

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-1-51-58>
УДК 578.286; 612.017.11; 616-006.484.04



Обзорная статья / Review article

Вирус кори как векторная платформа для иммунотерапии опухолей головного мозга (обзор)

Е. Ю. Николаева¹, Ю. Р. Щетинина¹, И. Е. Шохин¹, В. В. Зверев^{1,2}, О. А. Свитич^{1,2},
О. Ю. Сусова³, А. А. Митрофанов³, Ю. И. Аммур^{1*}

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова), 105064, Россия, г. Москва, Малый Казенный переулок, д. 5а

² Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии имени академика А. А. Воробьева ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, 125009, Россия, Москва, ул. Моховая, д. 11, стр. 10

³ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России (НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина) 115478, Россия, г. Москва, Каширское шоссе, д. 23

*Контактное лицо: Аммур Юлия Игоревна. E-mail: yulia.ammour@yahoo.fr

ORCID: Е. Ю. Николаева – <https://orcid.org/0000-0003-2898-9722>; Ю. Р. Щетинина – <https://orcid.org/0000-0002-6382-9612>;

И. Е. Шохин – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>; В. В. Зверев – <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>; О. А. Свитич – <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>;

О. Ю. Сусова – <https://orcid.org/0000-0001-8192-7913>; А. А. Митрофанов – <https://orcid.org/0000-0002-4125-7342>; Ю. И. Аммур – <https://orcid.org/0000-0003-0223-5738>.

Статья поступила: 29.10.2021

Статья принята в печать: 07.02.2022

Статья опубликована: 25.02.2022

Резюме

Введение. Одним из подходов в иммунотерапии солидных опухолей головного мозга является применение онколитических вирусов. Вакцинные штаммы вируса кори рассматривают в качестве перспективных кандидатов для терапии мезотелиомы, нейробластомы и мультиформной глиобластомы. Гиперэкспрессия рецептора CD46 и других белков на поверхности злокачественных клеток позволяет вирусу кори таргетно инфицировать и лизировать опухоль, индуцируя иммунный ответ. Однако широкая иммунизация населения и устойчивость новообразований к онколизу представляют трудности в клинической практике.

Текст. В настоящем обзоре обсуждаются подходы к модификации генома вируса кори с целью повысить таргетность виротерапии, преодолеть существующий иммунитет и усилить онколитический эффект. Показано, что экспрессия провоспалительных цитокинов на вирусных частицах приводит к регрессии опухоли у мышей и запускает Т-клеточный ответ. Для преодоления вирус-нейтрализующих антител применяются подходы по экранированию вирусных частиц, использованию клеток-носителей и изменению эпитопа белка, обеспечивающего проникновение вируса в клетку. Кроме того, вставка репортерных генов позволяет отслеживать инфицирование таргетных клеток *in vivo*. Комбинация с новейшими методами иммунотерапии, такими как ингибиторы иммунных контрольных точек, демонстрирует синергизм эффектов, что позволяет рассчитывать на успешное применение сочетанных подходов в терапии рефрактерных опухолей.

Заключение. Атенуированные штаммы вируса кори представляют собой удобную и безопасную платформу для иммунотерапии опухолей головного мозга.

Ключевые слова: онколитические вирусы, вирус кори, иммунотерапия, рецептор CD46, виротерапия

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Ю. И. Аммур разрабатывала дизайн статьи. Ю. Р. Щетинина, О. Ю. Сусова, А. А. Митрофанов участвовали в проведении научного поиска. Е. Ю. Николаева ответственна за написание текста. И. Е. Шохин, О. А. Свитич, В. В. Зверев проводили рецензирование и одобрение на подачу в журнал.

Для цитирования: Николаева Е. Ю., Щетинина Ю. Р., Шохин И. Е., Зверев В. В., Свитич О. А., Сусова О. Ю., Митрофанов А. А., Аммур Ю. И. Вирус кори как векторная платформа для иммунотерапии опухолей головного мозга. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(1):51–58. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-1-51-58>

Measles Virus as a Vector Platform for Glioblastoma Immunotherapy (Review)

Eugenia Yu. Nikolaeva¹, Yulia R. Shchetinina¹, Igor E. Shokhin¹, Vitaly V. Zverev^{1,2},
Oxana A. Svitich^{1,2}, Olga Yu. Susova³, Alexey A. Mitrofanov³, Yulia I. Ammour^{1*}

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution "I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera", 5a, Malyy Kazennyj lane, Moscow, 105064, Russia

² Department of Microbiology, Virology and Immunology named after Academician A. A. Vorobiov I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation, 11/10, Mokhovaya str., Moscow, 125009, Russia

³ FSBI "National Medical Research Center of Oncology. N. N. Blokhin", 23, Kashirskoe highway, Moscow, 115478, Russia

*Corresponding author: Yulia I. Ammour. E-mail: yulia.ammour@yahoo.fr

ORCID: Eugenia Yu. Nikolaeva – <https://orcid.org/0000-0003-2898-9722>; Yulia R. Shchetinina – <https://orcid.org/0000-0002-6382-9612>;

Igor E. Shokhin – <https://orcid.org/0000-0002-1185-8630>; Vitaly V. Zverev – <https://orcid.org/0000-0001-5808-2246>; Oxana A. Svitich – <https://orcid.org/0000-0003-1757-8389>;

Olga Yu. Susova – <https://orcid.org/0000-0001-8192-7913>; Alexey A. Mitrofanov – <https://orcid.org/0000-0002-4125-7342>; Yulia I. Ammour – <https://orcid.org/0000-0003-0223-5738>.

Received: 29.10.2021

Revised: 07.02.2022

Published: 25.02.2022

© Николаева Е. Ю., Щетинина Ю. Р., Шохин И. Е., Зверев В. В., Свитич О. А., Сусова О. Ю., Митрофанов А. А., Аммур Ю. И., 2022

© Nikolaeva E. Yu., Shchetinina Yu. R., Shokhin I. E., Zverev V. V., Svitich O. A., Susova O. Yu., Mitrofanov A. A., Ammour Yu. I., 2022

Abstract

Introduction. Oncolytic virotherapy is one of the approaches in immunotherapy of solid brain tumors. Measles virus vaccine strains are prospective agents for the therapy of cancers such as neuroblastoma, mesothelioma, and glioblastoma multiforme. The hyperexpression of the CD46 and other receptors on the surface of malignant cells allows the measles virus to infect and lyse the tumor, thus inducing an immune response. However, widespread immunization of the population and the resistance of neoplasms to oncolysis present difficulties in clinical practice.

