



ONKOLYYTTISET PIKORNAVIRUKSET

Maria Yousfi

Luonnontieteiden kandidaatin tutkielma

Turun yliopisto

Biolääketieteen koulutusohjelma

Lääketieteellinen tiedekunta

Biolääketieteen laitos

22.04.2024

Tiivistelmä

Maria Yousfi

Biolääketiede

Yliopistonlehtori Petri Susi

Pikornavirukset muodostavat yhden suurimmista virusperheistä ja siihen kuuluu yli 300 erilaista virustyyppiä. Pikornavirusten perimäaines koostuu positiivissäikeisestä yksinauhaisesta RNA:sta, jota ympäröi proteiiniukuori. Pikornavirusinfektio on usein oireeton, mutta joskus virus pääsee immuunipuolustusjärjestelmän läpi aiheuttaen erilaisia tautitiloja lievistä nuhaoireista vakavampiin kroonisiin sairauksiin. Pikornavirusinfektioon kuuluu usein sytolyttinen vaihe, jossa virus infektoi solun aiheuttaen solun tuhoutumisen. Infektio tapahtuu solupinnan reseptorin välityksellä, mistä johtuen tietyt virustyyppit infektoivat vain tiettyjä solutyyppejä. Koska monet pikornavirusten reseptorit yliekspressoituvat syöpäsolujen pinnalla, pikornavirus hakeutuu tehokkaasti syöpäsoluihin. Tästä johtuen tiettyjä pikornaviruksia on ajateltu käytettävän onkolyttisinä viruslääkkeinä. Vaihtoehtoisesti virusinfektio voi laukaista immunologisen reaktion, jonka seurauksena infektoidut syöpäsolut merkataan tuhottavaksi MHC-järjestelmän kautta puolustusjärjestelmän tappajasoluille (esim. NK-tappajasolut ja CD8⁺ T-solut).

Syöpä on monen geenivirheen aiheuttama solujen mekanismien muuntuminen, mikä johtaa muun muassa niiden rajattomaan lisääntymiskykyyn. Syöpäkasvaimen solut voivat olla peräisin mistä tahansa elimistön solukudostyyppistä. Näin jokainen kasvain on heterogeeninen solujensa suhteen. Tämän takia syöpää hoidetaan monin eri tavoin. Kehitteillä olevat onkolyttiset virukset ovat osoittaneet tehokkuuttaan erityisesti melanooman eli ihon melanosyyteistä alkunsa saavan syövän hoidossa.

Vuoden 2015 loppupuolella FDA ja EMA hyväksyivät Imlygic-nimisen onkolyttisen viruslääkkeen, joka on ensimmäinen melanooman hoitoon hyväksytty viruslääke. Mielenkiintoista on se, että kansallisesti Latviassa melanooman hoitoon on jo vuonna 2004 hyväksytty onkolyttinen pikornavirus, jota kutsutaan nimellä Rignvir. Rignvirin kantaviruksena on echovirus 7, jota ei ole geneettisesti muunneltu. Rignvirin tarina ulottuu 1970-luvulle ja se on osin huonosti dokumentoitu, koska siihen liittyvä kirjallisuus on venäjäksi. Rignvirin lisäksi kaksi muuta pikornavirusta on kehitetty syöpäterapiaan. CAVATAK-nimistä pikornavirusta on kliinisissä kokeissa käytetty mm. melanooman hoitoon. Sen kehittänyt yritys myytiin MSD:lle huomattavaan hintaan vuonna 2018. CAVATAK:ssa käytetty coxsackievirus A21 (CV-A21) infektoi soluja sitoutumalla CD55 (DAF) reseptorimolekyylisiin, jota ilmennetään runsaasti melanooman lisäksi muun muassa rinta- ja virtsarakon syövässä. PVS-RIPO on kimeerinen pikornavirus, jonka kohde on gliooma. Onkolyttiset pikornavirukset ovat lupaavia syöpäterapialääkkeitä pienmolekyyliyhdisteiden ohella, koska niissä yhdistyy syöpäterapiaan liittyviä keskeisiä ominaisuuksia kuten soluunkohdistuminen, sytolyttisyys ja immunogeenisyys.

Asiasanat: Pikornavirukset, onkolyttiset virukset, viroterapia

Lyhenteet

CAR	Coxsackievirus-adenovirus reseptori
CD155	glykoproteiini
CD55 / DAF	Reseptorimolekyyli
CD8 ⁺ T-solu	Puolustusjärjestelmän tappajasolu
CV-A21	Coxsackievirus A21
DAMP	Vaaratilanteeseen assosioitunut signaalimolekyyli
EMA	Euroopan lääkevirasto
FDA	Amerikan elintarvike- ja lääkevirasto
IFNs	tyyppi I interferoni
NK	Luonnolliset tappajasolut
PAMP	Taudinaiheuttajaan assosioitunut signaalimolekyyli
PV	Poliovirus
RNA	Ribonukleinihappo
TAA	Tuumoriin assosioitunut antigeeni

Sisällys

Tiivistelmä	2
Lyhenteet	3
1. Johdanto	5
2. Pikornavirukset	5
3. Onkolyttiset virukset	8
3.1. Annostelutavat	10
3.2. Solun infektointi	10
3.3. Toimintamekanismit isäntäsolussa.....	11
4. Esimerkkejä viroterapiassa käytetyistä viruksista	11
4.1. ECHO-7	13
4.2. CV-A21	14
4.3. PVS-RIPO.....	14
Lähdeluettelo.....	16

1. Johdanto

Virukset on ensimmäisen kerran havaittu 1800-luvulla, jonka jälkeen ne ovat olleet jatkuvan tutkimuksen kohteena. Mielenkiintoisinta viruksissa on niiden suhteellisen pieni koko ja se, etteivät ne pysty lisääntymään itse, vaan tarvitsevat siihen isäntäsolun, eli ne ovat isännän loisia, ja siksi ne on jätetty eliökunnan luokittelun ulkopuolelle.

