



# Potensi *Coxsackievirus A21* (CVA21) Terbalut Polimer *Phosphoethylene Glycol* (PEG) sebagai Agen Viroterapi Onkolitik Berbasis Reseptor ICAM-1 dan DAF untuk Terapi Melanoma Maligna

Antony Halim,<sup>1</sup> Muhammad Riedha<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran, <sup>2</sup>Departemen Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

## ABSTRAK

Melanoma maligna merupakan salah satu jenis kanker kulit yang menyerang sel-sel pigmen melanosit, umumnya karena paparan sinar ultraviolet (UV). Terapi yang sering digunakan seperti radioterapi dan kemoterapi memiliki spesifisitas rendah untuk banyak jenis sel kanker, sehingga dapat mengenai sel-sel normal bukan sasaran. Strategi baru adalah dengan pemanfaatan virus, yang disebut viroterapi. Viroterapi merupakan inovasi alternatif dengan cara menciptakan vektor baru yang mampu memperbanyak diri di dalam sel tumor dan meminimalisir dampak merugikan pada jaringan sehat. Virus dapat menghancurkan sel-sel kanker melalui efek sitotoksik langsung. *Coxsackievirus A21* (CVA21) secara simultan membutuhkan dua molekul reseptor, yaitu *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan *decay-accelerating factor* (DAF). Kedua reseptor tersebut diekspresikan secara berlebihan di permukaan sel melanoma maligna. Aktivitas onkolitik CVA21 telah terbukti efisien untuk terapi melanoma maligna. CVA21 dibalut dengan polimer *phosphoethylene glycol* (PEG) untuk meminimalisir respons imun antivirus.

**Kata kunci:** *Coxsackievirus A21* (CVA21), ICAM-1 dan DAF, melanoma maligna, *phosphoethylene glycol* (PEG), viroterapi

## ABSTRACT

Malignant melanoma is one of the skin cancer that attacks melanocytes, usually caused by ultraviolet light (UV) exposure. Frequently-used therapies like radiotherapy and chemotherapy have low specificity, also affecting normal cells. The new strategy offered is through the use of viruses, called virotherapy. Virotherapy is an alternative innovation by creating new vectors that replicate in the tumor cells and minimize harmful effects on healthy tissues. Viruses can destroy cancer cells through direct cytotoxic effects. *Coxsackievirus A21* (CVA21) simultaneously takes two receptor molecules: *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) and *decay-accelerating factor* (DAF). Both of these receptors are overexpressed on the surface of malignant melanoma cells. Oncolytic activity of CVA21 has proven efficient in the treatment of malignant melanoma. *Phosphoethylene glycol* (PEG) polymer coating is to minimize antiviral immune response. **Antony Halim, Muhammad Riedha. Potency of Phosphoethylene Glycol (PEG) Polymer-coated *Coxsackievirus A21* (CVA21) as ICAM-1 and DAF Receptor-based Oncolytic Virotherapy Agent: Effective Solution for Malignant Melanoma**

**Keywords:** *Coxsackievirus A21* (CVA21), ICAM-1 and DAF, malignant melanoma, *phosphoethylene glycol* (PEG), virotherapy

## PENDAHULUAN

Melanoma maligna merupakan salah satu jenis kanker kulit yang berasal dari sel-sel pigmen melanosit, biasanya disebabkan oleh pajanan radiasi sinar ultraviolet (UV) pada kulit.<sup>1</sup> Insidens melanoma maligna hanya sekitar 6% pada laki-laki dan 3% pada wanita, namun menjadi penyebab kematian hingga 79% pada kasus kanker kulit,<sup>2</sup> karena kemampuan metastasisnya yang tinggi.<sup>1</sup> Di Australia, melanoma maligna tercatat sebagai kanker kulit dengan insidens tertinggi pada usia 15-44 tahun.<sup>3</sup> Di Amerika Serikat dan Eropa,

melanoma maligna merupakan tumor ganas yang paling banyak menimbulkan kematian.<sup>3</sup> Data histopatologi di Indonesia menunjukkan kanker kulit merupakan kanker ketiga tersering dan melanoma maligna menyebabkan hingga 2% dari semua kematian akibat kanker.<sup>4</sup> Di Rumah Sakit dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta, Indonesia, pada tahun 2009, penderita melanoma maligna tercatat sebanyak 22 kasus.<sup>4</sup>

Viroterapi merupakan sebuah strategi baru terapi kanker dengan cara menginfeksi dan

membunuh sel kanker secara selektif. Virus yang digunakan dalam viroterapi dapat melisis atau menyisipkan gen yang membuat sel-sel tersebut menjadi lebih rentan terhadap agen kemoterapi.<sup>11</sup> Hingga saat ini telah banyak virus yang diidentifikasi dapat digunakan sebagai agen viroterapi.<sup>12,13</sup>

*Coxsackievirus A21* (CVA21) termasuk virus golongan *Picornavirus* penyebab pilek ringan (*common cold*) pada manusia.<sup>14</sup> CVA21 secara simultan membutuhkan dua molekul reseptor agar dapat bekerja, yakni *intercellular adhesion*



*moleculin-1* (ICAM-1) dan *decay accelerating factor* (DAF).<sup>15</sup> Kedua reseptor tersebut ada dalam jumlah normal di permukaan sel epitel pernapasan.<sup>16</sup> Namun, di permukaan banyak jenis sel kanker, seperti sel melanoma maligna, kedua molekul reseptor tersebut diekspresikan berlebih, sehingga terjadi proliferasi yang tidak terkontrol dan kemampuan metastasis yang lebih besar.<sup>13,17</sup>

Aktivitas onkolitik *Coxsackievirus A21* telah didemonstrasikan pada berbagai jenis kanker baik *in vitro* maupun *in vivo*.<sup>18-22</sup> Virus ini telah terbukti efisien sebagai agen viroterapi terhadap berbagai jenis sel kanker, antara lain sel-sel melanoma maligna,<sup>18,19</sup> mieloma multipel,<sup>20</sup> kanker payudara,<sup>21</sup> dan kanker prostat.<sup>22</sup> Dalam upaya menghindari respons imun antivirus agar dapat mencapai sel target, virus dapat dibalut dengan *phosphoethylene glycol* (PEG), suatu polimer biokompatibel yang dapat melindungi virus dari imunitas tubuh dan mengurangi toksisitasnya.<sup>23,24</sup>

#### METODE

Makalah ini dibuat dari bulan Mei 2015 hingga Juni 2015. Literatur didapatkan dari berbagai jurnal penelitian, *website* ilmiah, hingga buku ilmiah kedokteran. Kata kunci yang digunakan adalah "melanoma maligna", "viroterapi", "*Coxsackievirus A21* (CVA21)", dan "*Coxsackievirus A21* (CVA21) sebagai agen viroterapi berbasis reseptor ICAM-1 dan DAF". Tidak ada kata kunci spesifik yang diperlukan sebagai kriteria inklusi.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

##### Melanoma Maligna

Melanoma maligna merupakan jenis kanker kulit yang menyerang sel-sel pigmen melanosit (di lapisan dalam epidermis)<sup>1</sup> (**Gambar 1**). Penyakit ini umumnya karena kulit terpajan radiasi sinar UV. Supresor gen p53 secara langsung dipengaruhi oleh radiasi sinar UV, biasanya ditemukan bermutasi pada kasus melanoma. Panjang gelombang utama yang paling sering meningkatkan risiko melanoma maligna adalah UVB 290-320 nm. Pada penelitian hewan coba didapatkan bahwa gelombang UVA berpengaruh kecil pada perkembangan melanoma maligna.<sup>25</sup> Kulit tipe 1 dan 2 adalah tipe kulit sensitif terhadap pajanan sinar UV dan berisiko tinggi mengidap kanker kulit.<sup>26</sup>

Faktor risiko utama melanoma adalah

radiasi sinar UV (dari pajanan sinar matahari ataupun akibat berjemur).<sup>27</sup> Selama ini terapi yang dianjurkan untuk melanoma adalah pembedahan. Radioterapi dan kemoterapi juga digunakan sebagai terapi kuratif baik untuk melanoma *in situ* maupun melanoma yang telah bermetastasis.<sup>28</sup>

##### Permasalahan Terapi Melanoma Maligna

Melanoma maligna merupakan salah satu jenis kanker kulit yang meskipun prevalensinya rendah namun mortalitasnya tinggi.<sup>1,2</sup> Menurut *The National Institute for Health and Clinical Excellence Improving Outcomes Guidance*, terapi lini pertama untuk melanoma maligna adalah pembedahan atau eksisi lokal.<sup>32,42</sup> Kemoterapi dan radioterapi juga direkomendasikan dalam terapi melanoma *in situ* atau yang telah bermetastasis.<sup>38</sup> Namun meskipun cukup efektif, kemoterapi dan radioterapi memiliki beberapa kelemahan.<sup>39,40</sup>

Kemoterapi tidak hanya membunuh sel kanker melainkan juga sel normal. Beberapa sel, seperti sel sumsum tulang, sel organ pencernaan, dan folikel rambut merupakan sel-sel yang dipengaruhi oleh kemoterapi dan dapat menyebabkan beberapa efek samping yakni kebotakan, mual dan muntah, kehilangan nafsu makan, diare atau konstipasi, meningkatkan risiko infeksi, mudah perdarahan karena sedikitnya trombosit, dan kelelahan.<sup>40</sup> Radioterapi dapat merusak DNA ataupun membentuk radikal bebas yang dapat merusak DNA. Sel kanker yang DNA-nya dirusak akan berhenti membelah dan mati. Tetapi, radioterapi sama halnya dengan kemoterapi, juga berpotensi merusak sel normal di samping sel-sel kanker. Efek samping akibat radioterapi adalah kehilangan rambut sementara atau permanen, iritasi kulit, perubahan warna kulit, dan kelelahan. Efek samping lainnya tergantung bagian tubuh yang sedang mengalami terapi.

Penggunaan radioterapi bersamaan dengan kemoterapi dapat meningkatkan efek samping.<sup>41</sup> Kelemahan utama kemoterapi dan radioterapi yakni dapat menyerang sel-sel normal di samping sel kanker.<sup>42,43</sup> Hal tersebut membuat para ilmuwan berusaha mencari berbagai strategi baru terapi kanker.

##### Viroterapi sebagai Inovasi Alternatif Terapi Melanoma

Pada awal tahun 1900-an, beberapa pasien

kanker diamati membaik setelah vaksinasi atau terserang infeksi virus. Kasus yang dilaporkan termasuk kesembuhan leukemia setelah influenza,<sup>42</sup> dan penghambatan sel tumor pada pasien kanker serviks setelah divaksinasi anti-rabies.<sup>43</sup>

Viroterapi merupakan sebuah inovasi alternatif terapi kanker dengan cara menciptakan vektor baru melalui kemampuannya bereplikasi dalam sel kanker yang spesifik dan melisiskannya.<sup>39</sup> Virus onkolitik dalam pemanfaatannya untuk terapi merupakan virus yang berguna yang secara selektif menginfeksi dan merusak sel-sel atau jaringan kanker tanpa menimbulkan dampak pada sel atau jaringan normal.<sup>44</sup> Sel-sel kanker yang diinfeksi virus tersebut dapat dibunuh dengan berbagai cara, ditinjau dari sifat sitotoksitas yang dimediasi virus lewat mekanisme efektor imun sitotoksik.<sup>45</sup> Selain melisis sel yang terinfeksi, virus onkolitik dapat memediasi sel kanker yang belum terinfeksi dengan mekanisme tidak langsung seperti perusakan pembuluh darah tumor, amplifikasi dari respons imun spesifik antikanker atau aktivitas spesifik dari protein rekombinan yang dibawa.<sup>44</sup>

Prinsip utama terapi kanker menggunakan aktivitas virus onkolitik adalah virus memasuki sel-sel kanker yang merupakan sel target akan bereplikasi normal, kemudian menyebar antar sel kanker melalui lisis sel tersebut.<sup>30</sup> Sel-sel imun yang terinduksi dapat membantu virus menghancurkan sel-sel kanker, namun juga berpotensi menghancurkan virus tersebut.<sup>31,32</sup> Selain secara *in vitro* dan *in vivo*, viroterapi telah diaplikasikan dalam klinis dan tolerabilitasnya baik dalam mengurangi sel-sel kanker.<sup>33</sup>

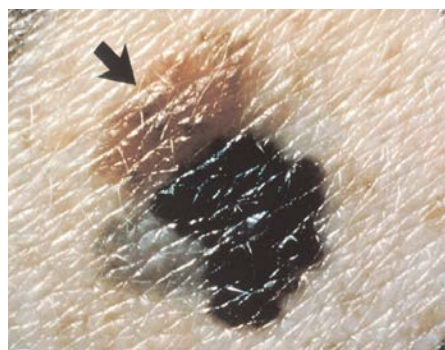
Dua strategi utama viroterapi: Pertama, strategi *transductional targeting* dilakukan dengan menginfeksi dan menghancurkan hanya sel yang bersifat kanker (selektif). Hal ini karena virus hanya akan berikatan dengan reseptor khusus di permukaan sel kanker, sehingga mencegah virus memasuki sel-sel normal.<sup>11</sup> Kedua, strategi *transcriptional targeting* yakni dengan menempatkan sekuens DNA promoter spesifik untuk sel-sel tumor/kanker pada gen virus. Dalam hal ini virus berperan sebagai vektor, bukan pembunuh langsung. Promoter tersebut dapat bertindak sebagai pengaktivasi berbagai gen yang hanya berfungsi pada sel kanker.<sup>11</sup>



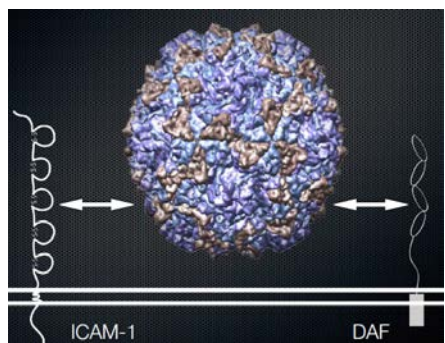
**Coxsackievirus A21 (CVA21)**

*Coxsackievirus A21* (CVA21) memiliki karakteristik kecil, tidak berselubung, berbentuk ikosahedral, dan memiliki genom RNA berantai tunggal. Virus ini memiliki ketahanan pH 5,5 – 7,2.<sup>34</sup> Adapun taksonominya adalah: Ordo: *Picornavirales*, Familia: *Picornaviridae*, Genus: *Enterovirus*, Spesies: *Coxsackievirus A21*.<sup>35</sup>

CVA21 memiliki *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1). Fungsi ICAM-1 adalah sebagai glikoprotein di permukaan sel untuk memfasilitasi adhesi sel antara leukosit dan endotelium dengan cara mengikat asosiasi antigen-1 yang memiliki fungsi sama dengan limfosit dan protein plasma fibrinogen.<sup>36</sup> CVA21 juga dapat mengikat *decay-accelerating factor* (DAF) tanpa menginfeksi. DAF merupakan suatu komplemen protein regulator, memiliki konsensus pendek dan glikosilfosfatidilinositol pada permukaan selnya. DAF juga merupakan reseptor seluler dari banyak jenis enterovirus. Situs pengikatan ICAM-1 dan DAF terlihat tidak tumpang tindih meskipun posisi mereka berdekatan. CVA21 merupakan satu-satunya virus yang diketahui dapat berikatan dengan kedua reseptor ICAM-1 dan DAF<sup>19</sup> (**Gambar 2**).



**Gambar 1.** Gambaran klinis penderita melanoma maligna



**Gambar 2.** Ikatan CVA21 dengan reseptor ICAM-1 dan DAF

Aktivitas onkolitik *Coxsackievirus A21* telah didemonstrasikan di berbagai tipe kanker baik *in vitro* maupun *in vivo*. *Strain* CVA21 ini telah terbukti efisien pada terapi melanoma maligna,<sup>18,19</sup> *multiple myeloma*,<sup>20</sup> kanker payudara,<sup>21</sup> dan kanker prostat.<sup>22</sup> Sebuah eksperimen (2004)<sup>12</sup> menunjukkan bahwa peningkatan ICAM-1 pada melanoma dapat diatasi dengan terapi CVA21. Eksperimen tersebut menggunakan dua sel biakan melanoma manusia, satu resisten terhadap kemoterapi dan satu turunan melanoma primer, didemonstrasikan melalui onkolisis *in vitro*. Secara *in vivo*, tumor yang diinduksikan pada tikus berkurang volumenya setelah diinjeksi CVA21 baik secara intratumoral, intravena, maupun intraperitoneal.<sup>19</sup> Investigasi terhadap CVA21 telah sampai pada aplikasi klinis, fase I telah diselesaikan pada tahun 2009 dengan hasil aman pada penderita melanoma.<sup>37</sup>

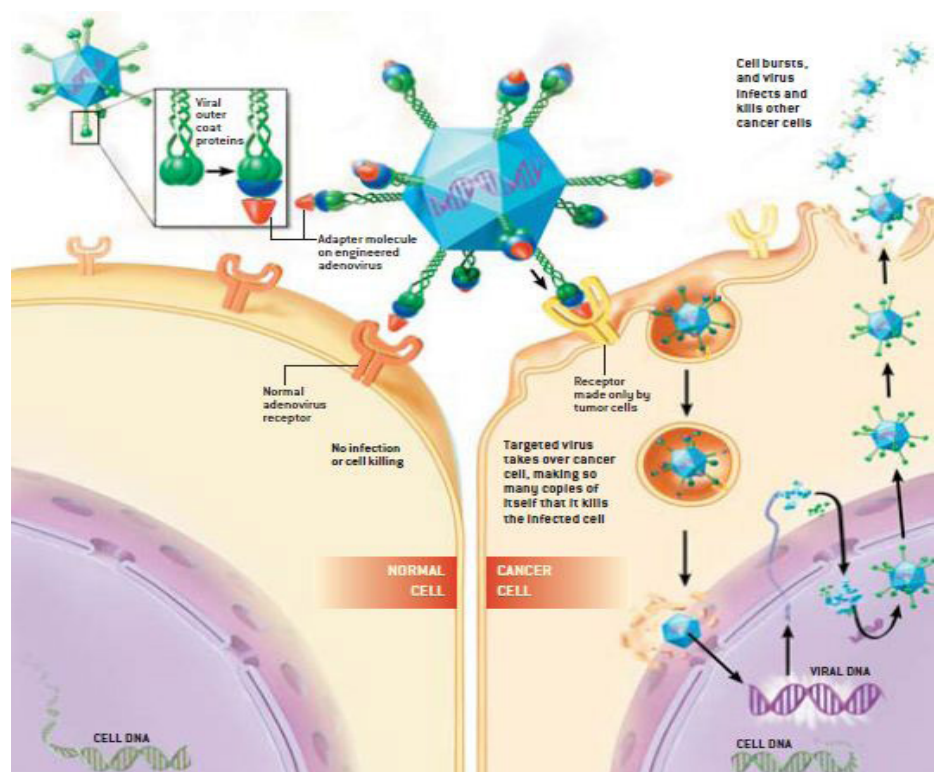
**ICAM-1 dan DAF Merupakan Molekul Spesifik Sel Melanoma yang Mampu Berikatan dengan CVA21**

*Coxsackievirus A21* (CVA21) secara simultan membutuhkan dua molekul reseptor, antara lain *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1), yang bertindak sebagai reseptor primer untuk

penempelan dan internalisasi, dan *decay-accelerating factor* (DAF), suatu koreseptor yang bertindak sebagai daerah sekunder tempat virus tersebut menempel.<sup>16</sup> ICAM-1 merupakan suatu molekul glikoprotein di permukaan sel yang diekspresikan di berbagai tipe sel, termasuk leukosit, sel-sel epitel, dan sel-sel endotel.<sup>45</sup> Secara fungsional, ekspresi reseptor ICAM-1 pada jaringan normal fungsinya antara lain untuk kontak seluler antara sel-sel yang bersebelahan, pemberi sinyal pada proses inflamasi, dan aktivasi sel T yang dimediasi sistem pertahanan tubuh.<sup>15</sup>

DAF diekspresikan pada hampir seluruh sel, termasuk eritrosit, dan peran utamanya adalah meregulasi respons komplemen. Penempelan CVA21 ke DAF tidak cukup untuk menginfeksi sel-sel *host*, internalisasinya tetap tergantung pada ekspresi ICAM-1, sehingga DAF hanya bertindak sebagai reseptor konsentrasi membran, yang mengakumulasi virus pada permukaan sel, mengoptimalkan pemasukan virus lewat ICAM-1.<sup>46</sup>

Kedua reseptor tersebut normal ada dalam tubuh.<sup>16</sup> Namun, ICAM-1 dan DAF diketahui sering terdapat pada permukaan sel dari banyak sel tumor atau kanker, termasuk



**Gambar 3.** Mekanisme onkolitik CVA21 sebagai viroterapi

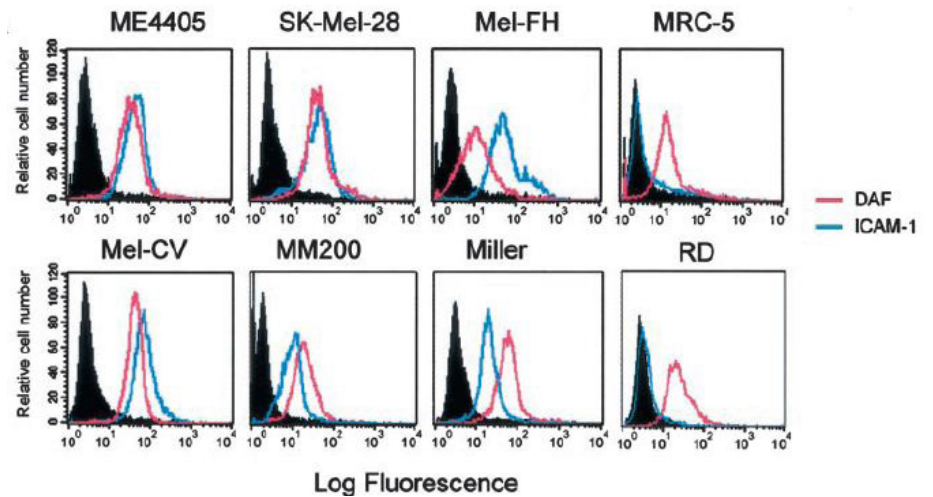


melanoma maligna, sehingga membuat sel-sel kanker lebih sensitif terhadap CVA21. Kedua molekul tersebut diketahui yang menyebabkan keganasan suatu kanker, karena sejumlah besar DAF dapat melindungi sel dari aksi sitotoksik komplemen, dan kemudian ICAM-1 menyebabkan metastasis melalui interaksi dengan *lymphocyte function-associated antigen*, LFA-1.<sup>47,48</sup> Dilakukan analisis aliran sitometrik dengan fluoresensi untuk melihat ekspresi reseptor pada kultur sel kanker, ICAM-1, dan DAF yang ditunjukkan pada grafik 1.<sup>19</sup>

Ekspresi DAF dan ICAM-1 pada permukaan berbagai kultur sel melanoma maligna dianalisis dengan aliran sitometrik (*flow cytometry*), sehingga didapatkan gambaran grafik 1. Kultur sel yang digunakan antara lain sel melanoma maligna (SK-Mel-28 dan ME4405), dari metastasis di nodus limfa (Mel-CV dan Mel-FH), dari metastasis intestinum (Miller), dari melanoma primer (MM200), sel *rhabdomyosarcoma* (RD), dan turunan dari fibroblas paru manusia (MRC-5). Level tertinggi DAF dan ICAM-1 diekspresikan pada kultur SK-Mel-28 yang merupakan kultur sel melanoma manusia, dan seluruh kultur sel melanoma yang lain juga mengekspresikan kedua molekul tersebut.<sup>19</sup> Hal tersebut membuktikan bahwa semua sel melanoma maligna akan mengekspresikan kedua reseptor tersebut dalam jumlah besar, yang akan dimanfaatkan oleh CVA21 untuk berikatan, sehingga dapat menempel dan masuk ke dalam sel-sel melanoma maligna tersebut.

**Mekanisme CVA21 sebagai Agen Viroterapi Melanoma Maligna**

Terdapat dua mekanisme utama virus



Grafik 1. Analisis aliran sitometrik berbagai kultur sel kanker

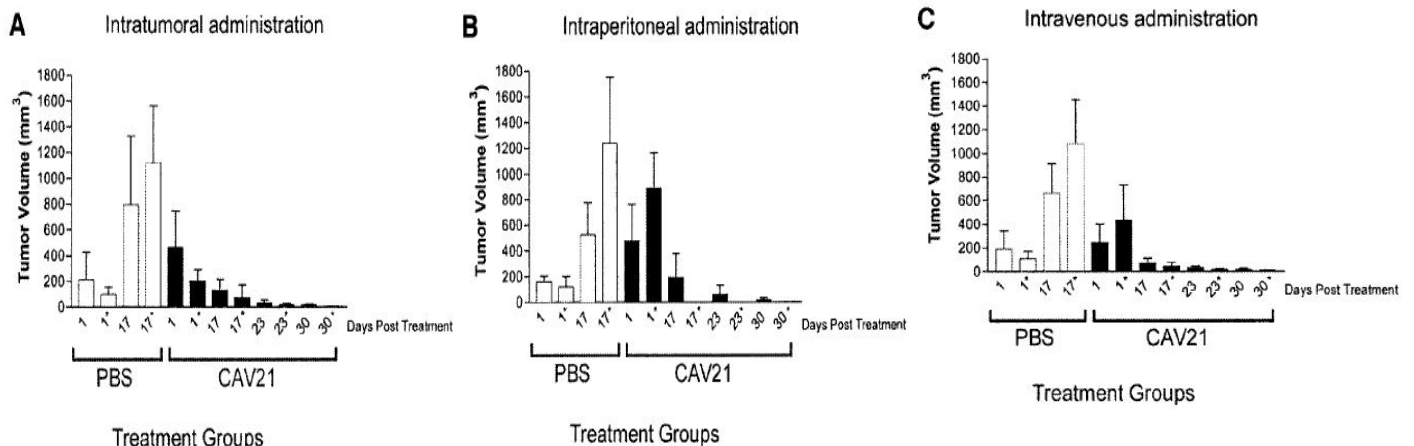
dalam perannya sebagai viroterapi, yaitu *transductional targeting* dan *transcriptional targeting*. CVA21 berperan dalam viroterapi melalui mekanisme *transductional targeting*, yaitu dengan menginfeksi dan menghancurkan hanya sel yang bersifat kanker (bekerja selektif). Virus akan berikatan dengan protein kapsid untuk berikatan pada molekul adapter atau reseptor di permukaan sel kanker, sehingga mencegah virus memasuki sel-sel normal<sup>11</sup> (Gambar 3).

Setelah diinjeksikan, CVA21 pertama-tama akan berikatan dengan ICAM-1 dan/atau DAF yang ekspresinya berlebihan pada permukaan sel melanoma. Pada sel normal, CVA21 memiliki kapasitas terbatas untuk menginfeksi atau sama sekali tidak ada karena kadar ICAM-1 rendah, sehingga tidak akan menyebar ke sel lain. Hal ini menunjukkan bahwa CVA21 bersifat selektif hanya untuk sel-sel dengan ekspresi ICAM-1 atau DAF tinggi, misalnya

pada melanoma. Setelah berikatan dengan kedua molekul tersebut, CVA21 akan masuk ke dalam sel dan memulai daur replikasi virus melalui fase litik, melisis sel tersebut. Sejumlah besar virus yang dihasilkan akan menuju ke sel-sel melanoma, selanjutnya melakukan aksi serupa pada sel kanker. Selain itu, lisis pada sel melanoma biasanya menyebabkan dilepaskannya sitokin dan tubuh akan mengaktifkan sel T sitotoksik yang kemudian akan menghancurkan sel-sel kanker tersebut bahkan meskipun terdapat CVA21.<sup>14</sup>

**Aktivitas Onkolitik CVA21 terhadap Sel Melanoma Maligna**

Darren, *et al*, (2004), menguji aktivitas onkolitik CVA21 pada kultur sel melanoma manusia melalui berbagai rute administrasi, yakni intratumoral, intraperitoneal, dan intravena. Kultur sel SK-Mel-28 diinjeksi dengan dosis tunggal CVA21 (TCID = 10<sup>3</sup>). Hasilnya ditunjukkan pada grafik 2.<sup>19</sup> Pemberian



Grafik 2. Aktivitas onkolitik CVA21 melalui berbagai rute administrasi



CVA21 melalui berbagai rute administrasi, baik intratumoral, intraperitoneal, maupun intravena akan memberikan hasil penurunan volume tumor cukup memuaskan yang mencapai 800 mm<sup>2</sup> hingga pada hari ke-30 setelah terapi.<sup>19</sup>

### Polimer *Phosphoethylene Glycol* (PEG) sebagai Solusi Permasalahan Respons Imun

Virus jika diinjeksikan secara intravena akan cepat dieliminasi di sirkulasi akibat peranan sistem fagositik tubuh oleh hati ataupun ginjal. Oleh karena itu, diperlukan strategi modifikasi kimiawi dengan mengkonjugasikan virus CVA21 dengan polimer yang biokompatibel,

misalnya *phosphoethylene glycol* (PEG). PEG merupakan polimer hidrofilik dan telah banyak digunakan secara klinis untuk memperpanjang lama waktu di plasma, agen stabilisasi, dan juga mengurangi toksisitas. PEG dapat menghancurkan infektivitas virus setelah berikatan dengan ligan yang sesuai dengan virus tersebut.<sup>23,24</sup>

### SIMPULAN

Kanker, termasuk melanoma maligna merupakan penyakit yang angka kematiannya tinggi. Virus yang dikenal sebagai agen penyebab penyakit ternyata dapat berperan penting sebagai viroterapi. *Coxsackievirus*

A21 (CVA21) dapat menginvasi sel melanoma melalui interaksinya dengan reseptor ICAM-1 dan DAF yang diekspresikan berlebih pada permukaan selnya. Mekanismenya dengan *transductional targeting*, yakni proses menginfeksi dan melisis sel kanker spesifik, yang akan berlanjut ke sel-sel melanoma lainnya. CVA21 yang dibalut polimer PEG diyakini dapat menjadi agen viroterapi yang efektif sebagai terapi melanoma maligna karena sifatnya selektif, tidak mengenai sel-sel normal seperti pada radioterapi dan kemoterapi.

### DAFTAR PUSTAKA

- McArthur G, MacCallum P, Allen J, Angle A, Brown MP, Estall V, et al. Understanding melanoma: A guide for people with cancer, their families and friends. Sydney: Cancer Council; 2012.
- Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics 2016. *CA Cancer J Clin.* 2016;66:7-30.
- Marija B, Vedrana B, Stanic S. Variation in clinical presentation of basal cell carcinoma. Croatia: University Department of Dermatology and Venereology Zagreb; 2008. p. 25-30.
- Cipto H. Patients characteristic in skin tumor and skin surgery division [Thesis]. Jakarta: Department of Dermatovenereology FKUI/RSCM ; 2012.
- Bernier J, Hall EJ, Giaccia A. Radiation oncology: A century of achievements. *Nat Rev Cancer* 2004;4:737-47.
- Pui CH, Robison LL, Look AT. Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 2008;371:1030-43.
- Bianchini C, Ciorba A, Pelucchi S, Piva R, Pastore A. Targeted therapy in head and neck cancer. *Tumori* 2011;97:137-41.
- Litzow MR. Pharmacotherapeutic advances in the treatment of acute lymphoblastic leukaemia in adults. *Drugs* 2011;71:415-42.
- Samant RS, Shevde LA. Recent advances in antiangiogenic therapy of cancer. *Oncotarget* 2011;2:122-34.
- Pandha H, Melcher A, Harrington K, Vile R. Oncolytic viruses: Time to compare, contrast, and combine. *Mol Ther.* 2009;17(6):934-5.
- Nettelback DM, Curiel DT. Tumor-busting virus. *Scientific American* [Internet]. 2008 [cited 2015 June 26]. Available from: <https://www.scientificamerican.com/article/tumor-busting-viruses-2008-07/>
- Au GG, Lindberg AM, Barry RD, Shafren DR. Oncolysis of vascular malignant human melanoma tumors by *Coxsackievirus A21*. *Int J Oncol.* 2005; 26:1471-6.
- Shafren DR, Au GG, Nguyen T, Newcombe NG, Haley ES, Beagley L, et al. Systemic therapy of malignant human melanoma tumors by a common cold-producing enterovirus, *coxsackievirus A21*. *Clin Cancer Res.* 2004;10:53-60.
- Andtbacka RHI, Kaufman H, Daniels GA, Spittle LE, Lutzky J, Hallmeyer S, et al. CALM study: A phase II study of intratumoral *Coxsackievirus A21* in patients with stage IIIc and stage IV malignant melanoma. *J Clin Oncol.* 2013;31:15(suppl TPS3128).
- Shafren DR, Dorahy DJ, Ingham RA, Burns GF, Barry RD. *Coxsackievirus A21* binds to DAF but requires intercellular adhesion molecule 1 for cell entry. *J Virol.* 1997;71:4736-43.
- Bianco A, Whiteman SC, Sethi SK, Allen JT, Knight RA, Spiteri MA. Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in nasal epithelial cells of atopic subjects: A mechanism for increased rhinovirus infection. *Clin Exp Immunol.* 2000;121:339-45.
- Hamai A, Meslin F, Benlalam H, Jalil A, Mehrpour M, Faure F, et al. ICAM-1 has a critical role in the regulation of metastatic melanoma tumor susceptibility to CTL lysis by interfering with PI3K/AKT pathway. *Cancer Res.* 2008;68:9854-64.
- Dobrikova EY, Broadt T, Poiley-Nelson J, Yang X, Soman G, Giardina S, et al. Recombinant oncolytic poliovirus eliminates glioma in vivo without genetic adaptation to a pathogenic phenotype. *Mol Ther.* 2008;16:1865-72.
- Skelding KA, Barry RD, Shafren DR. Enhanced oncolysis mediated by *Coxsackievirus A21* in combination with doxorubicin hydrochloride. *Invest New Drugs* 2010;21:21. 2012;30:568-81
- Au GG, Lincz LF, Enno A, Shafren DR. Oncolytic *Coxsackievirus A21* as a novel therapy for multiple myeloma. *Br J Haematol.* 2007;137:133-41.
- Skelding KA, Barry RD, Shafren DR. Systemic targeting of metastatic human breast tumor xenografts by *Coxsackievirus A21*. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;113:21-30.
- Berry LJ, Au GG, Barry RD, Shafren DR. Potent oncolytic activity of human enteroviruses against human prostate cancer. *Prostate* 2008;68:577-87.
- Duncan R. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines. *Nat Rev Cancer* 2006;6:688-701.
- Markovsky E, Baabur-Cohen H, Eldar-Boock A, Omer L, Tiram G, Ferber S, et al. Administration, distribution, metabolism and elimination of polymer therapeutics. *J Control Release* 2012;161:446-60.
- Ley RD. Dose response for ultraviolet radiation A-induced focal melanocytic hyperplasia and nonmelanoma skin tumors in *Monodelphis domestica*. *Photochem Photobiol.* 2001;73:20-3.
- Markovic SN, Erickson LA, Rao RD, Weenig RH, Pockaj BA, Bardia A, et al. Malignant melanoma in the 21st century, part 1: Epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. *Mayo Clin Proc.* 2007;82:364-80.
- Parkin DM, Mesher D, Sasieni P. 13. Cancers attributable to solar (ultraviolet) radiation exposure in the UK in 2010. *Br J Cancer* 2011;105(Suppl 2):66-9.



28. National Institute for Health and Clinical Excellence. Improving outcomes for people with skin tumours including melanoma (update): He management of low-risk basal cell carcinomas in the community (2010 partial guidance update). London: NICE; 2010.
29. Everts B, van der Poel HG. Replication-selective oncolytic viruses in the treatment of cancer. *Cancer Gene Ther.* 2005; 12(2):141-61.
30. Parato KA, Senger D, Forsyth PA, Bell JC. Recent progress in the battle between oncolytic viruses and tumours. *Nat Rev Cancer* 2005;5:965-76.
31. Yewdell JW, Haeryfar SMM. Understanding presentation of viral antigens to CD8+ T cells in vivo: The key to rational vaccine design. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:651-82.
32. Boon T, Coulie PG, Van den Eynde BJ, van der Bruggen P. Human T cell responses against melanoma. *Annu Rev Immunol.* 2006;24:175-208.
33. Liu TC, Galanis E, Kim D. Clinical trial results with oncolytic virotherapy: A century of promise, a decade of progress. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007;4:101-17.
34. Semler BL, Wimmer E. Molecular biology of picornaat protein/protein interfaces. *J Mol Biol.* 2002;234, 946-50.
35. Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, Calisher CH, Carsten EB, Estwes MK, et al. Virus taxonomy, seventh report of the International Committee for the Taxonomy of Viruses. New York, San Diego, USA: Academic Press; 2000. p. 657-73.
36. Newcombe NG, Andersson P, Johansson ES, Au GG, Lindberg AM, Barry RD, et al. Cellular receptor interactions of C-cluster human group A coxsackieviruses. *J Gen Virol.* 2003; 84: 3041-50.
37. Viralytics: Investigator information [Internet]. 2016 [cited 2015 June 26]. Available from: <http://www.viralytics.com/clinical-trial-information/investigator/information>.
38. National Institute for Health and Clinical Excellence. Improving outcomes for people with skin tumours including melanoma: The manual (2006 guidance). London: NICE; 2006.
39. Dudley ME, Yang JC, Sherry R, Hughes MS, Royal R, Kammula U, et al. Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: Evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens. *J Clin Oncol.* 2008;26:5233-9. doi: 10.1200/JCO.2008.16.5449.
40. Burmeister BH, Henderson MA, Ainslie J, Fisher R, Di Iulio J, Smithers BM, et al. Adjuvant radiotherapy versus observation alone for patients at risk of lymph-node field relapse after therapeutic lymphadenectomy for melanoma: A randomised trial. *Lancet Oncol.* 2012;13:589-97.
41. Dock G. The influence of complicating diseases upon leukemia. *Am J Med Sci.* 1904;127:563-92.
42. De Pace NG. Sulla scomparsa di unenorme cancro vegetante del collo dell'utero senza cura chirurgica. *Ginecologia* 1912;9:82-6.
43. Russell SJ, Peng KW. Viruses as anticancer drugs. *Trends Pharmacol Sci.* 2007;28:326-33.
44. Virgin S. Pathogenesis of viral infection. *Fields virology.* 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
45. Hopkins AM, Baird AW, Nusrat A. ICAM-1: Targeted docking for exogenous as well as endogenous ligands. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004;56(6):763-78.
46. Johansson ES, Xing L, Cheng RH, Shafren DR. Enhanced cellular receptor usage by a bioselected variant of coxsackievirus a21. *J Virol.* 2004;78(22):12603-12.
47. Rosette C, Roth RB, Oeth P, Braun A, Kammerer S, Ekblom J, et al. Role of ICAM1 in invasion of human breast cancer cells. *Carcinogenesis* 2005;26:943-50.
48. Hamai A, Meslin F, Benlalam H, Jalil A, Mehrpour M, Faure F, et al. ICAM-1 has a critical role in the regulation of metastatic melanoma tumor susceptibility to CTL lysis by interfering with PI3K/AKT pathway. *Cancer Res.* 2008;68:9854-64.