Text. This review covers approaches to modifying the measles virus genome in order to increase specificity of virotherapy, overcome existing immunity, and enhance the oncolytic effect. It was shown that expression of proinflammatory cytokines on viral particles leads to tumor regression in mice and triggers a T-cell response. Several approaches have been used to overcome virus-neutralizing antibodies: shielding viral particles, using host cells, and altering the epitope of the protein that enables entry of the virus into the cell. Furthermore, the insertion of reporter genes allows the infection of target cells to be monitored in vivo. A combination with the latest immunotherapies, such as immune checkpoint inhibitors, demonstrates synergistic effects, which suggests the successful use of combined approaches in the therapy of refractory tumors.

Conclusion. Measles virus attenuated strains appear to be an easy-to-modify and reliable platform for the therapy of solid brain tumors.

Keywords: oncolytic viruses, measles virus, immunotherapy, CD46 receptor, virotherapy

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Yulia I. Ammour designed the review. Yulia R. Shchetinina, Olga Yu. Susova, Alexey A. Mitrofanov provided the scientific literature search. Eugenia Yu. Nikolaeva is responsible for the text writing. Igor E. Shokhin, Oxana A. Svitich, Vitaly V. Zverev reviewed and approved the submission to the journal.

For citation: Nikolaeva E. Yu., Shchetinina Yu. R., Shokhin I. E., Zverev V. V., Svitich O. A., Susova O. Yu., Mitrofanov A. A., Ammour Yu. I. Measles virus as a vector platform for glioblastoma immunotherapy. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2022;11(1):51–58. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-1-51-58>

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в онкологическую практику активно внедряются подходы, направленные на усиление противоопухолевого иммунного ответа. Применение онколитических вирусов, нацеленных на различные опухоли – одно из перспективных направлений иммунотерапии [1]. Механизм онколитического действия основан не только на прямом лизисе опухолевых клеток, но и на активации противоопухолевого ответа за счет высвобождения сигналов опасности (PAMPs, DAMPs) и опухолеспецифических белков, что позволяет преодолеть иммуносупрессивное микроокружение опухоли [2].

Мультиформная глиобластома (ГБМ), или глиобластома, – наиболее распространенная и наиболее агрессивная опухоль центральной нервной системы у взрослых. Общая выживаемость при ГБМ составляет 15 месяцев, а 5-летняя выживаемость 5–7 % после первоначального диагноза [3]. Существуют многочисленные проблемы, связанные с лечением глиобластомы, включая неэффективную доставку лекарств или агентов через гематоэнцефалический барьер, обширную внутриопухолевую и межопухолевую гетерогенность, избыточные сигнальные пути и иммуносупрессивное микроокружение. Онколитические вирусы представляют собой перспективный терапевтический подход поскольку помимо литической активности они могут преодолевать иммуносупрессию, стимулируя врожденный иммунитет. На момент 2021 года в мире проводится 20 клинических

испытаний с применением онколитических вирусов для терапии ГБМ; 4 клинических испытания для нейробластомы [4].

Вирус кори: преимущества и ограничения

Аттенуированные штаммы вируса кори (measles virus, MV) рассматривают в качестве перспективных кандидатов для онколитической терапии. Длительная история применения вакцин, содержащих аттенуированные штаммы вирусов кори, свидетельствует об их безопасности для организма человека в виду их генетической стабильности. Несмотря на широкий охват вакцинации, MV в качестве онколитического агента показали достаточную эффективность и безопасность в доклинических и клинических испытаниях против многих типов рака, включая мезотелиому, глиому и ГБМ [5, 6]. При этом, вакцинные штаммы MV удобны для клонирования, что позволяет модифицировать вирус, повышая его онколитическую эффективность.

MV представляет собой одноцепочечный (–)РНК вирус, принадлежащий к семейству Paramyxoviridae. Проникновение MV в клетку опосредуется прикреплением вирусного белка гемагглютинина (Н) как минимум к одному из трех известных рецепторов клеточной поверхности: мембранному кофакторному белку, члену семейства регуляторных белков компонента (CD46), сигнальной молекуле, активирующей лимфоциты (SLAM) или нектину-4 [7]. Штаммы MV дикого типа в основном связываются с рецептором

SLAM, аттенуированные вакцинные штаммы MV Edmonston B (MV-Edm) и Ленинград-16 (L-16) [8] проникают через рецептор CD46, в то время как нектин-4 может использоваться как штаммами дикого типа, так и штаммами MV-Edm [7].

Неопластические клетки гиперэкспрессируют рецепторы CD46 на клеточной поверхности, опосредуя опухоль-специфический литический эффект аттенуированных штаммов вируса [9]. Однако хотя молекулы CD46 обильно экспрессируются на поверхности опухолевых клеток, что способствует их эффективному инфицированию, некоторые клетки проявляют устойчивость к онколизу после проникновения вируса, что указывает на то, что другие процессы могут влиять на его онколитическую эффективность [9].

Действительно, недавние исследования выявили экспрессию гена интерферон-индуцированного трансмембранного белка 1 (IFITM1) как ответственного интерферон-опосредованного гена (interferon-stimulated gene, ISG) за ограничение репликации MV в опухолевых клетках человека [10].

Чувствительность MV к противовирусным реакциям также была обнаружена в исследовании Kurokawa et al. [11]. В частности, было показано, что мыши, несущие ксенотрансплантаты ГБМ человека с дефектным путем интерферона, были более чувствительны к лечению MV. Продукция вирионов инфекционного потомства повышалась в 387 раз по сравнению с мышами, несущими ГБМ с интактным путем интерферона. Более того, анализ экспрессии генов в образцах опухолей от пациентов с ГБМ, получавших MV (NCT00390299), показал обратную корреляцию между экспрессией ISG и вирусной репликацией [11]. Таким образом, экспрессия IFITM1 может служить биомаркером устойчивости к MV-виротерапии для пациентов с ГБМ.

