

ویروس درمانی سرطان‌ها: هدف‌گیری سلول‌های سرطانی به وسیله مکانیسم microRNA به منظور تکثیر انتخابی ویروس‌های لیزکننده تومور در این سلول‌ها

احسان کاکاوندی^۱ (Ph.D Student)، محمد شایسته پور^{۳*} (Ph.D)، شراره مقیم^۵ (Ph.D)

۱- گروه ویروس‌شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۲- مرکز پژوهش‌های علمی دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- گروه میکروپزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۴- مرکز تحقیقات بیماری‌های اتوایمیون، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۵- گروه باکتری‌شناسی و ویروس‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۶/۲۹

shayestehpour-m@kaums.ac.ir

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۶۲۱۲۲۸۴۰

چکیده

سرطان به عنوان یکی از جدی‌ترین مشکلات بهداشت عمومی، دومین علت مرگ و میر در جهان بعد از بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود. تعداد مبتلایان به این بیماری و مرگ و میر ناشی از آن به طور روزافزونی در سراسر دنیا در حال افزایش است، لذا تشخیص زودهنگام، پیشگیری و درمان مناسب سرطان اهمیت فراوانی دارد. درمان‌های رایج مانند شیمی‌درمانی و پرتودرمانی، اغلب به صورت غیرانتخابی عمل کرده و عوارض جانبی فراوانی دارند. استفاده از ویروس‌های لیزکننده تومور (ویروس درمانی)، روشی جدید برای درمان سرطان است. معضل روش ویروس درمانی غیرانتخابی بودن تکثیر ویروس در سلول‌های سرطانی است بدین مفهوم که ویروس در سلول‌های نرمال هم همانندسازی می‌کند. در سال‌های اخیر برای مهار همانندسازی ویروس در سلول‌های سالم و انتخابی کردن تکثیر آن در تومورها، از روش‌های مختلفی استفاده شده است که روش هدف‌گیری microRNA (miRNA) جدیدترین متد است. این مقاله مروری، جنبه‌های مختلف انتخابی کردن تکثیر ویروس‌های لیزکننده تومور به وسیله مکانیسم هدف‌گیری miRNA را مورد بررسی قرار می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: ویروس‌های لیزکننده تومور، سرطان، میکرو آر ان ای

مقدمه

سرطان به عنوان مهم‌ترین و پرهزینه‌ترین بیماری در جهان مطرح است [۱]. سازمان بهداشت جهانی (WHO) پیش‌بینی می‌کند تا سال ۲۰۲۵، سرطان شایع‌ترین عامل مرگ و میر در دنیا شود [۲]. این سازمان در سال ۲۰۱۳ برنامه‌های کنترلی خود را جهت کاهش موارد مرگ و میر ناشی از سرطان ارائه کرد. بیماری سرطان سومین عامل مرگ و میر در کشور ایران بوده و به اعتقاد محققین علوم پزشکی، تعداد مبتلایان به سرطان در ۱۰ سال آینده به دو برابر میزان فعلی افزایش می‌یابد. در حال حاضر در ایران ۳۵۰ تا ۴۰۰ هزار نفر مبتلا به انواع سرطان هستند و سالانه حدود ۸۵ هزار بیمار جدید به آمار موجود اضافه می‌گردند که سالیانه ۳۰۰۰۰ نفر جان خود را از دست می‌دهند [۳-۵].

گسترش روزافزون این بیماری، لزوم تشخیص زودهنگام، پیشگیری و درمان مناسب را بیش از پیش آشکار می‌سازد [۶].

درمان بیماری سرطان، یک معضل جهانی است و تحقیقات فراوانی جهت ارتقاء روش‌های درمانی موجود در حال انجام است [۷]. درمان‌های رایج مانند شیمی‌درمانی و پرتودرمانی، اغلب به صورت غیرانتخابی عمل کرده و عوارض جانبی فراوانی دارند [۸]. برخی از ویروس‌ها به سمت تومورها و سلول‌های سرطانی گرایش دارند و سبب تخریب تومور می‌گردند که به آن‌ها ویروس‌های آنکولایتیک یا لیزکننده تومور گویند [۹-۱۱]. استفاده از این ویروس‌ها در درمان سرطان به ویروس درمانی مشهور است. به طور کلی تحقیقات ویروس درمانی در دو زمینه گسترش یافته‌اند. زمینه اول تلاش جهت ایجاد خاصیت تکثیر انتخابی برای ویروس‌ها است؛ یعنی این‌که ویروس فقط در سلول‌های توموری تکثیر یابد و در سلول‌های طبیعی بدن فعالیت مخرب نداشته باشد [۱۲]. در زمینه دوم، تحقیقات به افزایش توان ضدتوموری ویروس‌ها می‌پردازد [۱۳]. به این نکته باید توجه کرد که ایجاد حالت تکثیر انتخابی برای ویروس‌ها

همانندسازی ویروس در سلول‌های غیرتوموری کاهش می‌یابد اما همچنان توانایی تکثیر در سلول سرطانی را دارد [۲۰، ۱۹]. تاکنون مقاله‌ای که در خصوص این روش نوین تنظیم تکثیر ویروس‌ها اطلاعات مروری و جامعی را در اختیار محققین قرار دهد منتشر نشده است. لذا در این مطالعه مروری، مکانیسم هدف‌گیری miRNA برای کنترل تکثیر ویروس‌ها را بررسی می‌کنیم.

ویروس‌های لیزکننده تومور. برخی از ویروس‌ها به سمت تومورها و سلول‌های سرطانی گرایش دارند و با همانندسازی سریع و وسیع، سلول توموری را تخریب می‌کنند. مرگ برنامه‌ریزی شده سریع، تشخیص توسط سیستم ایمنی و سرکوب ترجمه، از جمله مکانیسم‌های سلول‌های سالم در مقابله با ویروس‌ها هستند. این مکانیسم‌ها در سلول‌های توموری نقص دارند که می‌تواند توجیه‌کننده تمایل ویروس‌ها به تکثیر بیشتر در این سلول‌ها باشد. در واقع می‌توان گفت سلول سرطانی در مقایسه با سلول طبیعی سالم، توان کم‌تری برای مقابله با ویروس داشته و نسبت به آن حساس‌تر است [۲۱].

ویروس‌های لیزکننده تومور از چندین مکانیسم جهت تخریب سلول‌های سرطانی استفاده می‌کنند. برخی از ویروس‌ها مانند آدنوویروس و هرپس سیمپلکس، در سلول توموری تکثیر کرده و مستقیماً سلول را لیز می‌کنند. هم‌چنین گاهی پروتئین‌های ویروسی برای سلول خاصیت سمی دارند یا سبب التهاب ضدتوموری می‌شوند [۲۲-۲۴]. در جدول ۱ رایج‌ترین ویروس‌های لیزکننده تومور به همراه معایب و مزایای آن‌ها ذکر شده‌اند؛ علاوه بر این، ویروس‌های سرخک، نیوکاسل، پولیو، سیندیسیس، میکسوما و کوکساکسی نیز در ویروس‌درمانی مطرح هستند [۲۲].

زیربنای سایر تحقیقات ویروس‌درمانی است زیرا در درجه اول باید کاری کرد که ویروس فقط در ناحیه توموری همانندسازی کند و در سلول‌های سالم طبیعی تکثیر نکند تا عوارض جانبی اندکی داشته و برای انسان قابل کاربرد باشد. با توجه به این‌که ویروس‌ها به راحتی از سلولی به سلول دیگر می‌روند و به سرعت منتشر می‌شوند تحقیقات در زمینه تکثیر انتخابی مشکل و البته بسیار ارزشمند است.