Ensi käsitys viruksista on taudinaiheuttajina toimiminen. Virusinfektio voi olla oireeton, lieväoireinen tai johtaa jopa kuoleman aiheuttavaan sairauteen. Mitä enemmän virusten toimintaa on tutkittu, sitä enemmän on ymmärretty, että viruksia voidaan käyttää myös hyvään. Käsitys viruksista hoitomuotona syöpää vastaan on lähtenyt liikkeelle jo 1900-luvulta. Esimerkiksi tuolloin havaittiin luonnonvirustartuntojen kuten influenssan lievittävän leukemiapotilaiden tilannetta (Kelly & Russell, 2007). Nykypäivänä tilanne on se, että valmiita onkolyttisiä viruslääkkeitä on päässyt jo markkinoille.

Normaalin solun muuttuessa syöpäsoluksi on todettu sen monien toimintamekanismien häiriintyminen muun muassa sen pinnalla olevien proteiinien yli-ilmentyminen. Monet virusten käyttämät mekanismit perustuvatkin näihin muutoksiin ja tästä johtuu onkolyttisten virusten tehokas ja valikoitu kohdentuminen syöpäsoluihin (Kaufman et al., 2015). Tässä tutkielmassani tulen käsittelemään tarkemmin pikornaviruksia, jotka ovat pieniä vaipattomia ribonukleiinihappo (RNA) viruksia. Pikornaviruksista on kehitetty lupaavia hoitomuotoja syöpää vastaan.

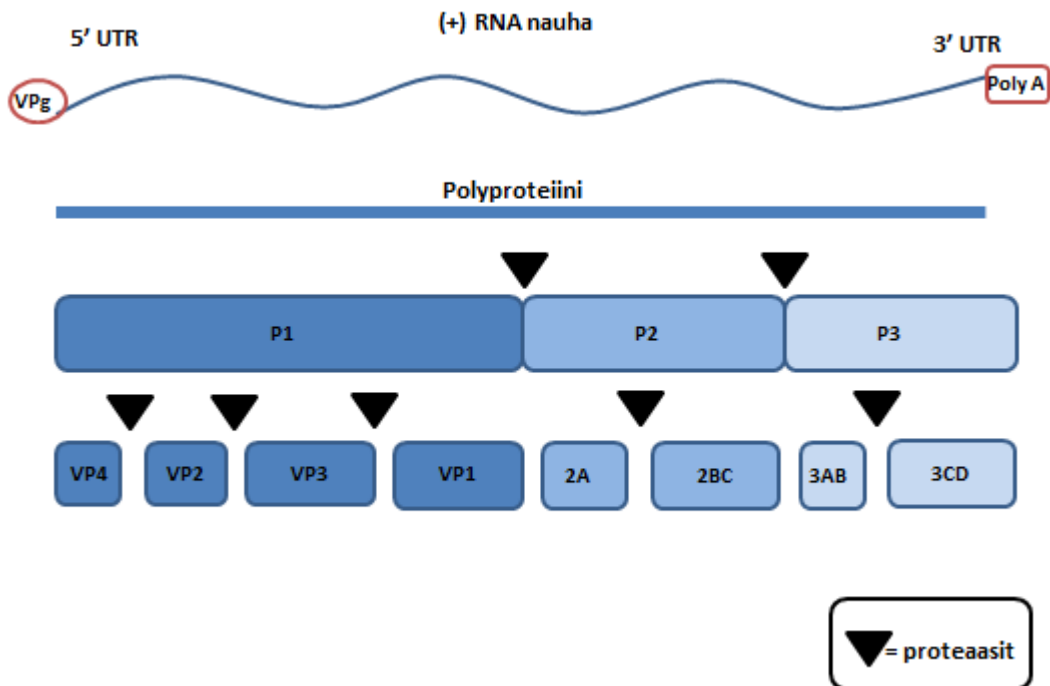
2. Pikornavirukset

Pikornavirus on rakenteeltaan yksinkertainen ja käyttää isäntäsolun solurakenteita sekä aineenvaihduntaa hyväkseen. Viruksen tavoitteena on oman perimäaineksen ja proteiinien tuottaminen ihmisessä tai eläimessä ja näin uusien yksilöiden luominen sekä levittäminen. *Picornaviridae* on yksi suurimmista ja tunnetuimmista virusperheistä ja pikornavirukset voidaan jakaa perheisiin, sukuihin ja edelleen lajeihin infektiokirjon ja geneettisten ominaisuuksiensa perusteella. Tällä hetkellä (tilastoissa 3.2022 asti) *Picornaviridae*-heimoon kuuluu 158 lajia, jotka on edelleen ryhmitelty 68 sukuun. Näistä suvuista 66 on edelleen ryhmitelty viiteen alaperheeseen. Ihmistä infektioivia pikornaviruksia on tunnistettu 8 sukua, joista tärkeimpiä ja parhaiten tunnettuja ovat *Enterovirukset*, *Parechovirukset* ja *Hepatovirukset* (hepatiitti A).

