

以毒攻毒 - 利用病毒治療癌症？

高毓婷 蘇沛晴 余佳益

財團法人國家衛生研究院 感染症與疫苗研究所

前 言

新型冠狀病毒的大爆發，讓許多人對病毒有著更深的恐懼及害怕。病毒的種類繁多，特性也不盡相同：病毒感染宿主後，有些會造成宿主立即性的細胞病變、有些不會致病、而有些則是選擇潛伏於宿主體內，待宿主免疫力低下時再伺機爆發。不同的病毒特性各異，不只感染的細胞種類不同，針對宿主所誘發的免疫反應也各不相同。若我們能了解病毒造成細胞死亡之機制，利用其選擇性死亡的特性針對癌細胞進行破壞，或許能開啟未來癌症研究及治療上的另一個契機。

癌症治療的方式

當正常細胞過度增生且缺乏分化時會形成腫瘤 (tumor)，而腫瘤細胞開始入侵周邊組織時就變成惡性腫瘤，俗稱癌症 (cancer)。癌症主要分

為兩大類，實質固態瘤 (solid tumor) 與血液惡性腫瘤。相較於全身性的血液惡性腫瘤，從局部開始產生的實質固態瘤，大部分會先採用外科手術的方式處理。若腫瘤尚侷限於某個範圍之內，醫生多半會建議直接將病變的組織切除，並搭配化學或放射線治療，預防沒有被移除乾淨的癌細胞擴散。殺死癌細胞的過程中其實也毒殺了許多正常細胞，尤其是會造成全身性傷害的化學治療，對患者身心造成極大程度的傷害，許多患者因副作用導致精神體力無法負荷而離世。目前許多癌症對於這些傳統治療方式具有抗性，因此儘管有些患者熬過化療，仍有相當高的機率再度復發。

相較於上述的傳統治療方式，標靶治療具有較高的專一性，因為只針對特定變異的腫瘤細胞進行攻擊 [1]，因此能降低對健康細胞的傷害；免疫治療則是透過調節自身免疫力 [2]，而非直接攻擊腫瘤細胞的方式去對抗癌細胞。雖然標靶治療和免

疫治療的副作用較化療小，但治療費用高昂且也可能因產生抗藥性而失效。因此，找到專一性高、副作用小、快速有效的治療方式成為大家共同的目標。

病毒治療癌症的原理及優點

過去曾發現癌症病人被某些特定病毒感染後，身上的腫瘤反而縮小的現象，因而出現了溶瘤病毒這個名詞 [3]。因為具有選擇性感染癌細胞的能力，使得溶瘤病毒療法相較於化學治療可以更專一地毒殺癌細胞、降低對健康細胞的傷害、並減少治療所造成的副作用 [4, 5]。因為病毒有自我複製的能力，所以使用低劑量的病毒即可達到治療的效果，因此不但能減少治療的次數，也能降低醫療費用的支出。溶瘤病毒可抑制多條致癌途徑、採用多種細胞毒殺的手段裂解腫瘤細胞、並能間接活化體內的免疫反應對抗腫瘤 [4]，因此相較於傳統治療較不易產生抗藥性。為了降低治療風險，一般針對癌症治療所選用的病毒株，多為不會造成人類嚴重疾病的減毒株 [6]。由於具備高度專一性、安全性、且副作用低等優點，近年的溶瘤病毒研究亦為癌症治療帶來了另一道曙光。

目前已知的溶瘤病毒

利用溶瘤病毒抗癌的方式主要分

為兩大類：一種是直接利用病毒感染並破壞癌細胞；另一種則是把病毒當作專一性載體 [7]，攜帶抗癌蛋白的基因至癌細胞內表現。溶瘤病毒療法目前在臨床試驗中，可作為主要或是輔助的治療方式 [8]。

腺病毒 (adenovirus) 目前被廣泛應用於癌症治療，包含乳癌、肺癌、胰臟癌、膀胱癌、大腸癌、卵巢癌、前列腺癌以及腦癌等 [8, 9]。提到癌症，大部分的人最畏懼的就是腦癌，而腦癌中的膠質母細胞瘤 (glioblastoma, GBM)，其惡性程度更被世界衛生組織歸類為第四等級神經膠質瘤 (glioma) [10]，這種侵襲性腫瘤因含有神經膠質瘤幹細胞 (glioma stem cells, GSCs)，使其可以抵抗細胞凋亡，具有增殖性、侵襲性、血管生成性及免疫逃脫等特性 [11]，手術及化學治療的成效不彰且治療後經常復發 [12]，溶瘤病毒療法因此被寄予厚望。