با ظهور روش‌های نوین بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک، دانشمندان توانسته‌اند حتی ویروس‌هایی که به طور ذاتی انتخابی نیستند را دست‌کاری کنند تا صرفاً در تومورها تکثیر یابند [۱۴]. تاکنون سه استراتژی جهت اعمال تغییرات در ژنوم ویروس‌ها به‌کار گرفته شده است که به انتخابی شدن همانندسازی ویروس در سلول‌های سرطانی منجر می‌گردد:

۱. حذف مناطقی از ژنوم که برای همانندسازی ویروس در سلول‌های سالم ضروری هستند اما برای تکثیر آن در سلول‌های سرطانی لازم نیستند [۱۵].

۲. دست‌کاری ساختارهای سطحی ویروس می‌تواند گرایش آن را به سمت سلول‌های توموری بیش‌تر کند [۱۶].

۳. مکانیسم سوم، تعویض آغازگر ژن‌های ضروری ویروس با آغازگر ژن‌های اختصاصی بیان‌شونده در سلول‌های سرطانی است [۱۷].

جدیدترین روش برای هدف‌گیری همانندسازی ویروس در سلول‌های توموری، قرار دادن توالی‌های مکمل RNAهای کوچک غیرکدکننده (miRNA) در انتهای ژن‌های ضروری است [۱۸]. در این شرایط، تکثیر ویروس تا حد زیادی وابسته به غلظت miRNA مد نظر است. در این روش، با توجه به اختلاف غلظت miRNAها بین سلول‌های طبیعی و توموری،

جدول ۱. مزایا و معایب ویروس‌های لیزکننده تومور رایج در تحقیقات ویروس‌درمانی

ویروس	مزایا	معایب
آدنوویروس تیپ ۵	دستکاری آسان، مشخص بودن تکثیر و نقش پروتئین‌های کلیدی، عدم ایجاد بیماری شدید	تکثیر گسترده در سلول‌ها و عدم مهار آن به آسانی، گرایش به گستره زیادی از سلول‌های مختلف بدن
هرپس سیمپلکس تیپ یک	تکثیر سریع، خاصیت لیزکنندگی زیاد، وجود دارو جهت جلوگیری از موارد تکثیر بی‌رویه و ناخواسته ویروس	ژنوم بزرگ و عدم امکان دستکاری‌های سریع و کم‌هزینه، ناشناخته بودن نقش دقیق بسیاری از پروتئین‌های ویروسی، بیماری‌زایی و عوارض جانبی، نهفتگی ویروس
رئوویروس	عدم ایجاد بیماری شدید و مهم، آگاهی از عملکرد اغلب پروتئین‌های ویروسی	دستکاری سخت و پرهزینه به دلیل ماهیت ژنومی RNA، مشکل بودن مهار تکثیر ناخواسته ویروس
واکسینیا	دستکاری آسان	بیماری‌زایی و عوارض جانبی، مشکل بودن مهار تکثیر ناخواسته ویروس، عملکرد ناشناخته برخی از پروتئین‌ها و ژن‌ها
وزیکولار استوماتیت‌های ویروسی	بیماری‌زایی خفیف، آگاهی از عملکرد تمامی پروتئین‌های ویروسی	دستکاری سخت به دلیل ماهیت ژنومی RNA، مشکل بودن مهار تکثیر ناخواسته ویروس

از این عناصر استفاده کردند. مهار بیان نوکلئاز در سلول‌های تولیدکننده، موجب رهایی ویروس بدون محدودیت بیان در سلول‌های هدف گردید [۳۳].

دست‌کاری تروپیسیم ویروس‌ها، از مکانیسم هدف‌گیری miRNA هم‌چنین می‌توان جهت تنظیم تروپیسیم ویروس‌های لیزکننده تومور به منظور افزایش اختصاصیت به تومور و جلوگیری از توکسیسیتی‌های ناخواسته استفاده نمود [۳۴]. این مسأله اولین بار به‌وسیله وارد کردن عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA در 3' UTR ویروس کوکساکسی A21 اثبات گردید. ویروس کوکساکسی A21 معمولاً التهاب عضلانی‌کننده ایجاد می‌کند [۳۵]. نتایج بررسی‌ها نشان داد، با وارد کردن عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA بدون آن‌که هیچ‌گونه تاثیری بر خاصیت ضد توموری وارد شود، توکسیسیتی به‌طور کامل حذف می‌گردد. از آن زمان تاکنون، این استراتژی در مورد بسیاری از ویروس‌ها به کار رفته و ممکن است استفاده بالینی از ویروس‌های لیزکننده تومور با توان تقویت شده را تسهیل کند. میزان ایمن بودن ویروس‌های درمانی را می‌توان با حذف نمودن ژن‌های غیرضروری برای تکثیر ویروس بهبود بخشید، اگر چه این کار معمولاً با تضعیف شدن ویروس و کاهش توان آن همراه خواهد شد [۳۶-۳۹]. با این وجود، عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA می‌توانند بدون منجر شدن به تضعیف ویروس، بیان ژن را کنترل کنند. معمولاً برای تولید آدنوویروس‌هایی که تکثیر انتخابی در سلول‌های توموری دارند، ژن‌های E1A و E1B را حذف می‌کنند که منجر به تضعیف شدن ویروس می‌گردد.

Yao و همکارانش نوعی آدنوویروس لیزکننده تومور تولید کردند که ناحیه E1A آن حاوی جایگاه اتصال میکرو آر ان ای بود. آن‌ها نشان دادند که این ویروس (OA-4MREs) در مقایسه با ONYX-015 (یک آدنوویروس با یک حذف در ژن E1B که به‌طور بالینی ارزیابی شده است) موجب افزایش سایتوتوکسیسیتی تومور درکشت سلول می‌گردد. OA-4MREs بر خلاف ONYX-015، نوروتوکسیسیتی و هیپاتوتوکسیسیتی را مهار کرد و در عوض، فعالیت لیزکننده تومور از خود نشان داد و هم‌چنین موجب زنده ماندن طولانی مدت موش‌های دارای تومور گردید [۴۰]. در حالی که یافته‌های پیش‌بالینی حاکی از آن است که هدف‌گیری miRNA ممکن است برای حذف توکسیسیتی در مدل‌های حیوانی کارآمد باشد، ترکیبی از استراتژی‌های هدف‌گیری به‌خصوص برای ویروس‌های بدون تخفیف حدت در انسان‌ها محتاطانه‌تر به نظر می‌رسد. قرار دادن ژن E1A تحت کنترل miRNA-122 اختصاصی کبد در آدنوویروس-۶ که هیپاتوتوکسیسیتی آن کاهش یافته، در مقایسه با آدنوویروس-۵ یا ۶- دست‌کاری

تنظیم بیان ژن از طریق هدف‌گیری miRNA ایده به‌کارگیری miRNA جهت محدود کردن بیان ژن در بافت‌های هدف، برای نخستین بار با استفاده از هدف‌گیری miR-142-3p (اختصاصی سلول‌های هماتوپوئیتیک) جهت مهار بیان ترانس ژن‌های لنتی ویروسی در سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن نشان داده شد [۲۵]. وارد کردن توالی‌های miRNA هدف در 3' UTR ترانس ژن باعث شد بیان در بافت‌هایی که miRNA خاصی را بیان می‌کردند، به‌طور معناداری کاهش یابد ولی در بافت‌هایی که آن miRNA را بیان نمی‌کردند، کاهش نیابد. این رویکرد به سرعت برای جلوگیری از توکسیسیتی‌های ناخواسته و هم‌چنین افزایش اختصاصیت بافتی مورد استفاده قرار گرفت [۲۶، ۲۷]. بیان ژن خارجی از وکتورهای ویروسی مانند آدنوویروس (Ad)، ویروس مرتبط با آدنو (AAV) و باکلوویروس، می‌تواند قابل کنترل باشد و شاخص‌های درمانی آن‌ها با افزودن عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA (یا miRNA response elements (MREs)) افزایش می‌یابد [۲۸-۳۰].