Hyvin monilta muilta nisäkkäiltä kuten koirilta, kissoilta ja jyräjyöiltä tai linnuista ja kaloista on myös löydetty pikornavirusten kaltaisia viruksia. (picornaviridae.com, luettu 30.04.2024)

Pikornavirusten nimi jo kertoo niille kaksi tärkeintä ominaisuutta. Sana '*piko*' tarkoittaa pientä ja '*rna*' keskiosa viittaa ribonukleinihappoon. Pikornavirukset ovat hyvin pienen kokoisia (18–30 nm) ikosaedrin muotoisia ja niiden perimäaines koostuu positiivisesta noin 6,5–8,5 kb kokoisesta yksisäikeisestä RNA-juosteesta. Genomia eli perimää ympäröi pelkästään proteiineista muodostuva kuori eli kapsidi, eli ne ovat ns. vaipattomia viruksia. (Tuthill et al., 2010; van der Linden et al., 2015)

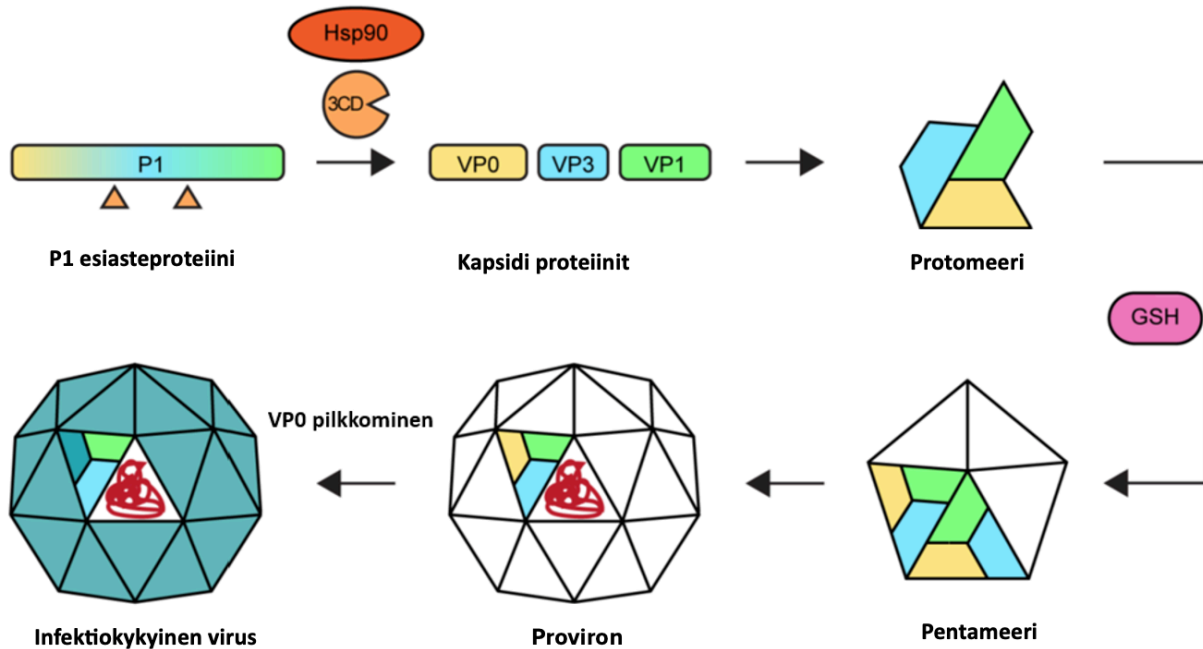
Pikornavirusten genomi on yksiosainen eli muodostuu yhdestä RNA-juosteesta, joka koodaa kaikki viruksen proteiinit (ns. polyproteiiniekspressiostrategia) (Kuva 1). Genomin 5'-päähen on kiinnittynyt pieni peptidi nimeltä VPg (viral protein genome-linked), joka toimii alukkeena RNA-replikaation yhteydessä. Genomin 3'-päässä on poly(A)-häntä (Tuthill et al., 2010). Genomin molemmista päistä löytyy transloimattomat alueet (UTR) geenin luentaa varten. Genomi transloidaan yhdeksi pitkäksi polyproteiiniksi, joka katkaistaan P1-3 alueisiin ja edelleen pienempiin proteiineihin käyttäen viruksen omia proteaaseja (2A^{pro} ja 3C^{pro}) (van der Linden et al., 2015). Katkaistusta polyproteiinista saadaan noin 11–12 yksittäistä virusproteiinia (Massilamany et al., 2016). P1-alueesta saadaan viruksen rakennetta muodostavat proteiinit, kuten ulkoista ikosaedrista kapsidia muodostavat VP1-3 sekä RNA-ydintä kapsidiin kiinnittävä (viruspartikkelin sisäpuolellepäin oleva) VP4-proteiini. Muista P2- ja P3-alueista saadut proteiinit osallistuvat genomien lisääntymiseen (replikaatioon) ja viruspartikkelin muodostumiseen (Jacobs et al., 2013). Edellä mainituilla 2A^{pro}- ja 3C^{pro}-proteaaseilla on muitakin tehtäviä. Ne nimittäin pilkkovat solukohteita, joiden tehtävänä on optimoida ympäristö virusten lisääntymiselle. Ne pilkkovat esimerkiksi eIF4G- ja poly(A)-sitoutumisproteiineja, jotka estävät isäntäsolun omien proteiinien translaation ja näin myös tukahduttavat luontaiset virusvastaiset reaktiot.



Kuva 1. Pikornaviruksen (+) RNA:sta koodataan viruksen kaikki proteiinit käyttäen viruksen omia proteaaseja polyproteiinin pilkkomiseen.