Подходы к модификации генома MV

С развитием генетических технологий появилась возможность усилить онколитические свойства MV, вооружив вирус генами, кодирующими белки, усиливающие противоопухолевый эффект, или повысив селективность модифицированного вируса в отношении клеток опухоли.

Первый геном MV, ставший доступным для генетических модификаций, был получен в результате клонирования вакцинного штамма MV-Edm после его пассирования на клетках Vero [12]. Дополнительные единицы транскрипции могут быть довольно легко вставлены в антигеномные последовательности MV. Так, возможно создание разнообразных модификаций MV, различающихся по репликативной способности, цитотоксичности [13], тропизму к рецепторам или воздействию на индукцию клеточного интерферонного ответа и апоптоз клеток-мишеней [14], что в совокупности отражает противоопухолевую активность вирусов.

Вместе с тем геном MV имеет две отличительные особенности, которые значительно усложняют задачу по получению рекомбинантных штаммов на их основе [15]:

1. Как и у всех (-)РНК-вирусов, геном MV представляет собой матрицу, необходимую для образования мРНК, с которой реплицируется антигеномная РНК, выступающая в свою очередь матрицей для синтеза геномной РНК. Этап транскрипции характеризуется образованием коротких транскриптов, которые, как правило, экпированы и полиаденилированы, тогда как на стадиях репликации синтезируются немодифицированные полно-размерные транскрипты.
2. Геномная РНК биологически активна, только когда она присутствует в виде рибонуклеопротеина (РНП), то есть связана с нуклеокапсидным белком и вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой. РНП имеет очень жесткую структуру, что делает вирус полностью устойчивым к расщеплению клеточными РНКазами. Таким образом, геномы и антигеномы должны быть инкапсидированы внутри культивируемых клеток, т. е. пока они синтезируются искусственно с матрицы клонированной кДНК чужеродными ДНК-зависимыми РНК-полимеразами, коэкспрессирующимися в клетках-хозяевах.

Существует несколько подходов к модификации генома MV. При простом подходе транскрипты вводятся в клетки, параллельно инфицированные соответствующим родительским вирусом. Более сложный вариант предполагает трансфекцию вместе с полногеномной последовательностью минирепликационными, кодирующими инкапсидирующие белки – нуклеокапсид (N), фосфопротеин (P) и РНК-полимеразу (L) для образования биологически активных РНП в клетках, инфицированных также вирусом осповакцины (vTF7-3), кодирующим РНК-полимеразу Т7 на высоких уровнях. При этом все последовательно-сти должны содержать Т7-промоторы. Такая стратегия обеспечивает эффективную транскрипцию всех вирус-специфических клонированных сегментов в трансфицированных клетках.

Однако ввиду крупного размера генома MV, он редко реплицируется на высоких титрах и образует большие полиплоидные вирионы, которые легко инактивируются химическими и физическими факторами. Таким образом, предпочтительнее использовать метод сборки вируса без стадии очистки от вирус-помощников. Это достигается за счет трансфекции плазмидами, кодирующими белки N, P и РНК-полимеразу Т7 под контролем CMV-промоторов.

Очевидно, что с плазмиды возможна гораздо более слабая экспрессия РНК-полимеразы Т7, чем достижимо с хелперным вирусом. Однако в выбранной стратегии плазмиды, кодирующие вирусные белки N и P, которые требуются в больших количествах, не зависят от промоторов Т7. При этом относительно

низкий уровень РНК-полимеразы Т7 считается достаточным для синтеза антигенной РНК и мРНК, кодирующей большую вирусную полимеразу, которая требуется в небольших количествах [15].

Следует отметить, что для увеличения эффективности изначально использовали вспомогательные клетки, стабильно трансфицированные плазмидами, кодирующими РНК-полимеразу Т7, N и Р. Далее их временно трансфицировали плазмидами, кодирующими полноразмерную антигенную последовательность и большую вирусную РНК-полимеразу. Так, с помощью данного подхода был получен MV Ed-tag из одиночного синцития [12].

Дальнейшие модификации сборки MV включают постепенный переход от использования стабильно трансфицированных клеток к временно трансфицированным клеточным линиям. При таком подходе стандартные клеточные линии необходимо трансфицировать одновременно всеми плазмидами, содержащими CMV-промоторы, распознаваемые клеточной РНК-полимеразой II, находящейся в ядрах, а не промоторами Т7 [16].

Ретаргетинг вируса кори

Как уже отмечалось ранее, рецептор CD46 гиперэкспрессирован на поверхности многих опухолевых клеток [17]. Однако молекулы CD46 также присутствуют и в здоровых тканях, что может приводить к инфицированию неопухолевых клеток. Поэтому были предложены подходы к повышению избирательности онколитических MV к опухолевым клеткам.

Для усиления селективности онколитического вируса, необходимо, чтобы жизненный цикл вируса зависел от свойств конкретных опухолевых клеток. Самая привлекательная стратегия перенацеливания вируса заключается в его нацеливании на рецептор, специфичный для конкретного типа опухолевых клеток. Этого можно добиться с помощью введения специфических мутаций в вирусный белок гемагглютинин Н, отвечающий за связывание с рецепторами MV, для его дополнительного связывания с конкретным сайтом узнавания рецептора на поверхности выбранной опухолевой клетки [18]. Помимо естественных рецепторов, таких как CEA, CD20, CD30, CD38, CD133, CD138, IL-13R, uPAR, были опробованы сконструированные белки с анкириновыми повторами (DARPs) в отношении EpCAM, IGFR [19], одноцепочечные фрагменты антител (scFv's) [20] к CEA, EGFR, фолатному рецептору, HER2/neu; Т-клеточные рецепторы (TCR) [21], и цистеиновые узлы [22]. Так, одновременное специфическое нацеливание на две различные структуры поверхности опухолевых клеток повысило эффективность терапии [23]. С другой стороны, проникновение MV в клетку критически зависит от протеолитической активации вирусного белка слияния F [24]. Белок F обычно активируется в транс-сети аппарата Гольджи вирус-продуцирующих клеток посредством

расщепления на две субъединицы F1 и F2 повсеместно распространенными фуриноподобными протеазами [13]. Заменяв многоосновный мотив расщепления в белке F на сайт для опухоли-ассоциированных протеаз, например матриксных металлопротеаз, гиперактивированных в опухолях и способствующих их инвазивному росту за счет разрушения внеклеточного матрикса, репликация MV может быть ограничена опухолевой тканью богатой протеазами. Такое нацеливание вируса на протеазы может быть совмещено с высокоэффективным ретаргетингом на специфичные рецепторы на поверхности опухолевых клеток, что позволяет повысить эффективность виротерапии.