استفاده از این استراتژی هدف‌گیری، در پژوهش‌های متعددی بررسی شده است که نتایج این تحقیقات حاکی از افزایش اختصاصیت بافتی بسیاری از ژن‌های درمانی کد شده توسط ویروس است. لیگاند القاکننده مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی وابسته به فاکتور نکروزدهنده بافتی (TRAIL)، سایتوکاینی است که به‌طور انتخابی موجب القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌گردد. در مطالعات پیش‌بالینی اخیر، از عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA به منظور کنترل بیان این سایتوکاین استفاده شده که نتایج حاصله نشان‌دهنده فعالیت ضد سرطانی قوی TRAIL است. هم‌چنین مطالعات بالینی آگونیست‌های گیرنده TRAIL نشان داد که اگر چه این عوامل به خوبی تحمل می‌شوند اما فعالیت ضد توموری قابل قبولی ندارند. یک توضیح محتمل برای این پدیده این است که به‌علت نگرانی‌های اولیه در مورد هیپاتوتوکسیسیتی، آگونیست‌های نسبتاً ضعیف انتخاب می‌شدند. بنابراین، آگونیست‌های قوی‌تر ممکن است نتایج بالینی بهتری داشته باشند و هم‌چنین توکسیسیتی‌های ناخواسته مهار شوند. چندین گروه از محققان در مطالعات خود نشان دادند که عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA می‌توانند موجب اختصاصیت توموری و کاهش توکسیسیتی TRAIL در درمان مدل سرطان‌های گلیوما، ملانوما، استئوسارکوما و پروستات شوند [۳۱، ۳۲].

عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA هم‌چنین در تولید ویروس‌های بیان‌کننده ترانس ژن‌ها کاربرد دارند. به عنوان مثال Savdaminova و همکارانش به منظور ویرایش ژن اختصاصی سلول به وسیله آدنوویروس‌های تغییر یافته بیان‌کننده نوکلئاز،

miR-Let-7 به طور گسترده‌ای برای کنترل واکسن‌های تضعیف شده ویروس فلج اطفال، ویروس وزیکولار استوماتیت، ویروس واکسینیا، ویروس آدنو و ویروس هرپس سیمپلکس لیزکننده تومور استفاده می‌شوند [۴۰، ۴۲-۴۵]. در مطالعات متعددی به منظور تغییر تروپیسیم ویروسی، به طور هم‌زمان از چند هدف miRNA استفاده شده است [۲۵، ۴۰، ۴۶-۴۸] (جدول ۲). این شواهد ممکن است باعث شود که استفاده از چند هدف miRNA مختلف، به‌عنوان متد انتخابی شناخته شود زیرا در این روش احتمال اشباع یک miRNA کاهش می‌یابد. بنابراین، توانایی حذف هم‌زمان توکسیسیتی‌های ناخواسته مختلف، پتانسیل ورود ویروس‌های لیزکننده تومور با توان بالا را به عرصه بالینی افزایش می‌دهد. Fu و همکارانش، هدف‌های miR-Let-7، miR-122 و miR-124 را ترکیب کردند تا با یک پروموتور اختصاصی کبد، ژن گلیکوپروتین H ویروس هرپس سیمپلکس لیزکننده تومور را کنترل کنند و یک ویروس هرپس سیمپلکس ضد توموری با توان بالا تولید نمایند [۴۹].

نشده، به‌طور چشمگیری میزان ایمن بودن را بهبود بخشیده و امکان تجویز دوزهای بالاتر را فراهم می‌نماید [۳۷]. تروپیسیم هرپس سیمپلکس ویروس لیزکننده تومور بدون تخفیف حدت می‌تواند به‌وسیله عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA تغییر داده شود [۴۱]. Mazzacurati و همکارانش یک ویروس هرپس سیمپلکس لیزکننده تومور وحشی با قابلیت اتصال به واریانت-۳ گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی تولید کردند که یک ژن ICP4 تحت تنظیم miR-124 کد می‌کند. تکثیر در بافت مغز طبیعی و هم‌چنین توکسیسیتی در موش‌های nude کاهش داشت ولی فعالیت لیزکننده تومور علیه تومورهای مولتی فرم گلیوبلاستوما اولیه انسانی هم‌چنان حفظ شد [۴۲]. هدف‌گیری چندبافت با استفاده از روش miRNA تروپیسیم چندبافتی می‌تواند به‌وسیله هدف‌گیری یک miRNA که در همه بافت‌ها حضور دارد یا چند miRNA متفاوت، تنظیم شود. خانواده miRNAهای Let-7 نقش سرکوب‌کننده تومور دارند و در بسیاری از سرطان‌ها کاهش می‌یابند. عوامل پاسخ‌دهنده به

جدول ۲. ویروس های لیزکننده تومور انتخابی شده به وسیله مکانیسم هدف گیری miRNA

منبع	کاربرد	تعداد اهداف طراحی شده در ژنوم ویروس	miRNA هدف گیری شده	ویروس
[۶۳]	سرطان سینه	۵	miR-145	آدنوویروس
[۶۴]	سرطان سینه	۱۰	miR-145	آدنوویروس
[۶۵]	سرطان کبد	۴	miR-199	آدنوویروس
[۶۶]	سرطان کبد	۴	miR-145 - miR-143 miR-let7a-miR-199a	آدنوویروس
[۶۷]	سرطان کبد	۸	miR148a	آدنوویروس
[۶۸]	سرطان کبد	۸	miR let-7	آدنوویروس
[۶۹]	سرطان پانکراس	۸	miR-148a miR-216a	آدنوویروس
	سرطان کلون	۱	miR-143	آدنوویروس
[۷۰]	سرطان کبد	۴	miR-122	آدنوویروس تیپ شش
[۷۱]	کاهش نورویرولانسی ویروس	۶	miR-124	سمپلیکی فورست
[۷۲]	کاهش گرایش ویروس به سلول های قلبی	۳	miRNA- miRNA-133 206	کوکساکسی ویروس B3
[۷۳]	کاهش گرایش به قلب و مغز	۴	miR-125 -miR-124 miR-208-miR-133	منگوویروس
[۷۴]	سرطان کبد	۸	miR-let-7a	واکسینیا
[۷۵]	سرطان مغز	۳	miR-7	سرخک
[۷۶]	سرطان پانکراس	۳	miR-7 -miR-122 miR-148a	سرخک
[۷۷]	سرطان ریه	۳	miR-let-7	وزیکولار استوماتیت
[۷۸]	سرطان کبد	۴	mir-124a-miR-122a miR-let-7a	هرپس ویروس
[۷۹]	سرطان ریه	۴	miR-145	هرپس ویروس