Virusten elinkierto eli replikaatiosykli sisältää kaikki ne vaiheet, jotka virus tarvitsee lisääntymiseen ja leviämiseen. Enterovirusten replikaatiosykli on yksi parhaiten tunnetuimmista. Se alkaa ensin viruksen sitoutumisella kohdesolun pinnan ulkoisiin reseptoriproteiineihin. Reseptoriproteiinit ovat tärkeitä viruksen tropismin kannalta. Tropismi tarkoittaa solukirjoa, jota virus kykenee infektoimaan ja on siten tärkeä esimerkiksi, jos virusta kohdennetaan syöpäsoluihin, joiden pinnalla ekspressoituu tietty reseptoriproteiini. Reseptoritunnistuksen ansiosta virus pääsee solun sisään, jossa se vapauttaa genomisen RNA:nsa solulimaan. Solun omaa koneistoa käyttäen tuotetaan viruksen polyproteiini, joka edelleen leikataan ja muokataan muiksi proteiineiksi viruksen proteaasien 2A^{pro} ja 3C^{pro} toimesta (Kuva 1). Rakenteelliset proteiinit muodostavat kapsidin, kun taas ei-rakenteelliset proteiinit välittävät edelleen viruksen genomien replikaatiota negatiivissäikeisen RNA-välituotteen kautta. Syntyneestä välituotteesta syntetisoidaan edelleen positiivissäikeinen RNA-genomi, joka pakataan viruskapsidiin. Uuden viruksen kokoaminen (Kuva 2) tapahtuu katkaisijaproteiinin Hsp90 avustuksella, sillä se varmistaa P1-esiasteproteiinin oikeanlaisen laskostumisen ja edelleen VP0-, VP3- ja VP1-proteiinien pilkkoutumisen, jotka puolestaan muodostavat spontaanisesti protomeerejä. Viisi protomeeriä yhdistyy pentameeriksi. 12 pentameeria yhdessä genomien kanssa muodostavat viruksen esiasteen provirionin. Jotkut enterovirukset tarvitsevat glutationia (GSH)

pentameerien muodostukseen ja stabilointiin. Viimeisenä vaiheena on niin sanotusti viruksen kypsytytys, jossa VP0 pilkkotaan VP2- ja VP4- proteiineiksi. (van der Linden et al., 2015)



Kuva 2. Enteroviruksen kokoaminen isäntäsolussa.

3. Onkolyttiset virukset

Seurattaessa syöpäpotilaita jo 1900-luvun alusta on havaittu, että virusperäisen nuhan sairastaminen samanaikaisesti lieventää syövän oireita tai jopa pysäyttää taudin etenemisen hetkellisesti (Kelly & Russell, 2007). Pikornavirusten laaja monimuotoisuus näkyy myös niiden käyttämissä mekanismeissa ja siinä, miten spesifisesti ne infektoivat tiettyjä solutyyppejä. Näistä havainnoista on lähtenyt liikkeelle ajatukset viruksista onkolyttisena hoitokeinona syövälle, jonka mukaan virus osaisi itse löytää ja tappaa syöpäsoluja.

Kun yksi solu mutatoituu niin, että sen toiminta häiriintyy ja se alkaa lisääntymään rajattomasti on syntynyt kasvain. Syöpä voi kehittyä mistä vain ihmisen kudoksen solusta ja täten se voi muodostua minne vain kehon osaan. Ihmiskunta on sinnikkäästi taistellut syöpää vastaan jo monia kymmeniä vuosia. Hoidon valintaan vaikuttavat monet tekijät kuten syövän laatu, paikka ja etenemisaste sekä potilaan kunto, ikä ja hoitovaste. Tällä hetkellä vallitsevina hoitomuotoina ovat leikkaukset, sädehoito, lääkkeet, hormonihoito

sekä niiden yhdistelmät. Kuitenkin noin 90 % syöpään liittyvistä kuolemista johtuu metastaasien kasvaimista eikä niinkään primaarikasvaimista (Lambert et al., 2017) . Onkolyttiset virukset immunoterapian kanssa ovat tällä hetkellä eräs tärkeimmistä uusista syövän hoitomuodoista.

Virusrokotteet koostuvat perinteisesti joko heikennetyistä ja inaktivoituista viruspartikkeleista, viruskaltaisista partikkeleista tai viruksista peräisin olevista proteiinikomponenteista sekä näiden lisäksi erilaisista apuaineista, jotka tehostavat rokotteen immunogeenisyyttä (Lei et al., 2015). Syövän virusterapiassa taas on keskeistä, että on voitu käyttää toimivia, mutta mahdollisesti muokattuja viruksia. Tämä olisi suuri etu erityisesti, jotta vältetään mahdolliset haitat kuten viruksille luontainen genomisen epävakaus ja mahdollisuus palata villityypin muotoon (Pavelko et al., 2013). Varsinkin pikornaviruksiin kuuluvia viruksia on kehitetty immunoterapeuttisiin tarkoituksiin niiden luontaisen immunogeenisyyden, tropismin ja sytolyttisten ominaisuuksien vuoksi. Pikornavirusten suhteellisen pienen genomien takia viruksia voidaan muokata geneettisin menetelmin (Ylä-Pelto et al., 2016).

Onkolyttiset virukset ovat alkujaan luonnossa esiintyviä viruksia, joita on voitu muokata edelleen niin, että ne pystyvät löytämään ja tappamaan syöpäsoluja spesifisesti. Keskeisenä ajatuksena on, että lääkkeenä käytetyt virukset eivät ole ihmiselle patogeenisiä tai aiheuta oireita. Joissain tapauksissa onkolyttiset virukset saattavat päästä myös terveeseen solun sisälle, mutta tällöin normaalin solun puolustusjärjestelmä esimerkiksi proteiini kinaasi R pyrkii tehokkaasti poistamaan virusinfektion (Kaufman et al., 2015). Siksi normaalin solun muututtua syöpäsoluksi se menettää monia mekanismeja, joilla se muuten olisi pystynyt rajoittamaan virustartunnan leviämistä, kuten näkyvyys immuunipuolustusjärjestelmälle, translaation vaimennus sekä kyky apoptoosiin (Russell et al., 2012).