Кроме того, возможен таргетинг после вирусного проникновения путем интеграции сайтов-мишеней miRNA в вирусную РНК [25]. Для усиления онколитического эффекта, возможно, оптимальна комбинация сайтов-мишеней miRNA.

Таким образом, перенацеливание вируса способно увеличить его специфичность по отношению к опухолевым клеткам, что повышает безопасность и эффективность виротерапии.

Усиление онколитического эффекта

Хотя принцип действия онколитических вирусов изначально предполагает прямой лизис опухолевых клеток, в настоящее время принято считать, что основным механизмом действия виротерапии в целом является иммунный ответ, вызванный продолжающимся вирусным инфицированием опухолевой ткани. Таким образом, иммунологически «холодные» опухоли становятся «горячими» и доступными для иммуноопосредованного разрушения. Действительно, основным механизмом действия модифицированного онколитического MV, кодирующего GM-CSF, показана индукция противоопухолевого ответа на иммунокомпетентной модели мышей [26]. Но и без дополнительного усиления эффективности, заражение MV неопластических клеток само по себе вызывает сильный иммунный ответ. MV-инфекция стимулирует активацию многих иммунных клеток, таких как миелоидные и плазматикоидные дендритные клетки, а также макрофагальные клетки [27]. Естественные киллеры (NK), нейтрофилы и цитокин-индуцированные киллеры усиленно инфильтрируют опухоль [28]; также активируется адаптивная иммунная система, что проявляется в усиленной инфильтрации и индукции опухолеспецифических Т-клеток [29]. Такая опосредованная индукция противоопухолевого иммунитета является ненаправленной и поэтому не может гарантировать таргетное нацеливание на критически значимые опухолевые антигены.

С целью запуска таргетного иммунного ответа через критически значимые драйверные гены, кодирующие ключевые факторы, от которых зависит развитие опухолевых клеток, используют стратегии сочетания онколитических вирусов с факторами,

модулирующими опухолевое микроокружение. На данный момент штаммы MV Edmonston B, Schwarz и Moraten были модифицированы и протестированы *in vitro* и *in vivo* в отношении ГБМ, множественной миеломы, а также меланомы, лимфомы, рака поджелудочной железы, легких и др. Для усиления эффективности описаны рекомбинантные MV со следующими встроенными генами:

- ✓ NIS (sodium iodine symporter), позволяющий усилить терапевтический эффект за счет локальной радиотерапии ^{131}I ;
- ✓ PNP (purine nucleoside phosphorylase), конвертирующий флударабин в более токсичную форму 2-флуороаданин;
- ✓ SCD (super cytosine desaminase), конвертирующий 5-FC в 5-FU для локальной химиотерапии;
- ✓ GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulation factor), привлекающий Т-клетки, нейтрофилы и индуцирующий антиопухолевый иммунитет;
- ✓ IL-12, IL-15, активирующие NK и Т-клетки;
- ✓ IFN β , стимулирующий иммунный ответ;
- ✓ $\alpha\text{PD}1$, $\alpha\text{CTLA}4$, блокирующие иммунные контрольные точки;
- ✓ $\mu\text{CLDN-6}$, hTERT, презентирующие TAA (tumor associated antigen);
- ✓ NAP [neutrophil activating protein (*H.pylori*)], активирующий нейтрофилы;
- ✓ $\alpha\text{CD}3/\alpha\text{CD}20$, $\alpha\text{CD}3/\alpha\text{CEA}$, активирующие Т-клетки;
- ✓ гены дикого MV, подавляющие врожденный иммунный ответ;
- ✓ BNiP3, реактивирующий апоптоз;
- ✓ эндостатин-ангиостатин, ингибирующий неоангиогенез, и другие [30].

Так, иммуностимулирующий эффект MV, кодирующего hTERT в качестве TAA, был показан в исследованиях на IFNAR-/-CD46Ge-мышях (трансгенно экспрессирующие человеческий CD46 на фоне дефицита рецепторов интерферона I типа), являющихся в настоящее время наиболее предпочтительной доклинической моделью [31].

Доклинические и клинические исследования

Определение того, какие клетки или ткани инфицированы онколитическим вирусом, значительно облегчается за счет использования репортерных генов, которые позволяют неинвазивно обнаружить вирус в живых клетках и организме. Не интерферирующие с жизненным циклом вируса белки-маркеры, такие как флуоресцентные белки, широко используются для отслеживания репликации и распространения онколитического MV. В частности, был клонирован человеческий ген, кодирующий йодид-симпортерный белок (NIS), в MV-Edm [32]. Белок NIS позволяет визуализировать репликацию *in situ* онколитического вируса в паренхиме глиом с помощью гамма-камеры после системного введения радиоактивных изотопов ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I или ^{131}I , которые накапливаются в инфициро-

ванных опухолевых клетках. NIS-модифицированный MV был протестирован в доклинических исследованиях [32]. Было показано, что терапевтический эффект MV увеличивается за счет лучевой терапии путем локального накопления ^{131}I . На моделях мышей NIS-модифицированный вирус увеличивал их выживаемость и в то же время цитопатический эффект по сравнению с MV-CEA. MV-CEA – другой модифицированный MV-Edm, кодирующий карциноэмбриональный антиген (CEA), для отслеживания вирусной репликации в клетках глиомы *in vivo* с помощью анализа крови, поскольку этот фактор высвобождается и обнаруживается в крови. На животных моделях был показан значительный регресс опухоли после внутриопухолевого введения MV-CEA.