است کاربرد بالینی داشته باشد چرا که ویروس سرخک در دوزهای بسیار بالا اثربخشی بالینی دارد [۵۶]. مشکل آنجاست که به منظور بهبود اثربخشی درمانی، هر چه دوز و توان این ویروس افزایش می‌یابد، توکسیسیتی‌های بافت‌های غیر هدف ممکن است مشکل‌ساز شود. نتایج مطالعات انجام شده با هدف تغییر تروپیسیم ویروس وزیکولار استوماتیت نشان داد که هدف‌گیری ژن پلی مرز (L) به وسیله miRNA، کارایی بیش‌تری نسبت به هدف‌گیری ژن کدکننده پروتئین ماتریکس (M) دارد. علت این پدیده می‌تواند به عوامل مختلفی مربوط باشد از جمله: ۱- مقادیر پایین پروتئین L به علت رونویسی گرادیدانی ویروس وزیکولار استوماتیت ۲- تاثیر قابل توجه پلی‌مرز بر روی تکثیر ویروس که ممکن است هدف‌گیری ژنوم‌های ویروسی را تقلید کند ۳- دسترسی بیش‌تر به هدف miRNA. زمانی که از عناصر پاسخ‌دهنده به miR-125b برای کنترل بیان پروتئین L استفاده شود، تروپیسیم ویروس وزیکولار استوماتیت تغییر می‌کند و نوروکسیسیتی کاهش می‌یابد. نتایج این پژوهش نشان داد، در ۹۰٪ موش‌هایی که این ویروس به آن‌ها تزریق شده بود، متعاقب تزریق دوز کشنده ویروس وزیکولار استوماتیت وحشی (تغییر داده نشده) مصونیت در برابر نوروپاتوژن‌ز ایجاد می‌شود. با این وجود، یک موش به انسفالیت مبتلا گردید اما موتاسیونی در توالی‌های هدف آن مشاهده نشد که نشان می‌دهد شکل‌گیری این عنصر پاسخ‌دهنده به miRNA برای حذف نوروکسیسیتی کافی نیست. زمانی که ژنوم‌های ویروسی در مقایسه با mRNA‌های ویروسی هدف‌گیری شوند، خاموش شدن وابسته به miRNA اثربخشی بیش‌تری دارد. اگرچه این پدیده در ویروس‌های RNA دار منفی مشاهده نشد. سرعت تکثیر ویروس وزیکولار استوماتیت بالا است و mRNAها به‌طور مداوم تولید می‌شوند که پتانسیل فرار از شناسایی شدن توسط miRNA و یا اشباع آن را افزایش می‌دهد. هدف‌گیری یک ژن ممکن است کافی نباشد، ولی کنترل هم‌زمان چند ژن مختلف ممکن است تضمین لازم را در این خصوص ایجاد کند. جایگاه درون 3' UTR ممکن است برای وارد کردن هدف، بهینه نباشد و احتمالاً با وارد کردن هدف miRNA در داخل قالب خواندن باز ژن، کنترل بیش‌تری حاصل خواهد شد که در این خصوص می‌توان ویروس سیندیس را مثال زد [۵۷]. بنابراین miRNA‌های انتخاب شده ممکن است بهینه نباشند. مهار چند miRNA از جمله miR-125b حساسیت سلول‌های اپی‌تلیال برونش انسانی به عفونت با ویروس وزیکولار استوماتیت را افزایش می‌دهد [۵۸]. به منظور استفاده ایمن و اثربخش از استراتژی‌های هدف‌گیری miRNA، باید تاثیر ویروس‌ها و miRNA‌های هدف‌گیری شده بر روی

تنوع هدف‌گیری miRNA، ویروس‌های RNA دار و DNA دار، قابلیت ایجاد هدف‌گیری miRNA را دارند (جدول ۲). تاکنون، اکثر ویروس‌های RNA دار هدف‌گیری شده با miRNA، دارای ژنوم تک رشته‌ای با پلارینه مثبت بوده‌اند. این ویروس‌ها به این استراتژی هدف‌گیری، به خوبی پاسخ می‌دهند که احتمالاً می‌تواند به دلیل هدف‌گیری توام ژنوم ویروسی و mRNAها باشد. با این وجود، فقط تعداد کمی از ویروس‌های RNA دار منفی شامل ویروس آنفلوانزا A، ویروس وزیکولار استوماتیت و ویروس سرخک با استفاده از عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA هدف‌گیری شده‌اند. تصور بر آن است که هدف‌گیری ویروس‌های RNA دار منفی مشکل‌تر باشد زیرا دسترسی عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA به تاخیر می‌افتد به این علت که کپسیدگذاری ژنوم ویروسی هم‌زمان با رونویسی و تکثیر اتفاق می‌افتد. عناصر پاسخ‌دهنده به miRNA که ژنوم ویروس آنفلوانزا A یا ویروس وزیکولار استوماتیت را هدف می‌گیرند، منجر به خاموش شدن وابسته به miRNA نمی‌شوند [۵۱، ۵۰]. بنابراین، پاسخ‌های miRNA در ویروس‌های RNA دار منفی احتمالاً محدود به mRNAها، افزایش بار هدف‌گیری miRNA از طریق تولید مداوم mRNAها و افزایش پتانسیل اشباع miRNAها باشد. هدف‌گیری miRNA برای تولید یک واکسن زنده ضعیف شده ایمن و اثربخش ویروس آنفلوانزا A و هم‌چنین به منظور تولید ویروسی که در بین راسوهای اهلی انتقال یابد ولی به انسان‌ها منتقل نشود، استفاده شده است [۵۳، ۵۲]. علاوه بر این، Chua و همکارانش، از تکنولوژی هدف‌گیری miRNA برای تسهیل پژوهش‌های مداخله‌ای بر روی تکثیر ویروس آنفلوانزا A استفاده کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که هدف‌گیری پروتئین غیر ساختاری (ns1) به وسیله miRNA، به‌طور معناداری بیان را در سطح mRNA و پروتئین کاهش می‌دهد، ولی تاثیری بر روی تکثیر ویروس در شرایط درون‌تنی و برون‌تنی ندارد. این قضیه اهمیت انتخاب ژن‌هایی را نشان می‌دهد که بیان آن‌ها به میزان چشمگیری تکثیر ویروس را برای هدف‌گیری بهینه تحت تاثیر قرار می‌دهند [۵۴]. ویروس سرخک نیز قابلیت هدف‌گیری miRNA را دارد [۵۵]. اخیراً یک ویروس سرخک تغییر هدف داده شده چند بافتی تنظیم شده به وسیله miR-7، miR-122، miR-148a تولید شد [۴۷]. نتایج بررسی‌ها نشان داد که گسترش ویروسی در حضور این miRNAها محدود می‌شود، اما تغییری در فعالیت لیزکننده تومور علیه زئونگرافت‌های کارسینوم پانکراس حاصل نشد. ارزیابی استفاده از این استراتژی هدف‌گیری مشکل است زیرا ویروس سرخک نمی‌تواند در سلول‌های موشی تکثیر کند. البته این مطالعه ممکن

مستعد تکثیر، دو نگرانی در استفاده از این استراتژی وجود دارد: ۱- اولین نگرانی در مورد فرار ویروس های جهش یافته است، همان طور که در ویروس های هدف گیری شده با miRNA از جمله کوکساکسی ویروس A21، ویروس فلج اطفال و ویروس دنگی دیده شده است [۶۰، ۴۳، ۳۵]. استفاده از توالی های هدف کاملاً مکمل در مناطق تکراری و در نواحی مختلف پایدار سرتاسر ژنوم، پتانسیل فرار بر اثر موتاسیون را کاهش می دهد [۵۹، ۵۷]. این قضیه بر اهمیت آزمون و خطا در مهندسی ویروس های لیزکننده تومور هدف گیری شده با miRNA تاکید دارد. ۲- دومین نگرانی، احتمال اثرات ناخواسته بر روی ماشین miRNA میزبان است. اشباع ماشین miRNA می تواند موجب توکسیسیته، تغییر ترانسکریپتوم سلولی و در نهایت بیماری شود. استفاده از هدف های کاملاً مکمل به منظور تغییر تروپیسزم ویروسی، امکان بازیافت سریع miRNA را فراهم می کند. از سوی دیگر، استفاده از عناصر پاسخ دهنده به miRNA مختلف و تعیین حداقل تعداد هدف miRNA مورد نیاز، پتانسیل اشباع miRNA را کاهش خواهد داد [۶۱، ۵۹]. استفاده از روش های درمانی مبتنی بر miRNA، در سلول میزبان نیز می تواند به طور مشابهی پروتئین های دخیل در بیوستتاز miRNA را اشباع کند ولی اگر سطح بیان آن ها تنظیم نباشد، منجر به ایجاد تنگ ناهایی در این مسیر خواهد شد. افزایش بیان pre-miRNA ها از طریق اشباع پروتئین های اکسپورتین دخیل در انتقال از هسته به سیتوپلاسم، می تواند منجر به تجمع RNA های کوچک درون هسته شود.