Vaikka kaikkien onkolyttisten virusten toimintamekanismeja ei täysin tunneta, on eritelty niille kaksi selvästi erillistä toimintamallia. Ensimmäisessä virukset infektoivat, lisääntyvät ja edelleen aiheuttavat suoran solukuoleman syöpäsoluissa. Toisessa virukset laukaisevat immunologisen ketjureaktion, jonka seurauksena infektoitunut syöpäsolu ja sitä ympäröivät syöpäsolut merkataan tuhottavaksi puolustusjärjestelmän tappajasolujen vaikutuksesta, joita ovat muun muassa CD8⁺ T-solut ja luonnolliset tappajasolut (natural killer, NK). Monet seikat vaikuttavat edellä mainittujen toimintamallien yksityiskohtiin kuten se, mikä syöpälaji on kyseessä, mitä virusta käytetään sekä molempien yhteisinteraktiot jokaisen ihmisen oman puolustusjärjestelmän kanssa. (Kaufman et al., 2015)

3.1. Annostelutavat

Kehon omat puolustusmekanismit kuten ruuansulatuskanava, immuniteetti tai veriaivoeste estävät luonnollisesti vierasaineiden kulkeutumista kehossa, mikä tekee lääkevirusen annostelusta haastavaa. Koska kasvain voi muodostua minne tahansa kehoa, on sen solukkokin heterogeenisesti erilaista. Tämän lisäksi myös syöpäsoluille ominaiset piirteet kuten hypoksia, huono verisuoni verkosto tai solunulkoisen matriisi vähentävät onkolyyttisten virusten kulkeutumista ja leviämistä kasvaimessa. Nämä esteet on pyritty välttämään esimerkiksi injektioimalla onkolyyttinen virus suoraan syöpäkasvaimeen, aina kun se on mahdollista. Osa kehitteillä olevista lääkkeistä onkin laadittu ihosyövän eli melanooman hoitoon. Esimerkkinä tästä on CAVATAK niminen lääkevalmiste, joka injektoidaan suoraan näkyvillä olevaan melanoomaan (Eissa et al., 2018). Suonensisäinen annostelu on myös mahdollista esimerkiksi käyttäen Seneca Valley virusta, koska se luontaisesti vastustaa hemagglutinaatioreaktiota, joka normaalisti estäisi viruksen liikkumisen verisuonistossa (Kaufman et al., 2015).

Suuri etu onkolyyttisille viruksille lääkkeinä on niiden oma kyky lisääntyä ja edelleen levittäytyä kasvaimessa. Tämä tarkoittaa sitä, että jopa yksi tai kaksi onnistunutta annostelua riittää hoitovasteen saamiseksi. Lisäksi onkolyttiset virukset ovat osoittaneet hyvin siedettävää turvallisuusprofiilia sekä kykyä moduloida kasvaimen mikroympäristöä tarjoten näin hyvän mahdollisuuden yhdistelmähoidolle muiden syövä hoitoon käytettävien menetelmien kanssa.

3.2. Solun infektointi

Aloittaakseen toimintansa syöpäsolussa, onkolyyttisen viruksen on päästävä ensin sen sisälle jollakin mekanismilla. Normaalin solun muututtua syöpäsoluksi monet sen mekanismit häiriintyvät, jolloin se alkaa esimerkiksi yli-ilmentämään sen pinnalla olevia reseptoreita tai kasvutekijöitä. Osa viruksista käyttääkin tätä muutosta hyväkseen ja pääsevät solun sisälle muun muassa käyttämällä reseptoreita kanavina. Tämän lisäksi on huomattu, että suurella osalla luonnossa esiintyviä viruksia on luontainen hakuisuus kasvainsoluja kohti riippumatta siitä mistä alkuperäisestä solutyypistä kasvain on muodostunut (Russell et al., 2012). Täten mitä paremmin tunnetaan syövän taudinkuvaa sekä virusten käyttämiä reseptoreita ja mekanismeja, voidaan niitä yhdistämällä saada parempi ja kohdistetumpi hoitotulos.

Moni virus osaa hyödyntää enemmän kuin yhtä reseptoria ja toisaalta yksi reseptori voi olla ovi solun sisään monelle eri pikornaviruskannalle. Esimerkkinä tästä on CAR-reseptori (Coxsackievirus-adenovirus receptor), jonka kautta kulkeutuu sekä pikornaviruksiin kuuluva Coxsackievirus, että niihin kuulumaton Adenovirus (Kaufman et al., 2015). CAR-reseptorin proteiini kuuluu immunoglobuliinien superperheeseen. Useat enterovirukset sitoutuvat CD55/DAF-reseptorimolekyylisiin, joka on komplementtikaskadi ja jonka avulla virus kulkeutuu solun sisälle. Poliovirukset puolestaan käyttävät CD155-glykoproteiineja päästäkseen solun sisälle (Chumakov et al., 2012). Kuitenkaan kaikkien onkolyyttisten virusten, kuten pikornaviruksiin kuuluvan Seneca Valley viruksen, sisäänpääsy mekanismeja syöpäsoluun ei tunneta vielä (Kaufman et al., 2015).

