



جَامِعَة
الْمَنَارَة
MANARA UNIVERSITY

الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
كلية الصيدلة – جامعة المنارة

العلاج الفيروسي الحال للأورام



إشراف:

د. مايا الخطيب

إعداد:

فرقان وافي ناصر

Oncolytic Virotherapy

2022 – 2023

الإهداء ...

إلى صاحب السيرة العطرة ، والفكر المُستنير؛ ...
من كان له الفضل الأَوَّل في بلوغي هذا التعليم ...

(والدي الحبيب)

، أطال الله في عُمره .

إلى من وضعتني على طريق الحياة ، وجعلتني رابط الجأش ،

إلى أسمى آيات العطاء

(أمي الحبيبة)

إلى أُختاي ؛ من كان لهما بالغ الأثر في كثير من العقبات والصعاب .

الدكتورة آية ... وأختي تقي في كلية الحقوق

إلى منهل علمي ... أساتذتي ... من أناروا طريقي ؛

وأخص بالذكر الدكتورة مايا الخطيب التي لم تبخل لا بعلم ولا بوقت .

الصيدلاني فرقان وفيق ناصر

فهرس المحتويات

7	مقدمة حول السرطان
15	المدخل إلى العلاج الفيروسي الحال للأورام
19	الفيروسات الحالة للأورام في علاج السرطان
22	طرق لتعديل الفيروسات العلاجية
34	استهداف الورم عن طريق البروتينات ثنائية الإنتقائية
38	تطوير الدخول الموجه لفيروسات الحصبة الحالة
42	بيكورنافيروس
44	العلاج الفيروسي خارج الجسم الحي بواسطة فيروس المايكسوما
46	النمذجة المناعية في العلاج بفيروس الحصبة الحال
56	ابتكارات لإيصال الفيروسات الحالة للأورام
63	الخاتمة
65	الملحق أ : الإسكات الجيني
67	الملحق ب : بعض التعريفات
77	المصادر والمراجع

مقدمة حول السرطان

يعرف السرطان على أنه نمو غير طبيعي للخلايا إذ تتمثل الخلايا السرطانية (Cancer cells) بالشكل غير الطبيعي والاضطراب الوظيفي والنمو السريع مقارنة بالخلايا الطبيعية في الجسم؛ كما يمكن لهذه الخلايا الانتقال إلى أجزاء أخرى من الجسم وتشكيل الأورام (Tumors)؛ وهي عبارة عن تجمع غير طبيعي للخلايا لا يستطيع الجسم التحكم في معدلات انقسامها ونموها وتنقسم الأورام إلى أورام خبيثة أو سرطانية (Malignant Tumor) وأورام حميدة (Benign Tumor) وتتصف الأورام الخبيثة بسرعة نموها وقدرتها على الانتشار إلى أنحاء مختلفة من الجسم والانتقال إلى الأنسجة المجاورة للورم وتدميرها بينما ينحصر نمو الأورام الحميدة في منطقة محددة من الجسم؛ وضمن معدل نمو منخفض.

تغيرات الخلايا الطبيعية غير السرطانية قبل التوسع في تفسير الخلايا السرطانية تجدر الإشارة إلى إمكانية حدوث بعض التغيرات غير الطبيعية في خلايا الجسم؛ والتي لا تصنف ضمن الخلايا السرطانية إلا أن بعض هذه التغيرات قد يؤدي إلى تطوّر الخلية إلى خلية سرطانية في حال عدم الخضوع للعلاج المناسب وفي ما يأتي بيان لبعض التغيرات:

فرط التنسج: يُعبر فرط التنسج (Hyperplasia) عن ارتفاع معدل التكاثر أو الانقسام الخلوي عن النسبة الطبيعية للخلايا مما يؤدي إلى تراكمها ومن الجدير بالذكر أن الأنسجة المتأثرة بحالة فرط التنسج لا تُظهر أية علامات غير طبيعية عند الكشف عنها باستخدام المجهر ويوجد عدد من المشاكل الصحية والعوامل التي قد تؤدي إلى فرط التنسج مثل التهيج المزمن في أحد الأنسجة.

خلل التنسج: يتشابه خلل التنسج (Dysplasia) مع فرط التنسج إلا أن شكل الخلايا والأنسجة يبدو غير طبيعي عند الكشف عنها باستخدام المجهر في هذه الحالة ، كما تعد مشكلة خلل التنسج أكثر خطورة مما يستدعي الحاجة للمراقبة والخضوع للعلاج في بعض الحالات إذ إن فرصة تحول هذه الخلايا إلى خلايا سرطانية ترتفع كلما زاد تشوه هذه الخلايا والأنسجة عند الكشف عنها ومن الأمثلة على خلل التنسج الشامه أو الوحمة ذات الشكل غير الطبيعي والمعروفة بوحمة خلل التنسج (Dysplastic nevus) والتي في بعض الحالات النادرة قد تتحول إلى ورم ميلانيني أو سرطان الخلايا الصبغية (Melanoma).

السرطان الخبيث: على الرغم من أن مصطلح السرطان الخبيث (carcinoma in situ) يبدو وكأنه يُعبّر عن أحد أنواع السرطان إلا أن هذا النوع من اضطراب الخلايا لا يُعد من أنواع السرطان على الرغم من خطورته الشديدة إذ لا تمتلك هذه الخلايا القدرة على الانتقال إلى الأنسجة المجاورة ولكن في بعض الحالات قد تتطور إلى خلايا سرطانية لذلك يتم علاج معظم حالات السرطان الخبيث لمنع تطورها

- أسباب حدوث السرطان:

لا يمكن تحديد سبب رئيسي للإصابة بمرض السرطان وإنما يعتقد العلماء بوجود عدّة عوامل مختلفة قد تسبب الإصابة بالسرطان مثل العوامل البيئية والوراثية والصفات البنيوية الفريدة للشخص أما بالنسبة لآلية تحوّل الخلية إلى خلية سرطانية فيعتقد العلماء أن هذا التحول يحدث نتيجة اجتماع عدّة طفرات جينية في المادة الوراثية للخلية خصوصاً الطفرات التي تؤثر في الجزء المسؤول عن توجيه الخلية للنمو والانقسام؛ إذ إنّ أيّ خطأ في التعليمات التي توقف الخلية عن أداء وظيفتها الطبيعية قد يسمح للخلية بالتحول إلى خلية سرطانية وتوجد العديد من الأسباب المختلفة التي قد تؤدي إلى حدوث هذه الطفرات « ويمكن تقسيم الطفرات الجينية إلى طفرات تحدث قبل الولادة تتم وراثتها من الوالدين وتكون مسؤولة عن نسبة بسيطة فقط من حالات الإصابة بمرض السرطان ، وطفرة جينية مكتسبة تحدث بعد الولادة وتكون مسؤولة عن نسبة أكبر من حالات الإصابة بمرض السرطان ؛ وقد تحدث هذه الطفرات لأسباب عديدة مثل التعرض لبعض العناصر الكيميائية والأشعة والفيروسات والتدخين واتباع نمط حياة غير صحي لا تتم فيه ممارسة التمارين الرياضية ؛ ومعاناة الشخص من السمنة ؛ بالإضافة إلى بعض الاضطرابات الهرمونية والالتهابات المزمنة وهنا تجدر الإشارة إلى أن خلايا الجسم المختلفة تمتلك آلية دفاعية تحميها من هذه الطفرات والاضطرابات التي تصيب المادة الوراثية إلا أنه في بعض الحالات النادرة قد لا تتنبه الخلايا إلى هذه الاضطرابات مما يؤدي إلى تحولها إلى خلايا سرطانية وفي ما يأتي بيان لبعض التأثيرات الشائعة التي قد تحدث في الخلية نتيجة التعرّض للطفرات الجينية:

فرط النمو: قد تسبب بعض الطفرات الجينية فقد الخلية لقدرتها على تنظيم عملية النمو والانقسام مما يؤدي إلى فرط الانقسام والنمو وتكوّن خلايا جديدة تحمل نفس هذه الطفرة الجينية.

فقدان القدرة على تثبيط نمو الخلية: تؤثر بعض الطفرات الجينية في الجينات الكابتة للسرطان (tumor suppressor genes) وهو الجين المسؤول عن تثبيط نمو وانقسام الخلية عند وصولها للحد الطبيعي؛ وهذا بدوره يؤدي إلى فقدان السيطرة على نمو وانقسام الخلية عند وصولها للحد الطبيعي؛ وهو ما يحدث في الخلية السرطانية مما يؤدي إلى انتشار السرطان أما في الحالات

الطبيعية يكون نمو الخلايا وانقسامها ضمن نسبة محددة لكي لا يطغى نوع من الخلايا على الخلايا الأخرى في الجسم.

اضطراب عملية إصلاح المادة الوراثية: تكون وظيفة بعض الجينات بشكل خاص إصلاح الاضطرابات في المادة الوراثية للخلية وفي حال حدوث طفرات في هذه الجينات فقد تتوقف عملية الإصلاح مما يؤدي إلى زيادة الأخطاء في المادة الوراثية للخلية وارتفاع خطر تحولها إلى خلية سرطانية. ومن الجدير بالذكر أن الخلية لا تتحول في العادة إلى خلية سرطانية إلا عند إصابتها بعدة طفرات جينية ولم يتمكن العلماء من تحديد عدد هذه الطفرات الجينية حتى الآن ، ويُعتقد أن عدد الطفرات التي تُسبب السرطان تعتمد على نوع السرطان وعلى الرغم من أن بعض الطفرات الموروثة قد تزيد من خطر الإصابة بالسرطان إلا أن هذه الطفرات لا تعني بالضرورة إصابة الشخص بالسرطان وإنما قد يحتاج هذا الشخص في هذه الحالة إلى عدد أقل من الطفرات الجينية المكتسبة لتحول الخلية إلى خلية سرطانية

- السمة الأساسية لخلايا الورم :

هي قدرتها على البقاء على قيد الحياة بعد فترة حياتها الطبيعية والحفاظ على الانتشار المزمّن. يعتبر الافتقار إلى التحكم في النمو الطبيعي عاملاً في كل من نشأة الورم المبكر والورم الخبيث. من أجل النمو بشكل أسي يجب على الخلايا السرطانية الالتفاف على المسارات التي تتحكم سلباً في تكاثر الخلايا عن طريق التهرب من مثبطات النمو ومقاومة الموت الخلوي المبرمج. يعد التهرب المبرمج من الخصائص المميزة للسرطان ويبدو أنه يلعب دوراً رئيسياً في إحداث مقاومة لكل من العلاج الكيميائي والعلاج الإشعاعي. يعتبر تشكل الأوعية الدموية الورمية (وهي عملية نمو وتكوين أوعية دموية جديدة) أيضاً سمة مرضية أساسية للسرطان. لتكون قادرة على تعزيز تشكل أوعية دموية جديدة يجب أن تكتسب الخلايا السرطانية نمطاً ظاهرياً وعائياً.

إن تولد الأوعية أمر بالغ الأهمية لنمو وانتشار الخلايا السرطانية ويحدث في المراحل المبكرة من تطور الورم. نظراً لسرعات الانتشار العالية غالباً ما توصف الأوعية الدموية للورم بأنها غير طبيعية من الناحية الهيكلية والوظيفية.

على أية حال فهي وظيفة بما يكفي لتوفير المغذيات والأكسجين للأورام النامية ودعم انتشار الخلايا السرطانية والانتشار.

تعد النقائل جانباً مهماً آخر من جوانب تكوين الأورام والسبب الرئيسي لمعدل الوفيات المرتفع للسرطان وهي المسؤولة عن غالبية الوفيات المرتبطة بالسرطان. تعرف النقائل بأنها عملية معقدة تتطلب تعاوناً وثيقاً بين الخلايا السرطانية ، المناعية ،الالتهابية والخلايا اللحمية.

يتضمن حدوث النقائل عدد من الخطوات كإفصال الخلايا السرطانية عن الورم الأساسي ، الغزو ، الهجرة ، التدخل ، البقاء في الأوعية الدموية ، التسرب واستعمار الموقع الثانوي.

بشكل عام يعطل السرطان العلاقات الخلوية ويؤدي إلى خلل في الجينات الحيوية. هذا الاضطراب مؤثر في دورة الخلية ويؤدي إلى تكاثر غير طبيعي.

الجينات الورمية الأولية هي المسؤولة عن انقسام الخلايا ونموها في ظل الظروف الطبيعية ولكنها تصبح جينات مسرطنة أثناء الطفرة الجينية وهي الأكثر خطورة على وجود الخلية. بالإضافة إلى ذلك يؤدي نقص الجينات الكابحة للورم إلى انقسام غير منضبط للخلايا. تترجم جينات الإصلاح إلى بروتينات وإنزيمات لها خصائص إصلاح ويوجد أكثر من 30 نوعاً من بروتينات الإصلاح المكتشفة. تؤدي إزالة اليوراسيل من الـ DNA إلى تجاوز أذية DNA وإزالة أذيات DNA الرئيسية التي تسببها الأشعة فوق البنفسجية والتي تعد في الأساس وظائف إصلاح الجينات لإصلاح DNA بنجاح.

-الاختلافات الشائعة بين الخلايا الطبيعية والورمية:
يلخص الجدول 1 الاختلافات الرئيسية بين الخلايا الطبيعية والورم

الخلايا الطبيعية	الخلايا الورمية	
صغيرة، منتظمة ومتجانسة الشكل	كبيرة، غير منتظم ومتغيرة الشكل	الحجم والشكل
صغيرة ومفردة	كبيرة ومتعددة النويات	النويات
سليم	غير سليم مع وجود طفرات	الجينيوم
مضبوط	متجدد ذاتياً (غير مضبوط)	النمو والتكاثر
طبيعية	تفقد بعض أو كل الوظائف المتميزة للخلايا الأم	وظيفة الخلية
تولد الأوعية الدموية أثناء الإصلاح	تولد الأوعية في الورم	التروية الدموية
السطح القطبي الطبيعي مع المستقبلات المنتظمة	تفقد القطبية، وتفرط في التعبير عن بعض البروتينات والمستقبلات كواسمات	تركيب الغشاء
تموت	خالدة (لا تموت)	الموت
الغلوكوز	الدهم، الكيتون، الغلوسين، الغلوكوز .. الخ	مصدر المغذيات

الشكل 1. الفرق بين الخلايا الطبيعية والخلايا السرطانية.

ثانياً- وبائيات مرض السرطان:

يعد السرطان السبب الرئيسي الثاني للوفيات في جميع أنحاء العالم وبشكل عام ازداد انتشار السرطان بالفعل ؛ ففي الولايات المتحدة وحدها فقط عانى حوالي 1665540 شخص من السرطان وتوفي 585720 منهم بسبب هذا المرض بحلول عام 2014. لذلك يعد السرطان مشكلة خطيرة تؤثر على صحة جميع المجتمعات البشرية. لسوء الحظ إنه مرض متنوع على مستوى الأنسجة ويمثل هذا التنوع تحدياً كبيراً للتشخيص النوعي له ، يليه فعالية العلاج. عند الرجال تحدث أعلى النسب المئوية لأنواع السرطان في البروستات ، الرئة ، الشعب الهوائية ، القولون ، المستقيم والمثانة على التوالي. أما عند النساء يكون انتشار السرطان أعلى في الثدي ، الرئة ، الشعب الهوائية ، القولون ، المستقيم ، جسم الرحم والغدة الدرقية على التوالي. تشير هذه البيانات إلى أن سرطان البروستات والثدي يشكلان جزءاً كبيراً من السرطان لدى الرجال والنساء على التوالي. بالنسبة للأطفال فإن أعلى نسبة من أنواع أمراض السرطان هي لسرطان الدم ؛ والسرطانات المتعلقة بالدماغ والعقد الليمفاوية على التوالي.

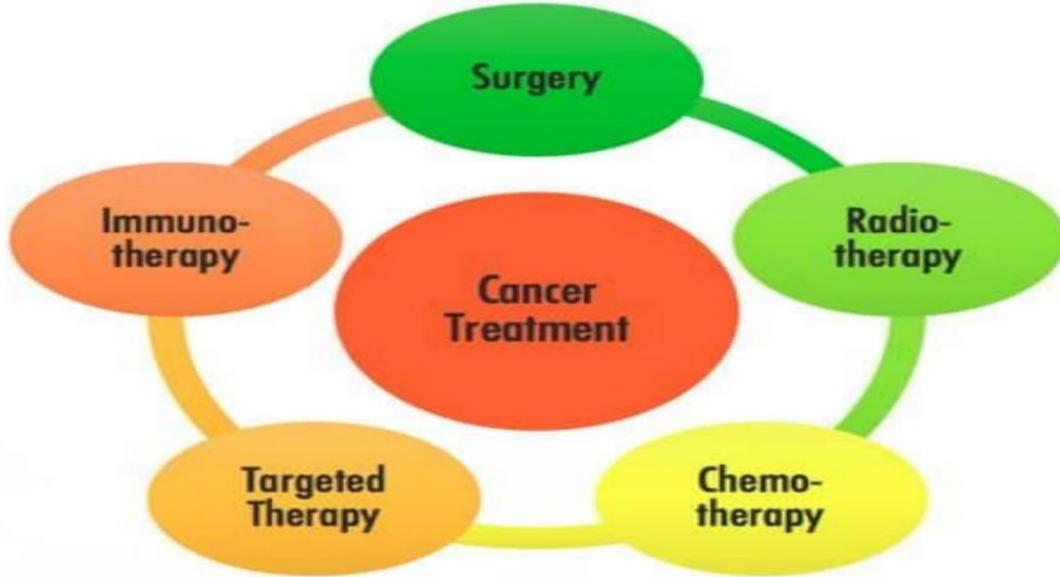
- علاج مرض السرطان :

تمهيد:

تم في السنوات الأخيرة إحراز تقدم ملحوظ نحو فهم أفضل لتطور السرطان مما أدى إلى تقدم كبير في علاج السرطان.

على أية حال فإن السرطان مرض عدواني يصعب علاجه لعدة أسباب تشمل التغيرات الرئيسية داخل وبين الأورام والطفرات في مئات الجينات المختلفة التي تساهم في السرطان. علاوة على ذلك يمكن أن يؤثر السرطان على مجموعة واسعة من الخلايا (على سبيل المثال الظهارية ، اللحمية ، الدم) وأعضاء الجسم. بالإضافة إلى ذلك فإن السرطان ليس مرضاً ثابتاً بشكل عام ولكنه يتقدم ويتطور بمرور الوقت ويتراكم فيه طفرات جديدة لذلك فمع زيادة معدل الإصابة بالسرطان لا يزال التدبير السريري ذي الصلة يشكل تحدياً في القرن الحادي والعشرين.