بنابراین در هنگام ارزیابی ایمن بودن درمان های مبتنی بر ویروس های لیزکننده تومور کدکننده miRNA، باید بیوژنز miRNA و پاسخ های پیش التهابی بافت های نرمال در مدل های حیوانی که از نظر بالینی به انسان شبیه هستند را نیز بررسی نمود. ویروس ها توانایی تنظیم بیوژنز miRNA در سلول های آلوده را دارند و این مسئله ممکن است موجب مهار توانایی آن ها در درمان های مبتنی بر miRNA شود. آدنوویروس ها یک RNA غیر کدکننده به نام VA1 را بیان می کنند که عملکرد اکسپورتین-۵ را اشباع کرده و باعث مهار بیوژنز miRNA می شود. پاکس ویروس ها موجب تجزیه همه miRNA های میزبان به جز siRNA های 2' O- متیله می شوند. برای طراحی ابزارهای delivery ویروس های لیزکننده تومور، این فاکتورها باید مد نظر قرار داده شوند [۶۲].

بحث و نتیجه گیری

هدف گیری miRNA می تواند یک مکانیسم موثر جهت هدف گیری اختصاصی تر ویروس های لیزکننده تومور به

ترانسکریپتوم، شرایط ضد ویروسی و پاسخ التهابی به خوبی مطالعه و بررسی شود.

رهنمودهایی برای اجرای هدف گیری بهینه به کمک miRNA عوامل متعددی در اثربخشی هدف گیری تکثیر ویروس با استفاده از این روش نقش دارند [۵۹]. افزایش بیان miRNA با افزایش فعالیت تنظیمی ارتباط دارد و برخی miRNA های خاص در خاموش سازی ژن نسبت به سایرین کارایی بیشتری دارند [۵۹، ۵۰]. هم چنین توالی های هدف کاملاً مکمل، تنظیم miRNA-ژن را القا نموده و پتانسیل اشباع miRNA را کاهش می دهند زیرا توالی های مکمل می توانند در هسته برش بخورند که امکان بازیافت سریع miRNA را فراهم می نماید. این پدیده نیازمند همراهی miRNA با یک پروتئین Argonaute دارای فعالیت برش درون هسته ای است. به طور کلی افزایش تعداد توالی های هدف، اثربخشی هدف گیری را افزایش می دهد، اگر چه این قضیه همیشه صادق نیست و پیشنهاد می گردد که تعداد بهینه هدف برای هر miRNA تعیین شود. میزان بیان ژن هدف گیری شده، به کینتیک تکثیر و گرادیان رونویسی ویروس نسبت داده می شود که می تواند ظرفیت تنظیمی عناصر پاسخ دهنده به miRNA را تحت تاثیر قرار دهد زیرا مقادیر mRNA های رقابت کننده هدف گیری شده با miRNA مورد استفاده قرار خواهد گرفت.

محل وارد شدن، یک عامل اساسی در القای فعالیت سرکوب کنندگی است. اگر چه بیشتر عناصر پاسخ دهنده به miRNA در ناحیه 3' UTR از mRNA ها یافت می شوند، انتقال آن ها به 5' UTR یا قالب خواندن باز یک ژن یا ژنوم می تواند اثربخشی بیشتری داشته باشد [۵۷]. محل های وارد شدن نیازمند دسترسی بالایی به miRNA هدف است که می تواند از طریق ساختارهای ثانویه ای که به طور طبیعی توسط ویروس شکل می گیرد یا ساختارهای دیگری که توسط توالی های هدف وارد شده ایجاد می شود، مهار گردد. به طور کلی اگر هدف، مهار بیان ژن باشد، انتخاب یک miRNA با بیان بالا و وارد کردن ۴ تا ۶ نسخه از عناصر پاسخ دهنده به miRNA که کاملاً مکمل باشند، در ناحیه ای با ساختار ثانویه کم و به خوبی محافظت شده، یک محل شروع بهینه است [۵۹]. با این وجود، ارزیابی و بهینه سازی تنظیم miRNA، نیازمند آزمون و خطا هم در سطح مهندسی ژنوم ویروس برای تولید ویروس های نو ترکیب پایدار و هم در سطح کل ارگانیسم یک مدل مشابه است.

نگرانی های استفاده از مکانیسم هدف گیری miRNA اگر چه هدف گیری miRNA مزایای فراوانی نسبت به سایر استراتژی های فعلی دارد، این رویکرد بدون نگرانی هم نیست. با توجه به پتانسیل تکثیر و میزان بالای خطا در ویروس های

<https://doi.org/10.3389/fonc.2021.624759>

PMid:33738260 PMCID:PMC7960920

[8] Szemitzko M, Golubinska-Szemitzko E, Wilk-Milczarek E, Falkowski A. Side effect/complication risk related to injection branch level of chemoembolization in treatment of metastatic liver lesions from colorectal cancer. *J Clin Med* 2021; 10: 121.

<https://doi.org/10.3390/jcm10010121>

PMid:33396449 PMCID:PMC7796013

[9] Abd-Aziz N, Poh CL. Development of oncolytic viruses for cancer therapy. *Transl Res* 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.trsl.2021.04.008>

PMid:33905949

[10] Shayestehpour M. Oncolytic viruses: can be applicable tools for cancer therapy? *J Virus Adapt Treat* 2020; 1: 1-2.

<https://doi.org/10.14302/issn.2691-8862.jvat-18-2209>

[11] Shayestehpour M. The potential ability of microRNA-targeted human adenovirus type 5 to replicate and Lyse breast cancer cells 2nd international congress on biomedicine. *Iran Biomed* 2019; p: 45. (Persian).

[12] Shayestehpour M, Yazdani S, Mokhtari-Azad T, Yavarian J. Construction of an oncolytic adenovirus for selective replication in breast cancer cells. The 12 th International Congress on Breast Cancer; 2017 Feb 22-24; Tehran, Iran.

[13] Chaurasiya S, Fong Y, Warner SG. Oncolytic virotherapy for cancer: clinical experience. *Biomedicines* 2021; 9: 419.

<https://doi.org/10.3390/biomedicines9040419>

PMid:33924556 PMCID:PMC8069290

[14] Moaven O, Mangieri CW, Stauffer JA, Anastasiadis PZ, Borad MJ. Strategies to develop potent oncolytic viruses and enhance their therapeutic efficacy. *JCO Precis Oncol* 2021; 5: 733-743.

<https://doi.org/10.1200/PO.21.00003>

PMid:34250395 PMCID:PMC8232397

[15] Heise C, Hermiston T, Johnson L, Brooks G, Sampson-Johannes A, Williams A, et al. An adenovirus E1A mutant that demonstrates type and selective systemic anti-tumoral efficacy. *Nat Med* 2000; 6: 1134-1139.

<https://doi.org/10.1038/80474>

PMid:11017145

[16] Eriksson M, Guse K, Bauerschmitz G, Virkkunen P, Tarkkanen M, Tanner M, et al. Oncolytic adenoviruses kill breast cancer initiating CD44+CD24-/low cells. *Mol Ther* 2007; 15: 2088-2093.

<https://doi.org/10.1038/sj.mt.6300300>

PMid:17848962

[17] Zhu ZB, Makhija SK, Lu B, Wang M, Rivera AA, Kim-Park S, et al. Incorporating the survivin promoter in an infectivity enhanced CRAAd-analysis of oncolysis and anti-tumor effects in vitro and in vivo. *Int J Oncol* 2005; 27: 237-246.

<https://doi.org/10.3892/ijo.27.1.237>

PMid:15942665

[18] Shayestehpour M. The potential ability of micro RNA targeted human adenovirus type 5 to replicate and lyse breast cancer cells. The 2nd International Congress on Biomedicine; 2018 Dec 24-27; Tehran, Iran.

[19] Singh HM, Leber MF, Bossow S, Engeland CE, Dessila J, Grossardt C, et al. MicroRNA-sensitive oncolytic measles virus for chemovirotherapy of pancreatic cancer. *Mol Ther Oncolytics* 2021; 21: 340-355.

