DOI: 10.22092/VJ.2026.373630.2290 No:152 autumn 1405 *Veterinary Research & Biological Products*

Review Article

Oncolytic strains of Newcastle disease virus in cancer therapy: from virological characteristics to the evaluation of biological production challenges

Sima Azadmanesh [1]. Bahman Khalesi [*2] .Shahin Masoudi [2]. Mohammad majid Ebrahimi [2]. Ayoub Salimi [2].

1. Department of Anaerobic Vaccine Research and Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.

2. Department of Research and Production of Poultry Viral Vaccine, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.

Submited: 2026-07-21 Accepted: 2026-09-01

Revised: 2026-09-01 Published: 2026-10-01

* Corresponding author: B.KHALESI@Rvsri.ac.ir

Introduction: Newcastle disease virus (NDV) is a highly contagious paramyxovirus that infects domestic and wild birds and, depending on the strain, can cause a range of clinical manifestations from severe disease to completely asymptomatic infection. Several NDV strains have attracted considerable interest in recent years for clinical applications due to their oncolytic properties. The relative safety of NDV in humans makes NDV a promising virotherapeutic agent for the treatment of human malignancies. Depending on the viral strain, less virulent strains are considered safe for use as vaccines against Newcastle disease. It appears that all NDV strains exhibit tumor-selective replication in both mouse and human cells. However, lentogenic strains display monocyclic replication behavior, whereas more pathogenic strains show multicyclic replication. In the field of oncology, these strains are also being studied for use in oncolytic virotherapy in mammals. **Objective:** This review study examines the genetics of the virus, the mechanisms of oncolytic activity, the behavioral differences among NDV strains in their response to cancer cells , the characteristics of oncolytic NDV strains used in cancer therapy, and the challenges associated with their production. **Result:** Multiple strains with different characteristics, such as La Sota, MTH-68/H, and NDV-HUJ, are used as oncolytic strains. Some strains have also been genetically engineered to enhance their effectiveness in cancer treatment. **Conclusion:** Due to its high immunogenicity in humans, lack of pre-existing immunity, specificity for cancer cells, and ability to stimulate the immune system, NDV is considered a highly promising candidate for cancer therapy. For the large-scale production of oncolytic strains, and given the limitations of traditional SPF egg-based production systems, the development of cell culture methods and the identification of new cell lines are recommended.

Keywords: Newcastle virus, Oncolytic virotherapy, Apoptosis, syncytia, Cell culture

Authors retain the copyright and full publishing rights.
Published by Razi Vaccine & Serum Research Institute This article is an open access article licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک شماره ۱۵۲، پاییز ۱۴۰۵ DOI: 10.22092/VJ.2026.373630.2290

مقاله مروری

سویه‌های انکولایتیک ویروس نیوکاسل در درمان سرطان: از خصوصیات ویروس شناختی تا بررسی چالش‌های تولید بیولوژیک

سیما آزاد منش [۱]، بهمن خالصی [۲*]، شهین مسعودی [۲]، محمد مجید ابراهیمی [۲]، ایوب سلیمی [۲]

۱ .بخش تحقیق و تولید واکسن های بی هوازی دامی ، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۲ .بخش تحقیق و تولید واکسن های ویروسی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۴/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۶/۱۰ تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۷/۰۱

* نویسنده مسئول: B.KHALESI@Rvsri.ac.ir

چکیده

مقدمه: ویروس بیماری نیوکاسل (NDV) یک پارامیکسوویروس بسیار مسری و آلوده‌کننده پرندگان اهلی و وحشی است که بسته به سویه، می‌تواند طیفی از علائم شدید تا کاملاً بدون علامت ایجاد کند. در سال‌های اخیر، چندین سویه این ویروس به‌دلیل ویژگی‌های انکولیتیک خود توجه زیادی برای کاربردهای بالینی جلب کرده‌اند. بی‌خطری نسبی NDV در انسان، آن را به یک نامزد امیدوارکننده برای ویروتراپی در درمان بدخیمی‌های انسانی تبدیل کرده است. بسته به سویه ویروس، سویه‌های کم‌حدت به‌عنوان واکسن علیه بیماری نیوکاسل ایمن در نظر گرفته می‌شوند. به نظر می‌رسد تمام سویه‌های NDV توانایی تکثیر انتخابی در سلول‌های توموری موش و انسان را دارند؛ با این تفاوت که سویه‌های لنتوژنیک تکثیر تک‌چرخه‌ای نشان می‌دهند، در حالی که سویه‌های بیماری‌زاتر تکثیر چندچرخه‌ای دارند. در حوزه انکولوژی، این سویه‌ها برای کاربرد در ویروتراپی انکولیتیک در پستانداران نیز مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. **هدف:** این مطالعه مروری به بررسی ژنتیک ویروس، مکانیسم‌های فعالیت انکولیتیک، تفاوت‌های رفتاری میان سویه‌های NDV در پاسخ به سلول‌های سرطانی، ویژگی‌های سویه‌های مورد استفاده در درمان سرطان و چالش‌های مرتبط با تولید آن‌ها می‌پردازد. **یافته‌ها:** چندین سویه با ویژگی‌های متفاوت مانند MTH-۸۶/H، La Sota و NDV-HUJ به‌عنوان سویه‌های انکولیتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند. برخی سویه‌ها نیز با مهندسی ژنتیک تغییر یافته‌اند تا اثربخشی بیشتری دردرمان سرطان نشان دهند. **نتیجه‌گیری:** به دلیل ایمنی‌زایی بالای NDV در انسان، نبود ایمنی پیشین، اختصاصیت نسبت به سلول‌های سرطانی و توانایی تحریک سیستم ایمنی، این ویروس یک گزینه بسیار امیدوارکننده برای درمان سرطان محسوب می‌شود. برای تولید انبوه سویه‌های انکولیتیک و با توجه به محدودیت‌های روش‌های سنتی تکثیر مبتنی بر تخم‌مرغ FPS، توسعه روش‌های کشت سلولی و شناسایی رده‌های سلولی جدید پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ویروس نیوکاسل؛ ویروتراپی انکولیتیک؛ آپوپتوز؛ سینسیتیا؛ کشت سلول

مقدمه

ویروس NDV نام خود را از محل اولین شیوع در جوجه‌های یک مزرعه در نزدیکی نیوکاسل-آپون-تاین (Newcastle-upon-Tyne) در انگلستان در سال ۱۹۲۶ میلادی گرفته است (۱). ویروس بیماری نیوکاسل (Newcastle disease virus: NDV) که با نام Orthoavulavirus javaense نیز شناخته می‌شود، یک ویروس پوشش‌دار با ژنوم RNA تک‌رشته‌ای، غیرقطعه‌بندی شده و با قطبیت منفی است که به جنس Orthoavulavirus از زیرخانواده Avulavirinae و خانواده Paramyxoviridae تعلق دارد (۲). NDV عامل ایجاد بیماری نیوکاسل (ND) است، یک بیماری ویروسی ویرانگر در طیور که با خسارات اقتصادی سنگین در سراسر جهان همراه است (۳). این بیماری برای اولین بار در سال ۱۳۲۳ هجری شمسی در ایران به صورت گسترده شیوع پیدا کرد و با تلفات وسیع در بین ماکیان خوزستان همراه بود و ظرف مدت کوتاهی به اطراف تهران رسید (۴). سویه‌های این ویروس بر اساس شدت بیماری‌زایی معمولاً به چند پاتوتایپ (گونه بیماری‌زا) مختلف تقسیم‌بندی می‌شوند. علاوه بر سویه‌های کم‌حدت (لنتوژنیک) که به طور گسترده برای تخریب تومور (انکولیز) مورد تحقیق قرار گرفته‌اند، برخی سویه‌های با بیماری‌زایی متوسط (مزوژنیک) نیز پتانسیل تخریب توموری اثبات شده‌ای دارند (۵ ، ۶). در این مطالعه تلاش شده است بر معرفی سویه‌های انکولیتیک، نحوه فعالیت آنها و همچنین چالش‌های تولید ویروس تمرکز شود.

خصوصیات ویروس شناختی

ویروس‌های NDV شامل شش ژن به ترتیب 3′-NP–P–M–F–HN–L-5′ هستند. توالی‌های خارج از ژن، معروف به لیدر (Leader) و تریلر (Trailer)، به ترتیب در انتهای 3′ و 5′ ژنوم قرار دارند (۷). این شش ژن توسط توالی‌های رابط (Junction Sequences) شامل سه عنصر مجزا—توالی انتهای ژن (GE)، توالی بین ژنی (IG) و توالی شروع ژن (GS)— از یکدیگر جدا می‌شوند (۸). این ژن‌ها شش پروتئین ساختاری را کد می‌کنند: پروتئین نوکلئوکپسید (NP)، فسفوپروتئین (P)، پروتئین ماتریکس (M)، پروتئین فیوژن (F)، هماگلوتینین-نورآمینیداز (HN) و پروتئین بزرگ (L) (۹ ، ۱۰). همچنین دو پروتئین غیرساختاری به نام‌های V و W وجود دارند که از طریق ویرایش RNA ژن P تولید می‌شوند (۱۱). دو پروتئین ساختاری HN و F گلیکوپروتئین‌های سطحی هستند که به‌ترتیب برای اتصال ویروس به سلول میزبان و ادغام (فیوژن) با آن اهمیت دارند (۱۲). هر دو پروتئین HN و F موجب القای آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده ویروس می‌شوند و عوامل تعیین‌کننده آنتی‌ژنیک NDV شامل نواحی اتصال به گیرنده در پروتئین HN و اپیتوپ‌های خنثی‌کننده در پروتئین F هستند (۱۳ ، ۱۴). علاوه بر این، از توالی اسید آمینه در جایگاه برش پروتئین F برای تمایز بین سویه‌های غیربیماری‌زا (Avirulent) و بیماری‌زا (Virulent) استفاده می‌شود. سویه‌های غیربیماری‌زا دارای توالی ۱۱۷-R--L-R ‹۱۱۲› G/E-Q-R/K-G/E هستند، در حالی که سویه‌های بیماری‌زا با توالی ۱۱۷-R-R-K/R-Q/R-K/R ‹۱۱۲- مشخص می‌شوند (۱۵).

پروتئین‌های ساختاری داخلی NP، P و L که با RNA ویروسی همراه هستند و یک مجموعه ریبونوکلئوپروتئین (RNP) را تشکیل می‌دهند، برای سنتز RNA ضروری‌اند. پروتئین پلیمراز L به بیماری‌زایی NDV کمک می‌کند و این اثر گاهی از طریق برهم‌کنش با پروتئین‌های NP و P تقویت می‌شود. یکی دیگر از پروتئین‌های ساختاری داخلی، پروتئین M، با برهم‌کنش با نوکلئوکپسید و غشای دو لایه لیپیدی، نقش حیاتی در سرهم‌بندی و خروج ویروس ایفا می‌کند (۱۷). همچنین گزارش شده است که دو پروتئین غیرساختاری V و W از طریق مهار فعالیت اینترفرون به بیماری‌زایی کمک می‌کنند (۱۸ ، ۱۹).

ویروس‌های NDV بر اساس چهارچوب خواندن باز کامل (ORF) ژن F به دو کلاس مجزا، کلاس I و کلاس II طبقه‌بندی می‌شوند. کلاس I شامل یک ژنوتیپ واحد است و عمدتاً با سویه‌های غیربیماری‌زا همراه است که معمولاً در پرندگان وحشی و طیور به ظاهر سالم شناسایی می‌شوند. در مقابل، کلاس II بسیار متنوع‌تر است و شامل ۲۱ ژنوتیپ (I–XXI) می‌شود و هر دو سویه غیربیماری‌زا و بیماری‌زا را در بر می‌گیرد. در میان این ژنوتیپ‌ها، ژنوتیپ VII که به سه زیرژنوتیپ VII.۱,۲، VII.۱,۱ و VII.۲ تقسیم می‌شود (۱۸)، از پراکندگی جغرافیایی وسیعی برخوردار است و در حال حاضر یکی از رایج‌ترین ژنوتیپ‌ها در سطح جهان محسوب

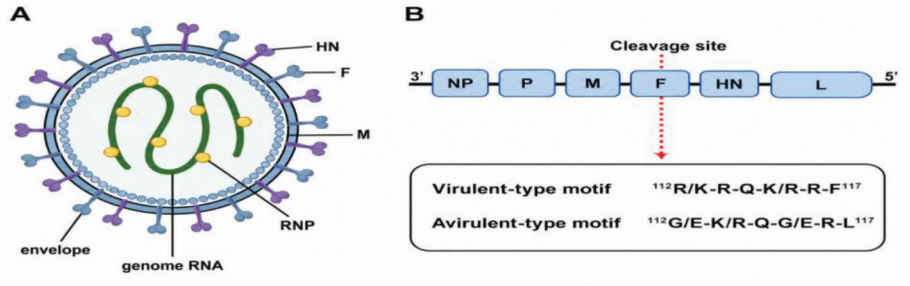
می‌شود (۲۱). ویروس‌های نیوکاسل (NDV) بر اساس شدت بیماری‌زایی معمولاً به سه پاتوتایپ اصلی طبقه‌بندی می‌شوند: لنتوژنیک(کم بیماری زا)، مزوژنی (بیماری‌زای متوسط) و ولوژنیک (بسیار بیماری‌زا). سویه‌های غیر بیماری‌زا که هیچ گونه علایمی ایجاد نمی‌کنند، از سویه‌های ضعیف جدا شده و در دسته چهارمی به نام (آویرولانت) قرار می‌گیرند.

سویه‌های لنتوژنیک ویروس نیوکاسل به‌طور گسترده برای کاربرد در انکولیز (تخریب تومور) مورد پژوهش قرار گرفته‌اند. حدت (ویرولانس) متوسط در طیور در اثر عفونت با پاتوتیپ مزوژنیک مشاهده می‌شود، و سویه‌های مزوژنیک MTH-۶۸/H و PV۷۰۱ پتانسیل انکولیتیک اثبات‌شده‌ای دارند. سویه‌های ولوژنیک ویروس نیوکاسل بسیار بیماری‌زا هستند و در تمام پرندگانی که آلوده می‌کنند، باعث مرگ می‌شوند(۵ و ۶). پروتئین F به عنوان یک پیش‌ماده غیرفعال (F0) سنتز می‌شود و پس از برش پروتئولیتیک توسط پروتئازهای سلول میزبان، به دو پلی‌پپتید متصل از طریق پیوند دی‌سولفیدی تبدیل شده و به یک پروتئین فیوژن‌زا (Fusogenic) فعال تبدیل می‌گردد. پروتئین F0 در ویروس‌های لنتوژنیک دارای جایگاه برش مونوبازیک (Monobasic) است که توسط پروتئازهای شبه تریپسین، که فقط در دستگاه تنفسی و گوارشی یافت می‌شوند، برش داده می‌شود. در مقابل، جایگاه برش پلی‌بازیک (Polybasic) در پروتئین F0 سویه‌های ولوژنیک امکان برش توسط پروتئازهای فراگیر (Ubiquitous) مانند فورین (Furin) را فراهم می‌کند که این امر منجر به ایجاد عفونتی سیستمیک‌تر می‌شود. علاوه بر این، پروتئین‌های F با قابلیت فیوژن بالا که روی سطح سلول‌های آلوده بیان می‌شوند، امکان تشکیل کارآمد سین‌سیتیا (Syncytia) را فراهم کرده و انتشار ویروس از سلول به سلول را تسهیل می‌کنند (۲۲).