3.3. Toimintamekanismit isäntäsolussa

Saatuun infektion syöpäsolu aloittaa virusvastaisen reaktion, joka johtaa genotoksiseen stressiin sekä myös stressitilaan solulimakalvostossa eli endoplasmakalvostossa (endoplasmic reticulum, ER). Tämän stressitilan seurauksena infektoidun syöpäsolu yli-ilmentää reaktiivisia happiradikaaleja sekä tuottaa virusvastaisia tulehdusvälittäjäaineita eli sytokiineja, erityisesti tyyppi I interferoneja (IFNs). Nämä vapautuvat happiradikaalit sekä erityisesti IFNs stimuloivat ihmisen immuunijärjestelmän NK ja CD8⁺ T-soluja tulemaan paikalle ja hyökkäämään. Myöhemmällä aikavälillä onkolyttinen virus on saanut aikaiseksi onkolyysin eli syöpäsolujen solukalvon tuhoutumisen. Onkolyysin myötä tuhoutuneet syöpäsolut vapauttavat virusainesta, taudinaiheuttajaa assosioituja molekyylejä (PAMP), vaaratilanteeseen assosioituja molekyylisignaaleja (DAMP) sekä tuumoriin assosioituja antigeenejä (TAA). Vapautunut virusaines kulkeutuu muun muassa verisuoniston kautta levittäen näin virustartuntaa. Puolestaan vapautuneet PAMP ja DAMP stimuloivat immuunijärjestelmää käynnistämällä aktiivisia reseptoreita. Tuloksena saadaan ympäristö, jossa immuunijärjestelmä on stimuloitu ja vapautuneet TAA-molekyylit otetaan talteen antigeenejä esittelevien solujen toimesta. Näin saadaan immuunivaste virustartunnan saaneita syöpäsoluja vastaan sekä myös infektoimattomissa syöpäsoluissa, joiden pinnalla ilmennetään TAA-antigeenejä. (Kaufman et al., 2015; Russell et al., 2012)

4. Esimerkkejä viroterapiassa käytetyistä viruksista

Euroopan lääkevirasto (EMA, European Medicines Agency) ja Amerikan elintarvike- ja lääkevirasto (FDA, Food and Drug Administration) hyväksyivät vuonna 2015 ensimmäisen onkolyyttisen virushoidon. Tämä T-

Vec-nimellä kulkeva virus (talimogene laherparepvec, Imlygic) on muokattu tyyppin 1 herpes simplex -viruksesta (HSV-1) eli se ei ole pikornaviruksiin kuuluva, mutta mainitaan tässä yhteydessä siksi, että lukija ymmärtäisi, että markkinoilla ei tällä hetkellä ole kuin tämä yksi EMA:n ja FDA:n hyväksymä lääkevirus. Lisäksi mainitaan, että Kiinassa viranomaiset ovat hyväksyneet käyttöön geneettisesti muokatun adenoviruksen H101 (Oncorine) pään, kaulan ja ruokatorven alueen syövän hoitoon. (Alberts et al., 2018) On mielenkiintoista, että jo paljon tätä ennen - vuonna 2004 - Latviassa hyväksyttiin pikornaviruksiin kuuluva geneettisesti muokkaamaton ECHO-7 virus - kaupanimellä Rignvir - syövän hoitoon. Rignvir-lääkkeestä on julkaistu 01.07.2023 patentoitua ECHO-7-virusta sisältävä ei-lääkinnällinen ravintolisä, Rignvir SE, jota yritys mainostaa ensimmäiseksi luokassaan maailmassa (Rignvir.com, luettu 22.04.2024).

Syöpä on tunnetusti sinnikäs sairaus, johon käytetään usein monenlaisia hoitomuotoja. Vaikka onkolyttiset virukset ovat osoittautuneet tehokkaiksi syöpälääkkeiksi, niiden teho yksittäisinä lääkkeinä on rajallinen minkä vuoksi niitä käytetään yhdistelmähoidossa (Malfitano et al., 2019). Nykypäivänä viroterapia nousee osaksi hoitomuodoksi yhdessä kemoterapeuttisten ja immunoterapeuttisten aineiden kanssa (Harrington et al., 2019). Tämänkaltaisen hoitomuoto antaa toivoa targetoidun syövän ja muun muassa etäpesäkkeiden hoitoon. Tutkimuksen kohteeksi on hakeutunut pikornavirus-perheeseen kuuluvia viruksia sillä niiden genomit eivät integroidu isäntäkromosomeihin, ne eivät koodaa onkogenejä ja ne ovat helposti manipuloitavissa cDNA:ksi (McCarthy et al., 2019). Esittelen tarkemmin tutkielmassani kolmea pikornavirus-perheeseen kuuluvaa onkolyttistä virusta ECHO-7 (Rignvir), coxsackievirus A21 (CAVATAK) ja PVS-RIPO sekä niiden tämänhetkistä kliinistä tutkimustilannetta (Taulukko 1).

Taulukko 1. Kliiniset tutkimukset valikoiduilla onkolyttisilla viruksilla (<https://clinicaltrials.gov/>) (kohdesyöpä alleiviivattu, josta kaikista edennyt tutkimus)

virus	kauppanimi	kohdesyöpä	tutkimus edennyt
Coxsackievirus A21 (CV-A21)	CAVATAK	<u>melanoma</u> , pään ja kaulan alueen-, ei-pienisolainen keuhko-, prostata-, virtsarakon- ja rintasyöpä	faasi 2, suoritettu 04.2016
Poliovirus (PV)	PVS-RIPO	<u>gliooma</u> , melanooma, virtsarakon- ja rintasyöpä	faasi 2, aktiivinen alkanut 06.2017
herpes simplex (HSV-1)	T-vec	<u>melanoma</u> , rintasyöpä, sarkooma, moni muu	faasi 3, suoritettu 09.2014
ECHO-7	Rigvir	<u>melanooma</u>	ei FDA tai EMA suorittamia

4.1. ECHO-7

ECHO-7 virus ei ole ihmiselle patogeeninen, eikä sitä ole geneettisesti muunneltu. Se on immunomodulaattori, joka vaikuttaa sekä immuunijärjestelmän solujen että vasta-ainetuotantoon perustuvan immuunijärjestelmän kautta. ECHO-7 tunnetaan kauppanimellä Rigvir ja se on kehitetty melanooman hoitoon. Tutkimukset ovat osoittaneet, että se pidentää huomattavasti elinikää verrattaessa kontrolliryhmään eikä siihen ole yhdistetty juurikaan sivuoireita. Kuitenkin tähän tutkimukseen osallistuvilla, Rigvir-hoitoa saaneilla potilailla ei havaittu astetta 2 korkeampaa melanooma, ja siksi sen tehoa kaikkiin melanooman levinneisyysasteisiin ei voida sen perusteella todistaa. (Donina et al., 2015)

