инженерии в качестве основы, как правило, выбираются аттенуированные штаммы альфавирусов, которые не являются патогенными, а в качестве трансгенов чаще всего применяются опухоль-ассоциированные антигены или антигены, которые сами по себе являются иммуногенными, такие как цитокины и другие иммуностимулирующие молекулы. На сегодняшний день количество исследований по оценке онколитических и иммуномодулирующих эффектов альфавирусов и векторов на их основе как *in vitro*, так и *in vivo* растет в геометрической прогрессии. На данный момент онколитическую и иммуномодулирующую активность альфавирусов Синдбис, леса Семлики, Гета (штамм М1), венесуэльского энцефаломиелита лошадей и векторов на их основе изучали на животных моделях меланомы, глиомы, остеосаркомы, рака молочной железы, аденокарциномы легких, карциномы предстательной железы и других типов опухолей. Усиленную противоопухолевую активность альфавирусы демонстрируют в комбинированной терапии с другими онколитическими вирусами, цитостатиками, а также блокаторами иммунных контрольных точек. Среди вирусных векторов альфавирусоподобные репликационные частицы, основанные на аттенуированном вирусе венесуэльского энцефаломиелита лошадей, особенно привлекательны благодаря высокой экспрессии гетерологичных белков, а также индукции гуморального и клеточного иммунного ответа. Вакцина на основе такого альфавирусного вектора, кодирующего внеклеточный и трансмембранный домены HER2, уже показала безопасность и противоопухолевую эффективность на доклинических мышинных моделях и в первой фазе клинических исследований у пациентов с прогрессирующим раком молочной железы со сверхэкспрессией

Адрес для переписки:

Назаренко Алина Сергеевна
108819, Россия, Москва, пос. Московский, п. Института
полиомиелита, двлд. 8, корп. 1, ФГАНУ Федеральный научный
центр исследований и разработки иммунобиологических
препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита).
Тел.: 8 (495) 531-01-70 (внутр. 32-36).
E-mail: nazarenko_as@chumakovs.su

Contacts:

Alina S. Nazarenko
108819, Russian Federation, Moscow, Settlement "Moskovskiy",
Village of Institute of Poliomyelitis, Premises 8, build. 1, Chumakov
Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-
and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute
of Poliomyelitis).
Phone: +7 (495) 531-01-70 (internal 32-36).
E-mail: nazarenko_as@chumakovs.su

Для цитирования:

Назаренко А.С., Бирюкова Ю.К., Колясникова Н.М., Ворович М.Ф.,
Пестов Н.Б., Ишмухаметов А.А. Перспективы использования
альфавирусов в противоопухолевой терапии // Инфекция и иммунитет.
2023. Т. 13, № 4. С. 627–641. doi: 10.15789/2220-7619-PFA-12111

Citation:

Nazarenko A.S., Biryukova Yu.K., Kolyasnikova N.M., Vorovitch M.F.,
Pestov N.B., Ishmukhametov A.A. Perspectives for applying Alphaviruses
in antitumor therapy // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya
i immunitet, 2023, vol. 13, no. 4, pp. 627–641. doi: 10.15789/2220-7619-
PFA-12111

HER2. Было продемонстрировано, что вакцина безопасна, эффективна и успешно индуцирует Т-клеточный иммунитет. В данном обзоре мы обсуждаем результаты доклинических и клинических исследований, а также перспективы использования альфавирусов в онколитической виротерапии.

Ключевые слова: онколитические вирусы, альфавирусы, виротерапия, иммунотерапия, вирусный вектор, рекомбинантный вирус, иммунотерапия рака.

PERSPECTIVES FOR APPLYING ALPHAVIRUSES IN ANTITUMOR THERAPY

Nazarenko A.S.^a, Biryukova Yu.K.^a, Kolyasnikova N.M.^a, Vorovitch M.F.^{a,b}, Pestov N.B.^a, Ishmukhametov A.A.^{a,b}

^a M.P. Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Drugs of the Russian Academy of Sciences (Polio Institute), Moscow, Russian Federation

^b Institute of Translational Medicine and Biotechnology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Abstract. Oncolytic viral therapy is a promising approach for treating tumors. Oncolytic viruses can directly lyse tumor cells and indirectly activate antitumor immunity. Alphaviruses, as oncolytic viruses, are particularly promising agents because they can selectively infect and lyse tumor cells, modulate microtumor environment, elicit immune-mediated lysis of tumor cells, and serve as a platform for transgene delivery. To ensure safety, attenuated strains of Alphaviruses are typically used for genetic engineering, and immunogenic tumor-associated antigens or cytokines are commonly chosen as transgenes. Studies evaluating both *in vitro* and *in vivo* oncolytic and immunomodulatory effects of Alphaviruses and vectors based on them have been growing exponentially. Animal models of various tumor types were used to examine the effectiveness of Alphaviruses, including Sindbis, Semliki Forest virus, Geta (strain M1), Venezuelan equine encephalitis virus, and vectors based on them. Additionally, Alphaviruses revealed enhanced antitumor activity while used in combination therapies with other oncolytic viruses. Alphavirus-like replicon particles based on attenuated Venezuelan equine encephalitis virus may serve for transgene delivery to express heterologous proteins at high levels, and induce both humoral and cellular immune responses. An alphaviral vector-based vaccine, encoding the HER2 extracellular and transmembrane domains, has demonstrated safety and efficacy in preclinical mouse models, as well as in phase I clinical trials for advanced breast cancer patients with HER2 overexpression. This vaccine is known to be safe, effective, and capable of inducing T-cell immunity. In this review, we discuss the current progress in preclinical and clinical investigations, as well as the future potential of Alphaviruses for oncolytic virotherapy.

Key words: oncolytic viruses, Alphaviruses, virotherapy, immunotherapy, viral vector, recombinant virus, cancer immunotherapy.

Введение

Онколитическая вирусная терапия (ОВТ) — это иммунотерапия, в которой используются природные или генетически модифицированные вирусы для специфического заражения и лизиса раковых клеток, но без вреда для нормальных клеток [15]. Уже больше века различные вирусы исследуются в качестве возможных агентов для лечения опухолей различной этиологии [17]. С развитием технологии клонирования с помощью генной инженерии стало возможным создавать множество вирусных векторов как для селективного заражения и лизиса опухолевых клеток, так и в качестве трансгенных носителей [47]. Более глубокое понимание механизмов действия вирусов, включая активацию врожденного и адаптивного противоопухолевого иммунитета, и их способности модулирования опухолевого микроокружения, дало импульс активному развитию виротерапии в последнее десятилетие [26]. На данный момент для лечения различных видов рака одобрено четыре препарата на основе онколитических вирусов: Talimogene laherparepvec (США) [16], Delytact (Япония) [6], Oncorine (Китай) [22], Rigvir (Латвия) [1]. При этом еще более широкий

спектр онколитических вирусов и векторов, таких как ДНК вирусы семейств *Herpesviridae*, *Adenoviridae*, *Poxviridae*, *Parvoviridae* и РНК вирусы семейств *Paramyxoviridae*, *Picornaviridae*, *Reoviridae*, *Retroviridae*, *Rhabdoviridae*, *Alphaviruses*, находится на стадии клинических испытаний для терапии различных типов рака [61]. Многие вирусы обладают онколитическим потенциалом, что подтверждается рядом весьма успешных доклинических исследований. В этом обзоре мы ставим перед собой задачу описать потенциал применения вирусов рода *Alphavirus* в качестве онколитических препаратов и их использования в комбинации с другими иммунотерапевтическими средствами в недавних доклинических и клинических исследованиях.

Альфавирусы. Жизненный цикл альфавирусов

Вирионы альфавирусов состоят из икосаэдрического нуклеокапсида, окруженного липидной оболочкой — суперкапсидом. Геном альфавирусов размером 11–12 тыс. н.о. представлен кэпированной позитивной РНК с полиА на 3'-конце. Основными структурными белками вириона являются С, Е1, Е2 (Е3), где гликопроте-

ины E1 и E2 встроены в суперкапсид вириона и образуют около 80 шипов, которые отвечают за взаимодействие с клеточным рецептором и проникновение вируса в клетки-мишени [43]. Также в суперкапсиде присутствуют два виropорина — белки TF и 6K, которые участвуют в почковании альфовирусов [34]. Альфовирусы проникают в клетки путем рецептор-опосредованного эндоцитоза с последующим разведением нуклеокапсидов и высвобождением вирусной РНК в цитоплазму [21]. Вирусная РНК является матричной для синтеза белков и содержит две открытые рамки считывания: первая открытая рамка считывания занимает $\frac{2}{3}$ всего генома и кодирует полипептид P1234, в то время как вторая рамка считывания кодирует структурные белки (рис.). Как только вирусная РНК проникает в цитоплазму начинается трансляция полипротеина P1234 с последующим расщеплением на полипротеин P123 и неструктурный белок nsp4. Затем белок P123 расщепляется с образованием трех неструктурных

белков: nsp1, nsp2, nsp3. Продукты частичного расщепления неструктурного полипротеина — белки P123 и nsp4 инициируют синтез отрицательной цепи РНК, а белки nsp1, P123 и nsp4 образуют репликативный комплекс, который активен как для синтеза отрицательной цепи РНК, так и для синтеза геномной РНК. Полное расщепление P123 приводит к окончательному переключению с синтеза отрицательной цепи РНК на синтез геномной РНК [21]. Со второй открытой рамки считывания с отрицательной цепи РНК синтезируется субгеномная РНК (sgRNA) с CAP на 5'-конце и полиА на 3'-конце. С sgRNA транслируется полипептид p130, который потом расщепляется на полипептиды E2, слитый с E3, E1, C и гидрофобные мембранные белки TF и 6K [42]. E2 с E3 и E1 транспортируются к плазматической мембране через аппарат Гольджи, где подвергаются гликозилированию и пальмитоилрованию, E3 отщепляется от E2, однако они остаются в тесной связи. Затем E1 и E2 образуют гетеротриммеры, формируя вирус-