自 1999 年起，已發現多種可針對惡性神經膠質瘤的溶瘤病毒，包含新城病毒 (newcastle disease virus, NDV)、單純疱疹病毒 (herpes simplex virus, HSV)、腺病毒以及呼腸孤病毒 (reovirus) 等 [13]。針對 GBM 復發病人的臨床試驗結果顯示，利用溶瘤病毒治療並不會產生毒性與不良影響，而治療後的存活率則依據不同病毒種類、劑量及接種方式可從四個多月到九年不等 [13]。

經過二十多年的努力，截至 2022

年已有三個溶瘤病毒產品上市，包含由腺病毒改良而成的 Oncorine [14]，以及由 HSV type I 改良的 Imlytic (T-VEC) [15] 和 Delytact (G47 Δ) [16]。其中 Delytact (G47 Δ) 是第一個以治療惡性神經膠質瘤上市的溶瘤病毒，相信未來也會有更多的溶瘤病毒產品陸續上市。

治療腦癌の後起之秀

溶瘤病毒療法看似比傳統療法治療腦癌更有成效，但對於有效毒殺 GSCs 仍是深具挑戰。腦癌是生長在神經密布的大腦裡的顱內腫瘤，因此尋找具神經趨向性的溶瘤病毒比較有感染 GSCs 的機會，而茲卡病毒 (Zika virus, ZIKV) 恰巧就具有這樣的神經趨向性 [17]。目前已知茲卡病毒較易損傷胎兒神經元，對於成人細胞的傷害較小 [18]。因此，茲卡病毒藉由蚊子叮咬感染人類後，大部分的成人無明顯症狀，僅少數會有發燒等輕微症狀，而神經系統併發症在成人則十分罕見 [19]。反之，婦女需慎防懷孕期間被感染，因為若被茲卡病毒感染，有可能會產下小腦症或是神經異常的新生兒 [20]。從這些臨床數據可以觀察到，與多數可以感染不同種癌細胞的溶瘤病毒不同，茲卡病毒主要偏好感染中樞神經系統的腫瘤細胞 [21]，也因此被認為有治療成人 GBM 的潛力。

茲卡病毒如何毒殺癌細胞

轉錄因子 SOX2 及其調控的 α vb5 受體在 GSCs 中有高量的表現，其表現量與癌症的預後不良有正相關，而茲卡病毒恰巧能藉由 SOX2 所調控的 α vb5 受體感染 GSCs [22]。茲卡病毒毒殺 GBM 的機制，除了大眾相對熟知的半胱天冬酶依賴性細胞凋亡 (caspase-dependent apoptosis) 外，也會誘發與半胱天冬酶無關的細胞焦亡 (caspase-independent pyroptosis) [23]。

傳統認知的細胞焦亡 [24]，是透過活化的半胱天冬酶 (caspase) 切割細胞內的細胞焦亡執行者 gsdmerin D (GSDMD)，切割後所形成的 N 端產物 (GSDMD-N) 會寡聚化 (oligomerize) 並在細胞膜上穿孔，最終導致細胞裂解死亡 [25, 26]，此過程常會伴隨促炎細胞因子 (pro-inflammatory cytokine) 介白素 -1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 的活化及分泌 [27]。不同於傳統的活化路徑，茲卡病毒還可以透過其病毒蛋白酶 NS2B3 切割 GSDMD 誘發細胞焦亡 (圖一)。