- طرق العلاج:



تشمل الطرائق التقليدية لعلاج السرطان العلاج الإشعاعي ، الجراحة ، العلاج الكيميائي والعلاج بالبروتون. يبقى العلاج الإشعاعي وعلى الرغم من الآثار الجانبية الناجمة عنه مكوناً مهماً في علاج السرطان لما لا يقل عن 50% من جميع المرضى.

كما أن العلاج الكيميائي (باستخدام الأدوية السامة للخلايا) يضر حتماً بالأنسجة الطبيعية المحيطة بالورم. تستهدف عوامل العلاج الكيميائي الخلايا ذات المستوى القاعدي العالي من التكاثر والتجدد كالخلايا السرطانية والخلايا غير الورمية سريعة الانتشار (في الجلد ، الشعر ، نقي العظام وظهارة الجهاز الهضمي) يتسبب هذا بارتفاع مستوى السمية المصاحبة لمثل هذه العلاجات. علاوة على ذلك غالباً ما تتبع مجموعة متنوعة من المضاعفات طويلة المدى علاجات السرطان التقليدية مثل السمية القلبية ، العصبية ، العقم ، اعتلال الكلية والأذية المزمنة للكبد.

من ناحية أخرى ظهرت عدة استراتيجيات جديدة تظهر إمكانات كبيرة في علاج السرطان والحد من المعاناة والوفيات المرتبطة بالسرطان.

يشمل ذلك العلاج الضوئي الديناميكي (تدمير الخلايا السرطانية باستخدام دواء حساس للضوء يتم تنشيطه بواسطة أطوال موجية محددة من الضوء) ، العلاج الحراري الضوئي (باستخدام عامل حراري ضوئي ينشط عن طريق إنتاج الضوء للحرارة لتدمير الخلايا السرطانية) ، العلاج الجيني (علاج/تعديل الخلايا السرطانية باستخدام المواد الجينية أو تحفيز الخلايا المناعية) ، العلاج بالأدوية النانوية (الإيتاء الدوائي الموجه للورم).

يتم في العلاج الجيني استهداف السرطان على المستوى الجيني ، ولهذه الطريقة الكثير من الإمكانيات ، ويشمل العلاج الجيني مجموعة واسعة من العلاجات باستخدام المواد الجينية لتعديل الخلايا السرطانية التي تسبب تثبيط الورم.

يتكون هذا العلاج من ثلاث طرائق مختلفة تشمل العلاج المناعي (العلاج باللقاح ، العلاج بالأجسام المضادة) ، علاج الورم بالفيروسات ، ونقل الجينات.

لقد تم تصميم لقاحات السرطان لعلاج السرطان عن طريق تدريب جهاز المناعة على التعرف على الخلايا المصابة (الخلايا السرطانية). على أية حال تصنع اللقاحات الشائعة لمنع إصابة الخلايا الطبيعية.

أما فيما يخص العلاج المناعي فقد اكتسبت العلاجات المناعية للسرطان اهتماماً هائلاً منذ موافقة إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) على ستة علاجات مناعية من معدلات لحصر نقاط التفتيش واثنين من مستقبلات المستضدات الخيميرية للخلايا التائية CAR-T.

المدخل إلى العلاج الفيروسي الحال للأورام

Introduction to Oncolytic Viruthery

استوحي علاج السرطان بالفيروسات المتضاعفة عن طريق الملاحظات السريرية بتراجع نمو الورم بعد حصول عدوى بشكل طبيعي بالفيروس.

على المستوى الخلوي ، تظهر الفيروسات ذات الخصائص الحالة للسرطان عدوى ، وتضاعف ، وانتشار انتقائين للورم والتي تكون مدعمة بخصائص تنوارثها الخلايا السرطانية تسمى "سمات السرطان hallmarks of cancer". وعلى هذا النحو ، تظهر الخلايا السرطانية العديد من الخصائص التي تؤدي إلى التضاعف الفيروسي وتشمل التكاثر المستمر ، ومقاومة الموت الخلوي المبرمج ، والتهرب المناعي. يمكن أن يتضمن التحول الخبيث زيادة التعبير upregulation عن مستقبلات الدخول الفيروسي وإشارات التكاثر والانقسام المنتهكة من قبل الفيروسات (مثل، Wnt/ β -Catenin و EGFR) وكذلك انخفاض التعبير downregulation عن الإشارات المضادة للفيروسات والمضادة للانقسام (خاصة الإنترفيرون).

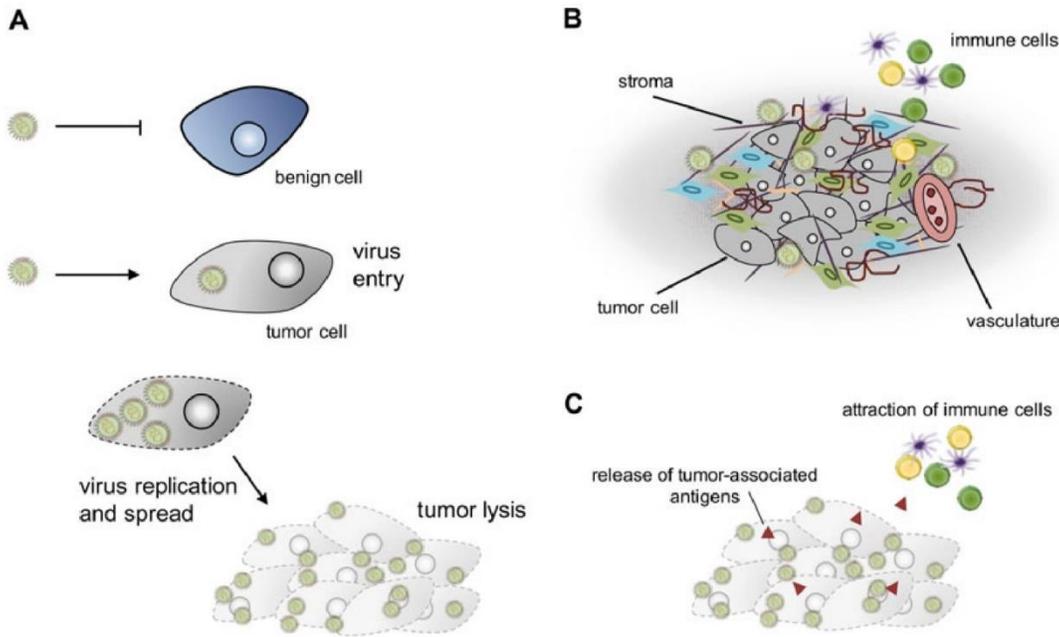


Fig. 1 Principles of oncolytic virotherapy. (a) Oncolytic viruses replicate selectively in malignant cells. (b) Oncolysis reshapes the tumor microenvironment. (c) Exposure of tumor antigens in the context of oncolysis can elicit tumor vaccination effects

لا يتكون الورم فقط من تحول خبيث للخلايا بل من بيئة ميكروية معقدة
microenvironment من السدى stroma ، والتشكل الوعائي vasculature
، ونقص الكريات البيض leukocytes ، والتي تتميز عادة بتثبيط مناعي
.immunosuppression.

تلعب العدوى الفيروسية دوراً محفزاً للجهاز المناعي. ينشأ خلال تضاعف
الفيروس إلتهاب موضعي ، وتفعيل الجهاز المناعي الفطري innate ، وإشارات
الخطر (DAMPs و PAMPs) والتي يمكنها تغيير السياق المناعي وبالتالي تحويل
الأورام الباردة إلى حارة .turning cold tumors hot.

خلال انحلال الورم ، تتحرر المستضدات المرتبطة بالورم والتي تلعب دوراً
كمواد مساعدة adjuvants في تحريض الاستجابات المناعية المضادة للورم.

هكذا ، يمكن للفيروسات الحالة أن تلعب دور لقاح موضعي للورم ، مثيرة
مناعة تحمي من الأورام وتعالجها.

هذه الآليات الأساسية شائعة لدى مجموعة متنوعة من الفيروسات التي تم
تطويرها كمنصات ناقلة.

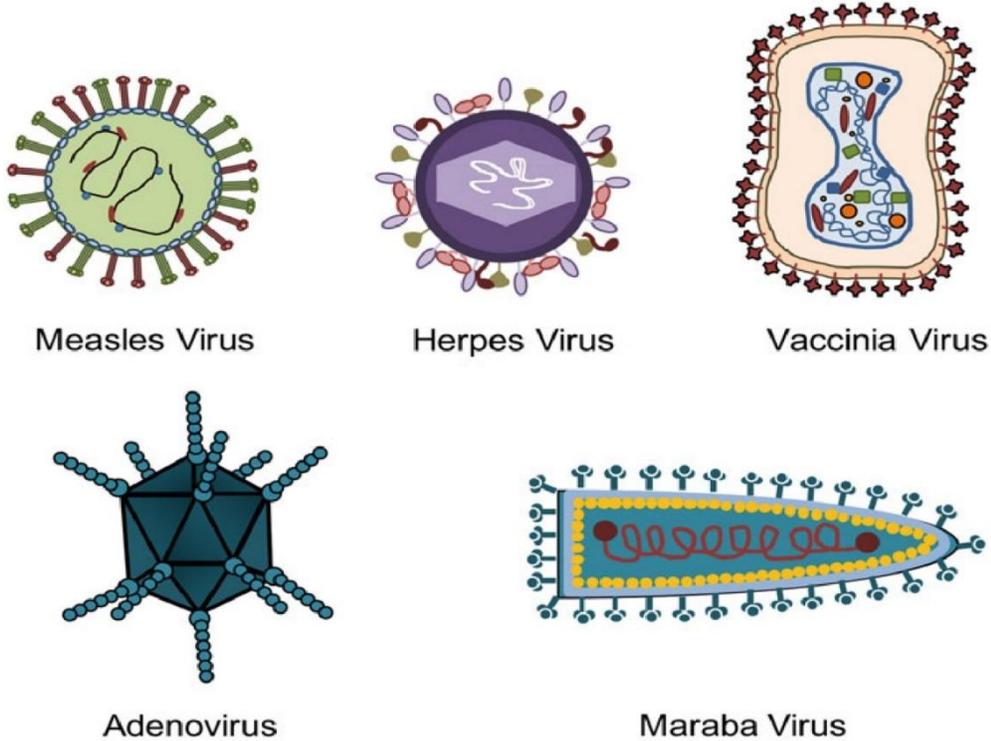


Fig. 2 Schematic depictions of five representative oncolytic viruses

اختبرت هذه الفيروسات المختلفة في التجارب ما قبل السريرية والعديد منها قد تقدم إلى التجارب السريرية. بشكل عام ، أثبتت البيانات السريرية أمان التأثيرات الجانبية والتي تكون عادة متوسطة ، غالباً أعراض شبيهة بالإنفلونزا. وفي حين رخص الفيروس الغدي 101 adenovirus Oncorine لعلاج سرطان البلعوم nasopharyngeal في الصين سنة 2005 شهد عام 2015 الموافقة على استخدام فيروس الهريس talimogene laherparepvec لعلاج سرطان الجلد المتقدم melanoma في الولايات المتحدة وأوروبا. هكذا فإن استخدام نموذج الناقلات الفيروسيّة المتضاعفة لعلاج السرطان قد دخل الاستخدام السريري.

حتى تاريخه ، لم يتم إجراء مقارنات بين هذه الفيروسات المختلفة وجهاً لوجه. الفيروسات التي طورت انحيازاً tropism نحو نسيج محدد قد تتكيف بشكل خاص لتضاعف في الأورام التي تنشأ عن هذه الأنسجة.

التحديات الحالية:

نشأ مع الكثير من الفرص التي تقدمها مجموعة من المنصات الناقلة وخيارات التصميم الكثير من التساؤلات من قبل العلماء والأطباء. فحيث تصبح العلاجات الفيروسيّة المحسنة أكثر فعالية ، كيف يمكن قياس مدى أمانها؟؟ ما هو طريق الإعطاء الأفضل من أجل حالة سريرية ما؟؟ كيف يمكن تحسين الجرعات والجداول الزمنية للإعطاء لتحقيق أعلى فعالية ممكنة لمضادة للورم؟؟ ما هي نسبة التوازن المناعي بين الفعالية المضادة للفيروسات والفعالية المضادة للورم؟

الفيروسات الحالة للأورام في علاج السرطان

الخلاصة:

العلاج الفيروسي ليس مفهوماً جديداً ، لكن التطورات التقنية الحديثة في التعديل الوراثي للفيروسات الحالة قد حسنت انتقائيتها للورم ، مما أدى إلى تطوير أسلحة جديدة للحرب ضد السرطان.

المقدمة:

من الواضح ان حلقة التضاعف للعديد من الفيروسات تستغل ذات المسالك/السبل الخلوية التي يتم استبدالها بخلايا سرطانية.

الفيروسات البرية الحالة والعلاج الفيروسي: Oncolytic Wild Viruses and

Virotherapy

الفيروسات الحالة هي علاجات للسرطان تعتمد على الفيروسات التي يقتصر تضاعفها على الخلايا الخبيثة. بشكل عام يمكن تحقيق هذه الانتقائية للورم بطريقتين: (1) بعض الفيروسات التي لا تسبب عادة مرضاً لدى البشر يمكنها مع ذلك التضاعف في الخلايا الورمية ؛ حيث تكون استجابة الانترفيرون المضادة للفيروسات غير وظيفية. هذه تكون عادة فيروسات صغيرة مع دورات تضاعف سريعة ، مثل فيروسات NDV، VSV ، reovirus .

(2) تعتمد المجموعة الثانية من الناقلات vectors الحالة على الفيروسات التي تستخدم إما كلقاحات ضد فيروسات شائعة مسببة للأمراض ، كفيروس الفاكسينيا ،

وسلالة ادمونتون من فيروس الحصبة ، أو الفيروسات التي تسبب أمراض معروفة لدى البشر ، كالفيروس الغدي ، وفيروس HSV ، وفيروس poliovirus. تميل هذه الفيروسات لتكون أكبر وقابلة للتعديل الجيني لتقديم أو تحسين الانتقائية للورم. عادة ما يتم تحقيق هذه الانتقائية العالية من خلال حذف جينات الفوعة الفيروسيّة التي لا لزوم لها للتكاثر الفيروسي في الخلايا السرطانية. كنتيجة لذلك يقل التضاعف الفيروسي في النسيج الطبيعية ، لكنه يجري بشكل طبيعي في الخلايا السرطانية. لأن العديد من التبدلات التي تحصل في الخلية السرطانية أثناء التحول تشبه التبدلات التي يحتاجها الفيروس في الخلية من أجل التضاعف الناجح. قد تتناسب منتجات هذه الجينات {جينات الفوعة} مع واحدة من عدة تصنيفات مختلفة من ضمنها مُعدّلات المناعة immune modulators (الغير مطلوبة في بيئة الورم المثبطة للمناعة) ؛ البروتينات المضادة للموت خلوي المبرمج ، أو محفزات الإنقسام الخلوي ، يعني ذلك أن مختلف النواقل vector الفيروسيّة (أحياناً تنتج من نفس الهيكل الفيروسي viral backbone) قد تستهدف الأورام اعتماداً على خصائص مولدة للأورام فريدة أو مستقلة.

إحدى ميزات الفيروسات الحالة هي أنها معروفة بتدميرها للأورام بآليات مستقلة ، والتي عادة لا تتداخل مع العلاجات التقليدية. إضافة إلى التدمير المباشر للخلايا الورمية المصابة كنتيجة للعدوى (والذي بدوره يؤدي إلى تضخيم عدد النسخ الفيروسيّة ضمن الورم) ، يمكن للعديد من الناقلات الفيروسيّة إثارة استجابة مناعية قوية ضمن الورم. يمكن لهذه الاستجابة المناعية أن تتغلب على التثبيط المناعي ، وقد يمكنها حتى إحداث تأثير لقاح vaccination effect من خلال التقديم المتصالب cross-presentation لمستضدات الورم إلى الجهاز المناعي. علاوة على ذلك ، فقد ثبت أن العديد من الفيروسات تحفز انهيار وعائي قوي داخل الورم قادر على تدمير المزيد من الخلايا السرطانية. ولأن الفيروسات الحالة تعبر عن جينومها ضمن الورم بشكل أساسي وتضخم عدد نسخ جيناتها في البيئة الميكروية

للورم ، فإنه يمكن تحسين تأثيراتها من خلال التعبير عن الجينات العلاجية المحورة
.transgene

لا تعمل الفيروسات الحالة فقط من خلال تشكيل إصابات بسيطة للورم او للمضيف ، بل بدلاً من ذلك تعمل مجموعة من اثنين او أكثر من الفيروسات الحالة ضد سلاسل/شلالات cascades مختلفة مولدة للأورام أثناء كبح المناعة المضادة للفيروسات ، ما يسمح للفيروسات بالعمل وتحسين مناعة المضيف المضادة للورم الموجودة مسبقاً ولكن غير معبر عنها.

لقد استخدمت الفيروسات الحالة كاستراتيجية جديدة ضد السرطان مع إمكانية استهداف كل من الأورام المتموضعة localized والنقائل.

إن القتل الخلوي المباشر من قبل الفيروسات هو عملية فعالة ومعقدة للغاية تتضمن العديد من السبل/المسالك pathways الخلوية ؛ لذلك فإنه من غير المرجح حدوث مقاومة للأدوية. إضافة لذلك ، يمكن لآليات إضافية ، مثل تحفيز الاستجابة المناعية الخلوية والخلطية للمضيف ، أن تحفز تراجع الورم بشكل كبير. أخيراً ، فإنه من خلال تزويد الفيروسات الحالة بجينات علاجية وعوامل محفزة للمناعة يمكن زيادة سميتها القاتلة للورم. يمكن تحسين الفعالية من خلال الجمع بين العلاجات وعوامل تحفيز المناعة

الفيروس المولد للورم oncogenic لدى نوع مضيف ما يمكنه أن يحل الورم عندما يتضاعف في ورم آخر من أنواع أخرى.

طرق لتعديل الفيروسات العلاجية

Methods for Modification of Therapeutic Viruses

ملخص

يتطلب الاستغلال السريري الأمثل للفيروسات كعلاج جيني أو ناقلات حالة للورم ان يتم ابتاءها وريدياً. بالتالي فإنه يجب تسخير الاستراتيجيات لتمكين الفيروسات من النجاة من البيئة المحيطة القاسية لمجرى الدم وتحقيق توضع deposition ضمن وخلال النسيج الهدف.