<https://doi.org/10.1016/j.omto.2021.04.015>

PMid:34141871 PMCID:PMC8182383

[20] Liu H, Xue YC, Deng H, Mohamud Y, Ng CS, Chu A, et al. MicroRNA modification of coxsackievirus B3 decreases its toxicity, while retaining oncolytic potency against lung cancer. *Mol Ther Oncolytics* 2021; 20: 1-2.

<https://doi.org/10.1016/j.omto.2020.12.002>

PMid:33575465 PMCID:PMC7844118

[21] Trehub Y, Havrilov A. Oncolytic viruses as immunotherapeutic agents. *Cancer Immunol* 2021; p: 509-541.

https://doi.org/10.1007/978-3-030-50287-4_27

[22] Vähä-Koskela MJ, Heikkilä JE, Hinkkanen AE. Oncolytic viruses in cancer therapy. *Cancer Lett* 2007; 254: 178-216.

سلول‌های هدف باشد. این مکانیسم جالب تاکنون جهت انتخابی کردن تکثیر چندین ویروس استفاده شده است و مطالعات در این حیطه ادامه دارد. هر چند نگرانی‌هایی جهت استفاده از مکانیسم هدف‌گیری miRNA وجود دارد اما استفاده از تکنیک‌های صحیح مهندسی ژنوم ویروس، این نگرانی‌ها را کاهش داده است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از حمایت‌های معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان و مرکز پژوهش‌های علمی دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی تهران کمال سپاس و قدردانی را دارند.

مشارکت و نقش نویسندگان

محمد شایسته پور و شراره مقیم: ایده و طراحی مطالعه، احسان کاکاوندی: جمع آوری داده‌ها، محمد شایسته پور و احسان کاکاوندی: آنالیز و تفسیر نتایج، احسان کاکاوندی: نگارش نسخه اولیه مقاله. همه نویسندگان نتایج را بررسی نموده و نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

منابع

- [1] Shayestehpour M, Ehsani M, Dadkhah D, Zamani B. A case of antiphospholipid syndrome following gastric signet ring cell adenocarcinoma. *Am J Case Rep* 2020; 21: e919037. <https://doi.org/10.12659/AJCR.919037> PMid:31953377 PMCID:PMC6979475
- [2] Johnson S, Tittenbrun Z, Romero Y, Torode J, Frech S, Abdel-Wahab M, et al. The World Cancer Declaration: time to consolidate wins and work towards 2025. *The Lancet Oncol* 2021; 22: 296-298. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00012-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00012-7)
- [3] Roshandel G, Ferlay J, Ghanbari-Motlagh A, Partovipour E, Salavati F, Aryan K, et al. Cancer in Iran 2008 to 2025: Recent incidence trends and short-term predictions of the future burden. *Int J Cancer* 2021; 149: 594-605. <https://doi.org/10.1002/ijc.33574> PMid:33884608
- [4] Karimi-Zarchi M, Hajimaghsoudi N, Tabatabai A, Moghimi M, Shayestehpour M, Doosti M. Prevalence of high-risk human papillomavirus types among women screened for cervical cancer in Yazd, Iran, and comparison of cytology, histology, and colposcopy results. *Jundishapur J Microbiol* 2020; 13: e100573. (Persian). <https://doi.org/10.5812/jjm.100573>
- [5] Shayestehpour M. Selective replication capability of adenovirus 5 in breast cancer cells by inserting the target sequences of microRNA-145 in the end of E1A gene. *Iran: Tehran Univ Med Sci* 2016. (Persian).
- [6] Doosti M, Bakhshesh M, Zahir ST, Shayestehpour M, Karimi-Zarchi M. Lack of Evidence for a relationship between high risk human papillomaviruses and breast cancer in Iranian patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016; 17: 4357-4361.
- [7] Badie F, Ghandali M, Tabatabaei SA, Safari M, Khorshidi A, Shayestehpour M, et al. Use of salmonella bacteria in cancer therapy: direct, drug delivery and combination approaches. *Front Oncol* 2021; 11: 624759.

- cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 591-603.
<https://doi.org/10.1007/s00432-004-0577-4>
- [37] Zhang Z, Zhang X, Newman K, Liu X. MicroRNA regulation of oncolytic adenovirus 6 for selective treatment of castration-resistant prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 2410-2418.
<https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-12-0157>
 PMid:22914437
- [38] Luo J, Xia Q, Zhang R, Lv C, Zhang W, Wang Y, et al. Treatment of cancer with a novel dual-targeted conditionally replicative adenovirus armed with mda-7/IL-24 gene. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2450-2457.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-4596>
 PMid:18413837
- [39] He X, Liu J, Yang C, Su C, Zhou C, Zhang Q, et al. 5/35 fiber-modified conditionally replicative adenovirus armed with p53 shows increased tumor-suppressing capacity to breast cancer cells. *Hum Gene Ther* 2011; 22: 283-292.
<https://doi.org/10.1089/hum.2010.058>
 PMid:20846024
- [40] Yao W, Guo G, Zhang Q, Fan L, Wu N, Bo Y. The application of multiple miRNA response elements enables oncolytic adenoviruses to possess specificity to glioma cells. *Virology* 2014; 458: 69-82.
<https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.04.007>
 PMid:24928040
- [41] Lee CY, Rennie PS, Jia WW. MicroRNA regulation of oncolytic herpes simplex virus-1 for selective killing of prostate cancer cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5126-5135.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0051>
 PMid:19671871
- [42] Mazzacurati L, Marzulli M, Reinhart B, Miyagawa Y, Uchida H, Goins WF, et al. Use of miRNA response sequences to block off-target replication and increase the safety of an unattenuated, glioblastoma-targeted oncolytic HSV. *Mol Ther* 2015; 23: 99-107.
<https://doi.org/10.1038/mt.2014.177>
 PMid:25200130 PMCID:PMC4426800
- [43] Barnes D, Kunitomi M, Vignuzzi M, Saksela K, Andino R. Harnessing endogenous miRNAs to control virus tissue tropism as a strategy for developing attenuated virus vaccines. *Cell Host Microbe* 2008; 4: 239-248.
<https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.08.003>
 PMid:18779050 PMCID:PMC2605097
- [44] Edge RE, Falls TJ, Brown CW, Lichty BD, Atkins H, Bell JC. A let-7 MicroRNA-sensitive vesicular stomatitis virus demonstrates tumor-specific replication. *Mol Ther* 2008; 16: 1437-1443.
<https://doi.org/10.1038/mt.2008.130>
 PMid:18560417
- [45] Hikichi M, Kidokoro M, Haraguchi T, Iba H, Shida H, Tahara H, Nakamura T. MicroRNA regulation of glycoprotein B5R in oncolytic vaccinia virus reduces viral pathogenicity without impairing its antitumor efficacy. *Mol Ther* 2011; 19: 1107-1115.
<https://doi.org/10.1038/mt.2011.36>
 PMid:21386827 PMCID:PMC3129806
- [46] Sugio K, Sakurai F, Katayama K, Tashiro K, Matsui H, Kawabata K, et al. Enhanced safety profiles of the telomerase-specific replication-competent adenovirus by incorporation of normal cell-specific microRNA-targeted sequences. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2807-2818.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-2008>
 PMid:21346145
- [47] Bartsch MA, Leber MF, Bossow S, Singh M, Engeland C, Albert J, et al. MicroRNA-mediated multi-tissue detargeting of oncolytic measles virus. *Cancer Gene Ther* 2014; 21: 373-380.
<https://doi.org/10.1038/cgt.2014.40>
 PMid:25145311
- [48] Bofill-De Ros X, Gironella M, Fillat C. miR-148a-and miR-216a-regulated oncolytic adenoviruses targeting pancreatic tumors attenuate tissue damage without perturbation of miRNA activity. *Mol Ther* 2014; 22: 1665-1677.
<https://doi.org/10.1038/mt.2014.98>
 PMid:24895996 PMCID:PMC4435498
- <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2007.02.002>
 PMid:17383089 PMCID:PMC7126325
- [23] Campbell SA, Gromeier M. Oncolytic viruses for cancer therapy II. Cell-internal factors for conditional growth in neoplastic cells. *Onkologie* 2005; 28: 209-215.
<https://doi.org/10.1159/000084010>
 PMid:15840970
- [24] Wong HH, Lemoine NR, Wang Y. Oncolytic viruses for cancer therapy: overcoming the obstacles. *Viruses* 2010; 2: 78-106.
<https://doi.org/10.3390/v2010078>
 PMid:20543907 PMCID:PMC2883714
- [25] Brown BD, Venneri MA, Zingale A, Sergi LS, Naldini L. Endogenous microRNA regulation suppresses transgene expression in hematopoietic lineages and enables stable gene transfer. *Nat Med* 2006; 12: 585-591.
<https://doi.org/10.1038/nm1398>
 PMid:16633348
- [26] Colin A, Faideau M, Dufour N, Auregan G, Hassig R, Andrieu T, et al. Engineered lentiviral vector targeting astrocytes in vivo. *Glia* 2009; 57: 667-679.
<https://doi.org/10.1002/glia.20795>
 PMid:18942755
- [27] Papapetrou EP, Kovalovsky D, Beloeil L, Sant'Angelo D, Sadelain M. Harnessing endogenous miR-181a to segregate transgenic antigen receptor expression in developing versus post-thymic T cells in murine hematopoietic chimeras. *J Clin Invest* 2009; 119: 157-168.
<https://doi.org/10.1172/JCI37216>
 PMid:19033646 PMCID:PMC2613472
- [28] Suzuki T, Sakurai F, Nakamura SI, Kouyama E, Kawabata K, Kondoh M, et al. miR-122a-regulated expression of a suicide gene prevents hepatotoxicity without altering antitumor effects in suicide gene therapy. *Mol Ther* 2008; 16: 1719-1726.
<https://doi.org/10.1038/mt.2008.159>
- [29] Geisler A, Jungmann A, Kurreck J, Poller W, Katus H, Vetter R, et al. microRNA122-regulated transgene expression increases specificity of cardiac gene transfer upon intravenous delivery of AAV9 vectors. *Gene Ther* 2011; 18: 199-209.
<https://doi.org/10.1038/gt.2010.141>
 PMid:21048795
- [30] Xie J, Xie Q, Zhang H, Ameres SL, Hung JH, Su Q, et al. MicroRNA-regulated, systemically delivered rAAV9: a step closer to CNS-restricted transgene expression. *Mol Ther* 2011; 19: 526-535.
<https://doi.org/10.1038/mt.2010.279>
 PMid:21179009 PMCID:PMC3048189
- [31] Bo Y, Guo G, Yao W. MiRNA-mediated tumor specific delivery of TRAIL reduced glioma growth. *J Neuro Oncol* 2013; 112: 27-37.
<https://doi.org/10.1007/s11060-012-1033-y>
 PMid:23338605
- [32] Liu J, Ma L, Li C, Zhang Z, Yang G, Zhang W. Tumor-targeting TRAIL expression mediated by miRNA response elements suppressed growth of uveal melanoma cells. *Mol Oncol* 2013; 7: 1043-1055.
<https://doi.org/10.1016/j.molonc.2013.08.003>
 PMid:24001901 PMCID:PMC5528445
- [33] Saydaminova K, Ye X, Wang H, Richter M, Ho M, Chen H, et al. Efficient genome editing in hematopoietic stem cells with helper-dependent Ad5/35 vectors expressing site-specific endonucleases under microRNA regulation. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2015; 2: 14057.
<https://doi.org/10.1038/mtm.2014.57>
 PMid:26052525 PMCID:PMC4448996
- [34] Kelly EJ, Russell SJ. MicroRNAs and the regulation of vector tropism. *Mol Ther* 2009; 17: 409-416.
<https://doi.org/10.1038/mt.2008.288>
 PMid:19107117 PMCID:PMC2835080
- [35] Kelly EJ, Hadac EM, Greiner S, Russell SJ. Engineering microRNA responsiveness to decrease virus pathogenicity. *Nat Med* 2008; 14: 1278.
<https://doi.org/10.1038/nm.1776>
 PMid:18953352
- [36] Su CQ, Sham J, Xue HB, Wang XH, Chua D, Cui ZF, et al. Potent antitumoral efficacy of a novel replicative adenovirus CNHK300 targeting telomerase-positive cancer

- cells. *Future Virol* 2016; 11: 671-680.
<https://doi.org/10.2217/fvl-2016-0069>
- [64] Shayestehpour M, Moghim S, Salimi V, Jalilvand S, Yavarian J, Romani B, Mokhtari-Azad T. Targeting human breast cancer cells by an oncolytic adenovirus using microRNA-targeting strategy. *Virus Res* 2017; 240: 207-214.
<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2017.08.016>
 PMID:28867494
- [65] Callegari E, Elamin BK, D'Abundo L, Falzoni S, Donvito G, Moshiri F, et al. Anti-tumor activity of a miR-199-dependent oncolytic adenovirus. *PLoS One* 2013; 8: e73964.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073964>
 PMID:24069256 PMCID:PMC3771938
- [66] Sugio K, Sakurai F, Katayama K, Tashiro K, Matsui H, Kawabata K, et al. Enhanced safety profiles of the telomerase-specific replication-competent adenovirus by incorporation of normal cell-specific microRNA-targeted sequences. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2807-2818.
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-2008>
 PMID:21346145
- [67] Bofill-De Ros X, Villanueva E, Fillat C. Late-phase miRNA-controlled oncolytic adenovirus for selective killing of cancer cells. *Oncotarget* 2015; 6: 6179-6190.
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.3350>
 PMID:25714032 PMCID:PMC4467430
- [68] Jin H, Lv S, Yang J, Wang X, Hu H, Su C, et al. Use of microRNA Let-7 to control the replication specificity of oncolytic adenovirus in hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One* 2011; 6: e21307.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021307>
 PMID:21814544 PMCID:PMC3140979
- [69] Bofill-De Ros X, Gironella M, Fillat C. miR-148a- and miR-216a-regulated oncolytic adenoviruses targeting pancreatic tumors attenuate tissue damage without perturbation of miRNA activity. *Mol Ther* 2014; 22: 1665-1677.
<https://doi.org/10.1038/mt.2014.98>
 PMID:24895996 PMCID:PMC4435498
- [70] Zhang Z, Zhang X, Newman K, Liu X, Seth P. MicroRNA regulation of oncolytic adenovirus 6 for selective treatment of castration-resistant prostate cancer. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 2410-2418.
<https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-12-0157>
 PMID:22914437
- [71] Ylösmäki E, Martikainen M, Hinkkanen A, Saksela K. Attenuation of Semliki Forest virus neurovirulence by microRNA-mediated detargeting. *J Virol* 2013; 87: 335-344.
<https://doi.org/10.1128/JVI.01940-12>
 PMID:23077310 PMCID:PMC3536368
- [72] He F, Yao H, Wang J, Xiao Z, Xin L, Liu Z, et al. Coxsackievirus B3 engineered to contain microRNA targets for muscle-specific microRNAs displays attenuated cardiotropic virulence in mice. *J Virol* 2015; 89: 908-916.
<https://doi.org/10.1128/JVI.02933-14>
 PMID:25339771 PMCID:PMC4300646
- [73] Ruiz AJ, Hadac EM, Nace RA, Russell SJ. MicroRNA-detargeted mengovirus for oncolytic virotherapy. *J Virol* 2016; 90: 4078-4092.
<https://doi.org/10.1128/JVI.02810-15>
 PMID:26865716 PMCID:PMC4810567
- [74] Hikichi M, Kidokoro M, Haraguchi T, Iba H, Shida H, Tahara H, Nakamura T. MicroRNA regulation of glycoprotein B5R in oncolytic vaccinia virus reduces viral pathogenicity without impairing its antitumor efficacy. *Mol Ther* 2011; 19: 1107-1115.
<https://doi.org/10.1038/mt.2011.36>
 PMID:21386827 PMCID:PMC3129806
- [75] Leber MF, Bossow S, Leonard VH, Zaoui K, Grossardt C, Frenzke M, et al. MicroRNA-sensitive oncolytic measles viruses for cancer-specific vector tropism. *Mol Ther* 2011; 19: 1097-1106.
<https://doi.org/10.1038/mt.2011.55>
 PMID:21468006 PMCID:PMC3129790
- [76] Baertsch MA, Leber MF, Bossow S, Singh M, Engeland CE, Albert J, et al. MicroRNA-mediated multi-tissue detargeting of oncolytic measles virus. *Cancer Gene Ther* 2014; 21: 373-380.
<https://doi.org/10.1038/cgt.2014.40>
 PMID:25145311
- [49] Fu X, Rivera A, Tao L, De Geest B, Zhang X. Construction of an oncolytic herpes simplex virus that precisely targets hepatocellular carcinoma cells. *Mol Ther* 2012; 20: 339-346.
<https://doi.org/10.1038/mt.2011.265>
 PMID:22146341 PMCID:PMC3277243
- [50] Kelly EJ, Nace R, Barber GN, Russell SJ. Attenuation of vesicular stomatitis virus encephalitis through microRNA targeting. *J Virol* 2010; 84: 1550-1562.
<https://doi.org/10.1128/JVI.01788-09>
 PMID:19906911 PMCID:PMC2812322
- [51] Varble A, Chua MA, Perez JT, Manicassamy B, García-Sastre A. Engineered RNA viral synthesis of microRNAs. *Proc Natl Acad Sci* 2010; 107: 11519-11524.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1003115107>
 PMID:20534531 PMCID:PMC2895125
- [52] Perez JT, Pham AM, Lorini MH, Chua MA, Steel J. MicroRNA-mediated species-specific attenuation of influenza A virus. *Nat Biotechnol* 2009; 27: 572.
<https://doi.org/10.1038/nbt.1542>
 PMID:19483680
- [53] Langlois RA, Albrecht RA, Kimble B, Sutton T, Shapiro JS, Finch C, et al. MicroRNA-based strategy to mitigate the risk of gain-of-function influenza studies. *Nat Biotechnol* 2013; 31: 844.
<https://doi.org/10.1038/nbt.2666>
 PMID:23934176 PMCID:PMC3808852
- [54] Chua MA, Schmid S, Perez JT, Langlois RA. Influenza A virus utilizes suboptimal splicing to coordinate the timing of infection. *Cell Rep* 2013; 3: 23-29.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.12.010>
 PMID:23333274 PMCID:PMC3563938
- [55] Leber MF, Bossow S, Leonard VH, Zaoui K, Grossardt C, Frenzke M, et al. MicroRNA-sensitive oncolytic measles viruses for cancer-specific vector tropism. *Mol Ther* 2011; 19: 1097-1106.
<https://doi.org/10.1038/mt.2011.55>
 PMID:21468006 PMCID:PMC3129790
- [56] Russell SJ, Federspiel MJ, Peng KW, Tong C, Dingli D, Morice WG, et al, editors. Remission of disseminated cancer after systemic oncolytic virotherapy. *Mayo Clin Proc* 2014; Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2014.04.003>
 PMID:24835528 PMCID:PMC4225126
- [57] Kueberuwa G, Cawood R, Tedcastle A, Seymour LW. Tissue-specific attenuation of oncolytic sindbis virus without compromised genetic stability. *Hum Gene Ther* 2014; 25: 154-165.
<https://doi.org/10.1089/hgtb.2013.202>
 PMID:24568203
- [58] Yarbrough ML, Zhang K, Sakthivel R, Forst CV, Posner BA, Barber GN, et al. Primate-specific miR-576-3p sets host defense signalling threshold. *Nat Commun* 2014; 5: 1-10.
<https://doi.org/10.1038/ncomms5963>
 PMID:25232931 PMCID:PMC4170571
- [59] Brown BD, Naldini L. Exploiting and antagonizing microRNA regulation for therapeutic and experimental applications. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 578-585.
<https://doi.org/10.1038/nrg2628>
 PMID:19609263
- [60] Pham AM, Langlois RA. Replication in cells of hematopoietic origin is necessary for Dengue virus dissemination. *PLoS Pathog* 2012; 8: e1002465.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002465>
 PMID:22241991 PMCID:PMC3252368
- [61] Gentner B, Schira G, Giustacchini A, Amendola M, Brown BD, Ponzoni M, Naldini L. Stable knockdown of microRNA in vivo by lentiviral vectors. *Nat Methods* 2009; 6: 63.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.1277>
 PMID:19043411
- [62] Tenoever BR. RNA viruses and the host microRNA machinery. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro2971>
 PMID:23411862
- [63] Shayestehpour M, Moghim S, Salimi V, Jalilvand S, Yavarian J, Romani B, et al. Selective replication of miR-145-regulated oncolytic adenovirus in MCF-7 breast cancer

<https://doi.org/10.1038/mt.2011.265>

PMid:22146341 PMCID:PMC3277243

[79] Li JM, Kao KC, Li LF, Yang TM, Wu CP, Horng YM, et al. MicroRNA-145 regulates oncolytic herpes simplex virus-1 for selective killing of human non-small cell lung cancer cells. *Virology J* 2013; 10: 241.

<https://doi.org/10.1186/1743-422X-10-241>

PMid:23876001 PMCID:PMC3734208

[77] Edge RE, Falls TJ, Brown CW, Lichty BD, Atkins H, Bell JC. A let-7 MicroRNA-sensitive vesicular stomatitis virus demonstrates tumor-specific replication. *Mol Ther* 2008; 16: 1437-1443.

<https://doi.org/10.1038/mt.2008.130>

PMid:18560417

[78] Fu X, Rivera A, Tao L, De Geest B, Zhang X. Construction of an oncolytic herpes simplex virus that precisely targets hepatocellular carcinoma cells. *Mol Ther* 2012; 20: 339-346.

Cancer virotherapy: Targeting cancer cells by microRNA mechanism for selective replication of oncolytic viruses in these cells

Ehsan Kakavandi (Ph.D Student)^{1,2}, Mohammad Shayestehpour (Ph.D)^{*3,4}, Sharareh Moghim (Ph.D)⁵

1 – Dept. of Virology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 - Students' Scientific Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Dept. of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

4- Autoimmune Diseases Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

5- Dept. of Bacteriology and Virology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Science, Isfahan, Iran

* Corresponding author. +98 09362122840 shayestehpour-m@kaums.ac.ir

Received: 1 Jun 2021; Accepted: 20 Sep 2021

Cancer, as one of the most serious public health problems, is the second-leading cause of death in the world after cardiovascular disease. The number of patients and the resulting mortality are increasing worldwide; therefore, early diagnosis, prevention, and effective treatment of cancer are very important. Current treatments such as chemotherapy and radiation therapy are often non-selective and have side effects. The use of oncolytic viruses (viral therapy) is a new approach to treating cancer. One problem with viral therapy is the lack of selective replication for the virus in cancer cells, meaning that the virus replicates in normal cells. In recent years, various methods have been used to inhibit virus replication in healthy cells and to make selective replication in tumors. Correspondingly, MiRNA targeting is the newest method. The present review article describes the different aspects of making selectivity for replication of oncolytic viruses by the miRNA targeting mechanism.

Keywords: Oncolytic Viruses, Neoplasms, MicroRNA