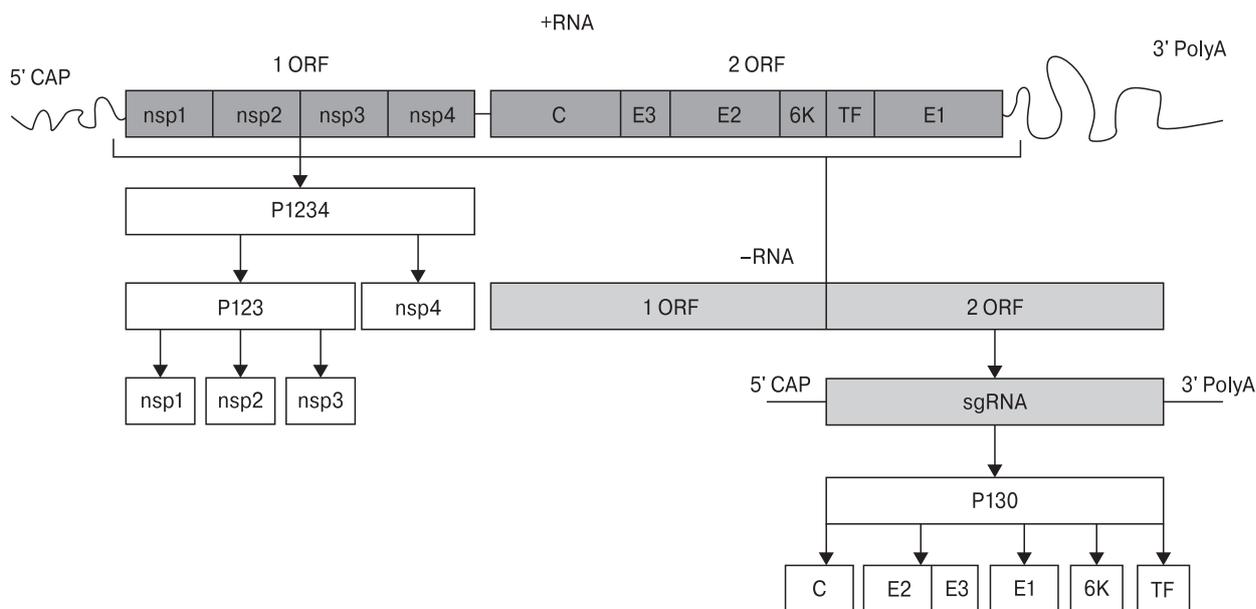


Рисунок. Схема генома альфовирусов

Figure. Alphavirus genome structure

Примечание. РНК альфовирусов — одноцепочечная положительная (+RNA) и содержит две открытые рамки считывания: 1 ORF — кодирует полипептид P1234; 2 ORF — кодирует структурные белки. Трансляция начинается с полипротеина P1234 с последующим его расщеплением на полипротеин P123 и неструктурный белок nsp4. Белок P123 расщепляется с образованием трех неструктурных белков: nsp1, nsp2, nsp3. Продукты частичного расщепления неструктурного полипротеина — белки P123 и nsp4 инициируют синтез отрицательной цепи РНК (-RNA). Со второй открытой рамки считывания с отрицательной цепи РНК синтезируется субгеномная РНК (sgRNA) с CAP на 5'-конце и полиА на 3'-конце. С sgRNA транслируется полипептид p130, который потом расщепляется на полипептиды E2, слитый с E3, E1, C и гидрофобные мембранные белки TF и 6K.

Note. Alphavirus bears positive RNA (+RNA) that contains two open reading frames: 1 ORF encodes polypeptide P1234; 2 ORF encodes structural proteins. Translation starts from polyprotein P1234 to be then cleaved into polyprotein P123 and non-structural protein nsp4. Protein P123 is cleaved to form three non-structural proteins: nsp1, nsp2, nsp3. The products of partial cleavage of non-structural polyprotein, P123 and nsp4, initiate the synthesis of negative chain RNA (-RNA). From the second open reading frame, subgenomic RNA (sgRNA) with 5'-end CAP and 3'-end polyA is synthesized from the negative RNA chain. From the sgRNA, polypeptide p130 is translated followed by its cleavage into polypeptides E2 fused with E3, E1, C and the hydrophobic membrane proteins TF and 6K

ные шипы [40]. Процесс почкования управляется специфическими взаимодействиями между предварительно сформированным нуклеокапсидом и шипами, что приводит к выходу вирионов во внеклеточную среду [45, 63].

Вирусы рода *Alphavirus* принадлежат к семейству *Togaviridae*. В природе основными переносчиками являются комары, которые передают альфавирусы позвоночным хозяевам трансмиссивным путем по классическому циклу передачи арбовирусов. Некоторые альфавирусы, такие как вирусы Чикунгунья, О'Ньонг-Ньонг, Росс-Ривер, Синдбис, леса Семлики, а также вирусы энцефаломиелитов (Восточный, Западный, Венесуэльский), являются патогенными для человека, и, в основном, вызывают острое (от 3 до 7 дней) лихорадочное заболевание с недомоганием, сыпью, артралгиями и иногда артритом, в тяжелых случаях болезнь может приводить к энцефалитам и параличам [27].

Альфавирусы могут использовать несколько клеточных рецепторов для прикрепления и проникновения в клетку-мишень, а именно МНС 1, высокоаффинный рецептор ламинина, NRAMP2, гепарансульфат, лектины С-типа клеточной поверхности, фосфатидилсериновые рецепторы и др. [19, 41, 55, 64]. Следует отметить, что высокоаффинный рецептор ламинина в большом количестве экспрессируется при различных видах злокачественных клеток по сравнению с нетрансформированными клетками [2, 54]. Однако в основном способность альфавирусов к репродукции в опухолевых клетках определяется внутриклеточными факторами, влияющими на вирусную репликацию и трансляцию, такими как двухцепочечная РНК-зависимая протеинкиназа (PKR), РНКазы L, белки класса Mx и др. [37].

Онколитический потенциал альфавирусов

За счет способности проникать в клетки различного типа, низкой патогенности, способности преодолевать гематоэнцефалический барьер, размножаться в опухолевых клетках, вызывать противоопухолевые эффекты, а также в связи с наличием разработанных генетических модификаций генома альфавирусы могут быть использованы для онковиротерапии. На данный момент онколитическая и иммуномодулирующая активность альфавирусов Синдбис (*Sindbis*, SIN, SV), вируса леса Семлики (*Semliki Forest virus*, SFV), альфавируса M1, вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей (*Venezuelan equine encephalitis virus*, VEE) изучена на животных моделях и в первой фазе клинических испытаний у людей (табл. 1).

Вирус леса Семлики

Штамм SFV A7(74) дикого типа является авирулентным и у взрослых грызунов не вызывает патологий, приводящих к летальному исходу [3], поэтому его производное — репликативно-компетентный вектор SFV VA7-EGFP, экспрессирующий зеленый флуоресцентный белок в качестве флуоресцентной метки, в последние годы активно изучается как онколитический агент. В исследовании [52] авторы показали, что SFV VA7-EGFP проявляет активность в отношении клеточных линий меланомы человека A2058 и SK-MEL-5, аденокарциномы толстой кишки человека LS174T и SW620, в то время как на карциноме легкого человека A549 эффект был ограничен, а нейробластома мыши C-1300 оказалась устойчивой к действию вируса. Авторы также проверили эффективность вируса SFV VA7-EGFP *in vivo* на клеточной линии человеческой меланомы A2058, которая была подкожно введена иммунодефицитным мышам SCID. В результате действия SFV VA7-EGFP наблюдались как регресс опухоли, так и неврологические симптомы, появление которых, вероятно, было связано с отсутствием адаптивного иммунитета у данной группы мышей. Также авторы обнаружили, что клеточная смерть происходит, в основном, по механизму некроза, а не апоптоза. В других исследованиях [25] были использованы мыши *Nude* с подкожной моделью опухоли — карциномы легких человека A549. При введении SFV VA7-EGFP неврологических симптомов у животных не наблюдалось, хотя вирус обнаруживался в мозге. Противоопухолевый эффект при внутриопухолевом введении был весьма слабым, а при внутривенном введении эффект практически отсутствовал; такой же ответ на лечение наблюдался и на модели глиомы крысы BT4C [24]. Вероятно, слабая онколитическая активность данного вектора связана с его чувствительностью к интерферону I типа, сигнальные пути активации которого хоть и часто нарушены при злокачественных опухолях, но все же не всегда. Тем не менее в опухолях с нарушенными механизмами внутриклеточной защиты SFV VA7-EGFP весьма эффективен. Это было показано на подкожной модели остеосаркомы человека Saos2LM7 [18], в ортотопических и подкожных опухолях рака предстательной железы LNCaP и в ортотопической опухоли остеосаркомы мыши K7M3, где на фоне виротерапии терапии наблюдался регресс опухоли, а также увеличение продолжительности жизни мышей [30]. Поскольку штамм SFV A7(74) является нейротропным, он может представлять большой интерес в качестве онколитического вируса для лечения глиом. Для проверки данной гипотезы вирус внутривенно вводили мышам *Nude* с под-