Фаза I клинических испытаний с использованием MV-CEA для терапии ГБМ была проведена на 23 пациентах с рецидивами. Одна группа получала вирус непосредственно в резекционную полость, а другая группа – непосредственно перед операцией через катетер. Не наблюдали значительных различий между группами в выживаемости без прогрессирования заболевания в течение 6 месяцев (NCT00390299).

Таким образом, введение маркерных генов в состав генома вируса позволяет также оценить эффективность выбранного терапевтического подхода.

MV-GFP-H_{AA}-scEGFR представляет собой перетаргетированный вирус, экспрессирующий одноцепочечное антитело на С-конце Н-белка, которое связывается с рецептором эпидермального фактора роста (EGFR). Гиперэкспрессия EGFR характерна для клеток ГБМ, что определяет специфичность MV-GFP-H_{AA}-scEGFR. *In vivo* был показан значительный регресс и индукция апоптоза клеток, инфицированных MV-GFP-H_{AA}-scEGFR. При этом введение MV-GFP-H_{AA}-scEGFR в центральную нервную систему мышей, экспрессирующих CD46, не приводило к нейротоксичности [33].

MV-141.7 и MV-AC133 – еще одни рекомбинантные вирусы, перетаргетированные на рецептор CD133. CD133 часто экспрессируется клетками ГБМ. Введение вируса MV-141.7 в мышей с ортотопической глиомой приводило к большей выживаемости по сравнению с немодифицированным вирусом [34]. Кроме того, комбинирование подходов по ретаргетингу на CD133 и армированию вируса кори SCD показывает большую безопасность и высокую специфичность к лизису CD133-положительных клеток по сравнению с модифицированным вирусом везикулярного стоматита в ортотопической модели глиомы [35].

Преодоление противовирусного иммунитета

Несмотря на то, что онколитические MV обладают многими преимуществами в качестве терапевтического средства, наличие нейтрализующих антител препятствует их широкому применению. Благодаря наличию безопасных и эффективных вакцин против кори

в календаре прививок многие онкологические больные имеют значительные уровни нейтрализующих антител (nAbs) против MV в плазме крови. Это создает проблему для системного введения онколитического вируса, поскольку нейтрализующие антитела могут связывать MV до того, как он достигнет опухоли.

Однако существует несколько стратегий, позволяющих обойти это потенциальное препятствие. Например, модификация эпитопов белка Н MV демонстрирует противоопухолевую эффективность даже при наличии антител [36]. Другой подход заключается в экранировании – использовании полимеров полиэтиленimina [37], а также его комбинации с оксидом графена [38], чтобы скрыть поверхность вириона от нейтрализации с помощью nAbs.

Еще один вариант системной доставки онколитических MV к опухоли и ее метастазам – использование клеток-носителей. В качестве потенциальных вирусных носителей были предложены различные типы клеток, включая непосредственно злокачественные клетки, стволовые клетки, незрелые и созревшие дендритные клетки, активированные Т-лимфоциты, мононуклеарные клетки периферической крови [39–41].

Адаптивность использования MV дает возможность для синергии с другими методами иммунотерапии. Так, комбинация опухолевых клеток, предварительно инфицированных MV, с аутологичными вакцинами на основе дендритных клеток (ДК) способна преодолеть проблему опухолевого барьера и активировать противоопухолевый иммунитет [42].

Сочетание с другими методами лечения

Следующим логическим шагом станет комбинация онколитического вируса с ингибиторами контрольных точек, что позволит преодолеть иммуносупрессию опухоли и ее микроокружения. Онколитические вирусы привлекают цитотоксичные Т-лимфоциты к опухоли и регулируют экспрессию PD-L1 как на клетках ГБМ, так и на иммунных клетках, что делает их идеальным кандидатом для комбинаций [43]. III фаза клинических испытаний антител против PD-L1 в лечении ГБМ (NCT02017717) показали обнадеживающую эффективность и безопасность у резистентных к консервативной терапии больных. Согласно исследованию, у 88 % пациентов с первичными ГБМ и 72,2 % рецидивирующими ГБМ наблюдали экспрессию PD-L1 [44]. Однако, хотя большинство ГБМ экспрессируют PD-L1, их уровни остаются низкими (примерно 2,7 %). Кроме того, экспрессия PD-1 также наблюдается в других клетках, инфильтрирующих опухоль. Известна обратная корреляция между экспрессией PD-L1 и прогнозом, что предполагает иммунодепрессивное действие PD-1+ Т-клеток в микроокружении ГБМ [45]. Активация STAT3, индуцированная IL-10 в связанных с опухолью макрофагах, может поддерживать высокий уровень PD-L1, что приводит к противовоспалитель-

ному состоянию M2 макрофагов, которое непосредственно подавляет активацию Т-клеток, опосредуя иммуносупрессирующее микроокружение [46]. Таким образом, комбинационное использование вирусов и антител против PD-L1 может иметь синергические эффекты при терапии ГБМ.

Проведенные исследования показывают, что MV, усиленный вставками последовательностей PD-L1 и CTLA-4, во-первых, способен индуцировать синтез антител, а во-вторых, существенно повышает ответ на виротерапию в иммунокомпетентной модели меланомы мышей [47]. Это доказывает, что в будущем возможно применение такой комбинации в качестве монотерапии.