(1) مقدمة:

يمكن تلخيص المنافع الأساسية الأربعة بـ الانتقائية ، التضاعف الذاتي ، القدرة على التزود بالجينات العلاجية المحورة ، وقتل الخلية السرطانية عبر آليات تصعب مقاومتها. تقدم هذه الفوائد سبباً وجيهاً لتطوير فيروسات حالة oncolytic viruses (OV) لعلاج السرطان.

في الوقت الحالي ، يوجد هناك اثنين من الفيروسات الحالة التي تم ترخيصها والموافقة عليها للاستخدام السريري :

- الـ101H هو فيروس غدي من النمط المصلي 5 المنزوع الجين E1B ، والمرخص من قبل ادارة الغذاء والدواء الصينية (Administration of China Food and Drug Administration) عام 2005 بطريق إعطاء داخل الورم (IT) لعلاج سرطان الرأس والعنق بالمشاركة مع العلاج الكيماوي.
- أما فيروس Talimogene laherparepvec (Imlygic®) هو من فيروسات الحلأ البسيط HSV النوع 1 (1-HSV) والذي تم إنتاجه عن طريق الحذف الوظيفي لبروتينات 34.5ICP و 47ICP وإدخال السلسلة المرمزة لعوامل تحفيز مستعمرة الخلايا المحببة البشرية - human granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) (stimulating factor)

، وكان أول فيروس ينال موافقة الـ FDA عام 2015 عبر إعطاء IT لمرضى الورم الميلانيني الخبيث غير القابل للجراحة inoperable malignant melanoma.

لم تظهر الاستجابة القوية المضادة للورم الا عن طريق الإعطاء داخل الورم وهذا ما قد يكون السبب في استخدام هذا الطريق.

لا يزال هناك العديد من المشكلات التي تتطلب التغلب عليها قبل أن يصبح استخدام الفيروسات كعوامل علاجية نهجاً سريرياً متبعاً. فأولاً هناك مشكلة إيصال الفيروس عبر جريان الدم لتحقيق انتشار كامل في الجسم والتمكن من الوصول الى مواقع المرض البعيدة. حيث ان الفيروسات بعد الاعطاء يتم التعرف عليها على انها عوامل غريبة فيتم مهاجمتها وتصفيتها بسرعة من الجسم ، وهذا يحصل غالباً قبل ان تتمكن من الوصول الى الموقع الهدف. ثانياً ، فإن أي فيروس قد يتمكن من الوصول الى الموقع الهدف قد يخسر قدرته على إحداث العدوى خلال رحلته في الجسم.

(2) الفيروسات المغلفة بالبوليمير:

بسبب كفاءته في العدوى وجينومه الثابت المعروف جيداً ، استخدم الفيروس الغدي (Ad5) (5 adenovirus type) على نحو واسع. فُقد التحول السريري بسبب الاستجابتين المناعيتين القويتين الفطرية والمكتسبة innate and adaptive ضد 5Ad لدى العديد من المرضى. تضمنت طرائق تقليل التعرف على فيروس 5Ad من قبل الجهاز المناعي التعديل الجيني لبروتينات المحفظة الفيروسيّة أو استبدالها ببروتينات لمحافظ فيروسيّة من أنماط مصليّة أقل انتشاراً في المجتمعات البشرية. حظت هذه التقنيات بنجاح متوسط نظراً لتعقيد آليات الدخول الخلوي والانحياز لفيروس 5Ad والتي تم تحديدها بعدة بروتينات (هي بروتينات الليف Fiber ، الهكسون hexon ، والبنتون penton). إضافة إلى أن المناعة المنتشرة ضد الفيروس والتي تستهدف مدى واسع من حلقات epitopes المحفظة.

من الناحية النظرية هكذا تعديل يقدم بديل بسيط وغير مكلف نسبياً عن التعديل الجيني.

(3) التعديل الكيميائي التساهمي:

(3.1) البوليميرات النشطة المستخدمة لتعديل الفيروسات :

الهيكل البوليميرية الأكثر شيوعاً والمستخدم من أجل التخفيف التساهمي للفيروسات ترتكز على أساس البوليمير [poly[N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide (PHPMA) والبوليمير poly(ethyleneglycol) (PEG). تعرف البوليميرات المرتكزة على أساس PHPMA و PEG على أنها تزيد من انتشار circulation العديد من البروتينات والأدوية الجزيئية الصغيرة ، بالتالي تحسين فائدتها العلاجية ، بينما تمتلك أثر سلبي قليل على سميتها.

(3.1.1) البوليميرات الأحادية والثنائية الوظيفية:

لقد استخدم في غالبية التعديل الفيروسي سلاسل بوليمر أحادية الوظيفة مع مجموعات أمينية نشطة. المجموعات الوظيفية الثلاثة الشائعة التي تم استخدامها لأستلة الليزين الموجود على محفظة الفيروس الغدي 5Ad هي ثيازوليدين 2-ثيون (TT) ، وإسترات نيتروفينيل (ONp) ، وإسترات (NHS) (N-hydroxysuccinimidyl) (الشكل 2 أ) و (2) و (3) على التوالي). قام Subr باصطناع بوليمر قائم على HPMA مع مجموعة طرفية TT (الشكل 2 أ) و (2) و (3) على التوالي). علاوة على ذلك ، أدى التعديل الإضافي للبوليمر -TT (HPMA) -p إلى تمكين إدراج رابطة (S-S) بين الهيكل البوليميري ومجموعة TT.

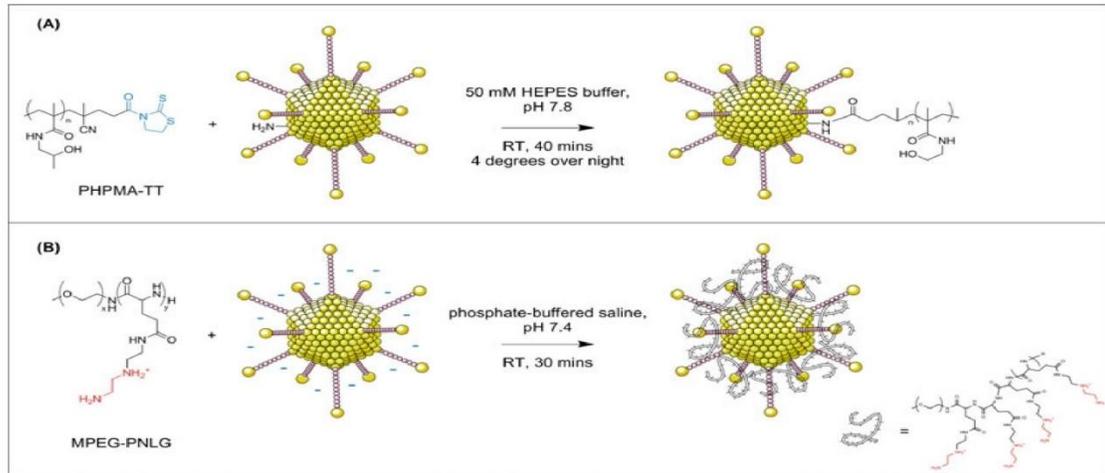


Fig. 1 Schematic displaying examples of chemical conjugation strategies for viral modification. (a) Chemical polymer coating of Ad using a PHPMA polymer with an amine-reactive end group carbonylthiazolidine-2-thione (TT) (PHPMA-TT). Coating conditions taken from Morrison et al. [105]. (b) Noncovalent polymer coating of Ad using a cationic PEG polymer (PEG-PNLG). Coating conditions taken from Kim et al. [79]. Adenovirus image adapted from Smart Servier Medical Art [106]

وتجدر الإشارة إلى أن مجموعات الأمين النشطة على هذه البوليمرات عرضة للحلمهة المائية. وبالتالي فإن المعدل النسبي للحلمهة المائية إلى الحلمهة الأمينية هو مفتاح لمدى فعالية الإستر النشط لغللاف المحفظة الفيروسية وهو اعتبار مهم عند اختيار توقيت التفاعل والوقاءات buffers.

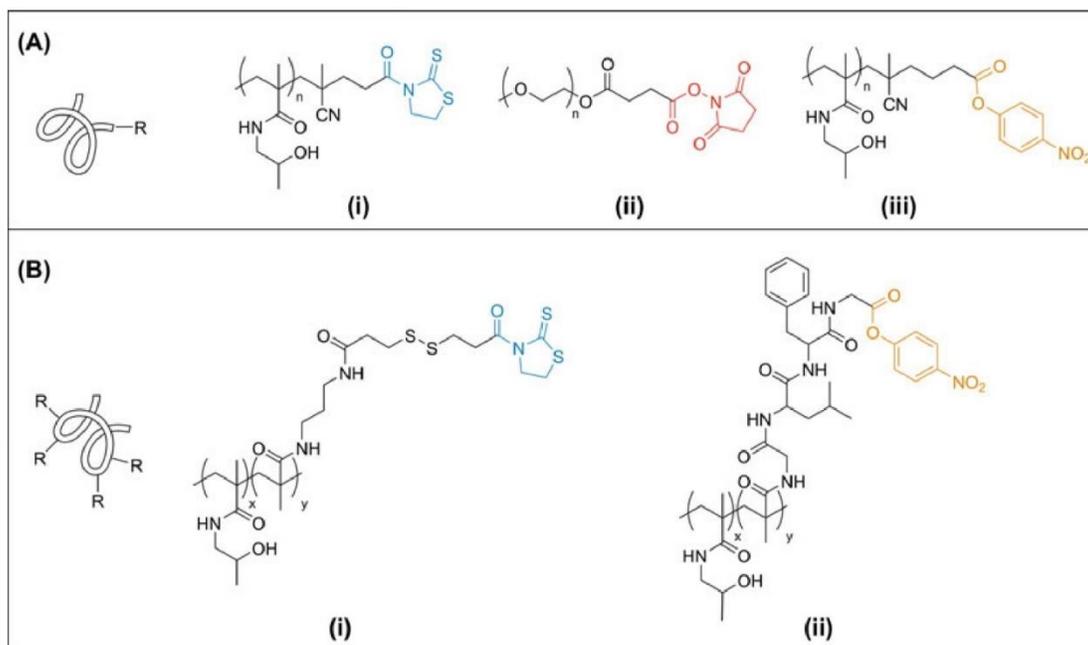


Fig. 2 General structures of polymers used in chemical viral coating methods. (a) Monofunctional polymers: (i) PHPMA-TT, (ii) PEG-SS, (iii) PHPMA-ONp. (b) Linear multivalent polymers: (i) PHPMA-S-S-TT where S-S is a disulfide bond (reductively cleavable linker), (ii) PHPMA-GLFG-ONp (GLFG is an enzymatically cleavable peptide linker)

3.1.2 البوليمرات الخطية متعددة التكافؤ: Linear Multivalent Reactive Polymers

هي سلاسل بوليمرية تحتوي على مواقع نشطة متعددة متوزعة إما بشكل عشوائي أو منتظم على طول الهيكل البوليميري. وهي تحتوي على نسبة عالية نسبياً من المجموعات الوظيفية، على عكس البوليمرات أحادية الوظيفة أو ثنائية الوظيفة، تقع المجموعات الوظيفية داخل وحدة تكرارية repeating unit، وليس فقط في نهاية (نهايات) البوليمر. يؤدي وجود عدد كبير من المجموعات الوظيفية إلى فائدتين رئيسيتين؛ أولاً، توفر طبقة البوليمر تغطية أكثر اكتمالاً لسطح الفيروس، وثانياً، هناك مجال لمزيد من التعديل للمجموعات الوظيفية غير المتفاعلة.

كما ذكرنا سابقًا ، يمكن أن يكون المعدل النسبي للحلمة المائية إلى الحلمة الأمينية مختلفًا تمامًا بالنسبة لمجموعات الأمين المختلفة ، ويمكن أن يؤثر بشكل كبير على عملية التغليف. قرر Subr أن المعدل النسبي للحلمة المائية إلى الحلمة الأمينية كان أقل بشكل ملحوظ أثناء التغليف لبوليمر قائم على HPMA مع مجموعة طرفية وظيفية TT من ONp.

(3.2) إضافة PEG : PEGylation

يختلف الانخفاض في NAbs بعد الاعطاء تبعاً للمجموعة النشطة المستخدمة. يثير فيروس 5Ad المقترن مع كل من succinimidyl succinate PEG (SSPEG) و (CC-PEG) cyanuric chloride-activated PEG إنتاج عالي من NAbs بالمقارنة مع الإنتاج المنخفض للغاية ضد الفيروس المقترن مع TM-PEG.

يقود تكرار الجرعة من الفيروس المقترن مع ذات الرابط linker الأميني إلى ضربة قوية knockdown في التعبير الجيني. لم تشاهد هذه الضربة عند الجرعات المتكررة التي كانت كل جرعة فيها تستخدم فيروس مغلف برابط أميني مختلف.

عندما يتم تطبيق تعديل بوليميري ثقيل فإن معدل التصفية الدموية قد انخفض بمقدار 4 أضعاف مقارنة بالشكل الغير معدل من الفيروس.

لا تتعلق إزالة قدرة الفيروس على العدوى بطول البوليمير المستخدم.

بشكل مثير للاهتمام ، شوهدت مستويات عالية من التهاب الكبد عندما تم تغليف فيروس 5Ad ببوليميرات ذات أوزان جزيئية منخفضة (5000AdPEG) ولكنها لم تشاهد مع 20000AdPEG أو 35000AdPEG.

بحث لي Lee في مدى واسع من أطوال السلاسل البوليميرية (k-20k2) ووجد أنه لكل طول هناك نسبة حرجة فريدة بوليمير-فيروس والتي يتم بها إلغاء فعالية فيروس AAV في إحداث العدوى. من أجل PEG 5k و PEG 20k كانت النسبة الحرجة أكثر من 1:2500 ، ومن أجل PEG 2k كانت 1:5000 . عند هذه النسب ، أظهر فيروس AAV حماية 2-3 أضعاف من NAbs مقارنة بالشكل العاري منه.

: PHPMA (3.3)

HPMA هو بوليمر صناعي آخر تم استخدامه لتغليف الفيروسات بشكل ناجح. إن الـ HPMA هو بوليمير متعدد التكافؤ ويسمح بالارتباط بالفيروس في نقاط متعددة على طول الهيكل البوليميري. على عكس PEGylation ، الذي يشكل تغليفاً يشبه الفرشاة للفيروس ، يتم ربط HPMA بسطح الفيروس بشكل أكثر اكتمالاً. على الرغم من عدد مواقع الارتباط المتاحة على كل بوليمير ، لا يوجد ارتباط متصالب فيروس-فيروس بسبب تأثيرات الربط التشاركي والتدريع الجزئي.

عندما تم تحليل التعبير عن الجينات المحورة transgene في الكبد بعد جرعة وريدية $10^9 \times 1$ فيروس كان هناك تعبير جيني للفيروسات المغلفة أقل بـ 1000 ضعف من العارية naked. هذا يظهر أنه من الممكن إزالة توجه الفيروس نحو الكبد من خلال التغليف بـ HPMA وأن عواقب تحسين زمن الانتشار circulation قد تسمح بفرصة أكبر لتحسين الانحلالية والنفوذية EPR وبالتالي التراكم داخل الورم.

Table 1
Summary of conditions used for PEGylating methods of virus coating

Paper	Polymer	Amount virus, VP/ml	Amount polymer	Buffer	pH	Extent of modification	Modification assay	Time (min)	Purification method
O'Riordan et al. [40]	TM-PEG CC-MPEG SS-MPEG (5K)	1e12	5–20% w/v	TM: 130 mM NaH ₂ PO ₄ , 5% sucrose CC: 0.1 M Na ₂ B ₄ O ₇ , 0.15 M NaCl SS: phosphate- buffered saline (PBS) ± 5% sucrose	TM: 7 CC: 9.2 SS: 7.4	~18,000 PEG/virus	Biotin peg and ELISA	30	CsCl centrifugation
Alemayn et al. [61]	TM-PEG	1e12	41 mg/ml	130 mM NaH ₂ PO ₄ , 5% sucrose	7	NA	NA	30	NA
Croyle et al. [57, 59]	TM-PEG CC-MPEG SS-MPEG (5K)	NA	PEG: virus, 10:1	TM: 10 mM K ₂ HPO ₄ buffer CC: 0.1 M Na ₂ B ₄ O ₇ SS: 0.2 M NaH ₂ PO ₄	TM: 7.4 CC: 9.2 SS: 7.2	NA	Fluorescamine assay	90	Sephadex G- 50 column
Lanciotti et al. [98]	Tresyl- PEG-mal	1e10	1, 5, 10% w/v	130 mM NaH ₂ PO ₄ , 5% sucrose	7	75–100 FGF2/ virus	NA	1%: 45 5%: 30 10%: 60	Size exclusion chromatography

Romanczuk et al. [58]	Tresyl-PEG-thiol	1.5e12	5% w/v	130 mM NaH ₂ PO ₄ , 5% sucrose	7	NA	NA	60	CsCl centrifugation
Kreppel et al. [101]	mPEG-SPA (2K)	5e11	PEG: virus cystine 100:1	50 mM C ₈ H ₁₈ N ₂ O ₄ S (HEPES) buffer	7.3	NA	NA	180	NA
Mok et al. [60]	mPEG-SPA (5K)	1e12	10–0.01 mg/ml	0.1 mM K ₂ HPO ₄ buffer	8.2	~85% capsid	fluorescamine assay	60	300 kDa dialysis
Hofherr et al. [62]	mPEG-SPA (5K) m-SCM- (20K) m-SCM- (35K)	NA	NA	0.5 mol/l sucrose potassium PBS	8	65–74% capsid	CBQCA Protein Quantitation Kit	120	Sephadex G100
Nguyen et al. [66]	mPEG-SPA (5K)	1e12	10–0.01 mg/ml	0.1 mM K ₂ HPO ₄ buffer	8.2	NA	NHS-Oregon Green staining	60	300 kDa dialysis
Krutzke et al. [67]	MeO-PEG-mal (2K, 5K, 20K)	NA	PEG: virus cystine 20:1	50 mM HEPES buffer	7.2	~700 PEG/virus	SDS-PAGE and silver staining	60	CsCl centrifugation

Room temperature was used in all methods described here

تم استخدام PCR الكمي لإظهار زيادة قدرها 40 ضعفاً في كمية جينومات 5Ad المرتبطة بالورم عند استخدام Ad5-PHPMA مقابل 5Ad غير المعدل. على الرغم من هذه النتائج المثيرة للإعجاب ، لا تزال هناك قيود على هذا النهج. وتجدر الإشارة إلى أنه كان هناك تحكم غير دقيق في الحلقات الفيروسية التي يتم تعديلها وكان هناك ضياع في العدوى المرتبطة بالإزالة والنزع الغير مكتمل للبوليمر في موقعه الهدف. لمعالجة هذا أجرى بريل وآخرون. دراسة للتحقق من قابلية وثبات Ad بعد التغليف بدرع "مستجيب بيولوجياً" ، باستخدام بوليمرات PHPMA التي يتم تنشيطها إما مع مجموعات مالييميد (mal) أو مجموعات بيريد ديثيو (PySS). تم تصميم هذه المجموعات للتفاعل مع مجموعات السيستين المعدلة وراثياً في فيروسات Ad لإنشاء غلاف بوليمري غير عكوس (PHPMA مع مجموعة mal) أو قابل للانقسام (PHPMA مع مجموعة PySS). تم تحديد أن الغلاف المستجيب حيويًا كان قادرًا على حماية الفيروس بشكل فعال مثل الغلاف غير العكوس وأن الفيروسات المغلفة بأي من البوليمرات حافظت على قدرتها على دخول الخلايا بعد 5 دقائق.