Таблица 1. Противоопухолевая эффективность альфовирусов

Table 1. Antitumour efficiency of Alphaviruses

Вирус Virus	Штамм Strain	Тип опухоли (модель) Tumour type (model)	Животная модель Animal model	Противоопухолевые эффекты Antitumour effects	Ссылка на исследование References	
SFV	VA7-EGFP	Меланома человека A2058 (подкожная) Human melanoma A2058 (subcutaneous)	SCID мыши SCID mice	Регресс опухоли, неврологические симптомы Tumour regression, neurological symptoms	[52]	
		Аденокарцинома легких человека A549 (ортопическая) Human lung adenocarcinoma A549 (orthotopic)	Nude мыши Nude mice	Увеличение времени жизни без регресса опухоли Increased survival without tumour regression	[25]	
		Остеосаркома человека Saos2LM7 (подкожная) Human osteosarcoma Saos2LM7 (subcutaneous)	Nude мыши Nude mice	Регресс опухоли Tumour regression	[18]	
		Остеосаркома мыши K7M3 (ортопическая) Mouse osteosarcoma K7M3 (orthotopic)	Nude мыши Nude mice	Увеличение выживаемости без полного излечения Increased survival without complete cure		
		Глиома человека U87Fluc (подкожная, ортопическая) Human glioma U87Fluc (subcutaneous, orthotopic)	Nude мыши Nude mice	Регресс опухоли Tumour regression	[12]	
		Аденокарцинома легких человека A549 (подкожная) Human lung adenocarcinoma A549 (subcutaneous)	Nude мыши Nude mice	Незначительная задержка в росте опухоли Tumour growth delay	[24]	
	A7(74)	Глиома крысы BT4C (ортопическая) Rat glioma BT4C (orthotopic)	Крысы BDIX Rat BDIX			
		Карцинома предстательной железы человека LNCaP (ортопическая, подкожная) Carcinoma of the human prostate LNCaP (orthotopic, subcutaneous)	CANN мыши CANN mice	Регресс опухоли Tumour regression	[30]	
	SFV-AM6-124T	Глиома мышей GL261 (ортопическая) Mouse glioma GL261 (orthotopic)	C57BL/6NRj мыши C57BL/6NRj mice	Повышение активности фагоцитов и дендритных клеток, селективная репликация вируса, апоптотическая гибель клеток Increased phagocyte and dendritic cell activity, selective viral replication, apoptotic cell death	[29]	
		Глиома мышей CT-2A-Fluc (ортопическая) Mouse glioma CT-2A-Fluc (orthotopic)	C57BL/6 мыши C57BL/6 mice	Ингибирование роста опухоли, увеличение выживаемости, неврологические симптомы Inhibited tumour growth, increased survival rate, neurological symptoms	[28]	
SFV + VV	WT	Эпителиальная карцинома яичника мышей MOSEC (внутрибрюшинная) Epithelial carcinoma of the ovary in mice MOSEC (intraperitoneal)	C57BL/6 мыши C57BL/6 mice	Задержка в росте опухоли, длительная выживаемость Delayed tumour growth, prolonged survival	[62]	
		Глиома мышей DBT (подкожная) Mouse glioma DBT (subcutaneous)	BALB/c мыши BALB/c mice	Кратковременная задержка роста опухоли Short-term delay in tumour growth	[53]	

Окончание таблицы 1. Противоопухолевая эффективность альфавирусов

Table 1. Antitumour efficiency of Alphaviruses (continued)

Вирус Virus	Штамм Strain	Тип опухоли (модель) Tumour type (model)	Животная модель Animal model	Противоопухолевые эффекты Antitumour effects	Ссылка на исследование References	
SIN	I	Гепатома мыши ML-1 4a и ARKD (подкожная) Mouse hepatoma ML-1 4a and ARKD (subcutaneous)	BALB/с мыши BALB/c mice	Задержка роста опухоли; регресс опухоли; активация CD8⁺ и CD4⁺ Tumour growth inhibition, tumour regression CD8 ⁺ and CD4 ⁺ activation	[14]	
		Гепатома мыши BNL (подкожная) Mouse hepatoma BNL (subcutaneous)		Нет эффекта No effect		
	AR339	Rак шейки матки человека HeLa и C33A (подкожная) Human cervical cancer HeLa and C33A (subcutaneous)	BALB/ сAnNcrj-nu/ nu мыши	Регресс опухоли Tumor regression	[51]	
				Рак яичников человека (НОС-1, НАС-2 и ОМС-3) (внутрибрюшинная) Human ovarian cancer (НОС-1, НАС-2 and ОМС-3) (intrapерitoneal)		Подавление асцита Ascites suppression
		Глиобластома человека U-87 MG (подкожная) Human glioblastoma U-87 MG (subcutaneous)	CB.17 SCID мыши CB.17 SCID mice	Регресс опухоли Tumor regression	[57]	
		Нейробластома человека SK-N-SH, IMR-32 (подкожная) Human neuroblastoma SK-N-SH, IMR-32 (subcutaneous)	BALB/ сAnNcrj-nu/ nu мыши BALB/ сAnNcrj-nu/ nu mice	Регресс опухоли Tumor regression	[46]	
	M1	WT	Гепатоцеллюлярная карцинома человека Hep3B (подкожная) Human hepatocellular carcinoma Hep3B (subcutaneous)	BALB/с-nu/ nu мыши BALB/c-nu/ nu mice	Задержка роста опухоли, избирательная репликация вируса в опухоли Delayed tumor growth, selective intra-tumor viral replication	[23]
			Карцинома молочной железы мыши 4T1 (ортопическая) Mouse mammary gland carcinoma 4T1 (orthotopic)	BALB/ мыши BALB/ mice		
Меланома кожи мыши B16 (подкожная) Mouse skin melanoma B16 (subcutaneous)			C57BL/6 мыши C57BL/6 mice			
WT + Doxorubicin		Рак молочной железы человека HCC1806, MDA-MB-468, MDA-MB-361 (подкожная) Human breast cancer HCC1806, MDA-MB-468, MDA-MB-361 (subcutaneous)	BALB/с-nu/ nu мыши BALB/c-nu/ nu mice	Ингибирование роста опухоли Inhibition of tumor growth		[61]
WT + NanoKnife		Аденокарцинома поджелудочной железы мыши Pan02 (подкожная, ортопическая) Adenocarcinoma of the mouse pancreas Pan02 (subcutaneous, orthotopic)	C57BL/6 мыши C57BL/6 mice	Ингибирование роста опухоли, увеличение выживаемости Inhibition of tumor growth, increased survival		[44]

Примечание. SFV — вирус леса Семлики, VV — вирус коровьей оспы, SIN — Синдбис, M1 — штамм M1 вируса Гета, WT — дикий тип.
Note. SFV — Semliki Forest virus, VV — Vaccinia virus, SIN — Sindbis, M1 — Getha virus strain M1, WT — wild type.

кожной и ортотопической глиомой человека U87Fluc больших и малых размеров. При однократной инъекции SFV VA7-EGFP опухоли малых размеров регрессировали полностью, а большие опухоли уменьшались, каких-либо неврологических симптомов у мышей также не наблюдалось [12]. Авторы подчеркивают, что опухолевая клеточная линия U87Fluc чрезвычайно восприимчива к SFV VA7-EGFP и поэтому их исследование следует рассматривать как наилучший сценарий проявления онколитической активности данного вируса. Для лечения глиом также был протестирован вектор SFV-AM6SFV4 на основе вируса леса Семлики, в котором произведены аминокислотные замены в белках nsр3, nsр4 и E2. Данный вектор был разработан, чтобы решить проблему чувствительности SFV к интерферону 1 типа. В эксперименте *in vitro* на клеточной линии глиомы мышей GL261 вектор SFV-AM6SFV4 эффективно лизировал клетки, а при использовании мышинной модели C57BL/6NRj с ортотопической глиомой GL261 наблюдалось повышение активности фагоцитов и дендритных клеток, исходя из чего можно сделать вывод об иммуногенной гибели клеток. Также авторы продемонстрировали селективную репликацию вируса в клетках глиомы мыши GL261 и апоптотическую гибель клеток [29]. Другой генно-инженерный штамм SFV4-miRT124 проявлял сильную онколитическую активность *in vitro* в отношении мышинной астроцитомы CT-2A и в клеточных линиях глиобластомы человека, предварительно обработанных интерфероном 1 типа [28]. Далее SFV4-miRT124 тестировали *in vivo*, и у мышей C57BL/6 с ортотопической глиомой CT-2A-Fluc также наблюдался ответ на терапию — происходило ингибирование роста опухоли, повышалась выживаемость, и, в сравнении с SFV VA7-EGFP, эффект был более выражен, однако у мышей наблюдались явные неврологические симптомы [28]. Поэтому требуются дополнительные генетические модификации данного вектора для улучшения его профиля безопасности. В другом подходе для преодоления механизмов резистентности глиом к онколитическому вирусу SFV авторы применили его совместно с вирусом осповакцины (vaccinia virus, VV), который ранее показал эффективность в отношении глиом. Исследования в отношении подкожной глиомы мышей DBT не показали повышения эффективности при комбинированной терапии [53], однако в отношении эпителиальной карциномы яичников мышей MOSEC такая комбинированная терапия усилила противоопухолевые эффекты в сравнении с монотерапией только вирусом леса Семлики или вирусом коровьей оспы, что указывает на перспективность данного подхода для определенных типов опухолей [62].