Следует также отметить, что антитела (α EGFR, α IFN, α PD1, α CTLA4), иммунные клетки (CD8+NKG2D+, NK), ингибиторы различных клеточных сигнальных путей и другие стратегии терапии, такие как лучевая, химиотерапия или комбинация с другими терапевтическими вирусами, были протестированы в ряде исследований, выявив различную степень синергизма [48]. Так, комбинация онколитического MV с активированными НК-клетками привела к увеличению высвобождения цитолитических ферментов НК-клетками и, как следствие, ускорению гибели опухолевых клеток по сравнению с монотерапией *in vitro* [49]. С другой стороны, одновременное введение активированных НК-клеток и реплицирующихся онколитических вирусов может снижать терапевтический потенциал последних, за счет их элиминации НК-клетками [50]. Однако, стратегия использования MV, кодирующего интерлейкин-12 (MeVac FmIL-12) и интерлейкин-15 (MeVac FmIL-15), позволяет избежать элиминацию вируса, вместе с тем, опосредует усиление Т- и НК-клеточный ответ и, таким образом, увеличивает терапевтическую эффективность, особенно в опухолях, контролируемых НК-клетками. Инфекция вирусом MeVac FmIL-15 увеличивала инфильтрацию опухоли Т- и НК-клетками. Однако для вируса MeVac FmIL-12 были характерны более устойчивая экспрессия вирусных генов и активация иммунной системы, и, соответственно, большая противоопухолевая эффективность [51].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Онколитическая вирусная иммунотерапия – многообещающий подход в лечении солидных опухолей головного мозга, в первую очередь, мультиформной глиобластомы. Атенуированный вирус кори представляется удобной и безопасной платформой иммунотерапии, позволяющей нацеливать вирус на неоантигены опухоли. Кроме того, возможность усиливать вирус за счет внедрения в геном последовательностей, кодирующих цитокины, ингибиторы иммунных контрольных точек и другие молекулы, обеспечивает гибкость и эффективность предложенного терапевтического подхода на основе вируса кори в качестве векторной платформы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Lichty B. D., Breitbach C. J., Stojdl D. F., Bell J. C. Going viral with cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2014;14(8):559–567. DOI: 10.1038/nrc3770.
- Pidelaserra-Martí G., Engeland C. E. Mechanisms of measles virus oncolytic immunotherapy. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2020;56:28–38. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2020.07.009.
- Tribe A. K. W., McConnell M. J., Teesdale-Spittle P. H. The Big Picture of Glioblastoma Malignancy: A Meta-Analysis of Glioblastoma Proteomics to Identify Altered Biological Pathways. *ACS Omega*. 2021;6(38):24535–24544. DOI: 10.1021/acsomega.1c02991.
- Estevez-Ordóñez D., Chagoya G., Salehani A., Atchley T. J., Laskey N. M. B., Parr M. S., Elsayed G. A., Mahavadi A. K., Rahm S. P., Friedman G. K., Markert J. M., Immunovirotherapy for the Treatment of Glioblastoma and Other Malignant Gliomas, *Neurosurgery Clinics of North America*. 2021;32(2):265–281. DOI: 10.1016/j.nec.2020.12.008.
- Msaouel P., Opyrchal M., Dispenzieri A., Peng K. W., Federspiel M. J., Russell S. J., Galanis E. Clinical Trials with Oncolytic Measles Virus: Current Status and Future Prospects. *Curr Cancer Drug Targets*. 2018;18(2):177–187. DOI: 10.2174/1568009617666170222125035.
- Allen C., Opyrchal M., Aderca I., Schroeder M. A., Sarkaria J. N., Domingo E., Federspiel M. J., Galanis E. Oncolytic measles virus strains have significant antitumor activity against glioma stem cells. *Gene Ther*. 2013;20(4):444–449. DOI: 10.1038/gt.2012.62.
- Lin L. T., Richardson C. D. The host cell receptors for measles virus and their interaction with the viral Hemagglutinin (H) Protein. *Viruses*. 2016;8(9):250. DOI: 10.3390/v8090250.
- Ammour Y., Ryabaya O., Shchetinina Y., Prokofeva E., Gavrilova M., Khochonkov D., Vorobyev D., Faizuloev E., Shohin I., Zverev V. V., Svitich O., Nasedkina T. The Susceptibility of Human Melanoma Cells to Infection with the Leningrad-16 Vaccine Strain of Measles Virus. *Viruses*. 2020;12(2):173. DOI: 10.3390/v12020173.
- Stavarakaki E., Dirven C. M. F., Lamfers M. L. M. Personalizing Oncolytic Virotherapy for Glioblastoma: In Search of Biomarkers for Response. *Cancers*. 2021;13(4):614. DOI: 10.3390/cancers13040614.
- Aref S., Castleton A. Z., Bailey K., Burt R., Dey A., Leongamornlert D., Mitchell R. J., Okasha D., Fielding A. K. Type 1 Interferon Responses Underlie Tumor-Selective Replication of Oncolytic Measles Virus. *Mol Ther*. 2020;28(4):1043–1055. DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.01.027.
- Kurokawa C., Iankov I. D., Anderson S. K., Aderca I., Leontovich A. A., Maurer M. J., Oberg A. L., Schroeder M. A., Giannini C., Greiner S. M., Becker M. A., Thompson E. A., Haluska P., Jentoft M. E., Parney I. F., Weroha S. J., Jen J., Sarkaria J. N., Galanis E. Constitutive interferon pathway activation in tumors as an efficacy determinant following oncolytic virotherapy. *J Natl Cancer Inst*. 2018;110(10):1123–1132. DOI: 10.1093/jnci/djy033.