أثر التعديل بالتغليف غير العكوس على انتقال الفيروس داخل الخلايا إلى النواة ، لكن التغليف المستجيب حيويًا ، بعد تأخير ، سمح بتهرب الجسيمات. بعد ذلك ، تم التحقيق في تأثير شحنة الغلاف البوليمري الحيوي لـ Ad في الجسم الحي. تم الإبلاغ عن أن الغلاف البوليمري موجب الشحنة المستجيب حيويًا تسبب في مستويات عالية من عدوى الكبد.

Table 2
Summary of conditions used for PHPMAylating methods of virus coating

Paper	Polymer	Amount virus (VP/ml)	Amount polymer	Buffer	pH	Extent of modification	Determining modification	Temp	Time	Purification
Fisher et al. [30, 70]	PHPMA-ONp	1e12	10 mg/ml	10% glycerol/ PBS	7.8	>900 polymers/ virus	Fluorescamine, 14C-trace	4 °C	12 h	SizeSep 400 Spun Columns
Green et al. [69]	PHPMA-ONp	1e11-1e12	NA	HEPES/PBS	7.8	90% amino groups on surface modified	Fluorescamine, 14C-trace	RT	Over night	NA
Stevenson et al. [103]	PHPMA-ONp	1e11-1e12	60, 90, 120 mg/ ml	PBS containing 50 mM HEPES	8	NA	NA	RT, then 4 °C	1 h, then over night	Sepharose S-400 spin column
Green et al. [104]	PHPMA-ONp	4e11	2, 5, 10, 20 mg/ml	HEPES/PBS	7.8	NA	NA	RT, then on ice	40 min, then over night	Sepharose S-400 spin column
Morrison et al. [105]	PHPMA-TT	NA	20 mg/ml or 5 mg/ml	50 mM HEPES buffer	7.8	NA	NA	RT, then on ice	40 min, then over night	NA
Prill et al. [71]	PHPMA-mal/ PHPMA-PySS	5e11	PEG: virus cystine, 20:1	50 mM HEPES buffer	7.2	NA	SDS-PAGE and western blot	RT	Over night	NA

Adenovirus was used in all coating methods described here

4) التعديل غير التساهمي: Noncovalent Modification

الحجة التي يمكن عملها هي أن التعديل التساهمي لحلقات المحفظة يعني أنه لا يمكن أبداً استعادة كامل العدوى رغم المحاولات في دمج آليات الانقسام المتكيف. نهج بديل لتعديل المحفظة هو إضافة بوليميرات كاتيونية والتي يمكنها التداخل كهربائياً مع سطح المحفظة ؛ هكذا نهج لا يؤدي بالتالي إلى تعديل غير عكوس لبقايا البروتين التي قد تكون مسؤولة عن إحداث العدوى.

تم تحديد عيبين محتملين في العمل المبكر باستخدام البوليميرات الكاتيونية هما السمية وعدم الثباتية في الجسم الحي لمثل هذه المعقدات نتيجة للربط غير النوعي والإزاحة بواسطة بروتينات المصل.

تم التغلب على عدم الثباتية في المصل لبعض الفيروسات المغلفة بالبوليمر الموجبة عن طريق تعديل شحنة السطح المعقدة من خلال تضمين كتل PEG أو oligoethylene glycol في البوليميرات.

لم يكن الفيروس الغدي هو الفيروس الوحيد الذي تم تغليفه فيزيائياً بشكل ناجح. فمن المثير للاهتمام أن فيروس الحصبة (measles virus (MV) قد تم تغليفه من قبل نوساكي عن طريق (PEI) polyethyleneimine hydrochlorid وأن chondroitin sulfate المشحون بشحنة سلبية كان أيضاً قادر على حمايته من NAbs في المختبر *in vitro*.

5) إعادة التوجيه/الاستهداف: Retargeting

إلى جانب الفوائد المستمدة من اطالة زمن الانتشار ، يمكن أن يوفر إضافة (PEGylation) PEG إلى الفيروس الغدي باستخدام جزيئات PEG ثنائية الوظائف أيضاً منصة لربط الركائز المستهدفة/الهدف لإعادة توجيه انحياز tropism الفيروس. هذه الطريقة في إعادة الاستهداف لها فوائد تفوق إعادة الاستهداف من خلال التعديل الوراثي لبروتينات المحفظة الفيروسية: فهي تتيح

استخدام البروتينات ذات الطول الكامل full length proteins وتضمن الركائز التي قد تكون كبيرة جداً بحيث لا يمكن ملاءمتها دون تعطيل بنية الفيروس و / أو أن يتم ترميزها جينياً.

استهداف الورم عن طريق البروتينات ثنائية الإنتقائية

Tumor Targeting Using Bispecific Adapter Proteins

المقدمة:

الخصائص الرئيسية للفيروسات الغدية الحالة هي تعديلات جينية قُدمت لتسهيل التضاعف النوعي للفيروس في الورم استجابةً للتبدلات الجزيئية المرتبطة بالسرطن. هكذا تعديلات قد كانت عيوب في الجينات E1A أو E1B بالتالي تقيد التضاعف إلى الخلايا الورمية. إضافة لذلك ، يمكن إعادة توجيه انتقال المادة الوراثية للفيروس الغدي عن طريق تقديم محضات promoters نوعية للورم لتقييد التعبير عن E1A وبدء تضاعف الفيروس بطريقة إنتقائية للورم. لم تلق النماذج الأولية للفيروسات الحالة تلك التوقعات العالية في التجارب السريرية ، خاصة عندما تطبق جهازياً. هذا بسبب العقبات المهمة التي يواجهها الفيروس الغدي على عدد أصعدة: الإيصال إلى الورم ، انتشار العدوى داخل الورم ، والاستجابات المناعية. وبالتالي يتم تعديل المحفظة الفيروسية في عدة طرق كجزء من استراتيجية تسمى "إعادة توجيه انتقال المادة الوراثية transductional retargeting" للتغلب على هذه العقبات. يصيب الفيروس الغدي 5Ad الخلايا الهدف من خلال عملية تتكون من خطوتين ، بمشاركة مستقبل أولي يلزم لربط الفيروس ، ومستقبل ثانوي مسؤول عن الإشارات داخل الخلية والالتقام endocytotic uptake الفيروسي. افترض لمدة طويلة أن مستقبل الفيروس الغدي وفيروس كوكسكي (CAR) هو المستقبل الأولي الذي يتعرف على عقدة الليف في المحفظة الفيروسية. بعد ذلك ترتبط الانتغرينات integrins الخلوية إلى عناصر RGD motifs في بروتينات البنتون المتوضعة على رؤوس المحفظة الفيروسية ويبدأ امتصاص الفيروس virus uptake.

يعد نقص مستقبلات CAR على الخلايا السرطانية الهدف هو المسؤول عن نقص / عدم كفاية إيصال الفيروس 5Ad إلى الخلايا الورمية الهدف وانخفاض الانتشار داخل الورم. لتحقيق إعادة استهداف فعالة ، خاصة بعد إعطاء الجهاز ، قد يكون من الضروري حذف مواقع ارتباط عوامل المصل لتقليل الانحياز/التوجه الكبدي لفيروس 5Ad.

يمكن تحقيق إعادة التوجيه/الاستهداف عن طريق تقليل او ازالة العناصر المرتبطة بالانحياز tropism-related motifs في بروتينات المحفظة ، ومن خلال تقديم محافظ فيروسية ذات جزيئات بديلة "مميزات/محددات/اسمات العنوان/الموقع address labels" من أجل الربط الانتقائي للفيروس على الخلايا السرطانية. يوجد ثلاثة استراتيجيات لتحقيق إعادة توجيه الانتقال المادة الوراثية لفيروس 5Ad وحالات الورم الأخرى.

(1.1) إعادة توجيه انتقال المادة الوراثية عن طريق دمج الببتيدات في بروتينات المحفظة :

الاستراتيجية الأولى هي ادماج بروتينات في المحفظة لتتوسط الارتباط الى بنى سطحية خلوية بديلة. ... يحسن ادخال RGD الى عقدة الليف من القدرة على الارتباط بشكل مباشر مع الانتغرينات الموجودة على الخلايا السرطانية المعوزة الـ CAR وبالتالي تحسين ايصال وانتشار الفيروس داخل الورم. إضافة لذلك ، العديد من الركائز الورمية الواعدة مثل scFvs ، لا تكون متوافقة مع الاصطناع السيتوبلازمي لبوتينات المحفظة والتجميع النووي لذرية الفريون. لذلك ، يتم وضع قيود محددة لاختيار الركائز المناسبة والأهداف الممكنة.

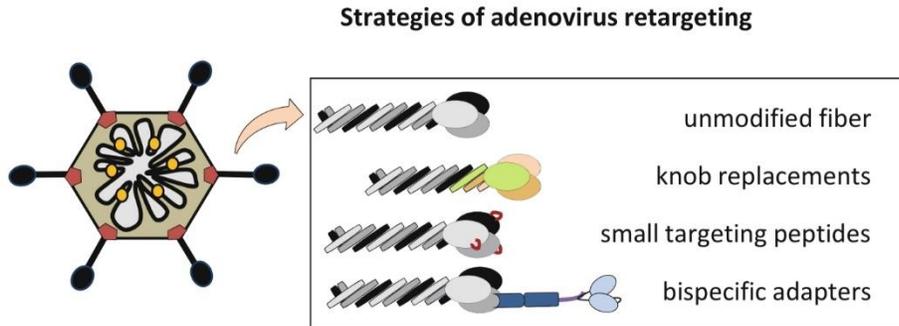


Fig. 1 Fundamental strategies of adenovirus retargeting via fiber modifications

(1.2) إعادة توجيه انتقال المادة الوراثية من خلال استبدال عقدة الليف:

النهج التالي لإعادة التوجيه/الاستهداف هو الاستبدال الجزيئي لكامل مجال العقدة ، بما في ذلك نسب متغيرة من محور shaft الليف ، بنى نظيرة لها تسهل التعرف على المستقبلات الأولية

البديلة. تتعرف مجالات العقد للانماط المصلية للفيروس الغدي المستبدلة/المعدلة على الخلايا الهدف عن طريق 46CD ، أو الديسموجلين desmoglein ، أو أحماض السياليك sialic acids والتي يتم التعبير عنها بشكل شائع على الخلايا السرطانية مقارنة بالـ CAR.

يعتبر مجال الذيل الطرفي N لعقدة ليف فيروس 5Ad هو الحد الأدنى المطلوب لربط الليف الخيمري مع اساس البنتون بشكل مستقر على رؤوس محفظة فيروس 5Ad. ورغم ذلك ، يحد طيف المستقبلات الأولية من هذا النهج ولا يسهل الاستهداف الحقيقي الانتقائي للورم. يعد الاستبدال الجيني لمجال العقدة بروابط انتقائية لخلايا الورم أمراً صعباً نظراً لأن مجال العقدة مطلوب من أجل الطي folding المناسب لعمود/محور الليف ويلعب دوراً في استقرار الفيروس وتوليد ذرية معدية. بالتالي يجب على استبدالات العقد من أجل إعادة التوجيه الانتقائي للورم ان تدعم تقليم trimerization الليف وايصال الركيزة المستهدفة للورم في نفس الوقت.

إعادة توجيه انتقال المادة الوراثية من خلال المتكيفات ثنائية الانتقائية: (1.3)

النهج السريع والمريح لتعديل الانحياز/التوجه الخلوي للفيروس الغدي هو استخدام المحولات/المتكيفات ثنائية الانتقائية. تحتوي هذه المحولات على مجال ربط المحفظة في إحد الطرفين وركيزة انتقائية للورم في الطرف الآخر. تعمل المحولات ثنائية الانتقائية على إعادة توجيه الفيروس إلى الخلايا الورمية بالتالي تتجاوز الحاجة إلى الـ CAR كمستقبلات أولية ، مثل جسر جزيئي.

تشير الدراسات إلى انخفاض كبير في العدوى الكبدية والوقاية من السمية الكبدية بعد الحقن الوريدي للفيروسات الغدية الحالة للورم المُعالَجة بالمحول.

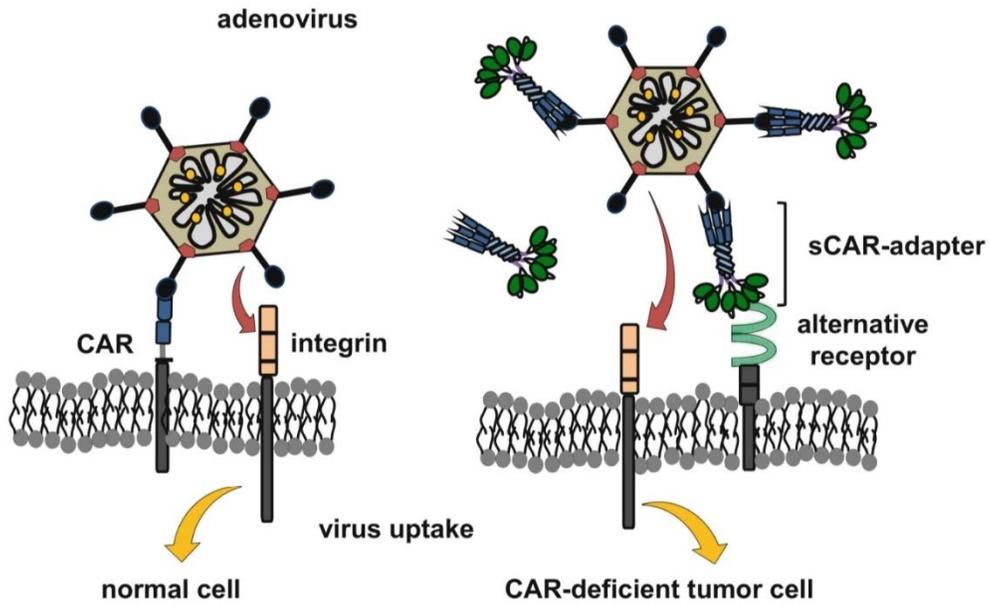


Fig. 2 Principle of adenovirus retargeting using sCAR-based adapter proteins. Left side: canonical mechanism of cell infection by adenovirus using the coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) as primary receptor for attachment. Attachment of the particle to the cell surface facilitates binding of the capsid to integrins subsequently leading to internalization of the viral particle. Right side: Tumor retargeting of adenovirus using bispecific adapters based on sCAR and a tumor ligand (here a trimeric variant is shown). Bispecific adapters facilitate virus attachment to alternative receptors without the need of CAR and simultaneously inhibit CAR-dependent virus uptake

تطوير الدخول الموجه لفيروسات الحصبة الحالة للورم

Development of Entry-Targeted Oncolytic Measles Viruses

(1) مقدمة:
1.1 خلفية معرفية:

طورت عائلات الفيروسات خصائص لأنواع مختلفة من الخلايا ، ويتم استخدام هذا التنوع الطبيعي لتطويرها كعلاجات مضادة للسرطان. تقف منصة MeV في أربعة أساسيات. أولاً ، السلامة: تم إعطاء MeV الحي المضعف كلقاح لمليار طفل على الأقل مع سجلات سلامة وفعالية متميزة. ثانياً ، الخصائص الحالة الطبيعية: وثقت الملاحظات السريرية من مجموعات مختلفة تراجع السرطان بعد العدوى بالحصبة البرية wild-type. ثالثاً ، تم إثبات الفعالية الحالة للقاح النسيل لفيروس MeV المؤشب في نماذج سرطانية حيوانية مختلفة. رابعاً ، أكدت التجارب السريرية الجارية في المرحلتين الأولى والثانية السلامة وأثمرت عن استخدامات فعالة واعدة. بناءً على هذه الأسس ، أثبت فيروس MeV نفسه كمنصة مفضلة لحل الأورام.

تتمثل الخطوة التالية في تحسين توجيه MeV للورم ، وبالتالي تحسين الفعالية الحالة. ان MeV هو واحد من أفضل الأنظمة لتطوير فيروسات موجهة للدخول بسبب مرونة البروتينات السكرية وانفصال وظائف ارتباط المستقبل والالتحام الغشائي: يربط بروتين الارتباط هماغلوتينين (H) المستقبلات ، بينما يدمج بروتين الاندماج/الالتحام الغلاف الفيروسي مع غشاء الخلية.

1.2 إعادة توجيه الدخول الخلوي من خلال تعديل بروتين الارتباط:

فيروس MeV هو فيروس من جنس *Morbillivirus* في عائلة *Paramyxoviridae*. هذه الفيروسات لها عدة أشكال وقد تحتوي أكثر من جينوم (الشكل 1 ، القسم العلوي). هذا يثير فكرة أنه يمكن إدخال جينات إضافية إلى الجينوم الفيروسي دون تأثير سلبي على فعالية تشكل الجسيمات ، لصالح استقرار الفيروسات المؤشبة.