利用茲卡病毒治療腦癌的優點

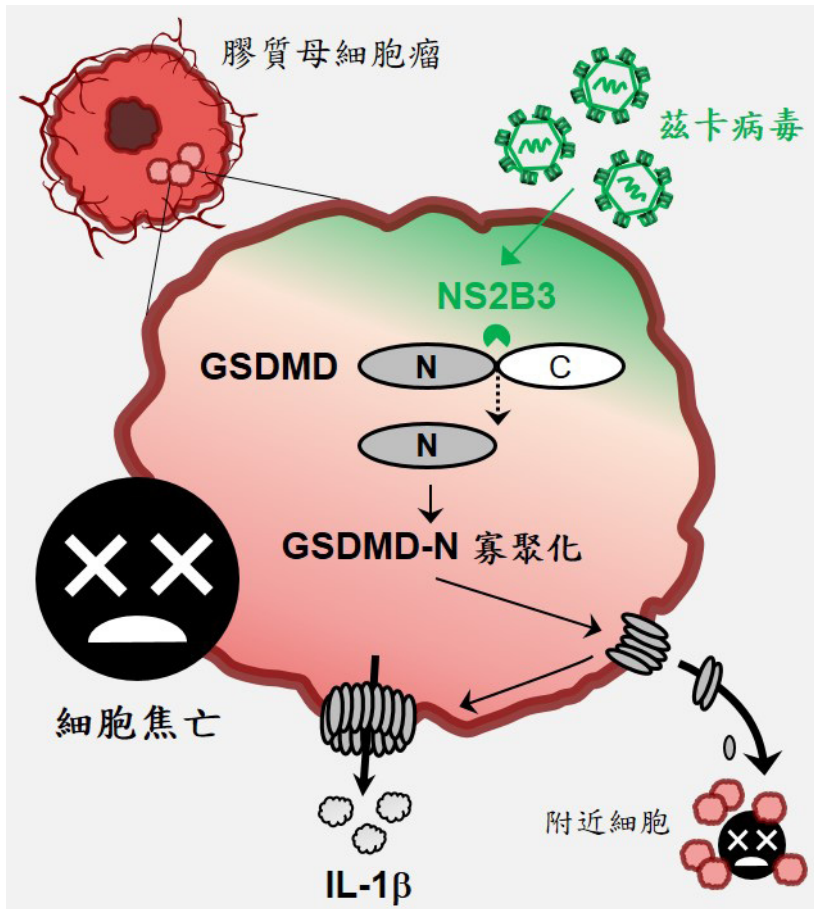
目前用來治療腦癌的溶瘤病毒多數已遍布於世界，人類可能已具有對抗這些病毒的免疫力，進而影響溶瘤病毒治療的效果；反之，茲卡病毒

主要在熱帶及亞熱帶地區傳播，且自2016年後並未有流行，因此成為治療腦癌的一大優勢。根據目前動物實驗的結果顯示，茲卡病毒可以減少腦瘤小鼠的神經性症狀、降低腫瘤的轉移率、提升老鼠的存活率，而且治療時沒有明顯的副作用產生。此外，茲卡病毒可以自我複製，而且藉由細胞焦亡所產生的GSDMD-N可從被感染的細胞釋放，並轉移至附近的細胞進行毒殺作用（圖一），這代表治療時可以使用較低劑量的茲卡病毒，有助於減少副作用降低病人治療的風

險與不適。茲卡病毒感染除了可以直接毒殺GSCs之外[21, 28]，還能同時誘發體內的免疫反應，除了伴隨細胞焦亡所分泌的IL-1 β 會促使發炎反應之外[27]，病毒感染時還會活化毒殺性T細胞，有助於腫瘤的清除，並能形成長期保護效果防止癌症復發[29]。

利用病毒治療癌症的考量

儘管溶瘤病毒可以專一的毒殺癌細胞，但使用病毒還是會有致病風



圖一 茲卡病毒利用自身蛋白酶誘發膠質母細胞瘤細胞焦亡的機制

險，能以越少量、毒性越低的病毒治療，越能提高安全性。雖然溶瘤病毒有殺死癌細胞的能力，但是為了避免毒殺效果太強而造成周邊組織傷害，治療前建議先預防性準備抗病毒、抗細胞死亡、或是抗發炎藥物。此外，由於並非所有人都適合相同的治療方式，若能於治療前評估患者是否適合溶瘤病毒療法，就可以最少的醫療資源獲得最理想的治療效果，達到精準醫療的目標。

以茲卡病毒為例，其溶瘤機制可透過病毒蛋白酶切割 GSDMD 誘發癌細胞的死亡。目前已知大多數台灣人的 GSDMD 可以被病毒蛋白酶所切割；但世上仍有少數帶有特殊 GSDMD 變體 (variant) 的人，他們的 GSDMD-N 無法於細胞膜上穿孔誘發癌細胞死亡，因此可能不適用茲卡病毒療法 [23]。在溶瘤病毒進入臨床試驗之前，測試病毒的安全劑量、評估治療時誘發的免疫反應、準備能控制病毒的藥物、及確認哪些病人適合治療，都是必要、而且重要的準備工作。