- Radecke F., Spielhofer P., Schneider H., Kaelin K., Huber M., Dotsch C., Christiansen G., Billeter M. A. Rescue of measles viruses from cloned DNA. *EMBO J*. 1995;14(23):5773–5784. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1995.tb00266.x.
- Heidmeier S., Hanauer J. R. H., Friedrich K., Pruffer S., Schneider I. C., Buchholz C. J., Cichutek K., Muhlebach M. D. A single amino acid substitution in the measles virus F2 protein reciprocally modulates membrane fusion activity in pathogenic and oncolytic strains. *Virus Res*. 2014;180:43–48. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.016.
- Haralambieva I., Iankov I., Hasegawa K., Harvey M., Russell S. J., Peng K.-W. Engineering oncolytic measles virus to circumvent the intracellular innate immune response. *Mol Ther*. 2007;15(3):588–597. DOI: 10.1038/SJ.MT.6300076.
- Billeter M. A., Naim H. Y., Udem S. A. Reverse genetics of measles virus and resulting multivalent recombinant vaccines: applications of recombinant measles viruses. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2009;329:129–162. DOI: 10.1007/978-3-540-70523-9_7.
- Aref S., Bailey K., Fielding A. Measles to the Rescue: A Review of Oncolytic Measles Virus. *Viruses*. 2016;8(10):294. DOI: 10.3390/v8100294.
- Anderson B. D., Nakamura T., Russell S. J., Peng K.-W. High CD46 receptor density determines preferential killing of tumor cells by oncolytic measles virus. *Cancer Res*. 2004;64(14):4919–4926. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0884.
- Muhlebach M. D. Measles virus in Cancer therapy. *Current Opinion in Virology*. 2020;41:85–97. DOI: 10.1016/j.coviro.2020.07.016.
- Friedrich K., Hanauer J. R., Pruffer S., Munch R. C., Volker I., Filippis C., Jost C., Hanschmann K.-M., Cattaneo R., Peng K.-W., Pluckthun A., Buchholz C. J., Cichutek K., Muhlebach M. D. DARPIn-targeting of measles virus: unique bispecificity, effective oncolysis, and enhanced safety. *Mol Ther*. 2013;21(4):849–859. DOI: 10.1038/mt.2013.16.
- Hammond A. L., Plemper R. K., Zhang J., Schneider U., Russell S. J., Cattaneo R. Single-chain antibody displayed on a recombinant measles virus confers entry through the tumor-associated carcinoembryonic antigen. *J Virol*. 2001;75(5):2087–2096. DOI: 10.1128/JVI.75.5.2087-2096.2001.
- Peng K.-W., Holler P. D., Orr B. A., Kranz D. M., Russell S. J. Targeting virus entry and membrane fusion through specific peptide/MHC complexes using a high-affinity T-cell receptor. *Gene Ther*. 2004;11(15):1234–1239. DOI: 10.1038/sj.gt.3302286.
- Lal S., Raffel C. Using cystine knot proteins as a novel approach to retarget oncolytic measles virus. *Mol Ther Oncolytics*. 2017;7:57–66. DOI: 10.1016/j.omto.2017.09.005.
- Hanauer J. R., Gottschlich L., Riehl D., Rusch T., Koch V., Friedrich K., Hutzler S., Pruffer S., Friedel T., Hanschmann K.-M., Munch R. C., Jost C., Pluckthun A., Cichutek K., Buchholz C. J., Muhlebach M. D. Enhanced lysis by bispecific oncolytic measles viruses simultaneously using HER2/neu or EpCAM as target receptors. *Mol Ther Oncolytics*. 2016;3:16003. DOI: 10.1038/mto.2016.3.
- Maisner A., Mrkic B., Herrler G., Moll M., Billeter M. A., Cattaneo R., Klenk H. D. Recombinant measles virus requiring an exogenous protease for activation of infectivity. *J Gen Virol*. 2000;81(Pt 2):441–449. DOI: 10.1099/0022-1317-81-2-441.
- Leber M. F., Baertsch M.-A., Anker S. C., Henkel L., Singh H. M., Bossow S., Engeland C. E., Barkley R., Hoyle B., Albert J., Springfield C., Jager D., von Kalle C., Ungerechts G. Enhanced control of oncolytic measles virus using MicroRNA target sites. *Mol Ther Oncolytics*. 2018;9:30–40. DOI: 10.1016/j.omto.2018.04.002.
- Grossardt C., Engeland C. E., Bossow S., Halama N., Zaoui K., Leber M. F., Springfield C., Jaeger D., von Kalle C., Ungerechts G. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-armed oncolytic measles virus is an effective therapeutic cancer vaccine. *Hum Gene Ther*. 2013;24(7):644–654. DOI: 10.1089/hum.2012.205.
- Achard C., Guillerme J.-B., Bruni D., Boisgerault N., Combredet C., Tangy F., Jouvenet N., Gregoire M., Fonteneau J.-F. Oncolytic measles virus induces tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-mediated cytotoxicity by human myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *Oncoimmunology*. 2016;6(1):e1261240. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1261240.
- Klose C., Berchtold S., Schmidt M., Beil J., Smirnow I., Venturelli S., Burkard M., Handgretinger R., Lauer U. M. Biological treatment of pediatric sarcomas by combined virotherapy and NK cell therapy. *BMC Cancer*. 2019;19(1):1172. DOI: 10.1186/s12885-019-6387-5.
- Gauvrit A., Brandler S., Sapède-Péroz C., Boisgerault N., Tangy F., Gregoire M. Measles virus induces oncolysis of mesothelioma cells and allows dendritic cells to cross-prime tumor-specific CD8 response. *Cancer Res*. 2008;68(12):4882–4892. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6265.
- Muhlebach M. D. Vaccine platform recombinant measles virus. *Virus Genes*. 2017;53(5):733–740. DOI: 10.1007/s11262-017-1486-3.