Вирус Синдбис

Вирус Синдбис впервые был выделен из комаров рода *Culex*, собранных в деревне Синдбис близ Каира в 1952 г. [20]. Вирус Синдбис может рассматриваться в качестве онколитического агента, так как не вызывает серьезных заболеваний у людей, способен эффективно заражать, лизировать опухолевые клетки и проникать в труднодоступные опухоли при системном введении [50]. SIN, как и SFV, чувствителен к интерферону и без генетических модификаций может быть использован только в опухолях дефектной передачей сигнала интерферона. Как доказательство чувствительности SIN к интерферону были проведены эксперименты на мышах с использованием клеточной линии гепатомы мышей ML-1 4a, которая частично дефектна по продукции IFN β , но интактна по передаче сигналов интерферона. В результате при имплантации *in vivo* гепатома мышей ML-1 4a может продуцировать низкие уровни IFN β , а также способна реагировать на интерферон, который секретируется окружающими нормальными клетками и, следовательно, вызывать противовирусный ответ, тем самым снижая эффективность терапии вирусом Синдбис [14]. Также в данном исследовании была использована клеточная линия ARKD со стабильным нокаутом рецептора интерферона на основе клеточной линии ML-1 4 и клеточная линия гепатомы мыши BNL, которая не имеет нарушений передачи сигнала интерферона. Необходимо подчеркнуть, что ARKD имеет в 5 раз меньший уровень экспрессии рецептора интерферона IFNAR1 в сравнении с исходной клеточной линией ML-1 4a. При оценке онколитического действия SIN на опухолевых клеточных линиях ML-1 4a и ARKD *in vivo*, как и ожидалось, наблюдалось замедление роста опухоли и высокие уровни ее инфильтрации клетками CD8⁺ и CD4⁺, в то время как на опухоли BNL терапия не подействовала. Также отмечалось, что регресс опухолей ARKD был сильнее по сравнению с ML-1 4a. Таким образом, состояние интерферонового ответа имеет решающее значение для успеха виротерапии вирусом Синдбис на моделях *in vivo*. Следует также отметить, что SIN индуцирует цитотоксический противоопухолевый иммунитет, который сдерживает рост опухоли даже после выведения вируса [14]. Онколитический потенциал вируса Синдбис оценивали в сравнительной характеристике с реовирусом на клеточных линиях рака шейки матки (HeLaS3 и C33A) и рака яичников (НОС-1, НАС-2 и ОМС-3). SIN показал большую эффективность в сравнении с реовирусом, а также не вызывал морфологических изменений в нетрансформированных кератиноцитах. Помимо этого, опухолевые клетки рака

шейки матки (HeLaS3 и C33A) вводили мышам BALB/cAnNcrj-nu/nu подкожно с последующей терапией посредством внутривенного введения вируса Синдбис, что приводило к значительной регрессии развившихся опухолей [51]. Аналогичный эффект был достигнут при внутрибрюшинном введении вируса бестимусным мышам CB.17 SCID с внутрибрюшинным раком яичников человека ОМС-3 [51]. В другом исследовании [57] сравнивали онколитическую активность 9 разных вирусов в отношении клеточных линий глиобластом U-87 MG и M059J. Использовали вирусы везикулярного стоматита, Синдбис, псевдобешенства, аденоассоциированный вирус, мелкий вирус мышей (штаммы MVMi и MVMp), цитомегаловирус мыши, цитомегаловирус человека и вирус обезьян SV40. Вирусы везикулярного стоматита и Синдбис продемонстрировали сильное цитолитическое действие, высокую скорость репликации на клеточной культуре U-87 MG, однако вирус Синдбис не инфицировал клетки M059J, в то время как вирус везикулярного стоматита эффективно лизировал клетки обеих культур. Также SIN проявлял селективность в отношении опухолевых клеток при сокультивировании глиобластомы и фибробластов. В экспериментах на подкожной модели глиобластомы U-87 MG SIN также приводил к цитолизу клеток опухоли, как и в эксперименте на клеточных линиях *in vitro*. Исходя из полученных результатов можно предположить, что SIN является хорошим кандидатом для лечения глиобластомы, однако без генетических модификаций весьма ограничен в использовании. При оценке вируса Синдбис для лечения нейробластом на бестимусных мышах BALB/cAnNcrj-nu/nu был показан полный регресс в течение 3–8 недель опухолей нейробластомы SK-N-SH и регресс 5 из 6 опухолей нейробластомы IMR-32 в течение 7–10 недель после терапии SIN, а также выживаемость в течение года после лечения тех мышей, у которых наблюдалась полная элиминация опухолей [46].

Вирус Гета

Альфовирус М1 — это штамм вируса Гета, который был выделен из комаров вида *Culex*, собранных на острове Хайнань в Китае в 1960-х гг. [56]. Вирус поражает в основном лошадей и свиней и не является патогенным для человека [7]. Альфовирус М1 индуцирует апоптоз в клетках глиомы за счет стресса эндоплазматического ретикулаума [13] и реплицируется селективно в опухолевых клетках, не вызывая токсических эффектов [23, 59]. В доклинических испытаниях на моделях гепатоцеллюлярной карциномы Нер3В, рака молочной железы мыши 4Т1 и меланомы кожи мыши В16 наблюдались очевид-

ные противоопухолевые эффекты, не было отмечено токсических эффектов и репликации вируса в здоровых тканях. Также была установлена чувствительность альфовируса М1 к противовирусному белку с цинковыми пальцами (Zinc-finger antiviral protein, ZAP), который способен взаимодействовать с вирусной мРНК, подавляя тем самым трансляцию вирусных белков. Дефицит ZAP часто встречается в злокачественных новообразованиях и, вероятно, этот факт является одним из основных факторов селективной репродукции альфовируса М1 в опухолевых клетках [23]. В других исследованиях [60] было продемонстрировано, что при трижды негативном раке молочной железы (Triple-negative breast cancer, TNBC) альфовирус М1 индуцирует некроптоз, а не апоптоз, как в случае глиомы. Также было выявлено, что доксорубин повышает чувствительность TNBC к альфовирусу М1, однако в других опухолевых клеточных линиях доксорубин не усиливал действие вируса, что позволяет применять альфовирус М1 в комбинированной терапии с доксорубином только для лечения TNBC [60]. Существуют и другие исследования применения комбинированной терапии с альфовирусом М1. Так, для аденокарциномы поджелудочной железы PAN02 было предложено использовать терапию альфовирусом М1 с необратимой электропорацией NanoKnife, которая способствовала инфицированию вирусом опухолевых клеток, что приводило к выраженному противоопухолевому эффекту [44].

Альфовирусы как иммуномодулирующие агенты

Альфовирусы и векторы на их основе способны активировать противоопухолевый иммунитет, то есть могут рассматриваться как агенты для иммунотерапии злокачественных новообразований (табл. 2). Например, при терапии неходжкинской В-клеточной лимфомы А20, инокулированной мышам BALB/c, были использованы векторы на основе вируса Синдбис с дефектом репликации в сочетании с моноклональными антителами $\alpha 4-1\text{B}1$ Ab. Такая комбинированная терапия, в отличие от монотерапии, привела к полному регрессу опухоли. Лизис опухоли способствовал синергетическим эффектам: повышению цитотоксичности Т-лимфоцитов, продукции $\text{IFN}\gamma$, пролиферации, миграции Т-лимфоцитов. Кроме того, у всех выживших мышей развивался противоопухолевый иммунитет, что вызывало отторжение лимфомы А20 при ее повторном введении мышам [58].

Одной из стратегий активации противоопухолевого иммунитета является вставка в геном он-

коллитического вируса различных терапевтических генов, например генов, кодирующих опухоль-ассоциированные или чужеродные антигены, которые распознаются иммунной системой и индуцируют опосредованный Т-лимфоцитами иммунный ответ на опухоль. Было показано, что векторы на основе вируса Синдбис (SV-LacZ), несущие β -галактозидазу LacZ, ингибировали рост мышечной карциномы толстой кишки CT26, экспрессирующую LacZ, вызывали ремиссию опухоли и активировали цитотоксические CD8⁺. При этом вирус Синдбис без генетических вставок оказывал незначительное терапевтическое действие в отношении опухолевых клеток CT26. Этот эффект связан с иммунным ответом на чужеродный антиген LacZ. Также следует сказать о формировании Т-клеток памяти, которые в дальнейшем активировали иммунный ответ при повторном введении SV-LacZ как в отношении опухолевых клеток карциномы толстой кишки CT26, экспрессирующих LacZ, так и в отношении LacZ-негативных опухолевых клеток [10, 49]. Кроме того, на модели карциномы яичников человека ES-2 было показано, что SV-LacZ активирует NK-клетки [9]. В другом исследовании [38] был разработан вектор на основе вируса Синдбис (SV-NYESO-1) с использованием опухоль-ассоциированного антигена рака яичка человека NYESO-1, который экспрессируется при раке яичников примерно в 43% случаев [8]. Онколитическую активность вектора SV-NYESO-1 проверяли на мышах BALB/C с использованием опухолевых клеток карциномы толстой кишки, экспрессирующих NYESO-1 [38]. Были отмечены задержка роста опухоли, иммуномодулирующее действие вектора и, в некоторых случаях, полный регресс опухолей. Было отмечено, что лечение SV-NYESO-1 приводило к увеличению экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках и PD-1 — на инфильтрирующих опухоль Т-клетках. Поэтому для усиления противоопухолевых эффектов SV-NYESO-1 была применена комбинированная терапия с блокатором иммунных контрольных точек anti-PD-1, что привело к более сильному противоопухолевому иммунному ответу, к полному исчезновению опухолей практически у всех мышей, а также к формированию противоопухолевого иммунитета [38]. При использовании вектора SFV-OVA, кодирующего овальбуминовый антиген (Ovalbumin, OVA), который является высокоиммуногенным чужеродным антигеном, в комбинированной терапии с VV-OVA на модели карциномы яичников мыши MOSEC наблюдались более выраженные противоопухолевые эффекты, чем при использовании диких штаммов SFV и VV. Противоопухолевые эффекты включали уменьшение объема опухоли и длительную выживаемость мышей C57BL/6 за счет прямого онколитического действия вирусов на опухоль, а также за счет активации OVA-специфических CD8⁺ [62].