سیستم طبقه‌بندی NDV برای ژنوتیپ‌ها و زیرژنوتیپ‌های مختلف توسط دیمیتروف و همکاران ارائه شده است. ویروس‌های NDV در ژنوتیپ VII، به ویژه زیرژنوتیپ‌های VII.۱,۱ و VII.۲، مسئول چهارمین و پنجمین پانزئوتیک (همه‌گیری جهانی) NDV بوده‌اند. مطالعات متعددی در ایران برای ژنوتایپینگ سویه‌های بیماری‌زای در حال گردش NDV انجام شده است. مروری بر این مطالعات نشان می‌دهد که زیرژنوتیپ VII.۱,۱ NDV رایج‌ترین زیرژنوتیپ در کشور در طی سال‌های اخیر بوده است. قابل ذکر است که این ویروس‌ها پیش از معرفی روش جدید طبقه‌بندی فیلوژنتیکی، با نام‌های VIIj، VIId، VIIb و VIII شناخته می‌شدند. با به‌روزرسانی سیستم طبقه‌بندی فیلوژنتیکی، این ویروس‌ها در زیرژنوتیپ VII.۱,۱ NDV قرار گرفتند. علیرغم تکامل تدریجی NDV به ژنوتیپ‌های جدید، سویه‌های واکسنی از اوایل دهه ۱۹۵۰ میلادی-زمان توسعه نخستین واکسن‌های NDV به‌روزرسانی نشده‌اند. با این حال، واکسن‌های سنتی (B۱، LaSota و V۴) همچنان پاسخ ایمنی و محافظت قابل‌توجهی در برابر ویروس‌های NDV ژنوتیپ VII ایجاد می‌کنند (۲۳).

مکانیسم ایجاد خصوصیت انکولایتیک ویروس NDV

ایده استفاده از باکتری‌ها و ویروس‌ها برای درمان بدخیمی‌های انسانی ابتدا از مشاهداتی در اواسط قرن نوزدهم میلادی نشأت گرفت که نشان می‌داد عفونت‌های طبیعی با پسرفت (Regression) تومورها همراه هستند. توسعه تکنیک‌های



شکل ۱: A) توضیح شماتیک از ساختار ذره و ژنوم ویروس بیماری نیوکاسل
B) نکته: فلش قرمز نشان‌دهنده جایگاه برش پروتئین F است و موتیف‌های اسید آمینه شاخص برای جایگاه‌های برش در تیپ‌های ویرولنت (بسیار بیماریزا) و آویرولنت (کم بیماریزا) نیز نمایش داده شده است (۶۱).

در جدول شماره ۱ به سویه‌های مختلف ویروس نیوکاسل با کاربرد درمانی اشاره شده است:

منبع	نحوه مبارزه با تومور	بیماری/تومور	خصوصیت سویه	نام سویه NDV
۲۷ ۲۸	تکثیر انتخابی در بافت توموری، القای پاسخ ضدتوموری میزبان، افزایش IFN-α، و در کارَبرد موضعی تأخیر رشد تومور و افزایش بقا	تومورهای انسانی؛ در یک مطالعه روی مدل تومور کولون متاستاتیک کبدی هم بررسی شد	سمیت سلولی مزوژنیک در رده‌های سلولی مانند MCF-7، PC12، DU-145، HCT116، A431، HT-29، PC3 و HeLa این ترکیبات پتانسیل انتشار کارآمد در تومورهای جامد را دارند تا مستقیماً سلول‌ها را از بین ببرند.	MTH-۶۸/H More Than“ ”۱۹۶۸ Hope
۲۹	در مقایسه با MTH-۶۸/Hبه‌عنوان سویه attenuated بررسی شد؛ اثر آنکولیتیک از طریق تکثیر انتخابی و القای مرگ سلولی/ایمنی ضدتومور	مدل‌های توموری انسانی	یک سویه ضعیف‌شده (attenuated)، که از سویه واکسنی NDV Hitchner-B۱ جدا شده است	NDV-HUJ
۳۰	تکثیر انتخابی در سلول‌های توموری و القای syncytia و مرگ سلولی؛ در کنار MTH-۶۸/H در مدل‌های animal بررسی شد	مدل‌های توموری موش و تومورهای مقاوم به ویروس	سویه‌ی بَدخیم (Velogenic) در سال ۱۹۴۴ جداسازی شد. این سویه قابلیت تکثیر کارآمد در سلول‌های توموری انسانی را داشته و سلول‌های توموری را در عرض ۲۴ ساعت از بین می‌برد.	Italian
۳۱ ۳۲	ورود و تکثیر در سلول سرطانی، افزایش apoptosis و اثر oncolytic مستقیم	سرطان پستان، رده MCF-۷	سویه‌ی بدخیم (Velogenic)، اثر سیتوتوکسیک وابسته به دُز را بر روی سلول‌های MCF-۷، MDA-MB۲۳۱ و HeLa نشان می‌دهد.	AF۲۲۴۰
۳۳	القای پاسخ التهابی/ایمنی، از جمله نقش IFN-λ و IL-۶ در selectivity و oncolysis	سلول‌های A۵۴۹، U۸۷MG، MCF۷، T۹۸G، MDA-MB-۴۵۳، Huh۷ و سلول‌های غیرسرطانی مقایسه‌ای	سویه‌ی خفیف (لنتوژنیک) مدت‌هاست که به‌عنوان یک سویه‌ی واکسنی در سراسر جهان استفاده می‌شود.	La Sota
۳۴	تکثیر و کشتن سلول‌های سرطانی به‌صورت وابسته به MOI، با cytotoxicity مستقیم بالا	تومورهای دستگاه گوارش؛ به‌ویژه سرطان‌های مری و کولورکتال	سویه عراقی، ویروس‌درمانی سرطان (oncolytic virotherapy) تأییدشده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA)، فعالیت ویروس‌درمانی روی سلول‌های کارسینوم کولورکتال (HRT) و سلول‌های کارسینوم مری (SK-GT)	AMHA۱

در جدول شماره ۱ به سویه‌های مختلف ویروس نیوکاسل با کاربرد درمانی اشاره شده است:

منبع	نحوه مبارزه با تومور	بیماری/تومور	خصوصیت سویه	نام سویه NDV
۳۴			در سال ۱۹۶۵، کاسل و همکارانش برای نخستین‌بار سویه T-۷۳ ویروس نیوکاسل را مستقیماً به ناحیه تومور بیماران مبتلا به سرطان دهانه رحم تزریق کردند.	
۳۵	در مرورها در کنار MTH-۶۸/H، PV۷۰۱، AF۲۲۴۰ و HUJ به‌عنوان سویه‌های رایج preclinical آمده است	پیش‌بالینی برای سرطان	این ویروس از طریق ۷۳ بار پاساژ متوالی سویه SI-۳۷۹بر روی سلول‌های تومور آسایتز اهرلیش در محیط آزمایشگاه و ۱۳ بار در بدن جاندار به دست آمد تا ویژگی‌های عصبی‌گرایی آن حذف شود. سویه T-۷۳ قابلیت تکثیر در سلول‌های توموری انسان را داشته و باعث هم‌جوشی سلولی، تشکیل سینسیشیوم و درنهایت مرگ سلول‌های توموری می‌شود.	۷۳T
۲۸	به‌عنوان سویه weak/attenuated با کاربرد پژوهشی ذکر شده است	پیش‌بالینی برای سرطان	لنتوژنیک فعالیت ویروس‌درمانی (oncolytic) روی: ملانوما (سرطان پوست) سرطان تخمدان سرطان معده سرطان پانکراس گلیوبلاستوما (نوعی تومور مغزی) سرطان کولورکتال (روده بزرگ) همراه با متاستاز کارسینوم سلول کلیوی متاستاتیک (نوعی سرطان کلیه)	Ulster
۳۶	کاهش سریع تعداد سلول‌های لوسمیک و بهبود علائم، با دوام تقریبی دو هفته	کاربرد بالینی	سویه لیزکننده و انکولیتیک ویروس بیماری نیوکاسل که فعالیت ضدتوموری قابل مشاهده، اما کوتاه‌مدت	Hickman
۳۷	سرطان ملانوما- کلورکتال و...	در مطالعات پیش بالینی کشت سلولی و مطالعات حیوانی	سویه های تغییریافته ژنتیکی	Recombinant NDV

کشت سلول و ویروس در اوایل دهه ۱۹۵۰ میلادی منجر به بررسی گسترده درمان ویروسی در مدل‌های تومور حیوانات کوچک و در نهایت در انسان‌ها شد (۲۴). به دلیل بیماری‌زایی قابل توجه برخی پاتوژن‌های انسانی، ویروس‌های حیوانی به عنوان جایگزین مورد توجه قرار گرفتند و در این میان، ویروس بیماری نیوکاسل (NDV) به عنوان یک عامل انکولیتیک (Oncolytic) امیدوارکننده مطرح شد(۲۵). این ویروس به‌طور طبیعی تمایل بیشتری به سلول‌های سرطانی دارد (۲۶).

مدارکی در مورد عفونت‌های محدود NDV در انسان وجود دارد و بیشتر این موارد در میان کارگران صنعت طیور گزارش شده است. این عفونت‌ها معمولاً به صورت ورم ملتحمه‌ی خودمحدودشونده (خودبه‌خود بهبودیابنده) بروز می‌کنند و هیچ‌گونه انتقال ویروس بین انسان‌ها مشاهده نشده است (۳۸).

اثر ضدتوموری ویروس نیوکاسل بر پایه‌ی دو مکانیسم اصلی استوار است: (۱) فعالیت انکولیتیک و (۲) تحریک ایمنی. لازم به ذکر است که استراتژی سومی نیز تکامل یافته است که رویکردهای (۱) و (۲) را ترکیب کرده و سلول‌های دندریتیک (DCs) را نیز دربر می‌گیرد. در این روش، ابتدا NDV به‌صورت سیستمیک برای شرطی‌سازی (conditioning) بیمار تجویز می‌شود. سپس یک واکسن داخل جلدی (intradermal) ویژه سلول‌های دندریتیک تزریق می‌شود که با آنکولیزات (عصاره تومور تخریب‌شده توسط ویروس) بارگذاری (pulse) شده است. این استراتژی که NDV/DC نام دارد، فعالیت ضدسرطانی (ویروس‌درمانی انکولیتیک) و ویژگی‌های تحریک‌کننده سیستم ایمنی (ایمنی‌درمانی انکولیتیک) را با پتانسیل بالای سلول‌های دندریتیک برای تحریک سلول‌های T خام (naive) ترکیب می‌کند (۲۵).

طبقه‌بندی بیماری‌زایی سویه‌های NDV در پرندگان با خواص انکولیتیک آن‌ها در سلول‌های سرطانی همبستگی دارد. سویه‌های ولوژنیک (Velogenic) قادرند چرخه تکثیر چندمرحله‌ای (Multicycle Replication) را در بسیاری از سلول‌های سرطانی انسانی به طور کارآمد انجام داده و لیز (تخریب) سلولی مؤثری ایجاد کنند. در مقابل، سویه‌های لنتوژنیک (Lentogenic) به دلیل عدم فعال‌سازی پروتئین F0 معمولاً ضعیف‌تر (Attenuated) هستند (۳۹). بر این اساس، در سرطان‌های انسانی، سویه‌های NDV به دو دسته لیتیک (Lytic) یا غیرلیتیک (Non-lytic) تقسیم می‌شوند؛ به طوری که سویه‌های ولوژنیک و مزوژنیک لیتیک و سویه‌های لنتوژنیک عمدتاً غیرلیتیک محسوب می‌شوند.

مکانیسم‌های انکولیز (تخریب تومور) ویروس NDV

مکانیسم‌های زمینه‌ای سمیت سلولی با واسطه NDV در مطالعات متعدد بررسی شده‌اند. آزمایش‌ها روی جنین‌های مرغ تلقیح‌شده با NDV، شواهدی از آپوپتوز (Apoptosis) در بافت‌های جنینی نشان دادند (۴۰). چندین مطالعه بعدی نیز نقش غالب آپوپتوز را در مرگ سلولی ناشی از NDV تأیید کردند (۴۱). القای آپوپتوز توسط NDV نیازمند ورود ویروس، تکثیر، سنتز پروتئین از نو و فعال‌سازی کاسپازها (Caspases) است. بررسی مسیرهای آپوپتوز فعال‌شده در سلول‌های آلوده به NDV روندهای مشترکی را نشان داد، هرچند بسته به سیستم مورد استفاده، تفاوت‌هایی نیز مشاهده شد (۴۲). بررسی مستقیم سویه‌های Beaudette C و LaSota در رده‌های سلول سرطانی با منشأ اکتودرمی، آندودرمی و مزودرمی نشان داد که NDV می‌تواند آپوپتوز را از طریق فعال‌سازی هر دو مسیر ذاتی (Intrinsic) و خارجی (Extrinsic) القا کند. عفونت NDV در سلول‌های توموری منجر به تولید TNFα و TRAIL محلول به روشی وابسته به نوع سلول توموری و سویه‌ی ویروسی شد و فعال‌سازی کاسپاز ۸ را به دنبال داشت؛ هرچند در برخی رده‌های سلولی، آپوپتوز بدون فعال‌سازی کاسپاز ۸ نیز رخ داد. در تمام رده‌های سلول توموری، عفونت NDV موجب از بین رفتن پتانسیل غشای میتوکندری و فعال‌سازی کاسپاز ۹ شد که نشان‌دهنده اهمیت مسیر ذاتی در فعال‌سازی آپوپتوز با واسطه NDV است. القای آپوپتوز با واسطه NDV مستقل از سیگنال‌دهی اینترفرون (IFN) بود، زیرا آپوپتوز در رده‌های سلولی دارای نقص در تولید یا پاسخ‌دهی به IFNα نیز مشاهده شد. بنابراین، این مطالعه نشان داد که فعال‌سازی آپوپتوز احتمالاً از طریق مسیر میتوکندریایی و فعال‌سازی کاسپاز ۹ آغاز شده و با فعال‌سازی متعاقب کاسپاز ۸ ادامه می‌یابد (۴۳).

در مطالعه‌ای، ویروس بیماری نیوکاسل از طیور صنعتی

جداسازی و اثر آن بر القای بیان ژن‌های مرتبط با مسیر داخلی و مسیر خارجی آپوپتوز در سلول‌های توموری پستان انسان بررسی شد. در این مطالعه، سلول‌های MCF ۷ در شرایط برون‌تنی با ویروس آلوده شدند. پس از استخراج RNA، ساخت cDNA و بررسی سطح بیان ژن‌های BAX, BAK و کاسپازهای ۳، ۸ و ۹ با روش Real-time RT-PCR مشخص شد که بیان ژن‌های BAX و کاسپاز ۹ در سلول‌های آلوده به NDV به طور معنی‌داری بیشتر از سلول‌های کنترل بود؛ اما بیان ژن‌های BAK، کاسپاز ۳ و کاسپاز ۸ تفاوت معنی‌داری نداشت. این یافته‌ها نشان داد که ویروس بیماری نیوکاسل جدا شده از طیور صنعتی می‌تواند مسیر داخلی آپوپتوز را در سلول‌های توموری MCF ۷ فعال کند (۴۴).

مطالعه‌ای دیگر در چندین رده سلول سرطانی انسانی نشان داد که مرگ سلولی ناشی از سویه MTH-۶۸/H NDV مستقل از فعال‌سازی کاسپازهای آغازگر ۸ و ۹ یا وضعیت p۵۳ سلولی است. در همان مطالعه، تکثیر ویروس در سلول‌های PC۱۲ (فئوکروموسیتوم موش صحرایی) موجب فعال‌سازی کیناز eIF۲α kinase) PERK) شبکه آندوپلاسمی (ER) با فسفریلاسیون متعاقب eIF۲α و فعال‌سازی کاسپاز ۱۲ شد. پس از عفونت با MTH-۶۸/H، PERK به‌سرعت فسفریله شد و به دنبال آن فسفریلاسیون مهاری eIF۲α و فعال‌سازی و آزادسازی کاسپاز ۱۲ رخ داد. اگرچه این مسیر در سلول‌های انسانی به‌طور کامل قابل تعمیم نیست. زیرا کاسپاز ۱۲ در انسان بیان نمی‌شود. اما کاسپازهای ۴ و ۵ می‌توانند نقش جایگزین داشته باشند. فسفریلاسیون eIF۲α در رده‌های سلولی انسانی مختلف مشاهده شده و نشان می‌دهد این رویداد احتمالاً در سلول‌های آلوده به MTH ۶۸/H فراگیراست. eIF۲ عنصر کلیدی تنظیم ترجمه است و فسفریلاسیون آن باعث توقف سنتز پروتئین‌ها می‌شود. چندین کیناز پروتئینی eIF۲α را فسفریله می‌کنند، از جمله PKR القا شده توسط RNA دو رشته‌ای، PERK، مهارکننده وابسته به هِم، وGCN۴. تحریک اولیه PERK و مسدودسازی eIF۲α ممکن است رویدادی اساسی در مرگ سلولی ناشی از MTH-۶۸/H باشد. این مطالعه پیشنهاد کرد که مکانیسم‌های میانجی‌گری شده توسط استرس شبکه آندوپلاسمی ممکن است مسئول فعال‌سازی مسیرهای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی آلوده به NDV باشند (۴۵).

در تضاد با این یافته‌ها، در سلول‌های Vero آلوده به NDV به نظر می‌رسید که فعال‌سازی مسیر آپوپتوز خارجی (Extrinsic) بر مسیر ذاتی (Intrinsic) مقدم است (۴۶). به طور مشابه، نشان داده شد که مسیر خارجی در سلول‌های سرطان ریه A۵۴۹ پس از عفونت با NDV درگیر است، در حالی که فسفریلاسیون پیشین eIF۲α یا فعال‌سازی کاسپاز ۱۲ در سلول‌های PC۱۲ تأیید نشد (۴۷). علاوه بر این، مسیرهای دیگری نیز در آپوپتوز ناشی از NDV دخیل دانسته شده‌اند. مطالعات روی سویه MTH/۶۸ NDV در سلول‌های فئوکروموسیتوم موش صحرایی PC۱۲ نشان داد که القای آپوپتوز مستقل از مسیر کیناز N-terminal c-Jun قابل القا توسط استرس (JNK)، مسیر p۳۸ یا مکانیسم‌های تنظیم‌شده توسط گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) بود.

این موضوع در مطالعه بعدی تأیید نشد؛ جایی که عفونت با سویه‌های Beaudette C، La Sota و FMW NDV منجر به فعال‌سازی MAPK و کاهش تنظیم (Downregulation) مسیر Akt در سلول‌های A۵۴۹ آلوده شد (۴۸). در آن مطالعه، مهار MAPK p۳۸ مرگ سلولی سلول‌های A۵۴۹ آلوده به NDV را کاهش داد، هرچند مکانیسم این امر هنوز نامشخص است.

تطابق دادن این اختلاف‌ها در میان این مطالعات متعدد دشوار است، اگرچه بسیاری از تفاوت‌ها را احتمالاً می‌توان با تفاوت در رده‌های سلولی، سویه‌های ویروسی و روش‌های تشخیصی مورد استفاده توضیح داد. در تأیید این موضوع، در مطالعه الانکوماران و همکاران، سطوح مختلفی از تولید TRAIL محلول و فعال‌سازی کاسپاز ۹ و ۳ را در میان رده‌های سلولی و سویه‌های ویروسی مختلف نشان داد. به طور کلی، بر اساس مطالعات متعدد، به نظر می‌رسد فعال‌سازی مسیر آپوپتوز ذاتی نقش کلیدی در مرگ سلولی با واسطه NDV ایفا می‌کند. فعال‌سازی افتراقی مسیر ذاتی احتمالاً به روشی وابسته به رده سلولی و سویه ویروسی پیش می‌رود و به نظر می‌رسد شامل مسیر آپوپتوز خارجی، مسیر استرس شبکه آندوپلاسمی، مسیرهای گیرنده تیروزین کیناز (RTK) و احتمالاً مسیرهای دیگری باشد که هنوز شناسایی نشده‌اند (۴۳). عوامل اختصاصی ویروس نیز برای توضیح مکانیسم‌های مؤثر در آپوپتوز با واسطه NDV توصیف شده‌اند. نشان داده شده است که ترانسفکشن پلاسمید کدکننده گلیکوپروتئین

HN به فیبروبلاست‌های جنین مرغ (CEF) به طور مستقیم و از طریق مکانیسمی ناشناخته ، آپوپتوز را القا می‌کند (۴۹). شناسایی توالی‌های پروتئین NDV، نواحی شبه دامین Bcl-۲ homology-۳ (BH۳) پروآپوپتوتیک را در پروتئین‌های M، L و F NDV نشان داده است. ترانسفکشن پروتئین‌های M و F به سلول‌های HeLa موجب ترویج مرگ سلولی شد، در حالی که حذف دامنه شبه BH۳ از پروتئین M، القای آپوپتوز توسط پروتئین را کاهش داد. آزمایش‌های هم‌رسوبی (Co-immunoprecipitation) نیز برهم‌کنش پروتئین M با Bax را نشان داد و این برهمکنش در نسخه‌ی فاقد دامنه‌ی BH۳ از بین رفت (۵۰).

مکانیسم‌های غیرمستقیم (با واسطه سیستم ایمنی)

علاوه بر اثرات سیتوپاتیک مستقیم، فعالیت ضدسرطانی NDV با فعال‌سازی هر دو پاسخ ایمنی ذاتی (Innate) و اکتسابی (Adaptive) مرتبط است.

عفونت ماکروفاژهای موش با سویه‌های NDV LaSota، Ulster و MTH-۶۸/H نشان داده است که این عفونت منجر به افزایش بیان آنزیم‌های ماکروفاژی مانند iNOS، ADA، لیزوزیم و فسفاتاز اسید و همچنین تولید اکسید نیتریک و فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF-α) می‌شود؛ در نتیجه فعالیت ضدتوموری درون‌کشت (In Vitro) و درون‌بدنی (In Vivo) افزایش می‌یابد (۵۱).

همچنین نشان داده شد که مونوسیت‌های تحریک‌شده با NDV Ulster از طریق القای TRAIL، مرگ سلول‌های توموری را میانجی‌گری می‌کنند (۵۲). فعال‌سازی سلول‌های کشنده طبیعی (NK) نیز در سمیت سلولی با واسطه NDV دخیل دانسته شده است؛ زیرا انکوباسیون مستقیم سویه T NDV-۷۳ با سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) از اهداکنندگان سالم، سمیت سلولی آن‌ها را در برابر چندین رده سلول توموری افزایش داد و سلول‌های NK میانجی‌گر غالب لیز (تخریب) بودند (۵۳). مطالعات همچنین نشان داد که القای پاسخ‌های ایمنی ذاتی در PBMCها وابسته به تکثیر ویروس نیست. در واقع، ترانسفکشن (انتقال) سازه (Construct) بیان‌کننده گلیکوپروتئین HN NDV برای القای IFN-α و TRAIL کافی بود (۵۴) و همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، این گلیکوپروتئین می‌تواند به طور مستقیم در سلول‌های ترانسفکت شده آپوپتوز را القا کند (۴۹).

سویه‌های مزوژنیک در مقایسه با سویه‌های غیربیماری‌زا (آپاتوژن) و ضعیف لنتوژنیک، پاسخ آپوپتوزی قوی‌تری را در سلول‌های توموری القا می‌کنند (۵۵). بر اساس این یافته‌ها، یک واکسن DNA بیان‌کننده‌ی اشکال سیتوپلاسمی، ترشحی و متصل به غشاء گلیکوپروتئین HN NDV از نظر اثر ضدتوموری ارزیابی شد. در این مطالعه، شکل متصل به غشاء HN دارای فعالیت ضدتوموری برتر در شرایط آزمایشگاهی و In vivo بود (۵۶).

مطالعه‌ای دیگر نشان داد که ایمن‌سازی پیشگیرانه (Prophylactic Immunization) با پلاسمید کدکننده گلیکوپروتئین HN NDV، حیوانات را در برابر چالش بعدی با سلول‌های کارسینومای پستانی DA۳ محافظت می‌کند؛ اثری که با افزایش نفوذ سلول‌های NK به تومور و کاهش سلول‌های سرکوبگر مشتق از میلوئید (MDSC) مرتبط بود (۵۷). مکانیسم‌های زمینه‌ساز این یافته‌ها هنوز نامشخص‌اند، هرچند نشان داده شده است که بیان HN NDV بر سطح سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن، پاسخ سلول‌های T کشنده (CTL) را در برابر یک آنتی‌ژن نامرتبط افزایش می‌دهد (۵۸). اثرات تحریک‌کننده مستقیم ایمنی بر سلول‌های توموری نیز مشاهده شده است. عفونت سلول‌های توموری توسط NDV منجر به بیان گلیکوپروتئین‌های HN و F بر سطح سلول می‌شود که چسبندگی سلول توموری را برای گلبول‌های قرمز و لنفوسیت‌ها تغییر داده و نشانگرهای فعال‌سازی سلول‌های T را در کشت‌های مختلط لنفوسیت-سلول توموری افزایش می‌دهد (۵۹). همچنین نشان داده شد که عفونت سلول‌های توموری انسانی با NDV Ulster منجر به تولید RANTES، IFN-β و IP-۱۰ و افزایش بیان مولکول‌های MHC و مولکول‌های چسبندگی سلولی ICAM-I و LFA-۳ می‌شود (۶۰). این یافته‌ها نشان می‌دهد که عفونت NDV می‌تواند بر اثرات مهاری ریزمحیط تومور غلبه کرده و پاسخ‌های التهابی ضدتوموری مطلوب را القا کند. در واقع، لنفوسیت‌های نفوذکننده به تومور (TIL) جدا شده از ملانوم‌های تازه‌برداشته‌شده، وقتی با سلول‌های ملانوم خودزا (Autologous) تحریک می‌شدند، فاقد تکثیر بودند؛ این تکثیر زمانی بازیابی (Restored) شد که TILها

با سلول‌های ملانوم خودزای آلوده به NDV Ulster تحریک شدند. بر اساس این مطالعات، مهندسی NDV با سیتوکین‌ها به عنوان یک استراتژی برای بهبود فعالیت تحریک‌کنندگی ایمنی NDV مورد توجه قرار گرفت (۶۱). به طور کلی، این مطالعات نشان می‌دهد که اثرات ضدتوموری NDV به توانایی آن در القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی و القای پاسخ‌های ایمنی التهابی ضدتوموری وابسته است.

با این حال، توانایی ویروس در انجام این کار به اختصاصیت آن برای سلول‌های سرطانی وابسته است، در حالی که سلول‌های طبیعی را در امان نگه می‌دارد. مطالعات مربوط به NDV را می‌توان بر اساس نوع مدل آزمایشی به سه گروه اصلی تقسیم کرد:

in vitro

in vivo پیش‌بالینی

بالینی.

«پیش‌بالینی» معمولاً شامل مطالعات سلولی و حیوانی است و برای تفکیک دقیق‌تر، در جدول زیر مطالعات سلولی جداگانه به‌عنوان in vitro و مطالعات حیوانی به‌عنوان in vivo پیش‌بالینی آورده شده‌اند:

منبع	یافته اصلی	نوع سلول/نمونه	ویروس یا سازه NDV
۶۲	القای آپوپتوز از مسیرهای درونی و بیرونی؛ فعال‌شدن کاسپازهای ۸، ۹ و ۳ و کاهش پتانسیل غشای میتوکندری	رده‌های سلولی سرطان با منشأهای مختلف	LaSota و Beaude tte C
۴۵	القای استرس شبکه آندوپلاسمی، فسفریلاسیون eIF۲α و فعال‌شدن کاسپاز ۱۲؛ مرگ سلولی مستقل از p۵۳	سلول‌های PC۱۲ فئوکروموسیتوم	MTH-۶۸/H
۴۷	فعال‌شدن MAPK/p۳۸، کاهش Akt و القای آپوپتوز	سلول‌های A۵۴۹ سرطان ریه	FMW و LaSota، Beaudette C
۶۳	افزایش تکثیر و لیز ویروسی در سلول‌های دارای Bcl-xL؛ نشان‌دهنده نقش مقاومت به آپوپتوز در اختصاصیت NDV	سلول‌های A۵۴۹ و ۲۹۳T مقاوم به آپوپتوز	LaSota
۶۴	حساسیت بیشتر سلول‌های دارای Livin به NDV و تولید فرآورده پروآپوپتوتیک tLivin	سلول‌های ملانوم مقاوم به شیمی‌درمانی	NDV-HUJ
۶۵	نقش H-Ras و Rac۱ در افزایش حساسیت سلول‌های سرطانی به تکثیر NDV	سلول‌های HaCaT و کلون‌های تغییریافته با H-Ras	NDV
۵۴	القای IFN-α و TRAIL بدون نیاز به تکثیر ویروس	سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی انسان	پروتئین HN NDV
۵۳	افزایش سمیت سلولی وابسته به NK cells علیه سلول‌های سرطانی	PBMC انسان و رده‌های سلولی توموری	T-۷۳ NDV
۶۶	ایجاد اثر ضدتوموری غیرمستقیم و فعال‌سازی سلول‌های ایمنی	PBMC و سلول‌های توموری	NDV-GM-CSF

۱. مطالعات in vitro

جمع‌بندی مطالعات in vitro

در مطالعات سلولی، NDV عمدتاً از طریق مکانیسم‌های زیر اثر ضدسرطانی نشان داده است:

القای آپوپتوز از مسیرهای میتوکندریایی و گیرنده‌ای؛

فعال‌سازی کاسپازها، MAPK/p۳۸ و مسیرهای استرس شبکه آندوپلاسمی (ER Stress)؛

القای اتوفاژی، نکروپتوز و مرگ سلولی ایمنی‌زا؛

افزایش تولید TNF، TRAIL، IFN و سایر سیتوکین‌ها؛

فعال‌سازی سلول‌های NK، سلول‌های T و ماکروفاژها؛

حساسیت انتخابی سلول‌های سرطانی به دلیل نقص در مسیرهای IFN و ضدویروسی است

۲. مطالعات in vivo و پیش‌بالینی

ارزیابی کلی مطالعات پیش‌بالینی

مطالعات حیوانی نشان داده‌اند که NDV علاوه بر لیز مستقیم تومور، قادر است حافظه ایمنی ضدتوموری ایجاد کند. این اثر در مدل‌های ملانوم، گلیوبلاستوما، سرطان کبد و سرطان کولون گزارش شده است. مهندسی ژنتیکی ویروس برای بیان TRAIL,IL-12, IL-2، آنتی‌بادی‌های ضدتوموری، NS۱ یا آنتی‌ژن‌های توموری، معمولاً فعالیت ضدتوموری ویروس را نسبت به سویه والد افزایش داده است.

با وجود نتایج امیدوارکننده، باید توجه داشت که بخش عمده این شواهد از مدل‌های موشی، مدل‌های xenograft یا مدل‌های توموری محدود به دست آمده‌اند؛ بنابراین، قابلیت

منبع	یافته اصلی	نوع سلول/نمونه	ویروس یا سازه NDV
۸	بیان IL-۲ و افزایش تحریک سلول‌های T	سلول‌های توموری و سلول T انسانی	NDV-IL-۲
۶۷	تولید آنتی‌بادی عملکردی بدون کاهش رشد یا خاصیت انکولیتیک ویروس	سلول‌های فیبروسارکوم	NDV بیان‌کننده آنتی‌بادی ضد ED-B فیبرونکتین
۶۸	القای آپوپتوز و تنظیم پاسخ Th۲/Th۱	رده‌های سرطان معده	rL-hIFN-β
۶۹	مهار تکثیر سلولی و القای مرگ سلولی	سلول‌های A۵۴۹ سرطان ریه	NDV-D۹۰
۷۰	مهار اتوفاژی با کلروکین، سمیت NDV را افزایش داد	اسفروئیدهای سرطان ریه	NDV-FMW ± کلروکین
۴۴	افزایش Bax، کاسپاز ۹ و کاسپاز ۳ و فعال‌شدن مسیر آپوپتوز میتوکندریایی	سلول‌های سرطان پستان	LaSota
۲۹	القای آپوپتوز در مراحل اولیه چرخه عفونت	سلول‌های MCF-۷	AF۲۲۴۰
۴۴	کاهش زنده‌مانی سلولی و القای آپوپتوز وابسته به ROS	سلول‌های سرطان دهانه رحم	LaSota
۷۱	فعالیت لیزکننده تومور و کاهش زنده‌مانی سلول‌ها	سلول‌های SW-۶۲۰ سرطان کولورکتال	R۲B Mukteshwar
۷۲	افزایش مرگ ایمنی‌زا؛ نقش STAT۳ در پاسخ ضدتوموری	سلول‌های سرطان پروستات	NDV-FMW
۷۳	افزایش ژن‌های مرتبط با آپوپتوز و فعالیت انکولیتیک	سلول‌های سرطان کولورکتال HT۲۹	rAF-IL-۱۲
۷۴	القای اتوفاژی از طریق استرس ER و پاسخ پروتئین‌های تاخورده‌نشده	سلول‌های توموری	پروتئین‌های NP و P
۷۵	القای مرگ سلولی ایمنی‌زا وابسته به اتوفاژی	سلول‌های سرطان ریه	NDV

منبع	نوع مطالعه	نتیجه اصلی	روش درمان	ویروس یا سازه	مدل حیوانی/سرطان
۷۶	in vivo پیش‌بالینی	افزایش تشکیل سین‌سیتیوم و لیز تومور	تزریق ویروس	rNDV/F۳aa	مدل ملانوم موشی
۷۷	in vivo پیش‌بالینی	نکروز گسترده و افزایش حدود ۲۰٪ بقا نسبت به ویروس والد	تزریق داخل شریان کبدی	rNDV/F۳aa-L۲۸۹A	مدل سرطان کبد موش صحرایی
۷۸	in vivo پیش‌بالینی	پاک‌سازی بهتر تومور و افزایش بقای طولانی‌مدت بدون سمیت آشکار	تزریق وریدی یا زیرجلدی	Recombinant) fusogenic NDV of Hitchner B۱ (strain NDV/F۳aa-NS۱	مدل ملانوم تهاجمی موش
۴۲	in vivo پیش‌بالینی	آپوپتوز بیشتر و پسرفت واضح‌تر تومور نسبت به ویروس والد	تزریق داخل تومور	rFMW/AP	تومورهای xenograft
۷۶	in vivo پیش‌بالینی	پسرفت تومور، بقای طولانی‌مدت ۶۰٪ در برابر ۲۰٪ با ویروس والد و ایجاد حافظه ضدتوموری	تزریق داخل تومور	NDV-IL-۲	سرطان کولون CT۲۶
۷۸	in vivo پیش‌بالینی	پاک‌شدن کامل تومور در ۸۷٪ حیوانات و ایجاد ایمنی محافظتی	تزریق داخل تومور	NDV-IL-۲	مدل ملانوم سینژنیک موشی
۷۹	in vivo پیش‌بالینی	پسرفت کامل در ۶۰٪ حیوانات در برابر ۲۰٪ با ویروس کنترل؛ همراهی با IL-۲، پاسخ را تا ۹۰٪ افزایش داد	تزریق داخل تومور	NDV بیان‌کننده آنتی‌ژن توموری	CT۲۶ دارای β-galactosidase
۴۷	in vivo پیش‌بالینی	افزایش تجمع ویروس در بافت توموری و کاهش ویروس در کبد، طحال، کلیه، ریه و تیموس	هدف‌گیری اختصاصی	NDV با آداپتور scHN-IL۲	سرطان خون دارای IL-R-۲
۸۰	in vivo پیش‌بالینی	حفاظت در برابر چالش توموری، افزایش نفوذ NK و کاهش MDSC	ایمن‌سازی پیشگیرانه	پلاسمید HN	سرطان پستان DA۳
۸۱	in vivo پیش‌بالینی	مشاهده تومور ماکروسکوپی در ۶ موش درمان‌شده و کوچک‌ترشدن ندول‌ها	تزریق داخل صفاقی	NDV-F۳aa-GFP	سرطان معده صفاقی

منبع	نوع مطالعه	نتیجه اصلی	روش درمان	ویروس یا سازه	مدل حیوانی/سرطان
۸۲	in vivo پیش‌بالینی	مهار رشد تومور و کاهش مهاجرت و EMT	تزریق در مدل تومور زیرجلدی	rL-RVG	سرطان معده
۸۳	in vivo پیش‌بالینی	نکروز تومور، کاهش متاستاز داخل کبدی و افزایش بقا	تزریق در مدل HCC	۱۸HL-rNDV	سرطان کبد ارتوتوپیک
۸۴	in vivo پیش‌بالینی	افزایش تعداد لنفوسیت‌های نفوذکننده به تومور	درمان سیستمیک/ موضعی	NDV-Anh-IL-۲	سرطان کبد
۸۵	in vivo پیش‌بالینی	تقویت ایمنی ضدتوموری و افزایش بقا	درمان ترکیبی	+ NDV-LaSota فلودارابین	HCC
۸۶	in vivo پیش‌بالینی	اثر ضدتوموری بیشتر از هر درمان به‌تنهایی	درمان ترکیبی	FU-۵ + NDV	HCC
۸۳	in vivo پیش‌بالینی	نکروز تومور، مهار تهاجم و افزایش بقا	تزریق در موش‌های دارای تومور ارتوتوپیک	NDV دارای آنتی‌بادی کایمریک ضد CD۱۴۷	سرطان کبد
۸۷	in vivo پیش‌بالینی	کاهش رشد و نکروز تومور و افزایش NK cells	تزریق به موش‌های دارای تومور	rL-RVG	سرطان ریه A۵۴۹
۸۸	in vivo پیش‌بالینی	مهار قابل توجه رشد تومور و افزایش سیتوکین‌های مرتبط با آپوپتوز	درمان موش‌های دارای تومور	AF۲۲۴۰	سرطان پستان
۸۹	in vivo پیش‌بالینی	مهار رشد تومور حدود ۱۰۰٪ در گروه ترکیبی در برابر ۹۶/۸٪ با NDV تنها	درمان ترکیبی	+ NDV deoxyglucose-۲	سرطان پستان
۹۰	in vivo پیش‌بالینی	کاهش رشد تومور از طریق القای آپوپتوز وابسته به ROS	درمان در مدل حیوانی	La sota	سرطان دهانه رحم
۹۱	in vivo پیش‌بالینی	ایجاد پاسخ ایمنی ضدتوموری قوی	تزریق اطراف تومور	NDV-HB۱ آنکولیزات	سرطان دهانه رحم
۷۳	in vivo پیش‌بالینی	کاهش رشد تومور و افزایش بیان ژن‌های آپوپتوزی	تزریق در موش‌های nude دارای تومور	rAF-IL-۱۲	سرطان کولورکتال
۷۱	in vivo پیش‌بالینی	فعالیت قابل‌توجه لیزکننده تومور	تزریق داخل تومور	R۲B Mukteshwar	سرطان کولورکتال
۷۲	in vivo پیش‌بالینی	کاهش اندازه تومور نسبت به گروه کنترل	تزریق فرآورده سلول‌های آلوده	NDV-FMW	سرطان پروستات

تعمیم مستقیم آن‌ها به انسان محدود است.

۳. مطالعات بالینی انسانی

کاربرد ویروس‌های انکولیتیک NDV در مطالعات انسانی عمدتاً در دو قالب انجام شده است:

الف) واکسن‌های سلول توموری یا oncolysate مبتنی بر NDV

ب) تجویز مستقیم ویروس NDV در انسان

شواهد بالینی روزافزون نشان می‌دهد که NDV به‌عنوان یک عامل درمانی (نوعی ایمونوتراپی) می‌تواند سلول‌های گلیوما، سرطان‌های متاستاتیک و تومورهای جامد پیشرفته را تخریب کند و هم‌زمان سیستم ایمنی بیمار را فعال سازد (جدول ۲).

ATV-NDV : واکسن توموری اتولوگ تغییریافته با NDV

ATV-NDV-αHN-αCD۲۸: سویه ATV-NDV که پروتئین فیوژن ضد CD۲۸ را بیان کرده و به مولکول‌های لنگر پروتئین HN ویروس متصل شده است

۷۳T-NDV : سویه مزوژنیک NDV با فعالیت انکولیتیک

MTH-۶۸/H : سویه انکولیتیک زنده ضعیف‌شده با فعالیت انکولیتیک

NDV-HUJ: سویه ضعیف‌شده مشتق از واکسن B۱

اگرچه NDV در مدل‌های پیش‌بالینی فعالیت انکولیتیک و تحریک‌کننده ایمنی بسیار امیدوارکننده نشان داده و در مطالعات بالینی اولیه نیز نشانه‌هایی از فعالیت ضدتوموری مشاهده شده است، اما:

ناهمگونی روش‌ها،

حجم نمونه محدود،

استفاده از کنترل‌های تاریخی

باعث شده‌اند که نتیجه‌گیری قطعی درباره اثربخشی بالینی NDV امکان‌پذیر نباشد. بنابراین، NDV هنوز به‌عنوان درمان استاندارد سرطان تأیید نشده است (۱۰۶).

ایمنی در مطالعات بالینی

در مطالعات انسانی، عوارض NDV عموماً خفیف تا متوسط گزارش شده‌اند. با این حال، به دلیل کوچک بودن حجم نمونه، غیرتصادفی بودن کارآزمایی ها، استفاده از کنترل‌های تاریخی یا همراهی با سایر درمان‌های استاندارد، میزان واقعی اثربخشی NDV هنوز به‌طور قطعی مشخص نیست.

۴. مقایسه نهایی سطوح شواهد

منبع	نوع مطالعه	نتیجه اصلی	روش درمان	ویروس یا سازه	مدل حیوانی/سرطان
۹۲	in vitro و in vivo	افزایش آپوپتوز و مهار رشد تومور	درمان ترکیبی	LaSota + تموزولومایید	گلیوبلاستوما
۹۳	in vivo پیش‌بالینی	افزایش مرگ سلول‌های گلیوما و کاهش خودنوزایی سلول‌های بنیادی تومور	انتقال ویروس با MSC	MTH-۶۸/H+ سلول‌های بنیادی مزانشیمی	گلیوما
۹۴	in vivo پیش‌بالینی	افزایش حدود ۵۰٪ در بقای میانه و ایجاد حافظه ایمنی اختصاصی تومور	درمان موضعی	NDV-HB۱	گلیومای ارتوتوپیک
۹۵	in vivo پیش‌بالینی	افزایش سلول‌های ایمنی و پسرفت سریع تومور، با ظرفیت درمانی بالقوه	درمان ترکیبی	NDV-NS۱ + وانادیل سولفات	ملانوم F۱۰-B۱۶
۹۶	in vitro و in vivo	افزایش اختصاصیت و قدرت از بین بردن رده HCT۱۱۶؛ رده سلولی انسانی		S۵۱۹G rNDV	سرطان کولورکتال

رفرانس	محدودیت مهم	یافته‌های اصلی	روش درمان	تعداد بیماران	فاز یا نوع مطالعه	نوع سرطان	نام سویه NDV
۳۶	گزارش موردی و فاقد گروه کنترل	کاهش سریع تعداد سلول‌های لوسمیک و بهبود علائم، با دوام تقریبی دو هفته	تلقیح مکرر NDV	۱ بیمار	گزارش موردی اولیه	لوسمی میلوئید حاد	Hickman
۹۷	کنترل تاریخی، احتمال سوگیری انتخاب و نبود کارآزمایی مدرن تصادفی	بهبود بقای کلی نسبت به کنترل‌های تاریخی؛ بقای ۱۰ ساله بیش از ۶۰٪ و بقای ۱۵ ساله حدود ۵۵٪ در پیگیری‌های گزارش‌شده	استفاده پس از جراحی و واکسیناسیون با اونکولیزات NDV	تعداد اولیه در گزارش‌های مختلف	مطالعات بالینی و پیگیری طولانی‌مدت	ملانوما مراحل II و III	۷۳T-NDV / اونکولیزات NDV
۹۸	غیرتصادفی و مستعد عوامل مخدوش‌کننده	بقای کلی میانه در گروه واکسن بیش از ۷ سال، در مقابل ۴/۴۶ سال در گروه جراحی/ شیمی‌درمانی	جراحی به‌علاوه واکسن سلول توموری اتولوگ اصلاح‌شده با NDV	۳۱۰ بیمار در گروه واکسن؛ ۲۵۷ بیمار در گروه مقایسه	مطالعه مقایسه‌ای غیرتصادفی	سرطان کولورکتال مراحل I تا IV	ATV-NDV
۹۹	تعداد کم بیماران و مطالعه اولیه	کاهش CEA در ۴ بیمار و پاسخ نسبی متاستازها در ۴ بیمار؛ ۷ بیمار تا سال ۲۰۰۹ زنده بودند	واکسن سلول توموری اتولوگ اصلاح‌شده با NDV و بیان‌کننده سازه HN-CD۲۸	۱۴ بیمار	فاز I	سرطان کولورکتال متاستاتیک مرحله IV	ATV-NDV-αHN-αCD۲۸
۱۰۰	نیاز به بررسی دقیق طراحی و وجود یا نبود گروه کنترل	بقای یک‌ساله در ۹۱٪، بقای دوساله در ۳۹٪ و چند بازمانده طولانی‌مدت	واکسن سلول توموری اتولوگ اصلاح‌شده با NDV	۲۳ بیمار	فاز III طبق جدول مقاله	گلیوبلاستوما	ATV-NDV
۱۰۱	نمونه کوچک و نبود شواهد کافی از کارآزمایی کنترل‌شده بزرگ	بقای پنج‌ساله در بیماران مرحله III و IV حدود ۶۱٪ گزارش شد	واکسیناسیون با سلول‌های توموری اتولوگ اصلاح‌شده با ویروس	۲۰ بیمار	فاز III طبق جدول مقاله	سرطان سلول سنگفرشی سر و گردن	ATV-NDV
۱۰۲	چهار بیمار و نبود گروه کنترل	همه بیماران درمان شدند و در مقاله بقای طولانی‌مدت گزارش شد	درمان با ویروس زنده تضعیف‌شده MTH-۶۸/H	۴ بیمار	فاز I یا مطالعه اولیه	گلیوم‌های درجه بالا / گلیوبلاستوما	MTH-۶۸/H

رفرانس	محدودیت مهم	یافته‌های اصلی	روش درمان	تعداد بیماران	فاز یا نوع مطالعه	نوع سرطان	نام سویه NDV
۱۰۳	تعداد کم بیماران و نبود مطالعه تصادفی	سمیت کلی کم؛ تب اساسی درجه III در ۵ بیمار؛ یک پاسخ کامل گزارش شد	تزریق وریدی NDV-HUJ	۱۱ بیمار	فاز I/II	گلیوبلاستوما عودکننده	NDV-HUJ
۱۰۴	مطالعه افزایش دوز، تعداد محدود و هدف اصلی ایمنی	تعیین دوز، بررسی ایمنی و تحمل؛ برخی پاسخ‌های عینی اولیه گزارش شد	تزریق وریدی ویروس تکثیرشونده	بیماران مبتلا به تومورهای جامد پیشرفته	فاز I	تومورهای جامد پیشرفته	PV۷۰۱
۱۰۵	نتیجه نهایی اثربخشی در مقاله ارائه نشده است	ارزیابی ترکیب NDV نوترکیب با مهارکننده PD-L۱	MEDI۵۳۹۵، ویروس NDV-۷۳T نوترکیب بیان‌کننده GM-CSF، همراه با دوروالوماب	طبق ثبت کارآزمایی	کارآزمایی بالینی در حال بررسی	سرطان‌های پیشرفته مختلف	MEDI۵۳۹۵

بر اساس مجموع مطالعات انجام شده، قوی‌ترین شواهد مکانیزمی NDV در سطح in vitro مربوط به القای آپوپتوز، اتوفاژی، استرس شبکه آندوپلاسمی، فعال‌سازی مسیرهای IFN و تحریک سلول‌های NK و T است. در سطح پیش‌بالینی نیز NDV طبیعی و مهندسی‌شده در مدل‌های مختلف سرطان موجب کاهش رشد تومور، نکروز، افزایش بقا و ایجاد حافظه ایمنی شده است. در سطح بالینی، ایمنی قابل‌قبول و نشانه‌هایی از پاسخ درمانی مشاهده شده است؛ اما به دلیل کوچک‌بودن نمونه‌ها و ضعف طراحی بسیاری از مطالعات، NDV هنوز یک درمان امیدوارکننده و تحقیقاتی، نه یک درمان قطعی استاندارد، محسوب می‌شود.

بهبود تحویل سیستمیک NDV:

اگرچه نشان داده شده است که NDV و سایر ویروس‌های انکولیتیک با تجویز داخل توموری (Intratumoral) باعث پسرفت (Regression) قابل‌توجه تومورها می‌شوند، اما تحویل سیستمیک (Systemic Delivery) همچنان یک چالش اساسی است؛ زیرا ویروس در گردش خون توسط سیستم ایمنی پاکسازی شده و به اهداف غیرتوموری متصل می‌شود. با وجود آنکه کارآزمایی‌های فاز یک با تجویز داخل وریدی NDV(Intravenous) برخی مزایای بالینی را نشان داده‌اند، این مزیت در اکثر بیماران بسیار محدود بوده است؛ موضوعی که احتمالاً نشان‌دهنده تحویل ناکافی ویروس به درون تومور است (۱۰۷). چندین گروه سیستم‌های سلول‌های حامل (Carrier Cell Systems) را برای بهبود تحویل ویروس بررسی کرده‌اند و نتایج امیدوارکننده‌ای در مدل‌های پیش‌بالینی (Preclinical) به دست آمده است. با اثبات این که سلول‌های بنیادی مزانشیمی (Mesenchymal)، عصبی (Neural)، سلول‌های ایمنی و حتی سلول‌های سرطانی دارای ویژگی تومور-گرایی (Tumor-homing) هستند، نشان داده شد که این سلول‌ها وقتی با ویروس‌های انکولیتیک بارگذاری (Loaded) شوند- می‌توانند تحویل ویروس به تومور را افزایش داده و از سمیت سیستمیک جلوگیری کنند (۱۰۸). به طور خاص، استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) به عنوان حامل برای ویروس‌درمانی پارامیکسوویروس سرخک نشان داده است که این سلول‌ها می‌توانند ویروس را از آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده محافظت کرده و آن را به طور مؤثر به تومورها در یک مدل ژنوگرافت ارتوپیک (Orthotopic Xenograft) سرطان تخمدان منتقل می‌کند. بررسی روش‌های مشابه برای تحویل NDV به بافت‌های هدف، قطعاً برای توسعه آن به عنوان یک عامل سیستمیک اهمیت خواهد داشت (۱۰۹). همان‌طور که اشاره شد، برخی از سویه‌های بیماری‌زای NDV (Virulent) دارای فعالیت انکولیتیک هستند و سویه‌های تضعیف‌شده (Attenuated) آن‌ها نیز در بیماران سرطانی به کار گرفته شده‌اند. اگرچه به نظر می‌رسد همه سویه‌های NDV در سلول‌های موش و انسان انتخاب تومور برای تکثیر را نشان می‌دهند، اما سویه‌های لنتوژنیک (Lentogenic) رفتار تکثیری تک‌چرخه‌ای (Monocyclic) دارند، در حالی که سویه‌های بیماری‌زاتر تکثیر چندچرخه‌ای (Multicyclic)

محدودیت اصلی	مهم‌ترین یافته‌ها	هدف اصلی	سطح شواهد
محیط آزمایشگاهی ساده و فاقد ریزمحیط واقعی تومور	آپوپتوز، اتوفاژی، استرس ER، فعال‌شدن کاسپازها و تحریک سلول‌های ایمنی	بررسی ورود، تکثیر، سمیت و مسیرهای مرگ سلولی	in vitro
تفاوت مدل‌های حیوانی با تومور انسانی و محدودیت انتقال‌پذیری	کاهش رشد یا پاک‌شدن تومور، افزایش بقا، ایجاد حافظه ایمنی و بهبود اثر با مهندسی ژنتیکی یا درمان ترکیبی	بررسی اثربخشی، ایمنی، توزیع و ایمنی ضدتوموری	in vivo/ پیش‌بالینی
حجم نمونه کم، کنترل ناکافی، درمان‌های همزمان و نبود کارآزمایی‌های بزرگ قطعی	سمیت عموماً قابل‌تحمل و پاسخ‌های کامل یا نسبی در بخشی از بیماران	سنجش ایمنی و پاسخ درمانی در انسان	بالینی

نشان می‌دهند (۲۷). توسعه سامانه‌های ژنتیک معکوس این امکان را فراهم کرده است که ژنوم NDV با دقت بالا ویرایش شده و سویه‌های نوترکیب (rNDV) با کارایی انکولیتیک بسیار افزایش‌یافته تولید شوند. راهبردهای کنونی عمدتاً بر موارد زیر متمرکز هستند:

- اصلاح پروتئین‌های F یا HN برای بهبود هدف‌گیری،
- بهینه‌سازی جایگاه برش پروتئین F برای افزایش توانایی تکثیر در سلول‌های توموری،
- استفاده از NDV به عنوان وکتور برای بیان ژن‌های خارجی.

این ویروس‌های نوترکیب نه تنها مزایای ذاتی NDV را حفظ می‌کنند، بلکه از طریق بیان پروتئین‌های عملکردی، اثرات موضعی در ریزمحیط تومور (TME) ایجاد کرده و پاسخ‌های ایمنی ضدتوموری را تقویت می‌کنند تا در نهایت به یک اثر درمانی قوی دست یابند (۳۷). چندین مطالعه نشان داده‌اند که توانایی‌های لیتیک سویه‌های لنتوژنیک NDV را می‌توان با وارد کردن جایگاه برش پلی‌بازیک (Polybasic Cleavage Site) به پروتئین F افزایش داد. در سویه‌های فیوژن‌زای NDV نیز تشکیل سینسیتیا (Syncytia) به طور قابل‌توجهی لیز سلول‌های سرطانی را در شرایط آزمایشگاهی (In Vitro) و داخل بدن (In Vivo) افزایش می‌دهد. در واقع، وارد کردن پروتئین F فیوژن‌زای NDV به ویروس استوماتیت وزیکولی (VSV)، موجب تشکیل سین‌سیتیا و تقویت خواص انکولیتیک VSV شد (۲۲).

سوابق استفاده از سویه NDV انکولیتیک در ایران:

در ایران نیز از سویه‌های ویروس نیوکاسل برای درمان سرطان استفاده شده است. احمدیان‌پور و همکاران در مطالعه‌ای با هدف بررسی تأثیر بیان نابه‌جای ژن DSCR۱ و ویروس نیوکاسل بر رگزایی و آپوپتوز در سلول‌های سرطان معده، از ویروس NDV همراه با وکتور لنتی‌ویروسی حامل ژن DSCR۱ استفاده کردند. نتایج نشان داد هنگامی که NDV و LV-DSCR۱+ به طور همزمان در سلول‌های سرطانی معده (GC) تلقیح (Inoculate) شدند، در مقایسه با تلقیح جداگانه ، افزایش معنی‌دار آپوپتوز و کاهش معنی‌دار رگزایی (آنژیوژنز) مشاهده شد. در این مطالعه از واکسن تخفیف حدت‌یافته حاوی سویه La Sota تهیه شده از موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی استفاده شده بود (۱۱۰).

در تحقیق دیگری، مظفریان پور و همکاران اثرات تجویز درون‌توموری لیزات انکولیتیک NDV را بر پاسخ ایمنی و پسرفت تومور در مدل موشی C57BL/6 مبتلا به تومور مرتبط با ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) بررسی کردند. این مدل با سلول‌های سرطانی سینرژنیک TC-۱ ایجاد شده بود. نتایج نشان داد تزریق پیرامون‌توموری لیزات انکولیتیک NDV به‌طور مؤثری پاسخ‌های ایمنی ضدتوموری را از طریق افزایش IL-۴ و IFN-γ و کاهش IL-۱۰ القا می‌کند (۹۱). در مطالعه ای دیگر، کشاورز و همکاران استفاده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) را به عنوان حامل برای انتقال ویروس نیوکاسل انکولیتیک در درمان تومورهای مرتبط با HPV بررسی کردند. داده‌ها نشان داد سلولهای بنیادی مزانشیمی حامل NDV می‌توانند به عنوان یک استراتژی بالقوه مؤثر ایمنی‌درمانی سرطان عمل کنند و از طریق القای پاسخ‌های ایمنی Th۱ طحالی و افزایش آپوپتوز در ریزمحیط تومور اثرگذار باشند (۹۰).

در مطالعه‌ای دیگر، اصفهانی و همکاران اثرات ویروس بیماری نیوکاسل را به‌عنوان یک ویروس انکولیتیک بر بیان ژن‌های مرتبط با آپوپتوز در رده سلولی TC-۱ بررسی کردند. در این پژوهش از سویه های وحشی ویروس NDV استفاده شد. نتایج نشان داد NDV-WTS در مقایسه با گروه کنترل، به طور معنی‌داری زنده‌مانی سلولی را کاهش داده و هم‌زمان آپوپتوز، سطوح ROS، آزادسازی LDH و فعالیت کاسپاز ۸ و ۹ را افزایش می‌دهد. تحلیل‌های مولکولی نیز نشان داد که تیمار سلول‌های TC-۱ با NDV موجب افزایش بیان Bax، Casp۸ و Casp۹ شده و کاهش بیان Bcl۲ می‌شود (۱۱۱). در مطالعه‌ای توسط جعفری و همکاران، از سویه‌های Hitchner La Sota, B۱, برای افزایش سمیت در سلول‌های سرطان پروستات در درمان ترکیبی NDV انکولیتیک و لنالیدومید استفاده شد. تمامی سویه‌ها از موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه شده بودند. نتایج نشان داد درمان با NDV انکولیتیک به‌ویژه سویه La Sota برای سرطان پروستات (PCa) اثربخش است و ترکیب NDV با لنالیدومید (Len) اثربخشی بیشتری در تخریب سلول‌های توموری نشان می‌دهد. این یافته‌ها یک رویکرد درمانی امیدوارکننده را مطرح می‌کنند که نیازمند مطالعات پیش‌بالینی و بالینی بیشتر است (۱۱۲). در مطالعه‌ای دیگر،

میرزایی ندوشن و همکاران به‌منظور افزایش پتانسیل ضد سرطانی ویروس نیوکاسل، اثر پالس‌های الکتریکی(EP) را در رده سلولی سرطان ریه بررسی کردند. در این تحقیق، به منظور تعیین افزایش نفوذپذیری احتمالی ویروس به کمک پالس‌های الکتریکی، سلول‌های سرطانی با IC ۵۰ ویروس بیماری نیوکاسل با یا بدون پالس‌های الکتریکی تیمار شدند. نتایج نشان داد پالس‌های الکتریکی موجب افزایش پتانسیل ضدسرطانی NDV در رده سلولی سرطان ریه می‌شود (۱۱۳).

تولید ویروس نیوکاسل و چالش‌های آن

با اینکه ویروس نیوکاسل در طبیعت تنها در پرندگان یافت می‌شود، اما می‌تواند انواع زیادی از سلول‌های پستانداران را نیز آلوده کند. ذخیره‌های این ویروس را می‌توان یا در تخم‌مرغ‌های جنین‌دار یا در سلول‌هایی که در محیط کشت بافت رشد داده می‌شوند، پرورش داد. تولید ذخیره‌های ویروسی با استفاده از تخم‌مرغ‌های جنین‌دار، روشی قدیمی و مطمئن برای تهیه ذخیره‌های بسیاری از انواع ویروس‌هاست و معمولاً منجر به تولید ذخیره‌های ویروس نیوکاسل با عیار بالا می‌شود (۱۱۴).

با این حال، این روش معایبی دارد. اگرچه تخم‌مرغ جنین‌دار همچنان روش استاندارد تولید NDV است، گران‌قیمت بوده و مقیاس‌پذیری آن دشوار است. از دیگر معایب این روش، نیازبه تعداد زیاد تخم‌مرغ SPF است که تهیه آن‌ها دشوار و پرهزینه است. همچنین احتمال ورود آلودگی‌های میکروبی در حین کار با تخم‌مرغ و بافت‌های جنینی زیاد است وبه دلیل تفاوت در کیفیت تخم‌مرغ‌ها و شرایط زیستی آن‌ها، هر دسته از ویروس تولیدی ممکن است کیفیت و بازده متفاوتی داشته باشد.

علاوه بر این، سویه‌های حاد (virulent) NDV به دلیل بیماری‌زایی بالا برای جنین، در این سیستم به‌سختی تکثیر می‌شوند (۱۱۵-۱۱۷). تولید انبوه نیز نیازمند سیستم بذر (seed lot system) و خالص‌سازی دقیق است تا از ورود آلودگی‌های ناخواسته جلوگیری شود. همچنین هنگام تکثیر زیاد، امکان تغییر ویژگی‌های ژنتیکی یا فنوتیپی وجود دارد و باید شاخص‌های IVPI، ICPI و MDT به‌طور مستمر پایش شوند (۱۱۸). وابستگی به تخم‌مرغ جنین‌دار در بسیاری از فرایندها همچنان دیده می‌شود و این موضوع انتقال تولید NDV به پلتفرم کشت سلولی را دشوار می‌کند؛ زیرا ویروس باید با سلول جدید سازگار شود و فرایند تولید از ابتدا بهینه‌سازی گردد (۵۵). علاوه بر این، استانداردهای لازم برای ذرات ویروسی از نظر بازدهی، خلوص و غلظت چه برای تولید واکسن و چه برای کاربردهای درمانی باید رعایت شوند (۱۱۹).

ویروس نیوکاسل توانایی آلوده‌سازی رده‌های سلولی پیوسته مانند HEK۲۹۳ ، DF، Vero-۱، MDCK و HeLa را نشان داده است. فرایندهای مبتنی بر کشت سلولی نسبت به تولید در تخم‌مرغ مزایای متعددی دارند؛ از جمله:

- جلوگیری از مشکلات مربوط به آلرژن‌ها
- حذف وابستگی به تأمین تخم‌مرغ
- امکان کنترل دقیق‌تر پارامترهای عملیاتی
- افزایش تکرارپذیری بیشتر
- قابلیت افزایش مقیاس
- امکان بهینه‌سازی فرایند (۱۱۵). با این حال، تهیه ذخایر ویروسی در کشت سلولی با تیترهایی قابل مقایسه با تولید در تخم‌مرغ اگر غیرممکن نباشد بسیار دشوار است. یکی دیگر از معایب ویروس تولیدشده در کشت بافت این است که سویه‌های غیربیماریزای NDV تولیدشده در سلول‌های کشت بافت، عفونت‌زا نیستند؛ زیرا پروتئین F در ویروس آزادشده برش نمی‌خورد و در نتیجه فعال نمی‌شود (۱۱۴).

نتیجه‌گیری

بخش قابل‌توجهی از ویروس‌های کاندید برای ویروس‌درمانی، ذاتاً بیماری‌زا برای انسان هستند؛ ازاین‌رو، استفاده از آن‌ها به‌ویژه در فرایندهای مهندسی ژنتیک و نوترکیبی مواد ژنومی می‌تواند با خطر ایجاد ویروس‌هایی با ویژگی‌های پیش‌بینی‌ناپذیر، پایداری ژنتیکی نامطمئن یا دامنه میزبانی تغییریافته همراه باشد. یکی از راهکارهای بالقوه برای کاهش این مخاطرات، بهره‌گیری از ویروس‌های طبیعی و کم‌خطر برای انسان به‌عنوان عوامل انکولیتیک است. ویروس بیماری نیوکاسل از جمله ویروس‌هایی است که به‌دلیل توانایی تکثیر انتخابی در برخی سلول‌های توموری، القای مرگ سلولی و تحریک پاسخ‌های ایمنی ضدتوموری، مورد توجه مطالعات ویروس‌درمانی سرطان قرار گرفته است. این ویروس عمدتاً پرندگان را آلوده می‌کند و در انسان معمولاً بیماری‌زایی

بسیار محدودی دارد؛ ویژگی‌ای که، در کنار سابقه مطالعات پیش‌بالینی و بالینی، مبنای مناسبی برای بررسی ظرفیت آن به‌عنوان یک عامل درمانی فراهم می‌سازد.

با وجود این مزایا، انتقال NDV از مرحله پژوهش به کاربرد درمانی با چالش‌های مهمی روبه‌رو است. از یک سو، NDV همچنان عامل تهدیدکننده صنعت طیور محسوب می‌شود و هرگونه توسعه یا کاربرد درمانی آن باید با الزامات دقیق ایمنی زیستی، کنترل انتشار و پیشگیری از رهاسازی سویه‌های نامطلوب همراه باشد. از سوی دیگر، کارایی درمان به مسیر و سامانه انتقال ویروس، دسترسی آن به بافت تومور، وجود کمپلمان و آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده، محدودیت‌های ناشی از پاسخ ایمنی میزبان و عوارض احتمالی وابسته است. افزون بر این، ناهمگنی ژنتیکی، فنوتیپی و ایمنی تومورها می‌تواند موجب شود که همه بیماران یا همه تومورها پاسخ یکسانی به NDV نشان ندهند. بنابراین، شناسایی و اعتبارسنجی بیومارکرهای پیش‌بینی‌کننده پاسخ، تعیین دقیق مشخصات ایمنی و سمیت، بهینه‌سازی روش‌های تحویل و طراحی راهبردهای ترکیبی باید در اولویت پژوهش‌های آینده قرار گیرد.

با توجه به اینکه سویه‌های طبیعی NDV در مطالعات مختلف فعالیت ضدتوموری نشان داده‌اند و برای انسان نسبتاً کم‌خطر تلقی می‌شوند، ارزیابی نظام‌مند ظرفیت تکثیر آن‌ها در رده‌های سلولی مختلف اهمیت ویژه‌ای دارد. ازآنجاکه رده‌های سلولی از نظر میزان تکثیر ویروس، تیتر عفونی نهایی و شدت ایجاد اثرات سیتوپاتیک یکسان نیستند، پیشنهاد می‌شود رده‌هایی که بیشترین بازده تولید ویروس، تیتر بالاتر و اثر سیتوپاتیک مطلوب‌تری ایجاد می‌کنند، شناسایی و با روش سنتی تکثیر در تخم‌مرغ جنین‌دار مقایسه شوند. همچنین، استفاده از رده‌های سلولی متنوع برای بررسی روش‌های جداسازی و خالص‌سازی ویروس می‌تواند به توسعه یک فرایند تولید استاندارد، تکرارپذیر و قابل‌انتقال به مقیاس صنعتی کمک کند.

مطالعات پیشین نشان داده‌اند که می‌توان ویژگی‌های انکولیتیک برخی سویه‌های طبیعی NDV را از طریق سازگارسازی تدریجی با کشت‌های سلولی و بدون ایجاد دستکاری مستقیم در ژنوم ویروس افزایش داد. بر این اساس، به‌کارگیری سویه‌های واکسینال رایج و در دسترس - به‌جای سویه‌های وحشی بیماری‌زاتر می‌تواند از منظر ایمنی زیستی رویکردی محتاطانه‌تر و قابل‌کنترل‌تر باشد. بااین‌حال، هرگونه پاساژ متوالی سلولی باید تحت شرایط کنترل‌شده و با پایش دقیق تغییرات فنوتیپی، ژنوتیپی، دامنه میزبانی، پایداری ژنتیکی، توان بیماری‌زایی و ویژگی‌های انکولیتیک انجام شود؛ زیرا سازگاری با کشت سلولی ممکن است به تغییرات ناخواسته در رفتار زیستی ویروس منجر شود.

از سوی دیگر، گزارش شده است که سازگارسازی NDV با رده‌های سلولی توموری انسانی می‌تواند تیتر عفونی ویروس را در این سلول‌ها افزایش داده و پس از عفونت، زنده‌مانی سلول‌های توموری را کاهش دهد. این یافته، ظرفیت استفاده از سازگارسازی هدفمند با کشت‌های سلولی سرطانی را به‌عنوان راهبردی برای تقویت ویژگی‌های انکولیتیک و طراحی فرآورده‌های ضدسرطان مطرح می‌کند. بااین‌حال، این رویکرد در حال حاضر عمدتاً در سطح مطالعات آزمایشگاهی و پیش‌بالینی قابل ارزیابی است و پیش از هرگونه کاربرد انسانی، به مطالعات جامع درباره اختصاصیت توموری، ایمنی، پایداری ژنتیکی، احتمال بازگشت فنوتیپ بیماری‌زا، فارماکوکینتیک و اثربخشی در مدل‌های حیوانی نیاز دارد.

در نهایت، با توجه به سابقه طولانی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی در مطالعه، پایش میدانی و تولید واکسن‌های ضد ویروس نیوکاسل از سال ۱۳۲۹ شمسی، ایجاد یک بانک متمرکز و استاندارد از سویه‌های مختلف NDV در این مؤسسه می‌تواند زیرساخت ارزشمندی برای تحقیقات آینده فراهم کند. این بانک می‌تواند شامل اطلاعات کامل ژنومی، منشأ جداسازی، ویژگی‌های زیستی، وضعیت بیماری‌زایی، تیتر عفونی، الگوی رشد در سامانه‌های مختلف کشت و مشخصات ایمنی هر سویه باشد. دسترسی کنترل‌شده پژوهشگران حوزه‌های ویروس‌شناسی، سرطان‌شناسی و داروسازی به چنین مجموعه‌ای، ضمن تسهیل مقایسه سویه‌ها و شناسایی کاندیداهای مناسب‌تر، می‌تواند به توسعه فرآورده‌های انکولیتیک استاندارد، ایمن و قابل‌ارزیابی برای کاربردهای ضدسرطان کمک کند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در این پژوهش هیچگونه تعارض منافعی وجود ندارد.

منابع مورد استفاده

1. Alexander DJ. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. Rev Sci Tech. 2000;19(2):443-62. doi:10.20506/rst.19.2.1231.

2. Rima B, Balkema-Buschmann A, Dundon WG, Duprex P, Easton A, Fouchier R, et al. ICTV virus taxonomy profile: Paramyxoviridae. J Gen Virol. 2019;100(12):1593-4. doi:10.1099/jgv.0.001328.

3. Miller PJ, Koch G. Newcastle disease. In: Swayne DE, Boulianne M, Logue CM, McDougald LR, Nair V, Suarez DL, editors. Diseases of poultry. 14th ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2020. p. 89-138.

4. Abdolshah M. Newcastle disease and the role of the Razi Institute in its control and prevention in Iran. Promot J Vaccines Dis Prev Vet Med. 1400;1(1):50-7.

5. Nooruzzaman M, Hossain I, Begum JA, Moula M, Khaled SA, Parvin R, et al. The first report of a virulent Newcastle disease virus of genotype VII.2 causing outbreaks in chickens in Bangladesh. Viruses. 2022;14(12):2627. doi:10.3390/v14122627.

6. Kumar R, Tiwari AK, Chaturvedi U, Kumar GR, Sahoo AP, Rajmani RS, et al. Velogenic Newcastle disease virus as an oncolytic virotherapeutic: in vitro characterization. Appl Biochem Biotechnol. 2012;167(7):2005-22. doi:10.1007/s12010-012-9621-8.

7. Yan Y, Samal SK. Role of intergenic sequences in Newcastle disease virus RNA transcription and pathogenesis. J Virol. 2008; 82(3): 1323-31. doi: 10.1128/JVI.01989-07.

8. Zhao H, Peeters BPH. Recombinant Newcastle disease virus as a viral vector: effect of genomic location of foreign gene on gene expression and virus replication. J Gen Virol. 2003;84(4):781-8. doi:10.1099/vir.0.19762-0.

9. Chambers P, Millar NS, Bingham RW, Emmerson PT. Molecular cloning of complementary DNA to Newcastle disease virus, and nucleotide sequence analysis of the junction between the genes encoding the haemagglutinin-neuraminidase and the large protein. J Gen Virol. 1986;67(3):475-86. doi:10.1099/0022-1317-67-3-475.

10. Wilde A, McQuain C, Morrison T. Identification of the sequence content of four polycistronic transcripts synthesized in Newcastle disease virus infected cells. Virus Res. 1986;5(1):77-95. doi:10.1016/0168-1702(86)90067-5.

11. Steward M, Vipond IB, Millar NS, Emmerson PT. RNA editing in Newcastle disease virus. J Gen Virol. 1993;74(12):2539-47. doi:10.1099/0022-1317-74-12-2539.

12. Römer-Oberdörfer A, Werner O, Veits J, Mebatsion T, Mettenleiter TC. Contribution of the length of the HN protein and the sequence of the F protein cleavage site to Newcastle disease virus pathogenicity. J Gen Virol. 2003;84(11):3121-9. doi:10.1099/vir.0.19316-0.

13. Yusoff K, Nesbit M, McCartney H, Meulemans G, Alexander D, Collins M, et al. Location of neutralizing epitopes on the fusion protein of Newcastle disease virus strain Beaudette C. J Gen Virol. 1989;70(11):3105-9. doi:10.1099/0022-1317-70-11-3105.

14. Neyt C, Geliebter J, Slaoui M, Morales

D, Meulemans G, Burny A. Mutations located on both F1 and F2 subunits of the Newcastle disease virus fusion protein confer resistance to neutralization with monoclonal antibodies. J Virol. 1989;63(2):952-4. doi:10.1128/JVI.63.2.952-954.1989.

15. World Organisation for Animal Health. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). Paris: World Organisation for Animal Health; 2021.

16. Ma S, Xia R, Wu W, Duan Z. Insights into the multifunctionality of viral glycoproteins F and HN in the lifecycle and pathogenesis of Newcastle disease virus: a systematic review. Vet Res. 2025;56(1):212. doi:10.1186/s13567-025-01512-1.

17. Yusoff K, Tan WS. Newcastle disease virus: macromolecules and opportunities. Avian Pathol. 2001;30(5):439-55. doi:10.1080/03079450120078701.

18. Huang Z, Krishnamurthy S, Panda A, Samal SK. Newcastle disease virus V protein is associated with viral pathogenesis and functions as an alpha interferon antagonist. J Virol. 2003;77(16):8676-85. doi:10.1128/JVI.77.16.8676-8685.2003.

19. Yang Y, Xue J, Teng Q, Li X, Bu Y, Zhang G. Mechanisms and consequences of Newcastle disease virus W protein subcellular localization in the nucleus or mitochondria. J Virol. 2021;95(7):e02087-20. doi:10.1128/JVI.02087-20.

20. Dimitrov KM, Abolnik C, Afonso CL, Albina E, Bahl J, Berg M, et al. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus. Infect Genet Evol. 2019;74:103917. doi:10.1016/j.meegid.2019.103917.

21. Brown VR, Bevins SN. A review of virulent Newcastle disease viruses in the United States and the role of wild birds in viral persistence and spread. Vet Res. 2017;48(1):68. doi:10.1186/s13567-017-0475-9.

22. Zamarin D, Palese P. Oncolytic Newcastle disease virus for cancer therapy: old challenges and new directions. Future Microbiol. 2012;7(3):347-67. doi:10.2217/fmb.12.4.

23. Khabiri A, Toroghi R, Mohammadabadi M, Tabatabaeizadeh SE. Introduction of a Newcastle disease virus challenge strain (sub-genotype VII.1.1) isolated in Iran. Vet Res Forum. 2023;14(4):221-8. doi:10.30466/vrf.2022.548152.3373.

24. Donahue JM, Mullen JT, Tanabe KK. Viral oncolysis. Surg Oncol Clin N Am. 2002;11(3):661-80. doi:10.1016/s1055-3207(02)00025-x.

25. Russell SJ, Peng KW, Bell JC. Oncolytic virotherapy. Nat Biotechnol. 2012;30(7):658-70. doi:10.1038/nbt.2287.

26. Fournier P, Schirrmacher V. Oncolytic Newcastle disease virus as cutting edge between tumor and host. Biology (Basel). 2013;2(3):936-75. doi:10.3390/biology2030936.

27. Apostolidis L, Schirrmacher V, Fournier P. Host mediated anti-tumor effect of oncolytic Newcastle disease virus after locoregional application. Int J Oncol. 2007;31(5):1009-19. doi:10.3892/ijo.31.5.1009.

28. Tayeb S, Zakay-Rones Z, Panet A. Therapeutic potential of oncolytic Newcastle disease virus: a critical review. Oncolytic Virother. 2015;4:49-62. doi:10.2147/

OV.S78600.
29. Ghrici M, El Zowalaty M, Omar AR, Ideris A. Induction of apoptosis in MCF-7 cells by the hemagglutinin-neuraminidase glycoprotein of Newcastle disease virus Malaysian strain AF2240. Oncol Rep. 2013;30(3):1035-44. doi:10.3892/or.2013.2573.
30. Yurchenko KS, Zhou P, Kovner AV, Zavjalov EL, Shestopalova LV, Shestopalov AM. Oncolytic effect of wild-type Newcastle disease virus isolates in cancer cell lines in vitro and in vivo on xenograft model. PLoS One. 2018;13(4):e0195425. doi:10.1371/journal.pone.0195425.
31. Ginting TE, Suryatenggara J, Christian S, Mathew G. Proinflammatory response induced by Newcastle disease virus in tumor and normal cells. Oncolytic Virother. 2017;6:21-30. doi:10.2147/OV.S123292.
32. Hamad MA, Almzaien AK, Jameel FR, Mohammad MH, Al-Shammari AM. The oncolytic effect of Newcastle disease virus attenuated AMHA1 strain against digestive system tumors. Vet World. 2024;17(11):2688-93. doi:10.14202/vetworld.2024.2688-2693.
33. Meng Q, He J, Zhong L, Zhao Y. Advances in the study of antitumour immunotherapy for Newcastle disease virus. Int J Med Sci. 2021;18(11):2294-302. doi:10.7150/ijms.59185.
34. Lam HY, Yeap SK, Pirozyan MR, Omar AR, Yusoff K, Suraini AA, et al. Safety and clinical usage of Newcastle disease virus in cancer therapy. J Biomed Biotechnol. 2011;2011:718710. doi:10.1155/2011/718710.
35. Lorence RM, Roberts MS, O'Neil JD, Groene WS, Miller JA, Mueller SN, et al. Phase 1 clinical experience using intravenous administration of PV701, an oncolytic Newcastle disease virus. Curr Cancer Drug Targets. 2007;7(2):157-67. doi:10.2174/156800907780058853.
36. Wheelock EF, Dingle JH. Observations on the repeated administration of viruses to a patient with acute leukemia: a preliminary report. N Engl J Med. 1964;271(13):645-51. doi:10.1056/NEJM196409242711301.
37. Sun J, Wang J, Xiao M, Chen L, Guan Y. Research progress on recombinant NDV in cancer therapy. Front Immunol. 2025;16:1735440. doi:10.3389/fimmu.2025.1735440.
38. Pedersden KA, Sadasiv EC, Chang PW, Yates VJ. Detection of antibody to avian viruses in human populations. Epidemiol Infect. 1990;104(4):519-25. doi:10.1017/S095026880004752X.
39. Ahlert T, Schirrmacher V. Isolation of a human melanoma adapted Newcastle disease virus mutant with highly selective replication patterns. Cancer Res. 1990;50(18):5962-8. doi:10.1158/0008-5472.50.18.5962.
40. Lam KM, Vasconcelos AC, Bickford AA. Apoptosis as a cause of death in chicken embryos inoculated with Newcastle disease virus. Microb Pathog. 1995;19(3):169-74. doi:10.1016/0882-4010(95)00091-6.
41. Washburn B, Weigand MA, Grosse-Wilde A, Janke M, Stahl H, Rieser E, et al. TNF-related apoptosis-inducing ligand mediates tumoricidal activity of human monocytes stimulated by Newcastle disease

virus. J Immunol. 2003;170(4):1814-21. doi:10.4049/jimmunol.170.4.1814.
42. Wu Y, Zhang X, Wang X, Wang L, Hu S, Liu X, et al. Apoptin enhances the oncolytic properties of Newcastle disease virus. Intervirology. 2012;55(4):276-86. doi:10.1159/000328325.
43. Elankumaran S, Rockemann D, Samal SK. Newcastle disease virus exerts oncolysis by both intrinsic and extrinsic caspase-dependent pathways of cell death. J Virol. 2006;80(15):7522-34. doi:10.1128/JVI.00241-06.
44. Kalantari A, Farashi Bonab S, Keyvanfar H. Isolation of Newcastle disease virus from industrial poultry and assessing its ability to induce expression of apoptosis-related genes in MCF-7 tumor cells. J Vet Microbiol. 2020;16(2):59-71.
45. Fábián Z, Csatáry CM, Szeberényi J, Csatáry LK. p53-independent endoplasmic reticulum stress-mediated cytotoxicity of a Newcastle disease virus strain in tumor cell lines. J Virol. 2007;81(6):2817-30. doi:10.1128/JVI.02490-06.
46. Ravindra PV, Tiwari AK, Ratta B, Bais MV, Chaturvedi U, Palia SK, et al. Time course of Newcastle disease virus-induced apoptotic pathways. Virus Res. 2009;144(1-2):350-4. doi:10.1016/j.virusres.2009.05.012.
47. Bian J, Wang K, Kong X, Liu H, Chen F, Hu M, et al. Caspase- and p38-MAPK-dependent induction of apoptosis in A549 lung cancer cells by Newcastle disease virus. Arch Virol. 2011;156(8):1335-44. doi:10.1007/s00705-011-0987-y.
48. Szeberényi J, Fábián Z, Töröcsik B, Kiss K, Csatáry LK. Newcastle disease virus-induced apoptosis in PC12 pheochromocytoma cells. Am J Ther. 2003;10(4):282-8. doi:10.1097/00045391-200307000-00008.
49. Ravindra PV, Tiwari AK, Sharma B, Rajawat YS, Ratta B, Palia S, et al. HN protein of Newcastle disease virus causes apoptosis in chicken embryo fibroblast cells. Arch Virol. 2008;153(4):749-54. doi:10.1007/s00705-008-0057-2.
50. Molouki A, Hsu YT, Jahanshiri F, Abdullah S, Rosli R, Yusoff K. The matrix (M) protein of Newcastle disease virus binds to human Bax through its BH3 domain. Virol J. 2011;8(1):385. doi:10.1186/1743-422X-8-385.
51. Hrabák A, Csuka I, Bajor T, Csatáry LK. The cytotoxic anti-tumor effect of MTH-68/H, a live attenuated Newcastle disease virus is mediated by the induction of nitric oxide synthesis in rat peritoneal macrophages in vitro. Cancer Lett. 2006;231(2):279-89. doi:10.1016/j.canlet.2005.02.005.
52. Jarahian M, Watzl C, Fournier P, Arnold A, Djandji D, Zahedi S, Cerwenka A, Paschen A, Schirrmacher V, Momburg F. Activation of natural killer cells by Newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase. Journal of Virology. 2009;83(16):8108–8121. doi:10.1128/JVI.00211-09
53. Zorn U, Dallmann I, Große J, Kirchner H, Poliwoda H, Atzpodien J. Induction of cytokines and cytotoxicity against tumor cells by Newcastle disease virus. Cancer Biother. 1994;9(3):225-35. doi:10.1089/cbr.1994.9.225.

54. Zeng J, Fournier P, Schirrmacher V. Induction of interferon-alpha and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in human blood mononuclear cells by hemagglutinin-neuraminidase but not F protein of Newcastle disease virus. Virology. 2002;297(1):19-30. doi:10.1006/viro.2002.1425.

55. Yurchenko KS, Yi J, Shestopalov AM. Adaptation of the Newcastle disease virus to cell cultures for enhancing its oncolytic properties. Acta Naturae. 2019;11(1):66-73. doi:10.32607/20758251-2019-11-1-66-73.

56. Sui H, Bai Y, Wang K, Li X, Song C, Fu F, et al. The anti-tumor effect of Newcastle disease virus HN protein is influenced by differential subcellular targeting. Cancer Immunol Immunother. 2010;59(7):989-99. doi:10.1007/s00262-010-0821-5.

57. Ni J, Galani IE, Cerwenka A, Schirrmacher V, Fournier P. Antitumor vaccination by Newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase plasmid DNA application: changes in tumor microenvironment and activation of innate anti-tumor immunity. Vaccine. 2011;29(6):1185-93. doi:10.1016/j.vaccine.2010.12.006.

58. Ertel C, Millar NS, Emmerson PT, Schirrmacher V, von Hoegen P. Viral hemagglutinin augments peptide-specific cytotoxic T cell responses. Eur J Immunol. 1993;23(10):2592-6. doi:10.1002/eji.1830231032.

59. Haas C, Ertel C, Gerhards R, Schirrmacher V. Introduction of adhesive and costimulatory immune functions into tumor cells by infection with Newcastle disease virus. Int J Oncol. 1998;13(6):1105-15. doi:10.3892/ijo.13.6.1105.

60. Ten RM, Blank V, Le Bail O, Kourilsky P, Israel A. Two factors, IRF1 and KBF1/NF-kappa B, cooperate during induction of MHC class I gene expression by interferon alpha beta or Newcastle disease virus. C R Acad Sci III. 1993;316(5):496-501.

61. Termeer CC, Schirrmacher V, Bröcker EB, Becker JC. Newcastle disease virus infection induces B7-1/B7-2-independent T-cell costimulatory activity in human melanoma cells. Cancer Gene Ther. 2000;7(2):316-23. doi:10.1038/sj.cgt.7700109.

62. Elankumaran S, Chavan V, Qiao D, Shobana R, Moorkanat G, Biswas M, et al. Type I interferon-sensitive recombinant Newcastle disease virus for oncolytic virotherapy. J Virol. 2010;84(8):3835-44. doi:10.1128/JVI.01553-09.

63. Mansour M, Palese P, Zamarin D. Oncolytic specificity of Newcastle disease virus is mediated by selectivity for apoptosis-resistant cells. J Virol. 2011;85(12):6015-23. doi:10.1128/JVI.01537-10.

64. Lazar I, Yaacov B, Shiloach T, Eliahoo E, Kadouri L, Lotem M, et al. The oncolytic activity of Newcastle disease virus NDV-HUJ on chemoresistant primary melanoma cells is dependent on the proapoptotic activity of the inhibitor of apoptosis protein Livin. J Virol. 2010;84(1):639-46. doi:10.1128/JVI.00401-09.

65. Puhlmann J, Puehler F, Mumberg D, Boukamp P, Beier R. Rac1 is required for oncolytic NDV replication in human cancer cells and establishes a link between

tumorigenesis and sensitivity to oncolytic virus. Oncogene. 2010;29(15):2205-16. doi:10.1038/onc.2009.507.
66. Janke M, Peeters B, de Leeuw O, Moorman R, Arnold A, Fournier P, et al. Recombinant Newcastle disease virus (NDV) with inserted gene coding for GM-CSF as a new vector for cancer immunogene therapy. Gene Ther. 2007;14(23):1639-49. doi:10.1038/sj.gt.3303026.
67. Pühler F, Willuda J, Puhlmann J, Mumberg D, Römer-Oberdörfer A, Beier R. Generation of a recombinant oncolytic Newcastle disease virus and expression of a full IgG antibody from two transgenes. Gene Ther. 2008; 15(5):371-83. doi: 10.1038/sj.gt.3303095.
68. Bu X, Li M, Zhao Y, Liu S, Wang M, Ge J, et al. Genetically engineered Newcastle disease virus expressing human interferon-λ1 induces apoptosis in gastric adenocarcinoma cells and modulates the Th1/Th2 immune response. Oncol Rep. 2016;36(3):1393-402. doi:10.3892/or.2016.4925.
69. Fu F, Zhao M, Yang YJ, Tong GZ, Yang BF, Song C, et al. Antiproliferative effect of Newcastle disease virus strain D90 on human lung cancer cell line A549. Oncol Res. 2011;19(7):323-33. doi:10.3727/096504011X13079697132880.
70. Hu L, Sun S, Wang T, Li Y, Jiang K, Lin G, et al. Oncolytic Newcastle disease virus triggers cell death of lung cancer spheroids and is enhanced by pharmacological inhibition of autophagy. Am J Cancer Res. 2015;5(12):3612-23.
71. Sharma KK, Kalyani IH, Mohapatra J, Patel SD, Patel DR, Vihol PD, et al. Evaluation of the oncolytic potential of R2B Mukteshwar vaccine strain of Newcastle disease virus (NDV) in a colon cancer cell line (SW-620). Arch Virol. 2017;162(9):2705-13. doi:10.1007/s00705-017-3411-4.
72. Wang X, Shao X, Gu L, Jiang K, Wang S, Chen J, et al. Targeting STAT3 enhances NDV-induced immunogenic cell death in prostate cancer cells. J Cell Mol Med. 2020;24(7):4286-97. doi:10.1111/jcmm.15089.
73. Syed Najmuddin SUF, Amin ZM, Tan SW, Yeap SK, Kalyanasundram J, Veerakumarasivam A, et al. Oncolytic effects of the recombinant Newcastle disease virus, rAF-IL12, against colon cancer cells in vitro and in tumor-challenged NCr-Foxn1nu nude mice. PeerJ. 2020;8:e9761. doi:10.7717/peerj.9761.
74. Cheng JH, Sun YJ, Zhang FQ, Zhang XR, Qiu XS, Yu LP, et al. Newcastle disease virus NP and P proteins induce autophagy via the endoplasmic reticulum stress-related unfolded protein response. Sci Rep. 2016;6:24721. doi:10.1038/srep24721.
75. Ye T, Jiang K, Wei L, Barr MP, Xu Q, Zhang G, et al. Oncolytic Newcastle disease virus induces autophagy-dependent immunogenic cell death in lung cancer cells. Am J Cancer Res. 2018;8(8):1514-27.
76. Vigil A, Park MS, Martinez O, Chua MA, Xiao S, Cros JF, et al. Use of reverse genetics to enhance the oncolytic properties of Newcastle disease virus. Cancer Res. 2007;67(17):8285-92. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-1025.

77. Altomonte J, Marozin S, Schmid RM, Ebert O. Engineered Newcastle disease virus as an improved oncolytic agent against hepatocellular carcinoma. Mol Ther. 2010;18(2):275-84. doi:10.1038/mt.2009.267.

78. Zamarin D, Martínez-Sobrido L, Kelly K, Mansour M, Sheng G, Vigil A, et al. Enhancement of oncolytic properties of recombinant Newcastle disease virus through antagonism of cellular innate immune responses. Mol Ther. 2009;17(4):697-706. doi:10.1038/mt.2008.286.

79. Vigil A, Martinez O, Chua MA, García-Sastre A. Recombinant Newcastle disease virus as a vaccine vector for cancer therapy. Mol Ther. 2008;16(11):1883-90. doi:10.1038/mt.2008.181.

80. Ni J, Galani IE, Cerwenka A, Schirrmacher V, Fournier P. Antitumor vaccination by Newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase plasmid DNA application: changes in tumor microenvironment and activation of innate anti-tumor immunity. Vaccine. 2011;29(6):1185-93. doi:10.1016/j.vaccine.2010.12.006.

81. Song KY, Wong J, Gonzalez L, Sheng G, Zamarin D, Fong Y. Antitumor efficacy of viral therapy using genetically engineered Newcastle disease virus [NDV(F3aa)-GFP] for peritoneally disseminated gastric cancer. J Mol Med (Berl). 2010;88(6):589-96. doi:10.1007/s00109-010-0605-6.

82. Bu X, Zhang A, Chen Z, Zhang X, Zhang R, Yin C, et al. Migration of gastric cancer is suppressed by recombinant Newcastle disease virus (rL-RVG) via regulating alpha7-nicotinic acetylcholine receptors/ERK-EMT. BMC Cancer. 2019;19(1):976. doi:10.1186/s12885-019-6225-9.

83. Wei D, Li Q, Wang XL, Wang Y, Xu J, Feng F, et al. Oncolytic Newcastle disease virus expressing chimeric antibody enhanced anti-tumor efficacy in orthotopic hepatoma-bearing mice. J Exp Clin Cancer Res. 2015;34(1):153. doi:10.1186/s13046-015-0271-1.

84. Wu Y, He J, An Y, Wang X, Liu Y, Yan S, et al. Recombinant Newcastle disease virus (NDV/Anh-IL-2) expressing human IL-2 as a potential candidate for suppresses growth of hepatoma therapy. J Pharmacol Sci. 2016;132(1):24-30. doi:10.1016/j.jphs.2016.03.012.

85. Meng G, Fei Z, Fang M, Li B, Chen A, Xu C, et al. Fludarabine as an adjuvant improves Newcastle disease virus-mediated antitumor immunity in hepatocellular carcinoma. Mol Ther Oncolytics. 2019;13:22-34. doi:10.1016/j.omto.2019.03.004.

86. Assayaghi RM, Alabsi AM, Swethadri G, Ali AM. Liver pathology in rats treated with Newcastle disease virus strains AF2240 and V4-UPM. Asian Pac J Cancer Prev. 2019;20(10):3071-5. doi:10.31557/APJCP.2019.20.10.3071.

87. Yan Y, Jia L, Zhang J, Liu Y, Bu X. Effect of recombinant Newcastle disease virus transfection on lung adenocarcinoma A549 cells in vivo. Oncol Lett. 2014;8(6):2569-76. doi:10.3892/ol.2014.2562.

88. Raihan J, Ahmad U, Yong YK, Eshak Z, Othman F, Ideris A. Regression of solid breast tumours in mice by Newcastle dis-

ease virus is associated with production of apoptosis related-cytokines. BMC Cancer. 2019;19(1):315. doi:10.1186/s12885-019-5516-5.

89. Al-Shammari AM, Abdullah AH, Allami ZM, Yaseen NY. 2-Deoxyglucose and Newcastle disease virus synergize to kill breast cancer cells by inhibition of glycolysis pathway through glyceraldehyde-3-phosphate downregulation. Front Mol Biosci. 2019;6:90. doi:10.3389/fmolb.2019.00090.

90. Keshavarz M, Ebrahimzadeh MS, Miri SM, Dianat-Moghadam H, Ghorbanhosseini SS, Mohebbi SR, et al. Oncolytic Newcastle disease virus delivered by mesenchymal stem cells-engineered system enhances the therapeutic effects altering tumor microenvironment. Virol J. 2020;17(1):64. doi:10.1186/s12985-020-01326-w.

91. Mozaffari Nejad AS, Fotouhi F, Mehrbod P, Alikhani MY. Antitumor immunity enhancement through Newcastle viral oncolysate in mice model: a promising method to treat tumors. Saudi J Biol Sci. 2021;28(10):5833-40. doi:10.1016/j.sjbs.2021.06.043.

92. Bai Y, Chen Y, Hong X, Liu X, Su X, Li S, et al. Newcastle disease virus enhances the growth-inhibiting and proapoptotic effects of temozolomide on glioblastoma cells in vitro and in vivo. Sci Rep. 2018;8(1):11470. doi:10.1038/s41598-018-29929-y.

93. Kazimirsky G, Jiang W, Slavin S, Ziv-Av A, Brodie C. Mesenchymal stem cells enhance the oncolytic effect of Newcastle disease virus in glioma cells and glioma stem cells via the secretion of TRAIL. Stem Cell Res Ther. 2016;7(1):149. doi:10.1186/s13287-016-0414-0.

94. Koks CA, Garg AD, Ehrhardt M, Riva M, Vandenberk L, Boon L, et al. Newcastle disease virotherapy induces long-term survival and tumor-specific immune memory in orthotopic glioma through the induction of immunogenic cell death. Int J Cancer. 2015;136(5):E313-25. doi:10.1002/ijc.29202.

95. McAusland TM, van Vloten JP, Santry LA, Guilleman MM, Rghei AD, Ferreira EM, et al. Combining vanadyl sulfate with Newcastle disease virus potentiates rapid innate immune-mediated regression with curative potential in murine cancer models. Mol Ther Oncolytics. 2021;20:306-24. doi:10.1016/j.omto.2021.01.009.

96. Jung BK, An YH, Jang SH, Jang JJ, Kim S, Jeon JH, et al. The artificial amino acid change in the sialic acid-binding domain of the hemagglutinin neuraminidase of Newcastle disease virus increases its specificity to HCT 116 colorectal cancer cells and tumor suppression effect. Virol J. 2024;21(1):7. doi:10.1186/s12985-023-02276-9.

97. Batliwalla FM, Bateman BA, Serrano D, Murray D, Macphail S, Maino VC, et al. A 15-year follow-up of AJCC stage III malignant melanoma patients treated postsurgically with Newcastle disease virus (NDV) oncolysate and determination of alterations in the CD8 T cell repertoire. Mol Med. 1998;4(12):783-94. doi:10.1007/BF03401771.

98. Liang W, Wang H, Sun TM, Yao WQ, Chen LL, Jin Y, et al. Application of autol-

ogous tumor cell vaccine and NDV vaccine in treatment of tumors of digestive tract. World J Gastroenterol. 2003;9(3):495-8. doi:10.3748/wjg.v9.i3.495.

99. Schirrmacher V, Schlude C, Weitz J, Beckhove P. Strong T-cell costimulation can reactivate tumor antigen-specific T cells in late-stage metastasized colorectal carcinoma patients: results from a phase I clinical study. Int J Oncol. 2015;46(1):71-7. doi:10.3892/ijo.2014.2692.

100. Steiner HH, Bonsanto MM, Beckhove P, Brysch M, Geletneky K, Ahmadi R, et al. Antitumor vaccination of patients with glioblastoma multiforme: a pilot study to assess feasibility, safety, and clinical benefit. J Clin Oncol. 2004;22(21):4272-81. doi:10.1200/JCO.2004.09.038.

101. Karcher J, Dyckhoff G, Beckhove P, Reisser C, Brysch M, Ziouta Y, et al. Antitumor vaccination in patients with head and neck squamous cell carcinomas with autologous virus-modified tumor cells. Cancer Res. 2004;64(21):8057-61. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-1545.

102. Csatary LK, Gosztonyi G, Szeberenyi J, Fabian Z, Liszka V, Bodey B, et al. MTH-68/H oncolytic viral treatment in human high-grade gliomas. J Neurooncol. 2004;67(1-2):83-93. doi:10.1023/B:NEON.0000021735.85511.05.

103. Freeman AI, Zakay-Rones Z, Gomori JM, Linetsky E, Rasooly L, Greenbaum E, et al. Phase I/II trial of intravenous NDV-HUJ oncolytic virus in recurrent glioblastoma multiforme. Mol Ther. 2006;13(1):221-8. doi:10.1016/j.ymthe.2005.08.016.

104. Pecora AL, Rizvi N, Cohen GI, Meropol NJ, Sterman D, Marshall JL, et al. Phase I trial of intravenous administration of PV701, an oncolytic virus, in patients with advanced solid cancers. J Clin Oncol. 2002;20(9):2251-66. doi:10.1200/JCO.2002.08.042.

105. Burke S, Shergold A, Elder MJ, Whitworth J, Cheng X, Jin H, et al. Oncolytic Newcastle disease virus activation of the innate immune response and priming of antitumor adaptive responses in vitro. Cancer Immunol Immunother. 2020;69(6):1015-27. doi:10.1007/s00262-020-02495-x.

106. PDQ Integrative, Alternative, and Complementary Therapies Editorial Board. Newcastle disease virus (PDQ®): patient version. Bethesda (MD): National Cancer Institute; 2013 Feb 20 [cited 2026 Aug 15].

107. Schirrmacher V, Griesbach A, Ahlert T. Antitumor effects of Newcastle disease virus in vivo: local versus systemic effects. Int J Oncol. 2001;18(5):945-52. doi:10.3892/ijo.18.5.945.

108. Nakashima H, Kaur B, Chiocca EA. Directing systemic oncolytic viral delivery to tumors via carrier cells. Cytokine Growth Factor Rev. 2010;21(2-3):119-26. doi:10.1016/j.cytogfr.2010.02.004.

109. Mader EK, Maeyama Y, Lin Y, Butler GW, Russell HM, Galanis E, et al. Mesenchymal stem cell carriers protect oncolytic measles viruses from antibody neutralization in an orthotopic ovarian cancer therapy model. Clin Cancer Res. 2009;15(23):7246-55. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-1292.

110. Ahmadianpour MV, Aleyasin SA.

DSCR1 gene and Newcastle disease virus ectopic expression effect on angiogenesis and apoptosis in gastric cancer cells. Future Virol. 2025;20(5):141-53. doi:10.1080/17460794.2025.2488696.

111. Esfahani MAA, Dorostkar R, Esmaeili Gouvarchin Ghaleh H, Ramezani R, Ramezani R, Mir Mohammad Sadeghi SM, et al. Evaluation of the effects of Newcastle disease virus as an oncolytic virus on the expression of apoptosis-related genes in TC-1 cell line. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2026;25(1):69-79. doi:10.18502/ijaai.v25i1.20440.

112. Jafari M, Abdoli S, Asgari M, Moghaddam Pour M, Shokrgozar MA, Sharifzadeh Z. Combination therapy of oncolytic Newcastle virus and lenalidomide enhanced cytotoxicity in prostate cancer cells. Iran Biomed J. 2025;29(1-2):9-19. doi:10.61882/ibj.4367.

113. Mirzaei Nodooshan M, Shankayi Z, Farzanehpour M, Dorostkar R, Esmaeili Gouvarchin Ghaleh H. Increasing the anticancer potential of Newcastle disease virus with electrical pulses in lung cancer cell line. J Mil Med. 2024;26(4):2420-9. doi:10.30491/jmm.2024.1006722.1215.

114. McGinnes LW, Pantua H, Reitter J, Morrison TG. Newcastle disease virus: propagation, quantification, and storage. Curr Protoc Microbiol. 2006; Chapter 15: 15F.2.1-15F.2.18. doi: 10.1002/9780471729259.mc15f02s01.

115. Fulber JPC, Kamen AA. Development and scalable production of Newcastle disease virus-vectored vaccines for human and veterinary use. Viruses. 2022;14(5):975. doi:10.3390/v14050975.

116. Lye PY, Kotani E, Liew MWO. Progress and challenges in production of recombinant Newcastle disease virus hemagglutinin-neuraminidase subunit vaccine. Process Biochem. 2023;132:263-77. doi:10.1016/j.procbio.2023.07.023.

117. Samy A, Alber A, Fife M, Hammond JA. IFITM knockout DF1 cells produce higher influenza and Newcastle disease viral yields: a proof of concept for avian origin cell-based vaccine production. Vaccine. 2025;61:127360. doi:10.1016/j.vaccine.2025.127360.

118. Agricultural Research, Education and Extension Organization. Design and construction of a laboratory-scale and semi-industrial live cloned Newcastle disease vaccine. Karaj: Agricultural Research, Education and Extension Organization; 2017. (National Scientific Document ID: R-1050562).

119. Fulber JPC, Farnós O, Kiesslich S, Yang Z, Dash S, Susta L, et al. Process development for Newcastle disease virus-vectored vaccines in serum-free Vero cell suspension cultures. Vaccines (Basel). 2021;9(11):1335. doi:10.3390/vaccines9111335.