31. Pliquet E., Ruffie C., Escande M., Thalmensi J., Najburg V., Combredet C., Bestetti T., Julithe M., Liard C., Huet T., Wain-Hobson S., Tanguy F., Langlade-Demoyen P. Strong antigen-specific T-cell immunity induced by a recombinant human TERT measles virus vaccine and amplified by a DNA/ viral vector prime boost in IFNAR/CD46 mice. *Cancer Immunol Immunother.* 2019;68(4):533–544. DOI: 10.1007/s00262-018-2272-3.
32. Opyrchal M., Allen C., Iankov I., Aderca I., Schroeder M., Sarkaria J., Galanis E. Effective radiovirotherapy for malignant gliomas by using oncolytic measles virus strains encoding the sodium iodide symporter (MV-NIS). *Hum Gene Ther.* 2012;23(4):419–427. DOI: 10.1089/hum.2011.158.
33. Paraskevaku G., Allen C., Nakamura T., Zollman P., James C. D., Peng K. W., Schroeder M., Russell S. J., Galanis E. Epidermal growth factor receptor (EGFR)-retargeted measles virus strains effectively target EGFR or EGFRvIII expressing gliomas. *Mol Ther.* 2007;15(4):677–686. DOI: 10.1038/sj.mt.6300105.
34. Bach P., Abel T., Homann C., Gal Z., Braun G., Voelker I., Ball C. R., Johnston I. C. D., Lauer U. M., Herold-Mende C., Mühlebach M. D., Glimm H., Buchholz C. J. Specific elimination of CD133⁺ tumor cells with targeted oncolytic measles virus. *Cancer Res.* 2013;73(2):865–874. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2221.
35. Kleinlützum D., Hanauer J. D. S., Muik A., Hanschmann K.-M., Kays S.-K., Ayala-Breton C., Peng K.-W., Mühlebach M. D., Abel T., Buchholz C. J. Enhancing the Oncolytic Activity of CD133-Targeted Measles Virus: Receptor Extension or Chimerism with Vesicular Stomatitis Virus Are Most Effective. *Front Oncol.* 2017;7:127. DOI: 10.3389/fonc.2017.00127.
36. Miest T. S., Yaiw K.-C., Frenzke M., Lampe J., Hudacek A. W., Springfield C., von Messling V., Ungerechts G., Cattaneo R. Envelope-chimeric entry-targeted measles virus escapes neutralization and achieves oncolysis. *Mol Ther.* 2011;19(10):1813–1820. DOI: 10.1038/mt.2011.92.
37. Nosaki K., Hamada K., Takashima Y., Sagara M., Matsumura Y., Miyamoto S., Hijikata Y., Okazaki T., Nakanishi Y., Tani K. A novel, polymer-coated oncolytic measles virus overcomes immune suppression and induces robust antitumor activity. *Mol Ther Oncolytics.* 2016;3:16022. DOI: 10.1038/mt.2016.22.
38. Xia M., Luo D., Dong J., Zheng M., Meng G., Wu J., Wei J. Graphene oxide arms oncolytic measles virus for improved effectiveness of cancer therapy. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019;38(1):408. DOI: 10.1186/s13046-019-1410-x.
39. Ong H. T., Hasegawa K., Dietz A. B., Russell S. J., Peng K.-W. Evaluation of T cells as carriers for systemic measles virotherapy in the presence of antiviral antibodies. *Gene Ther.* 2007;14(4):324–333. DOI: 10.1038/sj.gt.3302880.
40. Miest T. S., Frenzke M., Cattaneo R. Measles virus entry through the signaling lymphocyte activation molecule governs efficacy of mantle cell lymphoma radiovirotherapy. *Mol Ther.* 2013;21(11):2019–2031. DOI: 10.1038/mt.2013.171.
41. Prins R. M., Wang X., Soto H., Young E., Lisiero D. N., Fong B., Everson R., Yong W. H., Lai A., Li G., Cloughesy T. F., Liao L. M. Comparison of glioma-associated antigen peptide-loaded versus autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination in malignant glioma patients. *J Immunother.* 2013;36(2):152–157. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3182811ae4.
42. Steinman R. M. Decisions about dendritic cells: past, present, and future. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:1–22. DOI: 10.1146/annurev-immunol-100311-102839.
43. Hardcastle J., Mills L., Malo C. S., Jin F., Kurokawa C., Geekiyanage H., Schroeder M., Sarkaria J., Johnson A. J., Galanis E. Immunovirotherapy with measles virus strains in combination with anti-PD-1 antibody blockade enhances antitumor activity in glioblastoma treatment. *Neuro-Oncology.* 2017;19(4):493–502. DOI: 10.1093/neuonc/nov179.
44. Berghoff A. S., Kiesel B., Widhalm G., Rajky O., Ricken G., Wöhrer A., Dieckmann K., Filipits M., Brandstetter A., Weller M., Kurscheid S., Hegi M. E., Zielinski C. C., Marosi C., Hainfellner J. A., Preusser M., Wick W. Programmed death ligand 1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in glioblastoma. *Neuro Oncol.* 2015;17(8):1064–1075. DOI: 10.1093/neuonc/nou307.
45. Nduom E. K., Wei J., Yaghi N. K., Huang N., Kong L. Y., Gabrusiewicz K., Ling X., Zhou S., Ivan C., Chen J. Q., Burks J. K., Fuller G. N., Calin G. A., Conrad C. A., Creasy C., Ritthipichai K., Radvanyi L., Heimberger A. B. PD-L1 expression and prognostic impact in glioblastoma. *Neuro Oncol.* 2016;18(2):195–205. DOI: 10.1093/neuonc/nov172.
46. Bloch O., Crane C. A., Kaur R., Safaee M., Rutkowski M. J., Parsa A. T. Gliomas promote immunosuppression through induction of B7-H1 expression in tumor-associated macrophages. *Clin Cancer Res.* 2013;19(12):3165–3175. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3314.
47. Engeland C. E., Grossardt C., Veinalde R., Bossow S., Lutz D., Kaufmann J. K., Shevchenko I., Umansky V., Nettelbeck D. M., Weichert W., Jäger D., von Kall C., Ungerechts G. CTLA-4 and PD-L1 checkpoint blockade enhances oncolytic measles virus therapy. *Mol Ther.* 2014;22(11):1949–1959. DOI: 10.1038/mt.2014.160.
48. Leber M. F., Neault S., Jirovec E., Barkley R., Said A., Bell J. C., Ungerechts G. Engineering and combining oncolytic measles virus for cancer therapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2020;56:39–48. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2020.07.005.
49. Klose C., Berchtold S., Schmidt M., Beil J., Smirnow I., Venturelli S., Burkard M., Handgretinger R., Lauer U. M. Biological treatment of pediatric sarcomas by combined virotherapy and NK cell therapy. *BMC Cancer.* 2019;19(1):1172. DOI: 10.1186/s12885-019-6387-5.
50. Leung E. Y. L., McNeish I. A. Strategies to Optimise Oncolytic Viral Therapies: The Role of Natural Killer Cells. *Viruses.* 2021;13(8):1450. DOI: org/10.3390/v13081450.
51. Backhaus P. S., Veinalde R., Hartmann L., Dunder J. E., Jeworowski L. M., Albert J., Hoyler B., Poth T., Jäger D., Ungerechts G., Engeland C. E. Immunological Effects and Viral Gene Expression Determine the Efficacy of Oncolytic Measles Vaccines Encoding IL-12 or IL-15 Agonists. *Viruses.* 2019;11(10):914. DOI: 10.3390/v11100914.