Для противоопухолевой терапии у мышей с подкожной мышечной лимфобластомой TC-1 использовали вектор SFV-IFN на основе вируса леса Семлики, экспрессирующий мышечный IFN α [33]. SFV-IFN был способен индуцировать ответ цитотоксических Т-лимфоцитов и активировать миелоидные клетки. Внутритропухолевое введение SFV-IFN приводило к лизису 58% привитых опухолей в течение 21 дня. SFV-IFN также был способен индуцировать значительный противоопухолевый ответ в подкожной мышечной модели аденокарциномы толстой кишки [33].

В настоящее время активно исследуются противоопухолевые свойства векторов, кодирующих интерлейкины, в том числе IL-12, который участвует в дифференцировке Т-клеток и стимулирует выработку фактора некроза опухоли, что делает его важным компонентом противоопухолевого иммунного ответа. В исследовании [48] в течение 5 дней после внутрибрюшинного введения вектора SIN/IL-12 мышам CB-17-SCID с карциномой яичников ES-2 детектировали уменьшение опухолей на 95%. Также было установлено, что терапевтический эффект SIN/IL12 зависит как от цитотоксической, так и от регуляторной функций NK-клеток [9]. На основе вируса леса Семлики также был создан вектор с геном, кодирующим IL-12 (SFV-enhIL-12), и введение его суркам *Marmota monax* с гепатоцеллюлярной карциномой приводило к активации интерферонов и Т-клеточного иммунного ответа, что способствовало уменьшению объема опухолей [36]. Внутритропухолевое введение вектора SFV-IL-12 крысам Fischer 344 с глиомой RG2 в дозах 5×10^7 и 5×10^8 частиц в 5 мкл приводило к уменьшению объема опухоли на 70 и 87% соответственно. При этом введение низкой дозы вируса-вектора значительно увеличивало время выживания крыс, а высокая доза в некоторых случаях была летальна, что, по-видимому, было результатом воспаления, некроза или отека в месте инокуляции [35]. В другом исследовании также было показано, что SFV-IL-12 активирует Т-лимфоциты, и усиливает экспрессию OX40 (один из рецепторов фактора некроза опухоли, который участвует в пролиферации Т-лимфоцитов) на CD4 Т-эффекторных клетках, и при комбинированной терапии с применением антител-агонистов anti-OX40, способных активировать рецептор OX40, наблюдался регресс опухолей [39].

Следует отметить, что для использования в онкоиммунотерапии активно исследуются векторы на основе VEE, и на данный момент уже есть данные клинических исследований по применению таких векторов [31]. AVX701 представляет собой вектор на основе VEE с дефектом репликации (virus replicon particles, VRP),

Таблица 2. Иммуноопосредованная противоопухолевая эффективность альфавирусов

Table 2. Immune-mediated antitumour Alphavirus efficacy

Вирус Virus	Трансген Transgene	Комбинированная терапия Combination therapy	Тип опухоли (модель) Tumour type (model)	Животная модель Animal model	Противоопухолевые эффекты Antitumour effects	Ссылка на исследование References
SIN		Моноклональные антитела $\alpha 4-1BB$ Ab Monoclonal antibody $\alpha 4-1BB$ Ab	Неходжкинская В-клеточная лимфома А20 мыши (внутрибрюшинная) Mouse non-Hodgkin's B-cell lymphoma A20 (intraperitoneal)	BALB/C мыши BALB/C mice	Полный регресс опухоли, продукция IFN γ , активация Т-клеток, усиление противоопухолевого иммунитета Total tumor regression, IFN γ production, T-cell activation, increased anti-tumor immunity	[58]
	LacZ	-	Карцинома толстой кишки мыши СТ26 (подкожная, внутрибрюшинная) CT26 mouse colon carcinoma (subcutaneous, intraperitoneal)	BALB/C мыши BALB/C mice	Ингибирование роста опухоли, активация CD8 ⁺ Inhibited tumor growth, CD8 ⁺ activation	[10]
			Карцинома яичников человека ES-2 (внутрибрюшинная) Human ovarian carcinoma ES-2 (intraperitoneal)	CB-17-SCID мыши CB-17-SCID mice	Активация NK-клеток NK cell activation	[9]
	NYESO-1	anti-PD-1	Карцинома толстой кишки мыши СТ26. Fluc.NYESO1 (внутрибрюшинная) Mouse colon carcinoma CT26.Fluc.NYESO1 (intraperitoneal)	BALB/C мыши BALB/C mice	Полный регресс опухоли, инфильтрация Т-клеток в опухолях, продукция IFN γ , индукция экспрессии PD-L1 и PD-1, развитие противоопухолевого иммунитета Tumor regression, T-cell infiltration, IFN γ production induction of PD-L1 and PD-1 expression, increased antitumor immunity	[38]
	IL-12	-	Карцинома яичников человека ES-2 (внутрибрюшинная) Human ovarian carcinoma ES-2 (intraperitoneal)	CB-17-SCID мыши CB-17-SCID mice	Активация Т- и NK-клеток Activation of T and NK cells	[11, 48]
SFV	IFN α	-	Лимфобластома мыши ТС-1 (подкожная) Mouse TS-1 lymphoblastoma (subcutaneous)	C57BL/6 мыши C57BL/6 mice	Активация миелоидных клеток, цитотоксических Т-лимфоцитов, регресс опухолей, развитие противоопухолевого иммунитета Activation of myeloid cells, cytotoxic T lymphocytes, tumor regression, development of antitumor immunity	[33]
	IL-12	-	Гепатоцеллюлярная карцинома (индуцированная) Hepatocellular carcinoma (induced)	Сурки <i>Marmota monax</i> <i>Marmota monax</i> marmots	Активация IFN I и II, Т-клеток, ремиссия опухоли Activation of type I and II IFNs, T cells, tumor remission	[36]

Вирус Virus	Трансген Transgene	Комбинированная терапия Combination therapy	Тип опухоли (модель) Tumour type (model)	Животная модель Animal model	Противоопухолевые эффекты Antitumour effects	Ссылка на исследование References
SFV	IL-12	-	Глиома крысы RG2 (ортоотопическая) Rat glioma RG2 (orthotopic)	Крысы Fischer 344 Fischer 344 rats	Уменьшение объема опухоли, увеличение выживаемости, смертельная патология в виде воспаления и отека Reduced tumor volume, increased survival, lethal pathology in the form of inflammation and edema	[35]
		anti-OX40	Карцинома толстой кишки мыши CT26, карцинома предстательной железы мыши MyC-CaP (внутрибрюшинная) CT26 mouse colon carcinoma, MyC-CaP mouse prostate carcinoma (intraperitoneal)	BALB/c, FVB/NJ мыши BALB/c, FVB/NJ мыши	Активация Т-клеток, регресс опухолей, снижение риска развития резистентности опухоли T-cell activation, tumor regression, reducing the risk of tumor resistance	[39]
SFV + VV	OVA	-	Эпителиальная карцинома яичника мышей MOSEC (внутрибрюшинная) Epithelial carcinoma of the mouse ovary, MOSEC (intraperitoneal)	C57BL/6 мыши C57BL/6 mice	Уменьшение объема опухоли, длительная выживаемость, активация OVA- специфических CD8 ⁺ Reduced tumor volume, long-term survival, activation of OVA-specific CD8 ⁺	[62]
VEE (VRP)	IL-12, CEA	-	Аденокарцинома толстой кишки мыши MC38-CEA-2 Mouse colon adenocarcinoma MC38- CEA-2	C57BL/6 Мыши C57BL/6 mice	Активация CEA- специфического Т-клеточного ответа Activation of a CEA- specific T-cell response	[32]
	CEA	-	Колоректальный рак (клинические испытания) Colorectal cancer (clinical trials)	-	Активация CEA- специфического Т-клеточного ответа, длительная выживаемость Activation of CEA-specific T-cell response, long-term survival rate	[31]
	HER2	-	Рак молочной железы со сверхэкспрессией HER2 (ортоотопическая, клинические испытания) Breast cancer with HER2 overexpression (orthotopic, clinical trials)	BALB/c Мыши BALB/c mice	Регресс опухолей, развитие противоопухолевого иммунитета Tumor regression, activation of anti-tumor immunity	[5]
	Белки вируса папилломы человека 16 типа E6 и E7 Human papillomavirus type 16 proteins E6 and E7	-	Лимфобластома мыши TC-1 (подкожная) Mouse lymphoblastoma TC-1 (subcutaneous)	C57BL/6 мыши C57BL/6 mice	Развитие противоопухолевого иммунитета Developing anti-tumor immunity	[4]

Примечание. SIN — Синдбис, SFV — вирус леса Семлики, VV — вирус коровьей оспы, VEE — вирус Венесуэльского энцефаломиелита лошадей, VRP — вирусные частицы репликона с дефектом репликации, LacZ — β-галактозидаза, NYESO-1 — опухоль-ассоциированный антиген рака яичка человека; OVA — овалбуминовый антиген, CEA — карциноэмбриональный антиген, HER2 — рецептор 2 эпидермального фактора роста человека. Note. SIN — Sindbis, SFV — Semliki Forest virus, VV — vaccinia virus, VEE — Venezuelan equine encephalitis virus, VRP — virus replicon particles, LacZ — β-galactosidase, NYESO-1 — tumor-associated human testicular cancer antigen, OVA — ovalbumin antigen, CEA — carcinoembryonic antigen, HER2 — human epidermal growth factor receptor 2.