Rigvirin kehitystyö ulottuu 1950-luvulle, jolloin sitä kehitettiin silloisen Neuvostoliiton alaisuuteen kuuluvan Riikan laboratorioissa. Siksi työstä saadut tulokset on raportoitu latviaksi ja venäjäksi. Nykypäivänä Rigvir on hyväksytty käyttöön Latvian lisäksi myös Georgiassa, Armeniassa ja Uzbekistanissa. Latviassa Rigvir kuuluu korvattaviin lääkkeisiin melanooman hoitoon vuodesta 2011 lähtien. (Alberts et al., 2018) Rigvir ei ole kuitenkaan vielä täyttänyt EMA:n tai FDA:n hyväksyntää varten vaadittavia standardisääntelyjä tai lisätutkimuksia sen terapeuttisen potentiaalın arvioimiseksi (Malfitano et al., 2019). Tällä hetkellä ei ole meneillä klinisiä kokeita ECHO-7:sta onkolyttisenä hoitona EMA:n tai FDA:n piirissä (clinicaltrials.gov, luettu 22.04.2024).

Rigvir annetaan lihaksensisäisenä injektiona vähintään 10⁶ TCID₅₀/ml injektionesteisiin tarkoitettussa natriumkloridissa. Tuote on kuljetettava pakastettuna sekä säilytettävä - 20 ± 2 °C:ssa. (Alberts et al., 2018).

4.2. CV-A21

Enterovirusiin kuuluva coxsackievirus A21 (CV-A21) aiheuttaa ihmisillä lieviä ylähengitystieinfektioita. Patentoitu CV-A21 kaupanimellä CAVATAK infektoi soluja sitoutumalla ensisijaisesti solujen väliseen adheesiomolekyylisiin 1 (ICAM-1). Se käyttää myös CD55 (DAF) reseptorimolekyylä, jota ilmennetään runsaasti melanooman lisäksi muun muassa rinta- ja virtsarakon syövässä. CV-A21:llä on suurempi kasvainten vastainen aktiivisuus, kun yhdistettynä antiohjelmoituihin solukuolemaproteiini 1 (PD-1) -vasta-aineisiin. On siis huomattu, että CV-A21 tehoaa erityisesti metastaattista melanoomaa, rintasyöpää, virtsarakon syöpää ja ei-pienisoluista keuhkosyöpää vastaan. (McCarthy et al., 2019)

Ensimmäisiä raportteja onkolyttisestä coxsackieviruksesta julkaistiin vuonna 1997, jossa esitettiin viruksen kasvaimia estäviä ominaisuuksia ihmisen paksusuolensyövän hoidossa. Tämän jälkeen on monessa laboratoriossa ympäri maailmaa tutkittu viruksen potentiaalia ja turvallisuutta hoitomuotona syöpää vastaan. Australialainen start-up yritys nimeltä Viralytics onnistui kehittämään CAVATAK:n. Myöhemmin yksi maailman johtavista lääkeyrityksistä nimeltä Merck (MSD) ilmoitti vuoden 2018 helmikuussa ostavansa CAVATAK:n kehittämisen yrityksen Viralytics:n omaksi tytäryhtiökseen. Hankintasopimuksen arvo oli 394 miljoonaa US dollaria. Lähitulevaisuudessa on odotettavissa lisää kliinisiä kokeita, jossa vahvistetaan CAVATAK:n tehokkuutta, turvallisuutta ja sivuvaikutuksia suuremmissa potilaspopulaatioissa. (Liu & Luo, 2021)

4.3. PVS-RIPO

Ihmiskunnan historiassa poliovirus (PV) on valitettavan tunnettu poliomyeliitin aiheuttajana, sairauden, joka aiheuttaa elinikäistä työkyvyttömyyttä ja halvaantumista. Arviolta 1–2 % PV-infektiotapauksista johtaa viruksen leviämiseen hermosoluihin, joissa solujen tuhoutuminen johtaa poliomyeliittiin. PV-infektio on yleensä oireeton tai ilmenee ohimenevinä flunssan kaltaisina oireina tai mahasuolitulehduksena. Solujen herkkyys PV:lle riippuu CD155-solureseptorin ilmentymisestä, jota kirjallisuudessa kutsutaan myös nimellä nektiinin kaltainen proteiini 5 (Nect5) tai toisinaan poliovirusreseptori (PVR). CD155 on usein lisääntynyt

metastaaseissa, mikä vaikuttaa solujen liikkuvuuteen ja invasiivisuuteen. Siksi PV:n kehittäminen syövän hoitona on suurelta osin keskittynyt villityypin reseptorivälitteisen onkolyttisen aktiivisuuden säilyttämiseen samalla kun heikennetään neurovirulenssia poliomyeliitin ehkäisemiseksi. (McCarthy et al., 2019; Eissa et al., 2018)

Tällä hetkellä lupaavin mahdollisuus PV:n käyttöön syövän terapeuttisessa ympäristössä on kimeerinen PVSRIPO-virus, jonka IRES on korvattu ihmisen rinovirus 2:n IRES-sekvenssillä (RV-A2) mikä juuri heikentää viruksen lisääntymistä normaaleissa hermosoluissa, millä on merkitys mm. viruksen käyttöön gliooman hoidossa. PVSRIPO on osoittanut tehokkuutensa monissa syövissä kuten melanooma, rinta- ja eturauhassyövissä sekä glioomaperäisissä syövissä. (McCarthy et al., 2019)

