



# تطوير علاج فيروسي للأورام معتمد على فيروس التهاب الفم الحويصلي المعدل ضد خلايا سرطان الثدي

إعداد

رواء حسين عبدالعال

إشراف

أ.د. ماجدة علي قنش

أ.د. أنور محمد هادي هاشم

## المستخلص

**الخلفية والأهداف:** يعتبر سرطان الثدي أحد أكثر أنواع السرطانات شيوعاً بين النساء في العالم، ويمثل العلاج المناعي المحلل للورم السرطاني ابتكاراً جديداً كعلاج واعد وفعال ضد هذا النوع من السرطانات والذي يعتمد على توظيف فيروسات معدلة جينياً لقتل الخلايا السرطانية وتدميرها بشكل انتقائي دون الاضرار بالخلايا السليمة. يتميز هذا العلاج المبتكر بقدرته على التكاثر داخل الخلايا السرطانية وتحليلها ومن ثم تحفيز استجابة المناعة الذاتية والمكتسبة المضادة للورم. ووفقاً لذلك، فإن هذه الدراسة تهدف الى التحقق من قدرة فيروسات التهاب الفم الحويصلي المعدل المدعمة بالساييتوكينات المعززة للمناعة  $rVSV$ ,  $rVSV \Delta M51$  and  $rVSV \Delta M51$ -hIL12 لإصابة وقتل خلايا سرطان الثدي بفعالية.

**المواد وطرق العمل:** تم إعادة استنساخ الحمض النووي الخاص بالفيروسات الثلاثة وفحص جودة الاستنساخ عن طريق تقنية تتبع وتحليل التسلسل الجيني ومن ثم تحرير الفيروسات وتنقيتها باستخدام تقنية plaque assay وتحليل RT-PCR والتصوير بالمجهر الالكتروني. وللتأكد من انتاج ووظائف البروتينات الأساسية لفيروسات  $rVSVs$  تم فحص البروتينات المنتجة  $G$ ،  $M$ ،  $N$  والانتروكين-12 البشري عن طريق تقنية الوبسترن بلوت، وصبغة التفاعل المناعي (الآليزا) في الخلايا الحية.

**النتائج:** أظهرت نتائج البحث نجاح تقنية الفيروسات المعدلة جينياً  $rVSV$ ,  $rVSV \Delta M51$ ,  $rVSV \Delta M51$ -hIL12 واستخدامها كعوامل علاجية ضد سرطان الثدي. وتم اثبات فاعلية هذه الفيروسات وسميتها على العديد من الخلايا السرطانية البشرية والخلايا الحيوانية. وقد لوحظ ان الخلايا الغير مسرطنة GM-38 أقل تأثراً وعرضة للإصابة بفيروس  $rVSV \Delta M51$  مقارنة بـ  $rVSV$ . أيضاً تم تقييم فعالية هذه العلاجات  $rVSV$  و  $rVSV \Delta M51$  عن طريق استخدام فئران التجارب C57BL / 6J الحاملة للورم B16F10. كلا العلاجين كان لهما تأثير فعال في تأخير نمو الورم وإطالة بقاء الفئران على قيد الحياة مقارنة بالفئران غير المعالجة. علاوة على ذلك، أنتجت الخلايا المناعية الطبيعية (القاتلة) بمعدل 5% من بروتين انترفيرون جاما كاستجابة مناعية ناجمة عن تحفيز خلايا MCF7 باستخدام فيروس  $VSV \Delta M51$ ، بينما زاد  $rVSV \Delta M51$ -hIL12 من مستوى إنتاج انترفيرون جاما بمقدار الضعفين مقارنة بـ  $rVSV \Delta M51$ . أشارت النتائج إلى أن الفيروس الناسخ لبروتين انتروكين 12 البشري  $rVSV \Delta M51$ -hIL12 عزز النشاط الوظيفي للخلايا المناعية القاتلة مقارنةً بفيروس  $rVSV \Delta M51$  عن طريق تقييم تراكيز انترفيرون جاما المفززة.

**الاستنتاج والتوصيات:** تشير نتائج هذه الرسالة العلمية الى انه تم بنجاح الاستنساخ الحيوي واستخدام الفيروسات المعدلة  $rVSV$ ,  $rVSV \Delta M51$  and  $rVSV \Delta M51$ -hIL12، كعوامل علاجية لسرطان الثدي على مستوى الخلايا السرطانية المزروعة والنموذج الحيواني. وعليه يمكننا استخدامها كمنصة لقاح جديدة للعلاج المناعي لسرطان. وبناء عليه تدعم هذه النتائج المشاريع العلمية المستقبلية التي تطمح الى استخدام هذه المنهجية في معالجة سرطانات الثدي على المستوى الاكلينيكي.

**الكلمات المفتاحية:** السرطان، العلاج المناعي للسرطان، الفيروس المحلل للورم، فيروس التهاب الفم الحويصلي المعدل، تطوير العلاجات، انتروكين-12

**DEVELOPMENT OF ONCOLYTIC  
VIROTHERAPY BASED ON RECOMBINANT  
VESICULAR STOMATITIS VIRUS AGAINST  
BREAST CANCER CELLS**

**By**

**Rwaa Hussin Abdulal**

**Supervised By  
Prof. Magdah Ganash  
Prof. Anwar Hashem**

## Abstract

**Background and objectives:** Breast cancer remains the most common type of cancer diagnosed in women. Oncolytic immunotherapy represents a novel approach to anticancer therapy. This study investigated the possibility of using recombinant rVSV viruses as oncolytic therapies and whether incorporation of hIL12 to rVSV $\Delta$ M51 could enhance the therapeutic activity against tumors. This study also looked at aspects related to recovered viruses' efficacy to target breast cancer cells.

**Methods:** The successful constructs were confirmed by restriction digestion, sequencing, plaque assay, RT-PCR, and electron microscopy. Western immunoblot, ELISA, and immunofluorescence staining confirmed the expression of rVSV proteins, including G, M, N, and hIL12.

**Results:** I successfully constructed and rescued rVSV, rVSV $\Delta$ M51, and rVSV $\Delta$ M51-hIL12 viruses as treatment agents against breast cancer. *Several cancer cell lines were found to be susceptible to infection and killing by rVSV, rVSV $\Delta$ M51, and rVSV $\Delta$ M51-hIL12.* Importantly, non-tumorigenic GM38 cells were less sensitive to rVSV $\Delta$ M51 infection than rVSV. The treatment efficacy of rVSV and rVSV $\Delta$ M51 was assessed using the B16F10 tumor-bearing C57BL/6J mouse model. The effects of both treatments significantly delayed tumor growth and prolonged survival compared to untreated mice. Furthermore, approximately 5% of NK cells produced IFN- $\gamma$  in response to stimulation with MCF7-rVSV $\Delta$ M51, whereas rVSV $\Delta$ M51-hIL12 increased the level of IFN- $\gamma$  production by nearly 2-fold. The results indicated that hIL-12-expressing rVSV $\Delta$ M51 enhanced the functional activity of NK cells compared to rVSV $\Delta$ M51 measured by IFN- $\gamma$  production.

**Conclusion and Recommendation:** I successfully constructed and rescued rVSV, rVSV $\Delta$ M51, and rVSV $\Delta$ M51-hIL12 viruses as treatment agents against breast cancer. This study also shows their ability to lyse breast cancer *in vitro* and *in vivo*; therefore, they could be used as a novel vaccine platform for cancer immunotherapy. These findings open the window for future therapeutic and clinical approaches to breast cancer management.

**Keywords:** Cancer immunotherapy, Oncolytic virus, VSV, Treatments development, Interleukin-12.