кодирующий карциноэмбриональный антиген СЕА, который является биомаркером опухоли для колоректального и некоторых других видов рака [11]. Данный вектор был протестирован в первой фазе клинических исследований на пациентах с колоректальным раком. Активация Т-лимфоцитов после введения AVX701 приводила к более длительному выживанию пациентов, однако не к полному излечению. В будущем исследователи планируют повысить эффективность терапии, комбинируя AVX701 с блокаторами иммунных контрольных точек [31]. В других доклинических исследованиях на мышах с опухолями аденокарциномы толстой кишки MC38-СЕА-2 вирус-вектор AVX701 при применении в комбинированной терапии с вектором VRP-IL-12, кодирующим IL-12, показал более сильную активацию СЕА-специфического Т-клеточного ответа в сравнении с монотерапией [32]. Также на основе VRP был разработан вектор VRP-HER2, кодирующий домены рецептора эпидермального фактора роста HER2, который гиперэкспрессируется в 20–30% случаев рака молочной железы и связан с более агрессивным поведением опухоли. VRP-HER2 был протестирован в доклинических исследованиях на мышах, при этом в ответ на терапию авторы наблюдали индукцию HER2-специфических Т-клеток и антител, которые ингибировали рост опухоли. Также VRP-HER2 был протестирован в первой фазе клинических исследований, в которых первая группа пациентов со злокачественными новообразованиями со сверхэкспрессией HER2 получала 3 дозы VRP-HER2 в течение 6 недель. Во второй группе пациенты получили те же 3 дозы совместно с зарегистрированными препаратами против HER2-положительного рака молочной железы, такими как моноклональные антитела Pertuzumab, Trastuzumab или препараты TDM-1 и Lapatinib. В первой группе выживаемость без прогрессирования составила 1,8 месяца, а общая выживаемость — 50,2 месяца, во второй группе — 3,6 и 32,7 месяцев соответственно. Также следует отметить, что VRP-HER2 хорошо переносился пациентами, и вакцинация индуцировала HER2-специфические Т-клетки и антитела. В дальнейшем авторы планируют продолжить испытания с блокаторами иммунных контрольных точек [5]. В другой работе [4] авторы разработали вектор на основе VEE, кодирующий гены белков вируса Е6 и Е7 папилломы человека 16 типа. Белки Е6 и Е7 способны инактивировать белки-супрессоры опухолевого роста Rb и P53, тем самым способствуя развитию опухоли. В разработанном векторе аминокислотные последовательности белков Е6 и Е7 были изменены в четырех/пяти местах для инактивации их онкогенного потенциала. Вакцинация мышей полученным вектором

с последующим введением клеточной линии лимфобластомы ТС-1 или опухолевой клеточной линии С3 защищала животных от развития опухоли на 100 и 90% соответственно благодаря действию Т-лимфоцитов, специфичных в отношении антигенов Е6 и Е7. Также авторы доказали безопасность этого вектора, предоставив данные по уровням экспрессии белков P53 и Rb [4].

Заключение

Таким образом, альфавирусы продемонстрировали потенциал для применения в противоопухолевой терапии. Широкий тропизм позволяет использовать их для лизиса опухолей различной этиологии, при этом селективность альфавирусов и векторов на их основе к репликации в опухолевых клетках определяется внутриклеточными факторами. Следует отметить эффективность альфавирусов и векторов на их основе в качестве противоопухолевых иммуномодулирующих агентов как в монотерапии, так и в комбинированной терапии. Альфавирусы способны не только вызывать иммунный ответ непосредственно после введения, но также индуцировать формирование противоопухолевого иммунитета, защищающего организм от повторного развития злокачественного новообразования. Помимо этого, альфавирусы представляют собой удобную платформу для разработки векторов, экспрессирующих различные целевые белки для комплексной борьбы с опухолями. Простое и быстрое получение рекомбинантных частиц с высоким титром, а также быстрая репликация РНК без риска интеграции ее в геном делают альфавирусные векторы привлекательными в качестве онколитических, однако зачастую они обеспечивают только временную экспрессию трансгена, закодированного в геноме. С другой стороны временная экспрессия может быть достоинством, так как в этом случае иммуногенность альфавирусов, как правило, невысокая, что позволяет вводить вирус системно в кровоток без риска его инактивации иммунной системой. Также следует отметить, что на данный момент количество проведенных или запланированных клинических испытаний с применением альфавирусных конструкций невелико, и, согласно базе PubMed, опубликовано в десять раз больше исследований в области иммунотерапии опухолей для аденовирусов, чем для альфавирусов. Однако, хотя серьезных прорывов пока не наблюдается, проведенные исследования подтвердили безопасность введения альфавирусов человеку и наличие у них выраженных противоопухолевых эффектов. В целом альфавирусы и векторы на их основе являются перспективными противоопухолевыми агентами.

Список литературы/References

- Alberts P., Tilgase A., Rasa A., Bandere K., Venskus D. The advent of oncolytic virotherapy in oncology: The Rigvir® story. *Eur. J. Pharmacol.*, 2018, vol. 837, pp. 117–126. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.08.042
- Al-Saleh W., Delvenne P., Brule F.A., Menard S., Boniver J., Castronovo V. Expression of the 67 KD laminin receptor in human cervical preneoplastic and neoplastic squamous epithelial lesions: an immunohistochemical study. *J. Pathol. Clin. Res.*, 1997, vol. 181, pp. 287–293. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199703)181:3<287::AID-PATH762>3.0.CO;2-W
- Bradish C.J., Allner K., Maber H.B. The virulence of original and derived strains of Semliki Forest virus for mice, guinea-pigs and rabbits. *J. Gen. Virol.*, 1971, vol. 12, pp. 141–160. doi: 10.1099/0022-1317-12-2-141
- Cassetti M.C., McElhiney S.P., Shahabi V., Pullen J.K., Le Poole I.C., Eiben G.L., Smith L.R., Kast W.M. Antitumor efficacy of Venezuelan equine encephalitis virus replicon particles encoding mutated HPV16 E6 and E7 genes. *Vaccine*, 2004, vol. 22, pp. 520–527. doi: 10.1016/j.vaccine.2003.07.003
- Crosby E.J., Gwin W., Blackwell K., Marcom P.K., Chang S., Maecker H.T., Broadwater G., Hyslop T., Kim S., Rogatko A., Lubkov V., Snyder J.C., Osada T., Hobeika A.C., Morse M.A., Lyerly H.K., Hartman Z.C. Vaccine-induced memory CD8⁺ T cells provide clinical benefit in HER2 expressing breast cancer: a mouse to human translational study. *Clin. Cancer Res.*, 2019, vol. 25, pp. 2725–2736. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3102
- Frampton J.E. Teserparev/G47Δ: first approval. *BioDrugs*, 2022, vol. 36, pp. 667–672. doi: 10.1007/s40259-022-00553-7
- Fukunaga Y., Kumanomido T., Kamada M. Getah virus as an equine pathogen. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, 2000, vol. 16, pp. 605–617. doi: 10.1016/s0749-0739(17)30099-8
- Gnjatic S., Nishikawa H., Jungbluth A.A., Güre A.O., Ritter G., Jäger E., Knuth A., Chen Y.-T., Old L.J. NY-ESO-1: review of an immunogenic tumor antigen. *Adv. Cancer Res.*, 2006, vol. 95, pp. 1–30. doi: 10.1016/S0065-230X(06)95001-5
- Granot T., Venticinque L., Tseng J.-C., Meruelo D. Activation of cytotoxic and regulatory functions of NK cells by Sindbis viral vectors. *PLoS One*, 2011, vol. 6: e20598. doi: 10.1371/journal.pone.0020598
- Granot T., Yamanashi Y., Meruelo D. Sindbis viral vectors transiently deliver tumor-associated antigens to lymph nodes and elicit diversified antitumor CD8⁺ T-cell immunity. *Mol. Ther.*, 2014, vol. 22, pp. 112–122. doi: 10.1038/mt.2013.215
- Hasanzadeh M., Shadjou N., Lin Y., de la Guardia M. Nanomaterials for use in immunosensing of carcinoembryonic antigen (CEA): recent advances. *Trends Analyt. Chem.*, 2017, vol. 86, pp. 185–205. doi: 10.1016/j.trac.2016.11.003
- Heikkilä J.E., Vähä-Koskela M.J.V., Ruotsalainen J.J., Martikainen M.W., Stanford M.M., McCart J.A., Bell J.C., Hinkkanen A.E. Intravenously administered Alphavirus vector VA7 eradicates orthotopic human glioma xenografts in nude mice. *PLoS One*, 2010, vol. 5: e8603. doi: 10.1371/journal.pone.0008603
- Hu J., Cai X.F., Yan G. Alphavirus M1 induces apoptosis of malignant glioma cells via downregulation and nucleolar translocation of p21WAF1/CIP1 protein. *Cell Cycle*, 2009, vol. 8, pp. 3328–3339. doi: 10.4161/cc.8.20.9832
- Huang P.Y., Guo J.H., Hwang L.H. Oncolytic Sindbis virus targets tumors defective in the interferon response and induces significant bystander antitumor immunity in vivo. *Mol. Ther.*, 2012, vol. 20, pp. 298–305. doi: 10.1038/mt.2011.245
- Kaufman H.L., Kohlhapp F.J., Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2015, vol. 14, pp. 642–662. doi: 10.1038/nrd4663
- Kaufman H.L., Shalhout S.Z., Iodice G. Talimogene laherparepvec: moving from first-in-class to best-in-class. *Front. Mol. Biosci.*, 2022, vol. 9: 834841. doi: 10.3389/fmolb.2022.834841
- Kelly E., Russell S.J. History of oncolytic viruses: genesis to genetic engineering. *Mol. Ther.*, 2007, vol. 15, pp. 651–659. doi: 10.1038/sj.mt.6300108
- Ketola A., Hinkkanen A., Yongabi F., Furu P., Määttä A.M., Liimatainen T., Pirinen R., Björn M., Hakkarainen T., Mäkinen K., Wahlfors J., Pellinen R. Oncolytic Semliki Forest virus vector as a novel candidate against unresectable osteosarcoma. *Cancer Res.*, 2008, vol. 68, pp. 8342–8350. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0251
- Klimstra W.B., Nangle E.M., Smith M.S., Yurochko A.D., Ryman K.D. DC-SIGN and L-SIGN can act as attachment receptors for Alphaviruses and distinguish between mosquito cell- and mammalian cell-derived viruses. *J. Virol.*, 2003, vol. 77, pp. 12022–12032. doi: 10.1128/jvi.77.22.12022-12032.2003
- Laine M., Luukkainen R., Toivanen A. Sindbis viruses and other Alphaviruses as cause of human arthritic disease. *J. Int. Med.*, 2004, vol. 256, pp. 457–471. doi: 10.1111/j.1365-2796.2004.01413.x
- Leung J.Y.-S., Ng M.M.-L., Chu J.J.-H. Replication of Alphaviruses: a review on the entry process of Alphaviruses into cells. *Adv. Virol.*, 2011, vol. 2011: e249640. doi: 10.1155/2011/249640
- Liang M. Oncorine, the world first oncolytic virus medicine and its update in China. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2018, vol. 18, pp. 171–176. doi: 10.2174/1568009618666171129221503
- Lin Y., Zhang H., Liang J., Li K., Zhu W., Fu L., Wang F., Zheng X., Shi H., Wu S., Xiao X., Chen L., Tang L., Yan M., Yang X., Tan Y., Qiu P., Huang Y., Yin W., Su X., Hu H., Hu J., Yan G. Identification and characterization of Alphavirus M1 as a selective oncolytic virus targeting ZAP-defective human cancers. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 2014, vol. 111, pp. e4504–e4512. doi: 10.1073/pnas.1408759111
- Määttä A.-M., Liimatainen T., Wahlfors T., Wirth T., Vähä-Koskela M., Jansson L., Valonen P., Häkkinen K., Rautsi O., Pellinen R., Mäkinen K., Hakumäki J., Hinkkanen A., Wahlfors J. Evaluation of cancer virotherapy with attenuated replicative Semliki Forest virus in different rodent tumor models. *Int. J. Cancer*, 2007, vol. 121, pp. 863–870. doi: 10.1002/ijc.22758
- Määttä A.-M., Mäkinen K., Ketola A., Liimatainen T., Yongabi F.N., Vähä-Koskela M., Pirinen R., Rautsi O., Pellinen R., Hinkkanen A., Wahlfors J. Replication competent Semliki Forest virus prolongs survival in experimental lung cancer. *Int. J. Cancer*, 2008, vol. 123, pp. 1704–1711. doi: 10.1002/ijc.23646
- Malfitano A.M., Di Somma S., Iannuzzi C.A., Pentimalli F., Portella G. Virotherapy: from single agents to combinatorial treatments. *Biochem. Pharmacol.*, 2020, vol. 177: e113986. doi: 10.1016/j.bcp.2020.113986
- Markoff L. *Alphaviruses* (Chikungunya, Eastern Equine Encephalitis). In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier, Inc., 2020. Chapter 151: 1997-2006.e4
- Martikainen M., Niittykoski M., von und zu Fraunberg M., Immonen A., Koponen S., van Geenen M., Vähä-Koskela M., Ylösmäki E., Jääskeläinen J.E., Saksela K., Hinkkanen A. MicroRNA-attenuated clone of virulent Semliki Forest virus overcomes antiviral type I interferon in resistant mouse CT-2A glioma. *J. Virol.*, 2015, vol. 89, pp. 10637–10647. doi: 10.1128/JVI.01868-15