Lähdeluettelo

- Alberts, P., Tilgase, A., Rasa, A., Bandere, K., & Venskus, D. (2018). The advent of oncolytic virotherapy in oncology: The Rigvir® story. *European Journal of Pharmacology*, *837*, 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.08.042>
- Chumakov, P. M., Morozova, V. V., Babkin, I. V., Baikov, I. K., Netesov, S. V., & Tikunova, N. V. (2012). Oncolytic enteroviruses. *Molecular Biology*, *46*(5), 639–650. <https://doi.org/10.1134/S0026893312050032>
- clinicaltrials.gov. (n.d.). *clinicaltrials.gov*. Retrieved 22 April 2024, from <https://clinicaltrials.gov/search?intr=Rigvir&checkSpell=>
- Donina, S., Strele, I., Proboka, G., Auziņš, J., Alberts, P., Jonsson, B., Venskus, D., & Muceniece, A. (2015). Adapted ECHO-7 virus Rigvir immunotherapy (oncolytic virotherapy) prolongs survival in melanoma patients after surgical excision of the tumour in a retrospective study. *Melanoma Research*, *25*(5), 421–426. <https://doi.org/10.1097/CMR.000000000000180>
- Eissa, I. R., Bustos-Villalobos, I., Ichinose, T., Matsumura, S., Naoe, Y., Miyajima, N., Morimoto, D., Mukoyama, N., Zhiwen, W., Tanaka, M., Hasegawa, H., Sumigama, S., Aleksic, B., Kodera, Y., & Kasuya, H. (2018). The current status and future prospects of oncolytic viruses in clinical trials against melanoma, glioma, pancreatic, and breast cancers. In *Cancers* (Vol. 10, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cancers10100356>
- Harrington, K., Freeman, D. J., Kelly, B., Harper, J., & Soria, J. C. (2019). Optimizing oncolytic virotherapy in cancer treatment. *Nature Reviews Drug Discovery*, *18*(9), 689–706. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0029-0>
- Jacobs, S. E., Lamson, D. M., Kirsten, S., & Walsh, T. J. (2013). Human rhinoviruses. *Clinical Microbiology Reviews*, *26*(1), 135–162. <https://doi.org/10.1128/CMR.00077-12>
- Kaufman, H. L., Kohlhapp, F. J., & Zloza, A. (2015). Oncolytic viruses: A new class of immunotherapy drugs. In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 14, Issue 9, pp. 642–662). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrd4663>
- Kelly, E., & Russell, S. J. (2007). History of oncolytic viruses: Genesis to genetic engineering. In *Molecular Therapy* (Vol. 15, Issue 4, pp. 651–659). <https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300108>
- Lambert, A. W., Pattabiraman, D. R., & Weinberg, R. A. (2017). Emerging Biological Principles of Metastasis. In *Cell* (Vol. 168, Issue 4, pp. 670–691). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.037>
- Lei, J., Osen, W., Gardyan, A., Hotz-Wagenblatt, A., Wei, G., Gissmann, L., Eichmüller, S., & Löchelt, M. (2015). Replication-competent foamy virus vaccine vectors as novel epitope scaffolds for immunotherapy. *PLoS ONE*, *10*(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138458>
- Liu, H., & Luo, H. (2021). Development of group b coxsackievirus as an oncolytic virus: Opportunities and challenges. In *Viruses* (Vol. 13, Issue 6). MDPI. <https://doi.org/10.3390/v13061082>
- Malfitano, A. M., Di Somma, S., Prevede, N., & Portella, G. (2019). Virotherapy as a potential therapeutic approach for the treatment of aggressive thyroid cancer. In *Cancers* (Vol. 11, Issue 10). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cancers11101532>

- Massilamany, C., Koenig, A., Reddy, J., Huber, S., & Buskiewicz, I. (2016). Autoimmunity in picornavirus infections. In *Current Opinion in Virology* (Vol. 16, pp. 8–14). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.10.004>
- McCarthy, C., Jayawardena, N., Burga, L. N., & Bostina, M. (2019). Developing picornaviruses for cancer therapy. In *Cancers* (Vol. 11, Issue 5). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cancers11050685>
- Pavelko, K. D., Bell, M. P., Karyampudi, L., Hansen, M. J., Allen, K. S., Knutson, K. L., & Pease, L. R. (2013). The epitope integration site for vaccine antigens determines virus control while maintaining efficacy in an engineered cancer vaccine. *Molecular Therapy*, 21(5), 1087–1095. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.52>
- Picornaviridae.com. (n.d.). <https://www.picornaviridae.com/index.html>. Retrieved 30 April 2024, from
- Rigvir.com. (n.d.). *Food supplement Rigvir SE is launched on the market*. Retrieved 22 April 2024, from <https://www.rigvir.com/all-news.php>
- Russell, S. J., Peng, K. W., & Bell, J. C. (2012). Oncolytic virotherapy. In *Nature Biotechnology* (Vol. 30, Issue 7, pp. 658–670). <https://doi.org/10.1038/nbt.2287>
- Tuthill, T. J., Groppelli, E., Hogle, J. M., & Rowlands, D. J. (2010). *Picornaviruses*. https://doi.org/10.1007/82_2010_37
- van der Linden, L., Wolthers, K. C., & van Kuppeveld, F. J. M. (2015). Replication and inhibitors of enteroviruses and parechoviruses. In *Viruses* (Vol. 7, Issue 8, pp. 4529–4562). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/v7082832>
- Ylä-Pelto, J., Tripathi, L., & Susi, P. (2016). Therapeutic use of native and recombinant enteroviruses. *Viruses*, 8(3), 1–15. <https://doi.org/10.3390/v8030057>