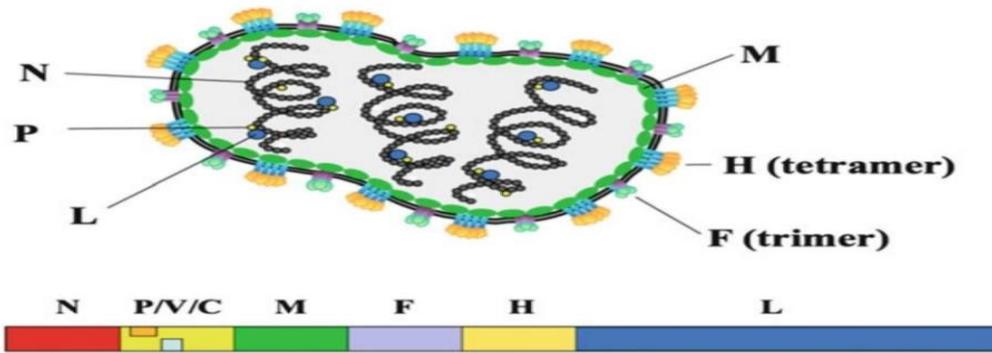


Fig. 1 Diagram of a *Morbillivirus* particle (top) and of the viral genome (bottom). Top: The nucleocapsid (N), phosphoprotein (P), polymerase (large, L), matrix (M), fusion (F), and hemagglutinin (H) proteins are indicated with different colors. Bottom: The corresponding open reading frames are indicated on the genome. The genome is one single molecule of RNA divided in six consecutive transcription units. Five units code for a single protein, but the second codes for three proteins, P, V, and C. While P is translated from the first start codon, C (depicted by small orange box) is translated from an alternative start codon of the native mRNA. In contrast, V is translated from mRNA, which is edited via transcriptional insertion of a nontemplated guanosine at a specific position, the editing site (depicted by small gray box). Thereby, V shares its amino-terminal half with P, but its carboxyl-terminal domain is distinct

إن البروتينات الموجودة على سطوح الخلايا والمستخدمة كمستقبلات للدخول هي أحد محددات توجه فيروس MeV والفيروسات الموربيلية الأخرى. نظرًا لأن فيروسات النوع البري المسببة للأمراض تستخدم مستقبلين بشكل متسلسل ، فإنها

تعتبر مزدوجة التوجه dual-tropic. بعد العدوى ، يتوسط جزيء تفعيل إشارات الخلايا المفاوية (SLAM) في دخول الفيروس ويفضل الانتشار الواسع في الأنسجة المناعية. ثم تقوم الخلايا المناعية بإيصال فيروس الحصبة إلى الخلايا الظهارية التي تعبر عن ال-4-nectin ، أحد عناصر الالتصاق adherens junction والذي يعبر عنه بشكل سائد في ظهارة القصبات. 4-Nectin هو محدد خلوي لعدة أنواع من السرطان. إضافة إلى نمطي مستقبلات فيروس الحصبة البري ، يربط بروتين H لسلسلة اللقاح أيضاً بروتين العامل المشترك الغشائي 46CD ، والذي يسود التعبير عنه في العديد من أنواع الخلايا السرطانية ، مما يعطي مجالاً أوسع للتوجه. اكتسب الدخول المعتمد على 46CD خلال عمليات التضعيف.

لإعادة التوجيه الكامل لفيروس الحصبة على مستوى التعرف على المستقبلات ، يجب أن يتم حذف الدخول الخلوي من خلال المستقبلات المكتسبة والطبيعية. لهذا الغرض ، يتم تحديد وحدات/بقايا البروتين H التي تتفاعل بشكل نوعي مع كل مستقبل ، ثم تعديلها جينياً لتندمج مما يؤدي إلى إنتاج فيروسات عمياء عن المستقبل بشكل نوعي. تتمثل الخطوة التالية في تقديم مجال ارتباط نوعي على البروتين H ، يكون هذا المجال بروتين يتم التعبير عنه بشكل سائد في الخلايا السرطانية .

(1.3) تفعيل جسيم إعادة الاستهداف عن طريق تعديلات بروتين الانحلال:

استراتيجية متكاملة لإعادة استهداف السرطان تنخرط في تعديل تسلسل انقسام // تنشيط بروتين F. تتطلب سليف precursor البروتين F من F0، Paramyxoviridae ، الانقسام إلى تحت وحدتين 1F ، و 2F لتفعيل الوظيفة. بشكل خاص ، ينقسم بروتين F الخاص بفيروس الحصبة ضمن الخلية عن طريق trans-Golgi protease furin المنتشرة بكثرة. ونظراً لأن بروتينات F في جسيمات MeV المتحررة يتم تنشيطها بانحلال البروتين proteolytically

activated ، فإن توجيهها لا يقتصر على مستوى تنشيط F. على كلٍ فإن توجه فيروس Sendai والفيروس المسبب لمرض Newcastle يكون مقيداً في معظم الأنسجة نظراً لأن بروتينات F الخاصة بها تتطلب التفعيل من خلال البروتينات والتي يعبر عنها فقط في أنسجة محددة.

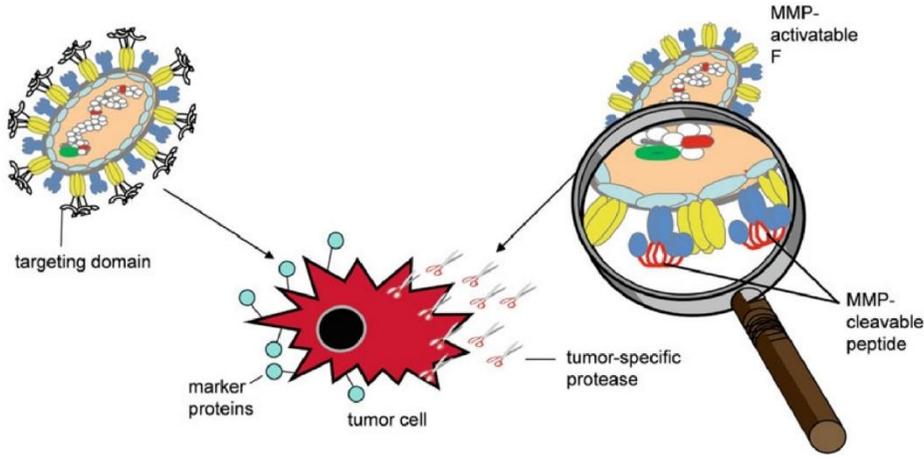


Fig. 2 Schematic depiction of targeting principles. Tumor cells can be characterized by the expression of specific surface marker proteins (turquoise) and their invasive growth is facilitated by tumor specific proteases. Tumor targeting by oncolytic measles virus takes advantage of these properties by on the one hand rendering attachment of the viral hemagglutinin (yellow) specific for the marker proteins via fusion to respective ligands as targeting domains. On the other hand, the required proteolytic activation of the fusion protein (blue) can be rendered specific for tumor-associated proteases via a protease-cleavable peptide (red)

بناءً على هذا المبدأ ، تبين أولاً أن تسلسل الأحماض الأمينية الموجود في بداية موقع الانقسام لـ OF يمكن تحويله mutagenized لمنع الانقسام من خلال الفورين ، مع تمكين الانقسام والتفعيل من خلال البروتينات الخارجية والتربيين. ثانياً ، تبين أنه يمكن تنشيط OF بشكل انتقائي عن طريق مصفوفة البروتينات المعدنية التي يفرزها الورم (MMP tumor-secreted matrix metalloproteinases) ، وأن فيروس الحصبة المؤشب الحامل لبروتين F قابل للتفعيل عن طريق MMP حسن من الأمان والفعالية لدى نماذج الفئران المطعمة.

بيكورونا فيروس Picornaviruses

على الرغم من أن فيروسات عديدة قد أثبتت أمانها في الاختبارات السريرية ، إلا أن الفعالية الإجمالية للفيروسات كعلاجات وحيدة كانت دون المستوى الأمثل. برزت طريقة إزالة استهداف الرنا الميكروي كأداة لا تقدر بثمن لمنع السميات غير المرغوب فيها للفيروسات المحللة للأورام ، لا سيما فيروسات البيكورونا.

بيكورونا فيريدا Picornaviridae بينما يكون العديد من هذه الفيروسات غير ممرضة للإنسان والحيوان ، فإن البعض الآخر منها يمكن أن يسبب أمراض خطيرة خصوصاً للمضيفين مضعفي المناعة.

ولضمان من أن العامل الممرض لن يتسبب في إحداث إمرضية لدى المضيف ، غالباً ما يتم تصميم بروتوكولات سريرية لتسريع/تعزيز المناعة المضادة للفيروسات قبل الشروع بالمعالجة ما يمكن أن يقلل من قدرة العلاج على حل الورم.

الرنا الميكروي MicroRNA هي جزيئات رنا صغيرة غير مرمرزة تربط سلاسل الرنا الهدفية المتممة في الرنا المرسل mRNA مما يؤدي إلى تدهور النسخ أو شلل الترجمة translational silencing وتنظيم لاحق/مؤجل للتعبير الجيني في الخلية.

يمكن استغلال هذه الآلية من خلال دمج التسلسلات الهدفية في الجينومات الفيروسية بحيث يتم قمع تكاثر الفيروس في الأنسجة الطبيعية التي تعبر عن الرنا الميكروي لمنع الفوعة ، بينما في الخلايا السرطانية التي لديها تعبير شاذ عن الرنا الميكروي يُترك التكاثر الفيروسي دون عوائق.

لتنظيم انحياز فيروس بيكورونا ، يتم دمج عناصر الاستجابة للـ RNA الميكروبي المتمم الذي المقابل للـ RNA الميكروبي ضمن النسخ الهدف الى اجينوم الفيروس مستهدفاً ايهم من أجل التدمير ضمن هذه النسخ. تتكون عناصر الاستجابة هذه عموماً من تكرارات ترادفية tandem repeats للتسلسلات الهدفية مفصولة بروابط قصيرة من 4 إلى 6 نيوكليوتيدات ويتم إدخالها بشكل شائع داخل المناطق غير المشفرة (NCR) noncoding regions) للجينوم الفيروسي. يمكن نظرياً تطبيق هذه التقنية على جميع فئات الفيروسات ؛ ومع ذلك ، تكون مفيد بشكل خاص في فيروسات البيكورونا بسبب قدرتها المحدودة على التحمل التي تمنع استخدام طرق الاستهداف الأخرى.

تحافظ هذه الطريقة على النشاط الحال للورم و/أو القدرة المناعية في نماذج الفئران.

العلاج الفيروسي خارج الجسم الحي بواسطة فيروس المايكسوما لعلاج السرطان

Ex Vivo Virotherapy with Myxoma Virus to Treat Cancer

الملخص:

يتحدد انحياز فيروسات مايكسوما (MYXV) في الطبيعة بأرانب lagomorphs ، وهو ممرض بشكل خاص للأرنب الأوروبي. على الرغم من أن فيروس مايكسوما لا يمكنه ان يسبب اي حالة مرضية لدى الإنسان ، أو الفئران ، أو أي حيوانات أليفة أخرى غير الأرانب ، يمكن لهذا الفيروس ان يصيب ويقتل مجموعة متنوعة من الخلايا السرطانية لدى الإنسان والفئران. وبالتالي ، في العقود الأخيرة ، برز فيروس مايكسوما كفيروس جديد حال للأورام ضد الأورام الدموية الخبيثة والعديد من الأورام الصلبة. جانب جديد للعلاج بفيروس مايكسوما هو طريقة الإيصال الجهازي الجديدة للفيروس إلى مواقع الورم لدى المتلقي ، عن طريق امتزاز الفيروس على الكريات البيض المعزولة ثم إعادة الخلايا المصابة بالفيروس مرة أخرى إلى المتلقي ، في عملية تسمى العلاج الفيروسي خارج الجسم الحي (EVV / EV) 2ex vivo virotherapy وبالتالي ، فإن استراتيجية توصيل 2EV تستغل الخصائص المتأصلة في الكريات البيض لنقل MYXV إلى مواقع الأنسجة التي تحمل الخلايا السرطانية التي يمكن الوصول إليها من خلال الانجذاب الكيميائي للكرات البيضاء.

يتم التوسط في نظام توصيل 2EV للفيروس أولاً عن طريق العدوى خارج الجسم الحي للخلايا الحاملة (أي الخلايا المناعية المشتقة من نقي العظم BM أو الدم المحيطي PB) ، ثم ثانياً إعادة كريات الدم البيضاء الممتزة بالفيروس إلى مريض السرطان من أجل توصيل الفيروس عن طريق الانجذاب الكيميائي الخلوي chemotaxis إلى مواقع الأنسجة المختلفة لأسرة الورم tumor beds.

على الرغم من أن طريقة 2EV أثبتت فعاليتها ، لا تزال هناك بعض الأسئلة المهمة التي يجب معالجتها. أولاً ، من المهم تحديد أي اختلافات بين 2EV باستخدام PBMCs أو الخلايا المناعية المنشطة (أي الخلايا التائية أو الخلايا البائية) كناقلات للفيروسات. وبالمثل ، لا يزال من غير المعروف أي نوع من الكريات البيض هي أكثر الناقلات كفاءة لـ MYXV ، وما إذا كانت أنواع معينة من الخلايا قد تعطي الانجذاب الكيميائي الأمثل في مواقع الورم المقيمة في أنسجة معينة.

النمذجة المناعية في العلاج بفيروس الحصبة الحال

Immunomodulation in Oncolytic Measles Virotherapy

(1) المقدمة:

تمتلك سلالات لقاحات الحصبة ملف أمان ممتاز ، حيث تم استخدامها لتمنيع الأطفال على مدى 50 عاماً.

وكنتيجة للتطعيم/التلقيح vaccination المسبق أو العدوى الطبيعية ، فإن الغالبية العظمى من البالغين محصنون ضد فيروس الحصبة (MV). وفي حين أن هذا يضاف إلى أمان الفيروس ، تعيق المناعة المسبقة المضادة للفيروسات الكفاءة العلاجية عن طريق تصفية الناقل العلاجي .therapeutic vector

تتعرض المناعة المضادة للفيروسات بعد استشعار وجود فيروسات لقاح الحصبة من قبل مستقبلات التعرف على النمط pattern recognition receptors منها 5RIG-I, MDA والمستقبلات الشبيهة بالتول toll-like receptors (TLRs) بعد حدوث عدوى ، مؤدية إلى إنتاج الإنترفيرون type-I (IFN) التي يحفزها بشكل أساسي التداخل مع جزيئات الـ RNA الغريبة. وفي حين تتضمن استجابة الإنترفيرون تضاعفاً فيروسياً ، فهي تنسق أيضاً تحريض الاستجابات المناعية الخلوية والخلوية الخاصة بالـ MV.

على النقيض من سلالات لقاح MV ، تتصدى سلالات MV البرية wild-type والمسببة للأمراض لاستجابات IFN عبر بروتينات C و V ، ولكنها تحفز إشارات nF-κB وتشكل الالتهابات inflammasome.

بالتزامن مع توليد الاستجابات المناعية الخاصة بالفيروس ، تؤدي عدوى بفيروس الحصبة المسبب للأمراض إلى كبت مناعي معمم مرتبط بالنفريات اللمفاوية lymphopenia ... وهو ما لم يلاحظ بعد التلقيح.

تحدد الانتقائية الورمية لسلاسل لقاح الحصبة بشكل أساسي عن طريق الكشف عن إشارات 1-IFN في الخلايا الخبيثة ، فيما تظهر الأورام المرتبطة بالانترفيرون مقاومة خاصة على فيروس الحصبة.

يمكن أن يؤثر الجهاز المناعي على العلاج بفيروس الحصبة الحال بطريقتين متعاكستين: فمن جهة ، يمكن للمناعة المضادة للفيروسات أن تعيق الفعالية العلاجية عن طريق التصفية المبكرة premature clearance للعوامل الحالة للورم. ومن جهة أخرى ، قد تكون المناعة المضادات للأورام حيوية لتحقيق نجاح علاجي طويل الأمد. لذلك ، قد يكون من الضروري معاكسة المناعة المضادة للفيروسات وتعزيز المناعة المضادات للأورام لتحسين أنظمة علاج الورم.

● معاكسة المناعة المضادة للفيروسات:

عندما يتعلق الأمر باستهداف النقايل البعيدة أو استهداف الأورام الدموية hematological malignancies يكون الإيصال الجهازى أمراً لا مفر منه.

يمكن أن يؤدي الإعطاء المتكرر إلى تسريع إنتاج الأجسام المضادة ل-MV.

بالإضافة لذلك ، يمكن تسهيل التصفية الجهازية عن طريق نظام البلعمة أحادي النواة (MFS mononuclear phagocytic system) الموجود في الكبد والطحال.

من حيث المبدأ ، يمكن تصور العديد من الطرائق للتغلب على تصفية الفيروسات المتواسطة مناعياً ، فيما أن يتم (1) كبح مناعة المريض المضادة للفيروسات ، أو أن (2) حماية/تدريع shielding الجزيئات الفيروسية لتجنب اكتشافها أو (3) تحسين آليات التهرب المناعي.

2.1 كبح المناعة المضادة للفيروسات: Suppressing Antiviral Immunity

إحدى الإستراتيجيات لكبح التصفية بواسطة الأجسام المضادة هي الإعطاء المشترك/المتزامن للسيكلوفوسفاميد (CPA) أثناء المعالجة. يسبب هذا المركب كبت مناعي عن طريق استنفاد الخلايا المكونة للدم hematopoietic cells.

تم الإبلاغ عن انتهاء المرحلة الأولى من تجربة سريرية لعلاج مرضى المايلوما myeloma المتعددة عن طريق MV و CPA في عام 2017. في هذه التجربة ، تم تطبيق جرعة واحدة من CPA قبل إيصال وريدي لـ MV. لم يلاحظ أي سمية خطيرة فيما أعلن عن أولى العلامات المشجعة لفعالية العلاج.

أثبتت التجارب بحمض البولينوزينيك polyinosinic acid (poly(I)) ، المعروف بتنشيطه الكامل لمستقبلات scavenger ، أن التصفية الجهازية لفيروس الحصبة يتم أيضاً تسهيلها من خلال قبط uptake الفيروسات من قبل البالعات ، بشكل أساسي في الـ MPS. أثبت Liu أن الإعطاء المشترك لـ poly(I) يمنع قبط فيروسات الحصبة من قبل البالعات ما يحسن بالتالي من إيصالها.

وأياً يكن الأمر فإن مادة الـ poly(I) غير مرخصة للإستخدام كما لم يتم اختبارها بعد لدى الإنسان. يوجد العديد من البدائل المستخدمة سريرياً مثل fucoidan و PolyI:C. كل من Poly(I) و PolyI:C تحصر مستقبلات scavenger وتقدم خصائص مختلفة للنمذجة/التعديل المناعي immunomodulation. وبالتالي فإنه يمكن إجراء المزيد من التعديلات المناعية باستخدام هذه المركبات.

بدليل آخر لتجنب تصفية الفيروس من قبل البالعات هو الإعطاء المشترك لليوزومات المحملة بالكوردونات chlodronate-loaded liposomes والتي تسبب استفاذ/نضوب depletion البالعات.

يسبب هذا النهج نضوب جميع الخلايا البالعة phagocytes ، بما فيها الخلايا التغصنية dendritic cells والتي يمكن لها أن تؤثر سلباً على تأثيرات التطعيم/التلقيح الحال.

2.2) تغطية/تدريع الجزيئات الفيروسية:

إحدى استراتيجيات إخفاء فيروسات الحصبة عن الجهاز المناعي للمريض هو ايصالها عن طريق خلايا مصابة بها. من المحتمل ان تكون هكذا ناقلات خلوية أقل عرضة للفعل التحديدي للأجسام المضادة من الجزيئات الفيروسية العارية خلال التوزع الدموي. بعد أن تصل هذه الخلايا الناقلة إلى موقع الورم ، تصاب الخلايا السرطانية والخلايا الأخرى الموجودة في البيئة الدقيقة للورم بالفيروس عبر الانتقال من خلية الى أخرى cell-to-cell transmission. تلعب طريقة الانتقال هذه دوراً مهماً في الانتشار الفيروسي بالعدوى الطبيعية لفيروس الحصبة.

يتم استخدام العديد من أنواع الخلايا كناقلات بما فيها خلايا مايلوما myeloma ، والخلايا التائية ، والوحيدات monocytes ، والخلايا الجذعية الوسيطة mesenchymal stem cells ، والخلايا البطانية. ويجب أن يؤخذ بعين الاعتبار العديد من العوامل عند اختيار الخلية الناقلة المناسبة: تختلف أنواع الخلايا المختلفة في حساسيتها susceptibility إلى MV وكمية الفيروسات التي تطلقها.

إضافة إلى ذلك ، قد يتواسط بعض أنواع الخلايا نقل الفيروس الى أنسجة معينة أو إلى مواقع الورم. فمثلاً ، خلايا مايلوما تلوذ إلى نقي العظم بينما تهجر الخلايا الجذعية في اللحمية المتوسطة mesenchymal إلى مواقع الورم باعتبارها جزءاً من السدى stroma.

من الملاحظ أن العديد من أنظمة النقل الخلوي كانت قادرة على حماية فيروسات الحصبة من التراكيز العالية للأجسام المضادة في المختبر ، إلا أنها لم تحميها من التراكيز المنخفضة منها في الجسم الحي.

بصرف النظر عن التدريع البيولوجي ، يمكن تغليف الجزيئات الفيروسية عن طريق بوليميرات معروفة بقدرتها على خفض القدرة المناعية. تم العمل على تطوير هذه الطريقة لتلائم فيروس الحصبة.

بالنسبة لفيروس الحصبة ، هناك فقط نمط واحد معروف. وبالتالي ، فإنه من غير الممكن تبديل النمط المصلي serotype للتغلب على الاستجابة المناعية بوساطة الأجسام المضادة. بدلاً من ذلك ، يتم إبدال البروتينات السكرية H و F الموجودة على غلاف فيروس الحصبة والتي تعتبر أهدافاً للأجسام المضادة ببروتينات لفيروسات ذات بنية مشابهة مثل فيروسات (CDV) canine (distemper virus) أو (TMPV) Tupaia paramyxovirus.

لا تتفاعل الأجسام المضادة لـ MV مع هذه الفيروسات والبشر عموماً يمتلكون الأجسام المضادة المحيطة لـ CDV و TPMV.

السمة الأساسية لأمان فيروس الحصبة الحال هي الانتشار العالي للمناعة منه في المجتمعات البشرية ، وهو ما يمنع تضاعفه وانتشاره غير المضبوطين. وبالتالي فإن إجراء أي تبديلات/تعديلات جينية له تمنع تحييد الفيروس بالأجسام المضادة يجب أن تخضع لاختبارات لتقييم مخاطرها.

(2.3) تحسين التهرب المناعي: Enhancing Viral Immune Evasion

يعمل IFN- α و IFN- β بشكل أوتوكراين وباراكرين مما يؤدي إلى تحفيز الجينات المحفزة للإنترفيرون (ISGs) interferon-stimulated genes ، والتي تؤدي إلى حالة مضادة للفيروسات. لذلك ، طورت العديد من فيروسات الرنا آليات تهرب تتصدى لاستجابة IFN

للمضيف. بالنسبة لفيروس الحصبة ، تعمل نواتج ترميز الجين P (البروتينات C و V) كمثبطات للانتروفيرون. بروتينات V و C من فيروس الحصبة البري/الطبيعي wild-type تكون مثبطات قوية للانتروفيرون ، بينما سلالات اللقاحات المضعفة تكون أكثر حساسية له بسبب الطفرات في الجين P.

ويهدف انشاء سلالة من الفيروس تكون أقل حساسية للانتروفيرون ، قام هارلامبيفيا Haralambieva باستبدال الجين P الخاص بسلالة ادمونستون تاغ Edmonston-tag بجين P من نوع بري. سبب هذا تراجع/انكماش تام للورم في الفئران.

صممت فيروسات حصبة ذات قوة حالة أكثر ليس فقط عن طريق إبدال الجين P الخاص بسلالة ادمونستون تاغ بنظيره البري ، بل أيضاً الجينات L و N. كان من المفترض ان تكون هذه السلالة الخيمرية الجديدة قادرة على الانتشار بشكل أكبر بسبب تضاعفها الأسرع وحساسيتها المنخفضة للانتروفيرون.

تم اختبار هذا الفيروس في الفئران العارية الحاملة لسرطان الخلايا الكلوية البشرية تحت الجلد subcutaneous human renal cell carcinoma xenografts. على عكس سلالة ادمونستون-تاغ ومشتقاتها الحاوية على جين P بري فقط ، أدت السلالة الجديدة الى تراجع نمو الورم بينما أخرجت السلالتين الأخرى فقط من نموه. إضافة إلى هذا ، فقد زادت السلالة الجديدة من معدل البقاء survival rate بشكل كبير مقارنة مع سلالة ادمونستون تاغ.

بالرغم من أن "مشتقات" فيروس الحصبة أظهرت قدرة أكبر على حل الورم في التجارب ما قبل السريرية ، إلا أن حساسيتها المنخفضة للـ IFN تشكل خطراً كبيراً على السلامة.

قد تفيد الاستجابات المناعية المضادة للفيروسات في المناعة المضادة للأورام من خلال تجنيد recruiting الخلايا المناعية ومعاكسة reversing البيئة الورمية الكابحة للمناعة وبالتالي

تحسين تحريض الاستجابات المناعية المضادة للورم. هكذا ، بدلاً من معاكسة المناعة المضادة للفيروسات يمكن أن يكون تحسين المناعة المضادة للأورام نهجاً أكثر قابلية للتطبيق.

3) تحسين المناعة المضادة للأورام: Enhancing Antitumor Immunity

تطلق فيروسات الحصبة الحالة مستضدات ورمية في سياق العدوى الفيروسية الحادة مما يؤدي إلى استجابة مناعية متعددة الأوجه تتضمن IFN-1 ، الأنماط الجزيئية المرتبطة بالخطر والإمراضية

DAMPs and PAMPs) danger-associated and pathogen-associated (molecular patterns) ، موت الخلايا المناعية immunogenic cell death ، السيتوكينات الإلتهابية ، وتدفق الخلايا المناعية immune cell influx ، مما يؤدي إلى تشكيل بيئة مناعية تولد الإشارات 2 و 3 ، وهو ما يكون تحفيز مشترك للجزيئات والسيتوكينات ، من أجل تحضير الخلايا التائية. وبالتالي ، فإن الاستجابة الطبيعية لـ MV الورم لديها القدرة على إحداث مناعة مضادة للأورام عن طريق تأثيرات التطعيم/التلقيح داخل الورم in situ tumor vaccination effects. يمكن أن تمتد هذه التأثيرات أيضاً إلى النقائل وأن يتم امتلاك ذاكرة مناعية يمكن أن تحمي من تكرار الورم.

IFN-β (3.1):

إحدى أولى الاستجابات التي تحدث عند حصول عدوى بفيروس الحصبة هو إنتاج IFN-β ويطلق استجابات مناعية أخرى مضادة للفيروسات.

من جهة يقوم الـ IFN-β بتقييد انتشار فيروس الحصبة. ومن جهة أخرى ، بحث الـ IFN-β حدوث التهاب حاد قوي يتطور إلى استجابة مناعية مضادة للورم تشارك فيها الاستجابات المناعية الخلوية الفطرية والتكيفية.

GM-CSF (3.2):

يعرف عامل تحفيز مستعمرة الخلايا الضامة المحببة (GM-CSF) Granulocyte macrophage-colony stimulating factor بأنه سيتوكين يقوم بتنظيم الخلايا الوحيدة monocytes والبالعات macrophages والخلايا التغصنية dendritic cells.

زادت فيروسات الحصبة المرتبطة مع GM-CSF من معدلات البقاء ، محققة تراجع كامل للورم وبقياً خالية من الورم طويلة الأمد لدى 40% من الأفراد. أظهرت اختبارات إعادة التحدي للورم Tumor rechallenge تحريض مناعي دائم وواقى ضد الأورام في الحيوانات التي أظهرت تراجعاً كاملاً للورم.

IL-12 (3.3):

يتم التعبير عن الإنترلوكين 12-Interleukin بشكل أساسي عن طريق البالعات والخلايا التغصنية بعد استشعار وجود العامل الممرضة. ينشط ال-IL-12 استجابة مناعية خلوية تقودها الخلايا التائية CD8+ والخلايا القاتلة الطبيعية NK ...

يحدد فيروس الحصبة المرتبط مع IL-12 على أنه الشكل الأكثر فعالية ، محققاً تراجعاً كاملاً للورم في 90% من حيوانات التجربة.

إضافة لذلك ، يسمح ترميز السيتوكينات مثل IL-12 ، والتي تسبب درجة عالية من السمية عندما تعطى جهازياً ، في الناقل المؤثر في الورم oncotropic vector بتعبير ورمي مقيد ، مما يزيد من النافذة العلاجية therapeutic window.

NAP (3.4):

ينشأ البروتين المفعل للعدلات neutrophil-activating protein (NAP) من بكتيريا هيليكوباكتر بيلوري Helicobacter pylori. وهو إحدى عوامل الفوعة لها حيث أنها تجتذب وتفعل العدلات ، ما يقود إلى حدوث إصابة مزمنة دون تصفية العامل الممرض.

تثبيط الـ NAP افراز السيتوكينات الالتهابية في العدلات والوحيدات من خلال تفعيل الـ 2TLR. يمكن للسيتوكينات المفعلة ومن بينها IL-12 و IL-23 أن تعزز استقطاب الـ 1TH.

3.5 مُثَبِّطَات نَقَاطِ التَحَقُّقِ: Checkpoint Inhibitors

نتجت التطورات الأخيرة في العلاج المناعي للسرطان عن نقاط التحقق المناعية immune checkpoints للمستضد 4 للخلايا التائية السامة cytotoxic T lymphocyte (CTLA-4) ، والموت المبرمج (1-PD-1) programmed death 1 (PD-1) وركيزته 1PD-L. في الظروف الفيزيولوجية ، تدعم هذه الجزيئات التحمل الذاتي self-tolerance عن طريق تقييد تفعيل الخلايا التائية. كما تساعد أيضاً في هروب الورم من الجهاز المناعي. يتم التعبير عن PD-1 على الخلايا التائية المخترقة للورم وهي ترتبط بإنهاك/استنزاف exhaustion الخلايا التائية أو حساسيتها anergy ، بينما يساهم زيادة التعبير عن 1PD-L في الخلايا الورمية في زيادة تهربها من جهاز المناعة.

3.6 BiTEs: Bispecific T-cell engagers

هي جزيئات صناعية تتكون من سلسلتين مختلفتين (single-chain variable scFv fragments). ترتبط إحداهما مع الخلية التائية فيما ترتبط الأخرى مع المستضد الورمي السطحي المختار ، أي أنها تقوم بربط الخلية السرطانية مع الخلية التائية بغض النظر عن انتقائيتها يسمح هذا التقارب المكاني بتشكيل مشبك مناعي صناعي artificial immunological synapse وتحريض انحلال الخلية الورمية.

في نموذج MC38cea المناعي والذي يظهر اختراقية عالية للخلايا التائية ، لم تظهر المعالجة بـ MV-BiTE أي فائدة مهمة. بينما أدت المعالجة بـ MV-BiTE في نموذج 16-B الى زيادة اختراقية الخلايا التائية للورم ، وبقياً أطول. تعكس نماذج MC38CEA و 16B عند العلاج بـ MV-BiTE بيئات مناعية مختلفة للورم. (TIMES) tumor immune microenvironments تشير هذه النتائج الى قدرة فيروس الحصبة اعتماداً على البيئات المناعية المختلفة للورم TIMES حسب كل فرد.

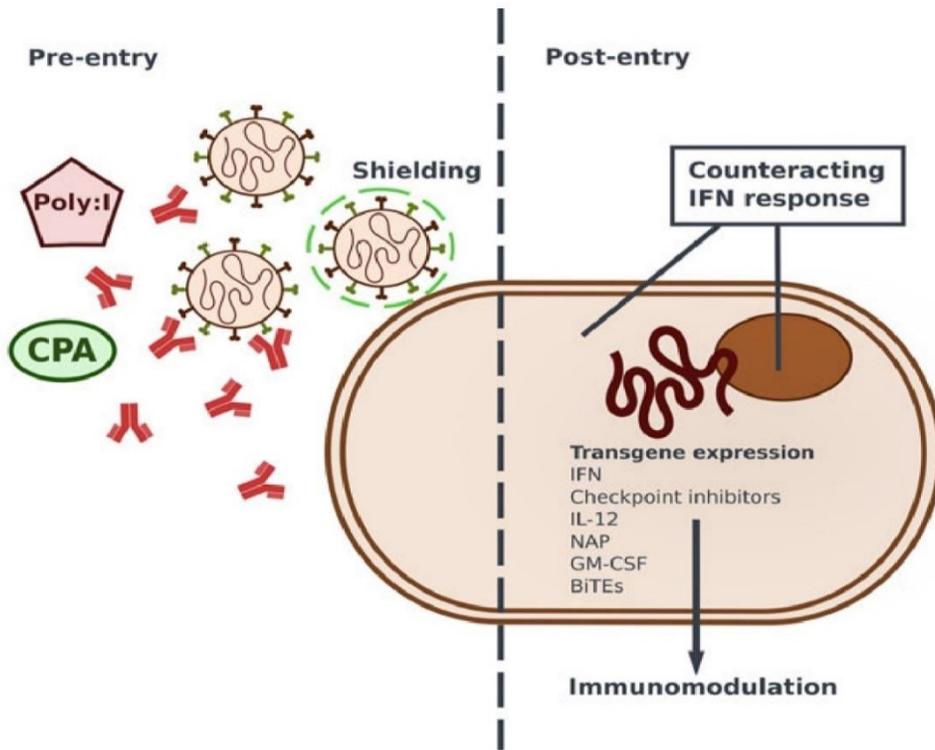


Fig. 1 Immunomodulation in oncolytic measles virotherapy. The schematic depicts strategies for selective immunomodulation in the context of oncolytic measles virotherapy summarized in this review

ابتكارات لإيصال الفيروسات الحالة للأورام

حتى تاريخه ، الطريقة الشائعة لإيصال الفيروسات الحالة هي الحقن داخل الورم ، حيث يتم حقن الفيروسات الحالة مباشرة إلى آفة الورم ، وهي طريقة مناسبة من أجل الآفات السطحية مثل سرطان الجلد. إضافة لذلك ، يمكن من خلال توجيه الأمواج فوق الصوتية حقن الآفات الموجودة في الأحشاء مثل الكبد والكلى بشكل مباشر أيضاً ، إلا أن هذه العملية معقدة نسبياً ، والمخاطر مثل الإنتان والنزف لا يمكن تجاهلها.

طريقة أخرى شائعة ، هي الإيصال بالحقن الوريدي والتي يمكنها إيصال الفيروسات الحالة للأورام إلى أي موقع بشكل مثالي وتمتلك مزايا رائعة من حيث الملائمة والأمان. ورغم ذلك ، فبسبب التصفية السريعة بتأثير المناعة المضادة للفيروسات ، والإحتجاز من قبل الأعضاء الغير هدفية أو الحواجز الفيزيائية مثل الطبقة البطانية وكثافة الماتركس خارج الخلية ، حقق الإعطاء الوريدي للفيروسات الحالة للأورام نجاحاً محدوداً. أيضاً ، تم الإبلاغ عن ارتشاح الفيروسات الحالة في الصدر والبطن والمثانة وغيرها من تجاويف الجسم في الطور الأول أحياناً من المراحل السريرية.

باختصار ، على الرغم من أن الفيروسات الحالة للأورام يمكنها إثارة استجابة مناعية جهازية مؤدية إلى تراجع نمو الورم كما هو ملاحظ في التجارب السريرية فإن الاستجابة المنخفضة للآفات البعيدة مقارنة مع المحقونة ستكون حاسمة في المعالجة.

يحاول الباحثون استخدام التعديلات الكيميائية أو الناقلات البيولوجية لتعزيز فعالية إيصال الفيروسات.

1- الطرق الكيميائية والفيزيائية المساعدة على الإيصال:

صممت المواد النانوية مثل البولي إيثيلين غليكول (PEG) والبوليميرات الكاتيونية لتعزيز إيصال الفيروسات الحالة جهازياً. إن ال-PEG هو جزيء محب للماء تمت دراسته على نطاق واسع كوسيلة إيصال في التطبيقات الطبية الحيوية مع سمية خلوية لا تذكر.

يعمل ال-PEG على حماية الفيروسات الخالة من الجهاز المناعي. قلل تغليف الفيروسات الغذائية الحالة بال-PEG من السمية الكبدية بعد إعطاء وريدي. ازدادت الفعالية المضادة للأورام للفيروسات الغذائية المغلفة بال-PEG في طعون سرطان الكبد حيث لوحظت بقيا أطول. يمكن لمعدن كوليسترول-PEG أن يقلل بشكل بارز من ربط الأضاد المضادة لفيروس الفاكسينيا.

تحتوي البوليميرات الكاتيونية على سلسلة أساسية مع مجموعات أمينية مشحونة بشحنة موجبة. عززت الفيروسات الغذائية الحالة والمعقدات البوليميرية ذات الشحنة السطحية الموجبة من القبط الخلوي والتعبير الجيني ، يجدر بنا الإشارة إلى أن الشحنة السطحية الإيجابية الشديدة يمكن أن تؤدي إلى زيادة السمية الخلوية.

ومن الجدير ذكره أن التعديل الكيميائي قد يجلب فائدة إضافية. إن تغليف الفيروسات الغذائية الحالة بدرع معدني حيوي biomaterial shell مكون من كربونات المنغنيز (MnCaCs) يمكن أن يحقق إمكانية المراقبة المستمرة Real-time بمساعدة Mn^{2+} وزيادة O_2 من ال- H_2O_2 بواسطة الرنين المغناطيسي (MRI) والتصوير الضوئي (PAI) ويمكن للدرع المعدني الحيوي أيضاً أن يحمي من تصفية الجهاز المناعي للمضيف في ذات الوقت.

مادة نانوية أخرى واعدة لإيصال الفيروسات الحالة هي الهيدروجيل الذي يتشكل من التجمع الذاتي أو التشابك ، تشابك البوليميرات ذات المسامية الشديدة والقابلة للترطيب ، وهكذا تمكن من زيادة تركيز الفيروسات في الأوقات المستهدفة وتحميهم من التصفية السريعة للجهاز المناعي. مؤخراً ، طور هيدروجيل جيلاتيني يقدم فيروسات غذية مسلحة ب-IL-12 و IL-51 وخلايا CIK ، والتي يمكنها إشارة استجابة مناعية قوية ضد الأورام عبر إعطاء وحيد مؤدية إلى تأثير علاجي أقوى في سرطان الرئة والأمعاء. إضافة لذلك ، تم دراسة

ناقلات مثل ال- [poly[N-(2-hydroxypropyl) methacrylamide]

(HPMA) بهدف إيصال الفيروسات الحالة. يقتصر معظم هذه الدراسات على الدراسات ما قبل السريرية وهناك ما يبرر إجراء المزيد من الاكتشافات في التجارب السريرية.

نستخدم بعض الطرق الفيزيائية أيضاً من أجل إيصال الفيروسات الحالة. على سبيل المثال ، لقد ثبت أن الفيروسات الحالة المكبسلة بالجسيمات النانوية المغناطيسية أدت إلى زيادة العدوى وتعزيز كبح الورم بمساعدة الحقل المغناطيسي. في الأونة الأخيرة ، تم دمج استراتيجية الاستهداف المغناطيسي مع الخلايا لتشكيل روبوتات خلوية تحمل فيروس حال قادر على القتا والارتباط النوعي للورم.

يتم تعديل الجسيمات النانوية Fe3O4 بشكل غير متماثل asymmetrically على سطح الروبوتات الخلوية المحملة بالفيروسات الغدية الحالة لتشكيل فيروسات حالة باستجابة مغناطيسية. تحت التحكم المغناطيسي ، يمكن للروبوتات الخلوية القيام بهجرة موجهة ولها احتفاظ طويل الأمد في مثانة الفئران. أيضاً ، يمكن للأمواج فوق الصوتية أن تساعد في توصيل الفيروسات الحالة. وجد أن التجويف الصوتي Acoustic cavitation يلعب دور أساسي في تحرير الدواء الهدف وزيادة التسريب.

صيغة الكأس البوليميرية التي تقدم النواة لتحريض أحداث تجويف قصور ذاتي مستمر داخل الأورام زادت من نشاط فيروس الفاكسينيا بشكل كبير وأحدثت إعاقة كبيرة لنمو الورم.

2- استخدام الناقلات البيولوجية لإيصال الفيروسات الحالة:

مع النجاح السريري الملحوظ للعلاج بـ CAR-T في اللوكيميا والأورام الليمفاوية ، جذبت العلاجات بالخلايا التائية adoptive T-cell therapies (ACTs) اهتماماً بالبحث.

تتضمن الـ ACTs ارتشاح الخلايا التائية السامة النوعية للورم ، بالتالي المزيد من المناعة المضادة للورم. يمكن إيصال الفيروسات الحالة المدمجة بـ ACTs إلى آفات الورم. وجد في المرضى الذين تم إعطاؤهم حقناً في الوريد من فيروس ريوفيروس أن جميع الجزيئات الفيروسية المكتشفة في الدم كانت مرتبطة بخلايا الدم المحيطة أحادية النواة في مرضى سرطان القولون والمستقيم ، وهو ما يقترح إمكانية استخدام الخلايا كناقلات للفيروسات الحالة.

تم إثبات مجموعة متنوعة من أنواع الخلايا كناقلات محتملة للفيروسات الحالة ، من ضمن هذه الخلايا تعد الخلايا الجذعية مرشحاً مهماً نظراً لطبيعتها في الانحياز نحو الأورام.

اختبرت خلايا جذعية من مصادر متنوعة من ضمنها MSCs والخلايا الجذعية العصبية NSCs بشكل مكثف لفعاليتها. أظهرت الـ MSCs المصابة بالفيروسات الغدية المعدلة والتي تعبر عن IL-12 ومثبطات PD-L1 قابلية إيصال وإنتاج/توليد فيروسات وظيفية لإصابة وحل خلايا سرطان الرئة وتحفيز النشاط المضاد للورم عن طريق إطلاق IL-12 ومثبطات PD-L1.

أدى الإعطاء الجهازى لـ MSCs مصابة بفيروس غدي موجه نحو كارسينوما الخلية الكبدية إلى مستوى عالي من تراكم الفيروس في آفة الورم وتثبيط نمو الورم وذلك بجرعة بدئية منخفضة.

لم يتم الإبلاغ عن سمية من الدرجة 2-5 في المرحلة الأولى من التجارب السريرية من أجل Celyvir ، وهو نوع من الـ MSCs التي تحمل فيروس غدي. في هذه الدراسة ، أظهر اثنين من مرضى الورم الأرومي العصبي neuroblastoma استقراراً للمرض ، واحد من المرضى استمر في العلاج لمدة تصل إلى ستة أسابيع إضافية.

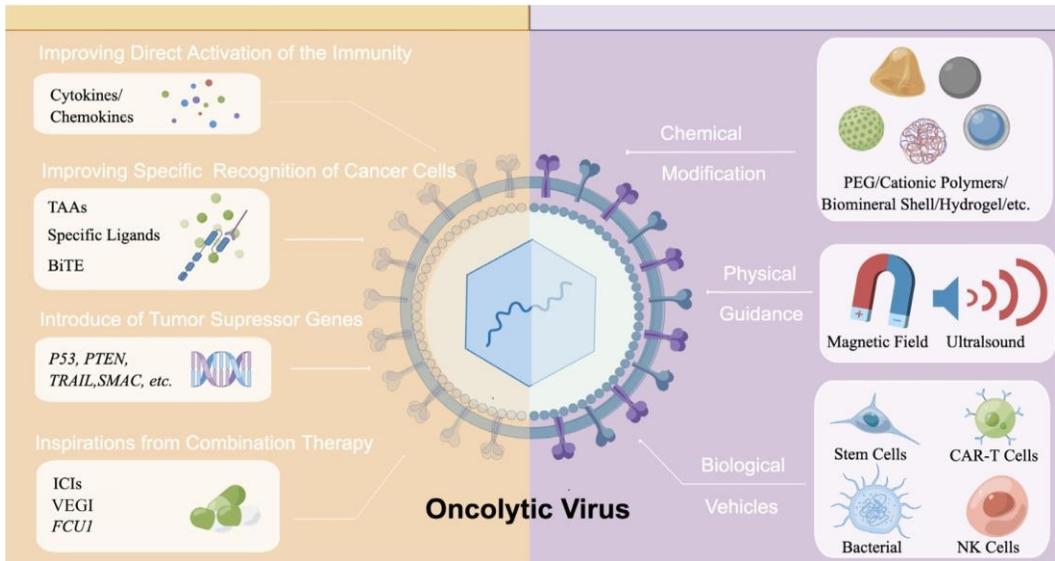
على الرغم من استبعاد 18 مريض من أصل 34 بشكل أساسي بسبب التقدم السريع للمرض قبل العلاج بالـ Celyvir ، تشير النتائج من هذه المرحلة الأولى من التجارب السريرية إلى إمكانية استخدام هذه الناقلات من الخلايا الجذعية في المزيد من التحقيقات السريرية.

نشرت نتائج الكور الأول من التجارب السريرية باستخدام NSCs كناقلات لإيصال الفيروسات الحالة. تم تجنيد 12 مريض يعاني من الأورام الدبقية الخبيثة malignant gliomas التي تم تشخيصها حديثاً. كان العلاج جيد التحمل حيث لم يتم الوصول إلى سمية محددة للجرعة. كان إيصال الفيروسات الحالة عن طريق NSCs ممكناً وأمناً. الخلايا القاتلة الطبيعية NK هي خيار آخر للإيصال الهدي للفيروسات الحالة نظراً لقدرتها على التراكم في آفات الورم وتأثيراتها المناعية السامة المرتفعة.

تم توليد Ad@NK حيث تعمل الخلايا القاتلة الطبيعية كمفاعلات حيوية bioreactor وملاجئ shelters للإيصال الهديفي الجهازى عالى الكفاءة للفيروس الغدى. كتنغذية عكوسة/تلقيم راجع feedback ، تقدم عدوى الفيروس الغدى للخلايا القاتلة الطبيعية مناعة محسنة ضد الأورام عن طريق تفعيل إشارات الإنترفيرون من النوع الأول. لقد ثبت أن Ad@NK تتمتع بوظائف ممتازة في مكافحة الأورام وانتشارها.

تم أيضاً دمج المعالجة بال-CAR-T والفيروسات الحالة لزيادة الفعالية في الأورام الصلبة. يسمح التحميل المسبق preloading في المختبر لخلايا CAR-T بفيروس التهاب الفم الحويصلي الحال أو بفيروس الريفوايروس بإعادة تنشيط الخلايا التائية في الجسم الحي ويؤدي إلى زيادة بقيا الفئران المصابة بسرطان تحت الجلد subcutaneous melanoma والورم الدبقي داخل الجمجمة intracranial glioma.

في الآونة الأخيرة ، وجد أن البكتيريا أيضاً لها القدرة على المساعدة في العلاج الفيروسي. حيث ظهر أن البكتيريا لها قدرة أعلى على التوجه homing من الفيروسات الحالة ، بينما هناك أيضاً فعالية محدودة وسمية معتمدة على الجرعة. اقترح سن. مفهوم استهداف الأورام بمساعدة البكتيريا للفيروسات الحالة. تترافق الفيروسات الغدية المغلفة بالليبوزومات-Liposome cloaked على الإيشيرشيا الكولونية BL21 الموجهة نحو الورم. بالمقارنة مع الفيروسات الغدية العارية الحالة للأورام التي يتم حقنها وريدياً. كانت الفيروسات التي تساعد البكتيريا في NSCLC أقوى بـ 170 مرة. أثبتت الفعالية المعززة ضد الأورام في الجسم الحي. يقترح هذا أن البكتيريا ذات القدرة الكبيرة على التوجه نحو الورم يمكن أن تكون منصة قوية لإيصال الفيروسات الحالة.



الخاتمة

العلاج الفيروسي الحال للأورام هو علاج مناعي واعد للأورام الخبيثة وقد أظهر أيضًا إمكانات علاجية واعدة في التجارب السريرية. بينما نمضي قدمًا في تحويل البحث إلى التطبيق السريري ، فإن التحليل المعقد للتجارب السريرية لتحديد وقت التدخل العلاجي المناسب للفيروسات الحالة ، وكذلك لفهم الآليات الأساسية لتفاعلاته مع الورم والمضيف ، سيساعدنا على تطوير منتجات أكثر قوة نحو علاجات أكثر فعالية. بالإضافة إلى ذلك ، معايير الاستجابة المستخدمة حاليًا في العلاج الفيروسي الحالة للأورام هي تلك التي يتم وضعها في إرشادات الأورام الصلبة (RECIST) بغض النظر عن أنماط الاستجابة الجديدة التي تمت ملاحظتها. وبالتالي ، يجب تقييم مفهوم جديد للمعايير للتجارب السريرية المستقبلية. علاوة على ذلك ، فإن الجهود المبذولة لتحديد المؤشرات الحيوية التي يمكن أن تقسم مجموعات المرضى إلى طبقات ستكون مهمة أيضًا لفحص الاستجابة لاستراتيجيات العلاج الفيروسي الجديد للأورام. الأهم من ذلك ، أن ابتكار تكنولوجيا النانو المتقدمة من شأنه أن يجلب أيضًا العلاج بالفيروسات الحالة للورم إلى مشهد جديد.

الملحق أ: الإسكات الجيني بواسطة الرنا الميكروي

تحتوي النواة على الحمض النووي الذي يشفر التعليمات الخاصة بتطور الخلية ووظيفتها. يتم ترتيب هذه المعلومات في أجزاء من الحمض النووي تسمى الجينات. تحتوي كل خلية تقريباً على نسخ متطابقة من الحمض النووي. ولكن إذا كانت هناك نفس التعليمات لجميع الخلايا فلماذا يوجد العديد من الأنواع المختلفة؟؟ السبب هو إسكات الجينات.

من الممكن إيقاف المعلومات الجينية. لذلك، أثناء التطور، تقرأ الخلية التعليمات الضرورية فقط لاكتساب الهياكل والوظائف المميزة.

من أجل إسكات الجينات يمكن للهللية استخدام MicroRNA. هذا الجزيء القوي قادر على إيقاف الجينات عن طريق تعطيل الرنا المرسال.، وهو أمر ضروري لترجمة المعلومات الجينية إلى بروتينات. بهذه الطريقة يمكن إيقاف الجينات. تشارك الـ MicroRNA في تنظيم الخلية من تطورها إلى موتها. يمكن أن يكون لخلل التنظيم عواقب وخيمة على أجسادنا ويمكن أن يسبب مجموعة من الأمراض مثل السرطان وأمراض القلب.

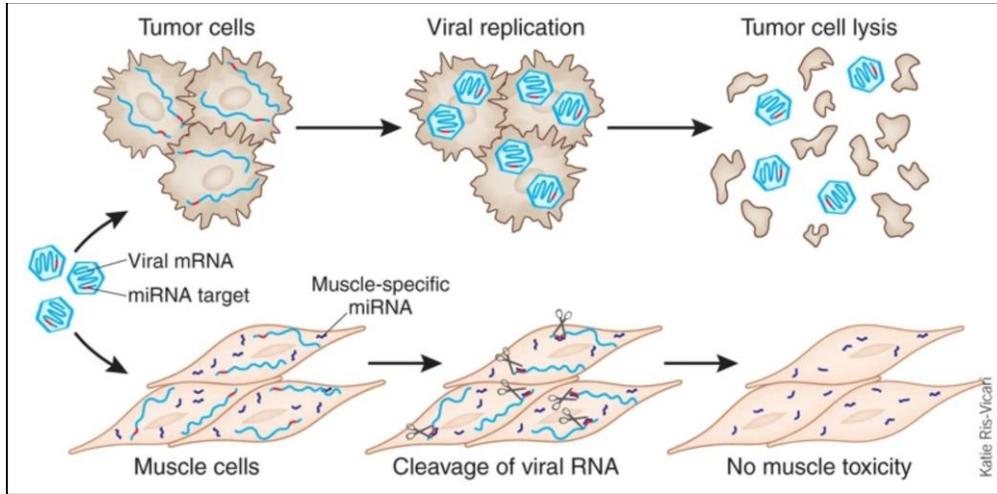
نظرة فاحصة على الـ MicroRNA:

على غرار البروتينات، توجد الجينات المشفرة للـ MicroRNA في النواة. يتم نسخ كل جين بواسطة RNA Polymerase 2 الذي ينتج إما RNA تنظيمي أو مرسال في هذه الحالة يكون النسخ عبارة عن رنا ميكروي أساسي والذي يشكل بنية نموذجية لدبوس الشعر. سيصبح الـ MicroRNA النهائي بوظيفة تنظيمية بعد عدة خطوات من المعالجة. أولاً يتم التعرف على الجذع المزدوج بواسطة البروتين 8DGCR. يرتبط إنزيم يسمى Drosha مع الـ 8DGCR لتشكيل معقد قادر على قطع الحمض النووي إلى سلائف MicroRNA. يمكن الآن تصديره إلى السيتوبلاسم حيث سيعطل الرنا المرسال لجين واحد أو عدة جينات. يتم عبور الـ MicroRNA السلائف من النواة من خلال مسام بواسطة الجزيء الناقل Exprotin 5.

يتم التعرف عليه في السيتوبلاسم بواسطة بروتين RNase كبير يسمى Dicer. يشق الـ Dicer الحلقة الجذعية ويشكل MicroRNA مزدوج.

في الخطوة التالية ، يتفاعل بروتين Argonaute Ago2 مع Dicer لربط الرنا الميكروي. يتم التخلص من الرنا الميكروي ويتم تحرير حبل/طاق واحد. الخيط المتبقي ، المسمى بالخيط التوجيهي ، يتفاعل مع Ago2 وبعض البروتينات الإضافية لتشكيل معقد إسكاع الجينات المحفز (RISC (RNA Induced silenced complex). يمكن توجيهه إلى هدفه وإلغاء تنشيط جين واحد أو عدة جينات.

إن الـ mRNA للجين المستهدف مكمل لتسلسل الرنا المرسل ، مما يتيح الإقتران. بمجرد الارتباط ، هناك طريقتان يمكن من خلالها للـ RISC تعطيل mRNA. يمكن للبروتينات في المركب ببساطة قطع الرنا المرسل ، والذي سيتم تدميره بشكل أكبر بواسطة الخلية ، كما أن منع الترجمة هو آلية أخرى. في هذه الحالة ، يمنع معقد RISC تحت الوحدة للريبوسوم من الارتباط بتلرنا المرسل. في كلتا الحالتين ، لن تتم ترجمة الرنا المرسل إلى بروتين وسيتم إسكات الجين.



الملحق ب: بعض التعريفات

أورام باردة cold tumor:

تعبر عن الأورام التي لا يحتمل لها أن تشكل إستجابة مناعية قوية. تميل الأورام الباردة إلى أن تكون محاطة بخلايا قادرة على كبح الإستجابة المناعية وتحميها من هجوم الخلايا التائية. لا تستجيب الأورام الباردة عادة إلى العلاج المناعي.

أورام حارة hot tumor:

تعبر عن الورم الذي يحتمل أن يثير إستجابة مناعية قوية. تمتلك الأورام الحارة غالباً العديد من الجزيئات على سطحها والتي تمكن للخلايا التائية من مهاجمتها وقتلها. تستجيب الأورام الحارة غالباً إلى العلاج المناعي.

التقديم المتصالب cross-presentation:

قابلية بعض الخلايا العارضة للمستضد لالتقاط ومعالجة وتقديم المستضدات الخارج خلوية مع جزيئات معقد التوافق النسيجي I إلى الخلايا التائية CD8.

الجين E1B:

يشير بروتين E1B Adenovirus عادةً إلى أحد البروتينين المنسوخين من جين E1B الخاص بالفيروس الغدي: بروتين kDa55 وبروتين kDa19. هذان البروتينان ضروريان لمنع موت الخلايا المبرمج في الخلايا المصابة بالفيروس الغدي. تعمل بروتينات E1B على منع موت الخلايا المبرمج الناجم عن بروتين الفيروس الغدي الصغير E1A ، والذي يعمل على استقرار 53p ، وهو مثبط للورم.

ICP 34.5 :

بروتين الخلية المصابة 34.5 (ICP-34.5 أو 34.5ICP أو 34GADD) هو بروتين يعبر عنه الجين 34.5 γ في الفيروسات مثل فيروس الهربس البسيط ؛ يمنع استجابة الإجهاد الخلوي للعدوى الفيروسية.

ICP 47:

بروتين الخلية المصابة 47 أو تسمى أيضاً 47-ICP أو 47ICP هو بروتين مرز بواسطة فيروسات مثل فيروس الهربس البسيط والفيروس المضخم للخلايا الذي يسمح لهم بالتهرب من استجابة الخلايا التائية 8CD لنظام المناعة البشري عن طريق التدخل في قدرة الخلية المصابة على إظهار حلقات epitopes فيروسية إلى الخلايا التائية.

Gene knockdown:

تقنية تجريبية يتم من خلالها تقليل التعبير عن واحد أو أكثر من جينات الكائن الحي.

//

تعمل طرق "الضربة القوية" للجينات مؤقتاً على إيقاف أو تقليل التعبير عن واحد أو أكثر من الجينات المستهدفة. إذا نجت الخلايا أو الكائنات الحية النموذجية من حدث الضربة القوية ، فيمكنها التعافي والبدء في نهاية المطاف في التعبير عن الجين كما كانت من قبل.

E1B:

بروتينات E1A و E1B كافية للتحويل السرطاني لخلايا القوارض المزروعة. يتم دمج هذه الجينات الفيروسية ، ومناطق جينية أخرى ، في جينوم الخلايا السرطانية.

يحفز الـ E1A جينات تقدم دورة الخلية في خلايا MCF10A.

يعد تحريض تصنيع الدنا بواسطة البروتين المحول E1A خاصية أساسية لـ E1A ، وهو يحدث في العديد من أنواع الخلايا ، بما في ذلك تلك التي من أصل الإنسان والقوارض.

endocytotic uptake:

الالتقام الخلوي هو عملية خلوية يتم فيها إدخال المواد إلى الخلية. المادة المراد استيعابها محاطة بمنطقة من غشاء الخلية ، والتي تتبرعم بعد ذلك داخل الخلية لتشكيل حويصلة تحتوي على المادة المبتلعة. يشمل الالتقام الخلوي البلعمة. إنه شكل من أشكال النقل النشط.

Integrins:

الإنترغينات هي المستقبلات الرئيسية التي تستخدمها الخلايا الحيوانية لترتبط بالماتركس الخارج خلوي. وهي غير متجانسة وتعمل كوصلة عبر الغشاء بين الماتركس خارج الخلية والهيكل الخلوي. يمكن للخلية أن تنظم نشاط إنتيجرياناتها من الداخل.

RGD motifs:

حمض Arginylglycylaspartic هو الشكل الببتيدي الأكثر شيوعًا المسؤول عن التصاق الخلية بالماتركس خارج الخلية ، الموجود في الأنواع التي تتراوح من ذبابة الفاكهة إلى البشر.

RGD

هو الأكثر استخدامًا من فئة أكبر من الببتيدات اللاصقة للخلية. هذه التسلسلات القصيرة من الأحماض الأمينية هي الحد الأدنى من بروتين أكبر ضروري للارتباط بمستقبل سطح الخلية الذي يقود إلى التصاق الخلية.

scFvs:

في الواقع هو ليس جزءًا من الأضاد ، ولكنه بدلاً من ذلك هو بروتين اندماج للمناطق المتغيرة من السلاسل الثقيلة (VH) والسلاسل الخفيفة (VL) من الغلوبولينات المناعية ، المرتبطة بببتيد رابط قصير من من عشرة إلى حوالي 25 حمضًا أمينيًا.

Virion :

جسيم فيروسي كامل ، يتكون من غلاف بروتيني خارجي يسمى محفظة capsid ونواة داخلية من الحمض النووي (إما رنا أو دنا).

ما هو الفرق بين الفيروس والفيريون؟

الفيروسات هي بروتينات نووية. وهي هياكل غير خلوية تحتوي على مادة وراثية معدية. الفيريونات عبارة عن فيروسات مغلقة بمحفظة مع جزيئات DNA أو RNA. يحتوي على كلا من الحمض النووي وكذلك طبقات بروتينية.

CAR:

مستقبلات المستضدات الخيميرية - المعروفة أيضًا باسم المستقبلات المناعية الخيميرية أو مستقبلات الخلايا التائية الخيميرية أو مستقبلات الخلايا التائية الاصطناعية - هي مستقبلات بروتينية تم تصميمها لإعطاء الخلايا التائية القدرة الجديدة على استهداف مستضد معين.

CD46:

بروتين تنظيمي مكمل يُعرف أيضًا باسم CD46 (مجموعة التمايز 46) وبروتين العامل المساعد الغشائي هو بروتين يتم ترميزه في البشر بواسطة جين CD 46. CD46 هو مستقبل متمم مثبط.

desmoglein:

هي عائلة تتكون من بروتينات 1DSG و 2DSG و 3DSG و 4DSG. يلعبون دورًا في تكوين الديسموسومات التي تربط الخلايا ببعضها البعض

sialic acid:

أحماض الساليك (Sias) عبارة عن سكريات مكونة من تسعة ذرات كربون توجد عادةً كمخلفات طرفية للبروتينات السكرية والجليكوليبيدات على سطح الخلية أو يتم إفرازها. لديهم أدوار مهمة في الاتصال الخلوي وكذلك في العدوى وحماية العوامل الممرضة.

خيمري Chemiric:

احتواء أجزاء من أصول مختلفة. في الطب، يشير إلى شخص أو عضو أو نسيج يحتوي على خلايا ذات جينات مختلفة عن بقية الشخص أو العضو أو الأنسجة.

==< المستقبل الخيمري:

مستقبل خاص تم إنشاؤه في المختبر مصمم لربط بروتينات معينة على الخلايا السرطانية. ثم يضاف مستقبل المستضد الخيميري إلى الخلايا التائية.

الطي Folding :

طي البروتين هو عملية يتم من خلالها طي سلسلة البولي ببتيد لتصبح بروتينًا نشطًا بيولوجيًا في هيكلها الثلاثي الأبعاد الأصلي. تعتبر بنية البروتين مهمة ومرتبطة بوظيفتها.

التقليم trimerization:

في الكيمياء الحيوية، يعتبر مُقلم/مُشذب/مُقطع البروتين مركبًا جزيئيًا ضخمًا يتكون من ثلاثة جزيئات كبيرة، عادةً ما تكون غير مرتبطة تساهميًا، مثل البروتينات أو الأحماض النووية. يتم تشكيل المُقلم المتجانس heterotrimer من ثلاثة جزيئات متطابقة. أما المقلمات المغايرة (غير متجانسة) فيتم تشكيلها من خلال ثلاثة جزيئات مختلفة.

البروتين F:

بروتين مشتق من فيروس السينداي يمكن استخدامه في المختبر لإحداث اندماج خلوي بين الخلايا الجسدية (غير الجرثومية). كما أنها تستخدم في صنع حويصلات الاندماج الخلوي.

تحلل البروتين: proteolysis

، عملية يتم فيها تكسير البروتين جزئياً ، إلى ببتيدات ، أو كلياً ، إلى أحماض أمينية ، بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتين ، الموجودة في البكتيريا والنباتات ولكنها أكثر وفرة في الحيوانات

البروتياز:

هو إنزيم يحفز تحلل البروتينات ، ويفكك البروتينات إلى عديد ببتيدات أصغر أو أحماض أمينية مفردة ، ويحفز تكوين منتجات بروتينية جديدة. يتم ذلك عن طريق شق روابط الببتيد عن طريق الحلمة المائية.

الترسين:

هو إنزيم في القسم الأول من الأمعاء الدقيقة الذي يبدأ هضم جزيئات البروتين عن طريق تقطيع السلاسل الطويلة من الأحماض الأمينية إلى قطع أصغر.

التكرارات الترادفية tandem repeats:

هي سلسلة من اثنين أو أكثر من الأسس من الأحماض النووية التي تتكرر عدة مرات على الكروموسوم. توجد التكرارات الترادفية بشكل عام في المناطق غير المرمزة من الحمض النووي. في بعض الحالات ، يمكن أن تكون التكرارات الترادفية بمثابة علامات وراثية لتتبع الوراثة في العائلات.

مستقبلات التعرف على النمط pattern recognition receptors:

هي بروتينات يتم التعبير عنها ، بشكل أساسي ، بواسطة خلايا الجهاز المناعي الفطري ، مثل الخلايا التغصنية ، والضامة ، والوحيدات ، والعدلات ، والخلايا الظهارية ، لتحديد فئتين من الجزيئات: الأنماط الجزيئية المرتبطة بالعوامل الممرضة (PAMPs) ، والتي ترتبط بمسببات الأمراض الميكروبية ، والأنماط الجزيئية المرتبطة بالضرر (DAMPs) ، والتي ترتبط بمكونات خلايا المضيف التي يتم إطلاقها أثناء تحطم الخلايا أو موتها. وتسمى أيضاً مستقبلات التعرف على الأنماط البدائية لأنها تطورت قبل أجزاء أخرى من الجهاز المناعي ، خاصة قبل المناعة التكيفية. تنوسط PRRs أيضاً في بدء الاستجابة المناعية التكيفية الخاصة بالمستضد وإطلاق السيتوكينات الالتهابية.

nF-kB Signals:

هو مركب بروتيني يتحكم في نسخ الحمض النووي وإنتاج السيتوكين وبقاء الخلية.

الانتقال من خلية الى أخرى Cell-to-cell transmission:

بعد بدء دورة العدوى ، يمكن أن يحدث انتشار العدوى الفيروسية بطريقتين مختلفتين: (1) تنطلق الجزيئات الفيروسية في البيئة الخارجية وتنتشر خارج الخلية حتى تتفاعل مع خلية مضيئة جديدة ، و (2) يمكن أن تظل الفيروونات مرتبطة بالخلايا المصابة ، مما يعزز المرور المباشر بين الخلايا المصابة وغير المصابة والتي يشار إليها باسم الانتقال المباشر من خلية إلى خلية

انتقال مباشر من الخلايا المصابة إلى الخلايا غير المصابة في وجود الأجسام المضادة المحيطة. يتطلب هذا النمط من الانتقال تواصل خلوي والانتقام الخلوي المعتمد على مستقبلات الكلاترين. والجدير بالذكر أنه يتغلب على حجب الأجسام المضادة ... مما يشير إلى أن انتقال الفيروس من خلية إلى خلية ينطوي على مشاركة المستقبلات في الخلية المستهدفة

نظرًا لأن انتقال الفيروس من خلية إلى خلية يمكن أن يشمل الانتقال عبر مناطق التواصل الخلوي الضيق التي تقاوم الأجسام المضادة وتصل إلى تركيز جزيئي عالٍ ، يمكن أن يساهم الانتقال من خلية إلى خلية في التسبب في العدوى الفيروسية.

myeloma cells:

المايلوما ، وتسمى أيضًا المايلوما المتعددة ، هي سرطان خلايا البلازما. خلايا البلازما هي خلايا الدم البيضاء التي تصنع الأجسام المضادة

السدى stroma:

الخلايا والأنسجة التي تدعم وتعطي بنية للأعضاء أو الغدد أو الأنسجة الأخرى في الجسم. تتكون السدى في الغالب من نسيج ضام وأوعية دموية وأوعية لمفاوية وأعصاب. تقوم بتوفير العناصر الغذائية للأنسجة أو الأعضاء وتزيل الفضلات والسوائل الزائدة. قد تشارك السدى أيضًا في الاستجابة المناعية للجسم وفي نمو الخلايا السرطانية وانتشارها.

التمط المصلي serotype:

النمط المصلي أو المصلي هو اختلاف واضح داخل نوع من البكتيريا أو الفيروسات أو بين الخلايا المناعية لأفراد مختلفين.

Autocrine & paracrine:

إشارات الأوتوكرين هي شكل من أشكال الإشارات حيث تفرز الخلية هرموناً أو مادة كيميائية ترتبط بالمستقبلات في نفس الخلية ، مما يؤدي إلى تغييرات وظيفية فيها ، في حين أن إشارات paracrine هي شكل من أشكال الإشارات الخلوية التي تكون فيها الخلية المستهدفة بالقرب من خلية المطلقة للإشارة.

2 and 3 signals in immunology:

يتم توفير "الإشارة 2" عندما يرتبط مستقبل 28CD ، الذي يتم التعبير عنه بشكل أساسي في الخلايا التائية ، بجزيئات CD (80B7-1) و CD (86B7-2) التي يتم التعبير عنها في الخلايا المقدمة للمستضد (APCs) ولكن ليس على الخلايا السرطانية . لذلك فإن الخلايا السرطانية وحدها غير قادرة على بدء عملية تنشيط الخلايا التائية.

تحدد الإشارة 3 التحمل مقابل التنشيط الكامل للخلايا التائية 8CD الساذجة/غير الناضجة.

Costimulatory:

التحفيز المشترك هو إشارة ثانوية تعتمد عليها الخلايا المناعية لتنشيط استجابة مناعية في وجود خلية مقدمة للمستضد.

إعادة تحدي الورم Tumor rechallenge:

يُعرّف العلاج بإعادة المعالجة على أنه إعادة إدخال نفس العلاج الذي ثبت بالفعل مقاومة الورم له ، بعد علاج متداخل.

المستقبلات الشبيهة بالتول 2TLR:

Toll-like receptor 2 also known as TLR2 ... and plays a role in the immune system.

التحمل الذاتي Self-tolerance:

يشير التحمل الذاتي إلى قدرة الجهاز المناعي على التعرف على المستضدات المنتجة ذاتيًا - وبالتالي عدم الاستجابة لها. إذا فقد الجهاز المناعي هذه القدرة ، يمكن أن يبدأ الجسم في مهاجمة خلاياه ، مما قد يتسبب في الإصابة بأمراض المناعة الذاتية.

مثبطات نقاط التحقق Checkpoint Inhibitors:

مثبطات نقطة التفتيش هي نوع من العلاج المناعي. إنها تعيق عمل البروتينات التي تمنع الجهاز المناعي من مهاجمة الخلايا السرطانية.

المشبك المناعي immunological synapse:

يشير المشبك المناعي إلى التداخل بين الخلايا المناعية التي تنظمها مستقبلات المناعة التكييفية أو الفطرية بالتنسيق مع جزيئات الالتصاق. تتمثل إحدى أهم وظائف المشبك المناعي في تكامل الإشارات الفطرية والتكييفية لتحديد ما إذا كان بدء الاستجابة المناعية مناسبة بعد التعرف على مستضد معين.

MC-38-CEA Cell Lines:

مشتق من سرطان غدي في القولون الفأري ومصمم للتعبير عن مستضد سرطاني مضغي بشري (CEA). معزولة من سرطان القولون في الفئران. تعبر عن مستويات أعلى من CEA مقارنة بخلايا سرطان القولون البشرية الأخرى.

B-16:

خط خلوي يعرض مورفولوجيا لخلايا على شكل مغزل وشبيهة بالظهارة تم عزلها من أنسجة جلد فأر مصاب بسرطان الجلد.

منمذجات/معدلات المناعة immune modulator:

مادة تحفز أو تثبط جهاز المناعة وقد تساعد الجسم على محاربة السرطان أو العدوى أو غيرها من الأمراض.

المحضض Promoter:

في علم الوراثة ، المحضض هو سلسلة من الدنا الذي ترتبط به البروتينات لبدء نسخ نسخة واحدة من الرنا. قد تقوم نسخة RNA بترميز بروتين ، أو يمكن أن يكون لها وظيفة في حد ذاتها ، مثل الـ tRNA أو rRNA.

Nectin-4:

مستضد مرتبط بالورم موجود على سطح معظم خلايا سرطان الظهارة البولية.

تأشيب Recombinant:

جزيئات الحمض النووي المؤشب هي جزيئات DNA تتكون من طرق مختبرية لإعادة التركيب الجيني والتي تجمع المواد الجينية من مصادر متعددة ، مما يخلق تسلسلات لا يمكن العثور عليها في الجينوم.

جسيم التهابي inflammasome:

إن الجسيمات الالتهابية هي مستقبلات ومستشعرات فطرية للجهاز المناعي تنظم تنشيط الكاسباس 1 (1-caspase) وتحفز الالتهاب استجابةً للميكروبات والجزيئات المعدية المشتقة من البروتينات المضيفة.

lymphopenia:

اضطراب لا يحتوي فيه الدم على ما يكفي من خلايا الدم البيضاء

المستقبلات المنظفة/المزيلة scavenger receptors:

المستقبلات المنظفة/المزيلة هي عائلة كبيرة ومتنوعة من مستقبلات سطح الخلية. ... تقوم بربط وإزالة البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة المعدلة.

المصادر والمراجع الرئيسية:

- Oncolytic Virotherapy: Methods in molecular biology
- Strategies for Advanced Oncolytic Virotherapy: Current Technology Innovations and Clinical Approaches