29. Martikainen M., Ramachandran M., Lugano R., Ma J., Martikainen M.-M., Dimberg A., Yu D., Merits A., Essand M. IFN-I-tolerant oncolytic Semliki Forest virus in combination with anti-PD1 enhances T cell response against mouse glioma. *Mol. Ther. Oncolytics*, 2021, vol. 21, pp. 37–46. doi: 10.1016/j.omto.2021.03.008
30. Martikainen M., Ruotsalainen J., Tuomela J., Härkönen P., Essand M., Heikkilä J., Hinkkanen A. Oncolytic Alphavirus SFV-VA7 efficiently eradicates subcutaneous and orthotopic human prostate tumours in mice. *Br. J. Cancer*, 2017, vol. 117, pp. 51–55. doi: 10.1038/bjc.2017.151
31. Morse M.A., Hobeika A., Gwin W., Osada T., Gelles J., Rushing C., Niedzwiecki D., Lysterly H.K. Phase I study of alphaviral vector (AVX701) in colorectal cancer patients: comparison of immune responses in stage III and stage IV patients. *J. Immunother. Cancer*, 2015, vol. 3: 444. doi: 10.1186/2051-1426-3-S2-P444
32. Osada T., Berglund P., Morse M.A., Hubby B., Lewis W., Niedzwiecki D., Yang X.Y., Hobeika A., Burnett B., Devi G.R., Clay T.M., Smith J., Kim Lysterly H. Co-delivery of antigen and IL-12 by Venezuelan equine encephalitis virus replicon particles enhances antigen-specific immune responses and antitumor effects. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2012, vol. 61, pp. 1941–1951. doi: 10.1007/s00262-012-1248-y
33. Quetglas J.I., Fioravanti J., Ardaiz N., Medina-Echeverz J., Baraibar I., Prieto J., Smerdou C., Berraondo P. A Semliki Forest virus vector engineered to express IFN α induces efficient elimination of established tumors. *Gene Ther.*, 2012, vol. 19, pp. 271–278. doi: 10.1038/gt.2011.99
34. Ramsey J., Mukhopadhyay S. Disentangling the frames, the state of research on the Alphavirus 6K and TF proteins. *Viruses*, 2017, vol. 9: 228. doi: 10.3390/v9080228
35. Roche F.P., Sheahan B.J., O'Mara S.M., Atkins G.J. Semliki Forest virus-mediated gene therapy of the RG2 rat glioma. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 2010, vol. 36, pp. 648–660. doi: 10.1111/j.1365-2990.2010.01110.x
36. Rodriguez-Madoz J.R., Liu K.H., Quetglas J.I., Ruiz-Guillen M., Otano I., Crettaz J., Butler S.D., Bellezza C.A., Dykes N.L., Tennant B.C., Prieto J., González-Aseguinolaza G., Smerdou C., Menne S. Semliki Forest virus expressing interleukin-12 induces antiviral and antitumoral responses in woodchucks with chronic viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *J. Virol.*, 2009, vol. 83, pp. 12266–12278. doi: 10.1128/JVI.01597-09
37. Samuel C.E. Antiviral actions of interferons. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2001, vol. 14, pp. 778–809. doi: 10.1128/CMR.14.4.778-809.2001
38. Scherwitzl I., Hurtado A., Pierce C.M., Vogt S., Pampeno C., Meruelo D. Systemically administered sindbis virus in combination with immune checkpoint blockade induces curative anti-tumor immunity. *Mol. Ther. Oncolytics.*, 2018, vol. 9, pp. 51–63. doi: 10.1016/j.omto.2018.04.004
39. Scherwitzl I., Opp S., Hurtado A.M., Pampeno C., Loomis C., Kannan K., Yu M., Meruelo D. Sindbis virus with anti-OX40 overcomes the immunosuppressive tumor microenvironment of low-immunogenic tumors. *Mol. Ther. Oncolytics.*, 2020, vol. 17, pp. 431–447. doi: 10.1016/j.omto.2020.04.012
40. Skidmore A.M., Bradfute S.B. The life cycle of the Alphaviruses: from an antiviral perspective. *Antiviral Res.*, 2023, vol. 209: e105476. doi: 10.1016/j.antiviral.2022.105476
41. Smit J.M., Waarts B.-L., Kimata K., Klimstra W.B., Bittman R., Wilschut J. Adaptation of Alphaviruses to heparan sulfate: interaction of Sindbis and Semliki Forest viruses with liposomes containing lipid-conjugated heparin. *J. Virol.*, 2002, vol. 76, pp. 10128–10137. doi: 10.1128/jvi.76.20.10128-10137.2002
42. Strauss J.H., Strauss E.G. The Alphaviruses: gene expression, replication, and evolution. *Microbiol. Rev.*, 1994, vol. 58, pp. 491–562. doi: 10.1128/mr.58.3.491-562.1994
43. Strauss J.H., Strauss E.G. Virus evolution: how does an enveloped virus make a regular structure? *Cell*, 2001, vol. 105, pp. 5–8. doi: 10.1016/s0092-8674(01)00291-4
44. Sun S., Liu Y., He C., Hu W., Liu W., Huang X., Wu J., Xie F., Chen C., Wang J., Lin Y., Zhu W., Yan G., Cai J., Li S. Combining NanoKnife with M1 oncolytic virus enhances anticancer activity in pancreatic cancer. *Cancer Lett.*, 2021, vol. 502, pp. 9–24. doi: 10.1016/j.canlet.2020.12.018
45. Suomalainen M., Liljeström P., Garoff H. Spike protein-nucleocapsid interactions drive the budding of Alphaviruses. *J. Virol.*, 1992, vol. 66, pp. 4737–4747. doi: 10.1128/JVI.66.8.4737-4747.1992
46. Takenouchi A., Saito K., Saito E., Saito T., Hishiki T., Matsunaga T., Isegawa N., Yoshida H., Ohnuma N., Shirasawa H. Oncolytic viral therapy for neuroblastoma cells with Sindbis virus AR339 strain. *Pediatr. Surg. Int.*, 2015, vol. 31, pp. 1151–1159. doi: 10.1007/s00383-015-3784-y
47. Tian Y., Xie D., Yang L. Engineering strategies to enhance oncolytic viruses in cancer immunotherapy. *Signal Transduct. Target Ther.*, 2022, vol. 7: 117. doi: 10.1038/s41392-022-00951-x
48. Tseng J.-C., Hurtado A., Yee H., Levin B., Boivin C., Benet M., Blank S.V., Pellicer A., Meruelo D. Using sindbis viral vectors for specific detection and suppression of advanced ovarian cancer in animal models. *Cancer Res.*, 2004, vol. 64, pp. 6684–6692. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-1924
49. Tseng J.-C., Levin B., Hirano T., Yee H., Pampeno C., Meruelo D. In vivo antitumor activity of sindbis viral vectors. *J. Natl Cancer Inst.*, 2002, vol. 94, pp. 1790–1802. doi: 10.1093/jnci/94.23.1790
50. Tseng J.-C., Levin B., Hurtado A., Yee H., de Castro I.P., Jimenez M., Shamamian P., Jin R., Novick R.P., Pellicer A., Meruelo D. Systemic tumor targeting and killing by Sindbis viral vectors. *Nat. Biotechnol.*, 2004, vol. 22, pp. 70–77. doi: 10.1038/nbt917
51. Unno Y., Shino Y., Kondo F., Igarashi N., Wang G., Shimura R., Yamaguchi T., Asano T., Saisho H., Sekiya S., Shirasawa H. Oncolytic viral therapy for cervical and ovarian cancer cells by Sindbis virus AR339 strain. *Clin. Cancer Res.*, 2005, vol. 11, pp. 4553–4560. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2610
52. Vähä-Koskela M.J.V., Kallio J.P., Jansson L.C., Heikkilä J.E., Zakhartchenko V.A., Kallajoki M.A., Kähäri V.-M., Hinkkanen A.E. Oncolytic capacity of attenuated replicative semliki forest virus in human melanoma xenografts in severe combined immunodeficient mice. *Cancer Res.*, 2006, vol. 66, pp. 7185–7194. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2214
53. Vähä-Koskela M.J.V., Le Boeuf F., Lemay C., De Silva N., Diallo J.-S., Cox J., Becker M., Choi Y., Ananth A., Sellers C., Breton S., Roy D., Falls T., Brun J., Hemminki A., Hinkkanen A., Bell J.C. Resistance to two heterologous neurotropic oncolytic viruses, Semliki Forest virus and vaccinia virus, in experimental glioma. *J. Virol.*, 2013, vol. 87, pp. 2363–2366. doi: 10.1128/JVI.01609-12