如何提升溶瘤病毒的療效及安全性

溶瘤病毒攻擊癌細胞但也會被免疫細胞辨認攻擊，為了維持病毒複製及擴散的能力，在治療時可考慮搭配使用免疫抑制劑，如化療藥物 Cyclophosphamide (CPA)，不僅能

抑制先天免疫反應、增加溶瘤病毒的複製、也能抑制腫瘤生長 [30]。除了直接毒殺癌細胞外，溶瘤病毒也可效法癌症疫苗的策略，在病毒感染時攜帶癌症相關抗原 Tumor-associated antigens (TAAs) [31]，增加對抗腫瘤的後天免疫反應，以提升溶瘤病毒免疫治療的效力。

由於使用野生型 (wild-type) 溶瘤病毒會有安全上的疑慮，因此安全性較高且保有療效的減毒株成為新的研究趨勢。茲卡病毒移除其基因組 3 端非轉譯區 (3'UTR) 的 10 個核苷酸 (nucleotide) 所生成的減毒株，雖然於動物體內病毒 RNA 複製能力降低，但卻能誘發高量的中和性抗體及 T 細胞反應，非但不會造成病毒血症 (viremia)，更能顯著地提升實驗動物的存活率 [32, 33]。

若排斥以活病毒治療，也可使用病毒毒殺癌細胞的武器加以取代，例如會引發細胞焦亡的茲卡病毒 NS2B3 蛋白，或是會在細胞膜上穿孔的 GSDMD-N [23]。不同溶瘤病毒各有其優缺點，同時使用多種病毒截長補短，亦或是結合其他癌症治療方式，有望能提升溶瘤病毒的療效及安全性。

結語

根據今年衛福部統計處公布的 111 年國內十大死因，位居台灣十大死因之冠的癌症 [34]，無疑是人們最

害怕的疾病之一。治療癌症往往是艱苦漫長的過程，儘管耗費大量的時間與金錢，也不能保證是否能治癒。如果可以增加腫瘤治療的專一性、提升治療的效果、及降低治療的次數，那麼就能減少癌症治療對病人造成的副作用，與降低患者的經濟負擔。溶瘤病毒因為對腫瘤細胞具有高度專一性、不容易產生抗藥性，除了直接殺死癌細胞之外，還能誘發免疫反應防止癌症復發，使它成為癌症治療的一大曙光。儘管如此，詳細了解病毒治療癌症的機制、審慎評估病毒療法的風險、並預防各種突發狀況，才能更安全有效的利用病毒療法來治療癌症。

參考文獻

- Zafar A, Wang W, Liu G, et al: Molecular targeting therapies for neuroblastoma: Progress and challenges. *Med Res Rev* 2021;41: 961-1021.
- Suzuki S, Ishida T, Yoshikawa K, et al: Current status of immunotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2016;46: 191-203.
- Kelly E, Russell SJ: History of oncolytic viruses: genesis to genetic engineering. *Mol Ther* 2007;15: 651-9.
- Kaufman HL, Kohlhapp FJ, Zloza A: Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. *Nat Rev Drug Discov* 2015;14: 642-62.
- Peruzzi P, Chiocca EA: Viruses in cancer therapy - from benchwarmers to quarterbacks. *Nat Rev Clin Oncol* 2018;15: 657-58.
- van den Pol AN, Davis JN: Highly attenuated recombinant vesicular stomatitis virus VSV-12'GFP displays immunogenic and oncolytic activity. *J Virol* 2013;87: 1019-34.
- Tang C, Li L, Mo T, et al: Oncolytic viral vectors in the era of diversified cancer therapy: from preclinical to clinical. *Clin Transl Oncol* 2022;24: 1682-701.
- Raja J, Ludwig JM, Gettinger SN, et al: Oncolytic virus immunotherapy: future prospects for oncology. *J Immunother Cancer* 2018;6: 140.
- Fukuhara H, Ino Y, Todo T: Oncolytic virus therapy: a new era of cancer treatment at dawn. *Cancer Sci* 2016;107: 1373-79.
- Stoyanov GS, Lyutfi E, Georgieva R, et al: Reclassification of glioblastoma multiforme according to the 2021 world health organization classification of central nervous system tumors: a single institution report and practical significance. *Cureus* 2022;14: e21822.
- Alvarado AG, Thiagarajan PS, Mulkearns-Hubert EE, et al: Glioblastoma cancer stem cells evade innate immune suppression of self-renewal through reduced TLR4 expression. *Cell Stem Cell* 2017;20: 450-61.
- Stupp R, Hegi ME, Mason WP, et al: Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009;10: 459-66.
- Foreman PM, Friedman GK, Cassady KA, et al: Oncolytic virotherapy for the treatment of malignant glioma. *Neurotherapeutics* 2017;14(2):333-44.
- Liang M: Oncorine, the world first oncolytic virus medicine and its update in China. *Curr Cancer Drug Targets* 2018;18: 171-76.
- Zhang T, Jou TH, Hsin J, et al: Talimogene laherparepvec (T-VEC): a review of the recent advances in cancer therapy. *J Clin Med* 2023;12: 1098.
- Todo T, Ito H, Ino Y, et al: Intratumoral oncolytic herpes virus G47 Δ for residual or recurrent glioblastoma: a phase 2 trial. *Nat Med* 2022;28: 1630-39.
- Lubin JA, Zhang RR, Kuo JS: Zika virus has oncolytic activity against glioblastoma stem cells. *Neurosurgery* 2018;82: 113-14.
- Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM, et al: Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. *N Engl J Med* 2016;374: 2142-51.
- Musso D, Gubler DJ: Zika Virus. *Clin Microbiol Rev* 2016;374: 951-8.
- Mlakar J, Korva M, Tul N, et al: Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med* 2016; 374:951-8.

21. Kaid C, Goulart E, Caires-Junior LC, et al: Zika virus selectively kills aggressive human embryonal CNS tumor cells in vitro and in vivo. *Cancer Res* 2018;78: 3363-74.
22. Zhu Z, Mesci P, Bernatchez JA, et al: Zika virus targets glioblastoma stem cells through a SOX2-Integrin alpha(v)beta(5) Axis. *Cell Stem Cell* 2020;26: 187-204.
23. Kao YT, Wang HI, Shie CT, et al: Zika virus cleaves GSDMD to disseminate prognosticable and controllable oncolysis in a human glioblastoma cell model. *Mol Ther Oncolytics* 2023;28: 104-17.
24. Aglietti RA, Dueber EC: Recent insights into the molecular mechanisms underlying pyroptosis and gasdermin family functions. *Trends Immunol* 2017; 38: 261-71.
25. Liu X, Zhang Z, Ruan J, et al: Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores. *Nature* 2016;535: 153-8.
26. Sborgi L, Ruhl S, Mulvihill E, et al: GSDMD membrane pore formation constitutes the mechanism of pyroptotic cell death. *EMBO J* 2016;35: 1766-78
27. Evavold CL, Ruan J, Tan Y, et al: The pore-forming protein gasdermin D regulates interleukin-1 secretion from living macrophages. *Immunity* 2018; 48: 35-44.
28. Zhu Z, Gorman MJ, McKenzie LD, et al: Zika virus has oncolytic activity against glioblastoma stem cells. *J Exp Med* 2017;214: 2843-57.
29. Chen L, Zhou C, Chen Q, et al: Oncolytic Zika virus promotes intratumoral T cell infiltration and improves immunotherapy efficacy in glioblastoma. *Mol Ther Oncolytics* 2022;24: 522-34.
30. Fulci G, Breyman L, Gianni D, et al: Cyclophosphamide enhances glioma virotherapy by inhibiting innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103: 12873-8.
31. Bartlett DL, Liu Z, Sathiaiah M, et al: Oncolytic viruses as therapeutic cancer vaccines. *Mol Cancer* 2013;12: 103.
32. Shan C, Muruato AE, Nunes BT, et al: A live-attenuated Zika virus vaccine candidate induces sterilizing immunity in mouse models. *Nat Med* 2017;23: 763-67.
33. Chen Q, Wu J, Ye Q, et al: Treatment of human glioblastoma with a live attenuated Zika virus vaccine candidate. *mBio* 2018;9(5): 1683-18.
34. 衛生福利部 (112, 6 月 12 日)。111 年國人死因統計結果。摘自 <https://www.mohw.gov.tw/cp-16-74869-1.html>