54. Van den Brûle F.A., Castronovo V., Ménard S., Giavazzi R., Marzola M., Belotti D., Taraboletti G. Expression of the 67 kD laminin receptor in human ovarian carcinomas as defined by a monoclonal antibody, MLC5. *Eur. J. Cancer*, 1996, vol. 32, no. 9, pp. 1598–1602. doi: 10.1016/0959-8049(96)00119-0
55. Wang K.S., Kuhn R.J., Strauss E.G., Ou S., Strauss J.H. High-affinity laminin receptor is a receptor for Sindbis virus in mammalian cells. *J. Virol.*, 1992, vol. 66, pp. 4992–5001. doi: 10.1128/JVI.66.8.4992-5001.1992
56. Wen J.-S., Zhao W.-Z., Liu J.-W., Zhou H., Tao J.-P., Yan H.-J., Liang Y., Zhou J.-J., Jiang L.-F. Genomic analysis of a Chinese isolate of Getah-like virus and its phylogenetic relationship with other *Alphaviruses*. *Virus Genes*, 2007, vol. 35, pp. 597–603. doi: 10.1007/s11262-007-0110-3
57. Wollmann G., Tattersall P., van den Pol A.N. Targeting human glioblastoma cells: comparison of nine viruses with oncolytic potential. *J. Virol.*, 2005, vol. 79, pp. 6005–6022. doi: 10.1128/JVI.79.10.6005-6022.2005
58. Yu M., Scherwitzl I., Opp S., Tsirigos A., Meruelo D. Molecular and metabolic pathways mediating curative treatment of a non-Hodgkin B cell lymphoma by Sindbis viral vectors and anti-4-1BB monoclonal antibody. *J. Immunother. Cancer*, 2019, vol. 7, no. 1: 185. doi: 10.1186/s40425-019-0664-3
59. Zhang H., Lin Y., Li K., Liang J., Xiao X., Cai J., Tan Y., Xing F., Mai J., Li Y., Chen W., Sheng L., Gu J., Zhu W., Yin W., Qiu P., Su X., Lu B., Tian X., Liu J., Lu W., Dou Y., Huang Y., Hu B., Kang Z., Gao G., Mao Z., Cheng S.-Y., Lu L., Bai X.-T., Gong S., Yan G., Hu J. Naturally existing oncolytic virus M1 is nonpathogenic for the nonhuman primates after multiple rounds of repeated intravenous injections. *Human Gene Ther.*, 2016, vol. 27, no. 9, pp. 700–711. doi: 10.1089/hum.2016.038
60. Zhang J., Liu Y., Tan J., Zhang Y., Wong C.-W., Lin Z., Liu X., Sander M., Yang X., Liang L., Song D., Dan J., Zhou Y., Cai J., Lin Y., Liang J., Hu J., Yan G., Zhu W. Necroptotic virotherapy of oncolytic Alphavirus M1 cooperated with Doxorubicin displays promising therapeutic efficacy in TNBC. *Oncogene*, 2021, vol. 40, no. 29, pp. 4783–4795. doi: 10.1038/s41388-021-01869-4
61. Zhang S., Rabkin S.D. The discovery and development of oncolytic viruses: are they the future of cancer immunotherapy? *Expert Opin. Drug Discov.*, 2021, vol. 16, no. 4, pp. 391–410. doi: 10.1080/17460441.2021.1850689
62. Zhang Y.-Q., Tsai Y.-C., Monie A., Wu T.-C., Hung C.-F. Enhancing the therapeutic effect against ovarian cancer through a combination of viral oncolysis and antigen-specific immunotherapy. *Mol. Ther.*, 2010, vol. 18, pp. 692–699. doi: 10.1038/mt.2009.318
63. Zhao H., Garoff H. Role of cell surface spikes in Alphavirus budding. *J. Virol.*, 1992, vol. 66, pp. 7089–7095. doi: 10.1128/JVI.66.12.7089-7095.1992
64. Zimmerman O., Holmes A.C., Kafai N.M., Adams L.J., Diamond M.S. Entry receptors — the gateway to Alphavirus infection. *J. Clin. Invest.*, 2023, vol. 133, no. 2: e165307. doi: 10.1172/JCI165307

Авторы:

Назаренко А.С., научный сотрудник лаборатории клещевых энцефалитов и других вирусных энцефалитов ФГАНУ Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва, Россия;

Бирюкова Ю.К., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клещевых энцефалитов и других вирусных энцефалитов ФГАНУ Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва, Россия;

Колясникова Н.М., к.м.н., ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией клещевых энцефалитов и других вирусных энцефалитов ФГАНУ Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва, Россия; доцент кафедры организации и технологии производства иммунобиологических препаратов Института трансляционной медицины и биотехнологии ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия;

Ворович М.Ф., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клещевых энцефалитов и других вирусных энцефалитов ФГАНУ Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва, Россия;

Пестов Н.Б., к.х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клещевых энцефалитов и других вирусных энцефалитов ФГАНУ Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва, Россия;

Ишмухаметов А.А., академик РАН, д.м.н., профессор, генеральный директор ФГАНУ Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита), Москва, Россия; руководитель кафедры организации и технологии иммунобиологических препаратов ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия.

Authors:

Nazarenko A.S., Researcher, Laboratory of Tick-Borne Encephalitis and Other Viral Encephalitides, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russian Federation;

Biryukova Yu.K., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Tick-Borne Encephalitis and Other Viral Encephalitides, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russian Federation;

Kolyasnikovaa N.M., PhD (Medicine), Leading Researcher, Head of Laboratory of Tick-Borne Encephalitis and Other Viral Encephalitides, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russian Federation;

Vorovitch M.F., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Tick-Borne Encephalitis and Other Viral Encephalitides, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russian Federation; Associate Professor, Department of Organization and Research of Immunobiological Technologies, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation;

Pestov N.B., PhD (Chemistry), Leading Researcher, Laboratory of Tick-Borne Encephalitis and Other Viral Encephalitides, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russian Federation;

Ishmukhametov A.A., RAS Full Member, DSc (Medicine), Professor, General Director, Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Sciences (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russian Federation; Head of the Department of Organization and Research of Immunobiological Technologies, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation.