

# Terapia génica para el cáncer: ¿solo una promesa?

GUSTAVO CABRERA-AQUINO<sup>1</sup>, MARTÍN GRANADOS-GARCÍA<sup>2\*</sup> Y ROBERTO ANTONIO RODRÍGUEZ-GARCÍA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Global Biotherapeutics; <sup>2</sup>Departamento de Tumores de Cabeza y Cuello. Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México

---

## RESUMEN

---

La curación del cáncer ha probado ser un objetivo escurridizo, ya que la supervivencia en muchas neoplasias malignas comunes aún es insatisfactoria y los efectos adversos del tratamiento son importantes por su frecuencia y severidad. La dilucidación de las vías de señalización implicadas en la génesis y progresión del cáncer ha permitido diseñar fármacos que las modulan y contribuyen a hacer del cáncer una enfermedad manejable. Pero estas alteraciones en última instancia pueden ser rastreadas hasta genes ausentes y disfuncionales, y la transgénesis terapéutica, o terapia génica, (TG) mediante ácidos nucleicos puede modificar la función de los genes respetando células normales, corregir vías de señalización alteradas con menor probabilidad de resistencia al tratamiento<sup>1-4</sup>. (J CANCEROL. 2017;4:74-81)

Corresponding author: Martín Granados-García, martingranadosmx@gmail.com

**Palabras clave:** Terapia génica. Genes suicidas. Inmunoterapia adoptiva. Cáncer. Vectores virales.

### Correspondencia:

\*Martín Granados-García  
Departamento de Tumores de Cabeza y Cuello  
Instituto Nacional de Cancerología  
San Fernando, 22  
Col. sección XVI, Del. Tlalpan  
C.P. 14400, Ciudad de México, México  
E-mail: martingranadosmx@gmail.com

---

Recibido para su publicación: 18-06-2016  
Aceptado para su publicación: 23-09-2016

---

## ANTECEDENTES

---

La TG ha sido utilizada con éxito en desordenes hereditarios monogénicos, como la deficiencia de lipoproteínlipasa, la inmunodeficiencia debida a la deficiencia de la desaminasa de adenosina (ADA-SCID), la inmunodeficiencia severa combinada ligada al cromosoma X (SCID-XI) y la adrenoleucodistrofia<sup>5-6</sup>. Sin embargo el cáncer es una enfermedad más compleja, por lo que se requieren estrategias más complejas. La TG puede modificar, reparar, reemplazar, adicionar o borrar una secuencia génica para detener las señales intracelulares que promueven el cáncer inhibiendo oncogenes y reconstituyendo genes supresores, pero otras estrategias podrían restablecer la capacidad del sistema inmunitario de reconocer células neoplásicas, potenciar quimioterapéuticos e impedir el desarrollo de la vasculatura tumoral.

A continuación reseñamos la investigación en relación a la TG para el tratamiento del cáncer.

---

## LOS BLANCOS DE LA TERAPIA GÉNICA EN CÁNCER

---

Actualmente, la secuenciación masiva posibilita el análisis de la totalidad del genoma humano, lo que ha permitido identificar diferencias moleculares que subyacen en distintas enfermedades. En el cáncer se han identificado alteraciones genéticas responsables y las vías de señalización implicadas<sup>7-9</sup>. Esto ha llevado al desarrollo de una nueva generación de estrategias de terapia oncológica, que incluyen el uso de anticuerpos monoclonales contra receptores para factores de crecimiento, moléculas «pequeñas» inhibidoras de cinasas de tirosina implicadas en las vías de señalización alteradas<sup>10</sup>, fármacos epigenéticos que corrigen la expresión de genes alterados<sup>11</sup> y la TG. La TG<sup>12-14</sup>, en contraste, utiliza ácidos nucleicos específicos, ADN, ARN o pequeños ARN de interferencia (ARNi), para intervenir los proce-

dos moleculares, incluidos los subyacentes al cáncer, para detener el fenotipo maligno o propiciar la muerte de la célula tumoral. El ARNi es una colección de pequeños ARN que resultan en la inhibición específica de secuencias de la expresión génica<sup>15-17</sup>.

Las estrategias de la TG se sustentan en el conocimiento de las alteraciones moleculares implicadas en el cáncer, el diseño y síntesis de ácidos nucleicos que modulan o corrigen dichas alteraciones y en el desarrollo de vectores que llevan hasta las células los ácidos nucleicos para que interactúen con sus blancos y ejerzan su efecto antineoplásico, directo o indirecto<sup>18</sup>.

Por razones lógicas, en el cáncer las estrategias se han enfocado en inhibir, restaurar o modular las alteraciones moleculares fundamentales, o potenciar el efecto de los quimioterapéuticos convencionales. En consecuencia, sus blancos son los productos de oncogenes activados constitutivamente: la «inhibición de oncogenes» y la «reconstitución de genes supresores» para restablecer el control mitótico perdido<sup>19-21</sup>. Sin embargo, se han propuesto estrategias más sofisticadas, como restablecer la capacidad del sistema inmunitario para reconocer las<sup>22,23</sup> células neoplásicas, la «inmunopotencialización génica», usar profármacos para inducir la muerte de células tumorales con la participación de genes codificantes para enzimas activadoras («genes suicidas»)<sup>24</sup> e impedir el desarrollo vascular tumoral, indispensable para el crecimiento y diseminación tumoral<sup>25-28</sup>.

---

## LOS VECTORES

---

La aplicación exitosa de la TG depende del desarrollo de transportadores de ácidos nucleicos con fines terapéuticos al tejido blanco<sup>29</sup>. No existe un vector estándar, pero el vector ideal debe producirse con facilidad, su tropicidad debe estar restringida a las células deseadas y debe ser

capaz de una transducción eficiente, además de contener las secuencias génicas necesarias para obtener la expresión en niveles terapéuticos de la proteína de interés por tiempo adecuado. Además, el vector debe ser poco inmunogénico y no carcinogénico<sup>30</sup>. Los vectores pueden clasificarse en virales y no virales; ambos con propiedades distintas, resumidas en la tabla 1.

Los métodos no virales, con más precisión, incluyen la inyección directa de ADN desnudo, el uso de liposomas, polímeros, péptidos, nanopartículas, partículas pesadas cubiertas con ácidos nucleicos (*gene gun*), bacterias, la sonoporación y la electroporación<sup>31-33</sup>, pero con más frecuencia se utilizan virus como vectores. Los adenovirus, virus adenoasociados, retrovirus, poxvirus y herpes virus son los más utilizados. Por sus características y eficacia destacan los adenovirus<sup>34</sup>.

### Estructura y genoma de los adenovirus

Los adenovirus infectan células posmitóticas, incluyendo células endoteliales, hepatocitos, fibroblastos, músculo esquelético, músculo cardíaco, neuronas y pulmón<sup>35</sup>. Los serotipos 2 y 5 son los más empleados. La cápside icosaédrica de 70 a 100 nm está compuesta por la hexona, la base pentona (III) y la fibra (IV). Su interior contiene las proteínas VI, VIII, IX, IIIa, y IVa2. El genoma consiste de 36 kilopares de bases (kpb) de ADN lineal de doble hebra con terminaciones repetitivas invertidas (ITR, *inverted terminal repeats*)<sup>36</sup> (Fig. 1).

### Ciclo de vida adenoviral

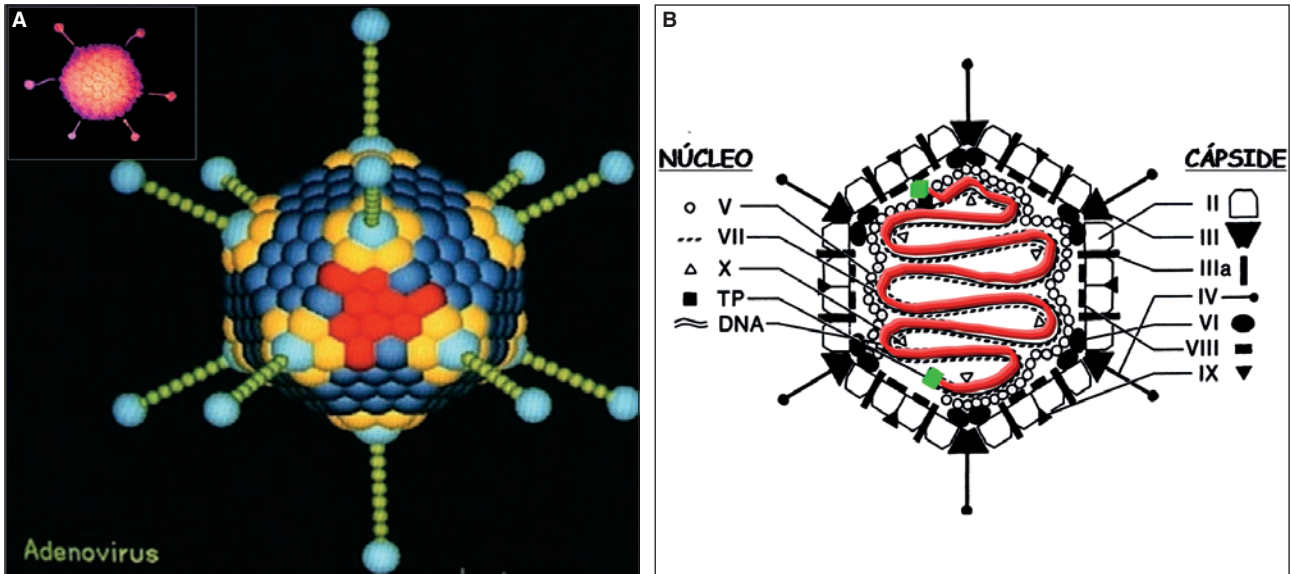
El ciclo de vida del adenovirus silvestre tiene una fase temprana y otra tardía. La primera fase dura entre 6 y 8 horas y en ella ocurre la interacción del adenovirus con receptores celulares específicos, la entrada a la célula mediante endosomas, la liberación del virus y transporte a través del citoplasma, inyección del genoma viral al núcleo; finaliza con la transcripción de genes «tempranos» (*early genes*: E1, E2, E3, E4). La fase temprana prepara a la célula para la replicación del genoma viral y la transcripción de genes «tardíos» (*late genes*: L1, L2, L3, L4 y L5). La fase tardía (*late phase*) dura de 4 a 6 horas, se caracteriza por la transcripción de genes «tardíos» que codifican proteínas estructurales, el ensamblaje de partículas virales y la liberación de las nuevas partículas virales al medio<sup>37</sup>. La expansión *in vitro* de adenovirus recombinantes con delección de E1A requiere que este gen sea transcomplementado por una célula con dicho gen integrado establemente en su genoma. Las células 293, 911 y PER.C6 realizan esta función y permiten la síntesis de vectores adenovirales *in vitro*<sup>38,39</sup>.

### La infección adenoviral

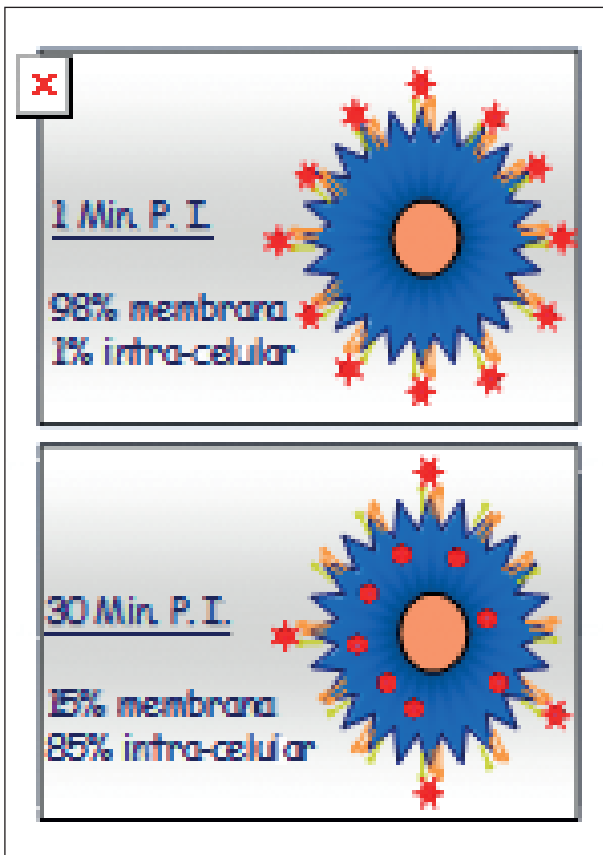
La infección adenoviral requiere la interacción del nodo (*knob*) en el extremo amino de la fibra y el receptor putativo CAR (Coxsackie/*Adenovirus Receptor*), y entre la pentona, en la base de la fibra (*penton*), con las integrinas  $\alpha$ V- $\beta$ 3 o  $\alpha$ V- $\beta$ 5 (Fig. 2)<sup>40-42</sup>

**Tabla 1.** Propiedades de los vectores en la terapia génica

Vector	In vivo	In vitro	Eficiencia relativa de la transfección	Duración de la expresión
Inyección directa de ADN	Sí	No	No aplicable	Transitoria
Electroporación	Sí	Sí	<5%	Transitoria
Liposomas	Sí	Sí	50-60%	Transitoria
Retrovirus	Sí	Sí	<5%	Estable
Adenovirus	Sí	Sí	95%	Transitoria
Adenoasociados	Sí	Sí	60-80%	Estable



**Figura 1.** Estructura adenoviral. **A)** Los adenovirus son de forma icosaédrica y miden de 70 a 100 nm de diámetro. La cápside está compuesta de tres proteínas principales: la hexona (II), la base pentona (III) y la fibra (IV). En el interior contienen proteínas secundarias denominadas VI, VIII, IX, IIIa y IVa2. **B)** El genoma de los adenovirus consiste de 36 kpb de ADN lineal de doble cadena (rojo) con ITR unidas a proteínas de terminación (verde).



**Figura 2.** Cinética de la infección adenoviral.

Estudios *in vitro* con adenovirus marcados han establecido que un minuto después de la infección el 99% de las partículas están asociadas a la membrana celular, a los 30 minutos el 80% de los virus han ingresado a la célula y van rumbo al complejo del poro nuclear. Finalmente, hacia los 60 minutos el 90% de los virus se ubican en el citoplasma (Fig. 2).

### Los vectores adenovirales en uso para la terapia génica

El genoma del adenovirus silvestre está constituido por 36 kbp de ADN lineal de doble hebra. Los adenovirus de primera generación incorporaban hasta 7.5 kbp dedicados al casete de expresión codificante para el gen de interés al retirar las secuencias de los genes E1A y E3. Posteriormente se retiraron las secuencias del gen E2 y se amplió la capacidad del casete. Luego se generaron adenovirus «minimalistas» o «destripados» (*gutless*) que retienen solamente la secuencia empaquetadora y las ITR del genoma adenoviral sil-

vestre. Estos permiten casetes de expresión que exceden los 30 kbp. La última generación de adenovirus recombinantes emplea adenovirus con E1 reintegrado que se replican selectivamente en células tumorales produciendo su lisis, lo cual es aprovechado con fines terapéuticos<sup>43-45</sup>.

La evolución de los vectores adenovirales aún tenía obstáculos, como la inmunogenicidad adenoviral, prolongar la expresión del gen terapéutico y mejorar los perfiles de transducción *in vivo*<sup>46</sup>. Sin embargo, nuestro grupo ha resuelto algunas limitantes. Se han usado inyecciones intravenosas del vector adenoviral en dosis elevadas debido a la ineficiencia del vector; ello despierta una respuesta<sup>48</sup> inmunitaria que induce la inactivación de los virus y la muerte de las células infectadas, que inactiva la transducción. Descubrimos que la inyección de pequeñas dosis de partículas dentro del parénquima hepático aislado de la circulación sistémica previene la respuesta inmunitaria, lo que se asocia a la expresión de proteínas solubles a largo plazo, como la luciferasa, la alfafetoproteína, la insulina y el factor VIII de la coagulación en modelos animales de especies pequeñas e intermedias.

Claramente, la secreción prolongada de proteínas solubles promete revertir enfermedades debidas a déficits monogénicos, pero ¿cómo estos hallazgos pueden integrarse al tratamiento del cáncer? La pregunta es pertinente, ya que el cáncer no es una enfermedad monogénica, sino que está caracterizada por la desregulación dinámica de numerosos oncogenes y genes supresores.

---

## INHIBICIÓN Y RECONSTITUCIÓN DE ONCOGENES Y GENES SUPRESORES

---

Los protooncogenes codifican proteínas propias de las vías de señalización que reciben, integran y transmiten señales promotoras del crecimiento y proliferación celular. Factores de crecimiento atraviesan los espacios intercelulares, se ligan a

receptores de membrana específicos, que generan señales que recorren el citoplasma y activan la expresión de genes en respuesta a la señal. Mutaciones activantes de protooncogenes activan constitutivamente vías de señalización, con lo que la proliferación celular deviene anárquica<sup>47</sup>. La TG ofrece corregir la anormal activación mediante diversos mecanismos.

En contraste, los genes supresores contrarregulan la proliferación en respuesta a señales como el daño al ADN, o señales de supresión del crecimiento provenientes del medio extracelular. Las mutaciones inactivantes de genes supresores propician el acúmulo de otras mutaciones e incrementan la probabilidad de desarrollar una neoplasia. Al restituir un gen supresor, la TG revertiría el genotipo neoplásico. Los genes supresores regulan fenómenos mediados por factores de crecimiento, de adhesión celular, control del ciclo celular, factores de transcripción y reparación del ADN. Cuando los genes supresores son inactivados por mecanismos epigenéticos o virales, las células no responden al control del ciclo celular y se tornan incapaces de implementar la apoptosis, contribuyendo a la inestabilidad del genoma. Blancos terapéuticos potenciales incluyen a los genes *TP53*, *RB*, *PTEN*, *BRCA1* y *BRCA2*.

China ha introducido el Gendicine<sup>®49</sup>, un gen terapéutico (*p53*), basado en un adenovirus que ha sido aprobado para el tratamiento del cáncer de las vías aerodigestivas superiores. Hasta la fecha, más de 10,000 individuos han sido tratados sin efectos adversos serios, aunque existen dudas en relación a su eficacia<sup>50,51</sup>.

---

## INHIBICIÓN DE LA ANGIOGÉNESIS

---

La angiogénesis mantiene el crecimiento del tumor primario, pero también la proliferación de células malignas en otros órganos. Resulta de una cascada de eventos debidos a un desequilibrio

local entre factores proangiogénicos y antiangiogénicos<sup>52</sup>.

La secreción de factores proangiogénicos proviene de plaquetas, monocitos, linfocitos, células endoteliales y células tumorales; le sigue la proliferación de células endoteliales y su migración hacia el estímulo angiogénico con la formación de estructuras tubulares. Esto es propiciado por la secreción de enzimas degradadoras de la matriz extracelular y el reclutamiento de células troncales pluripotenciales provenientes de la médula ósea<sup>53</sup>.

Inicialmente, el tumor induce un fenotipo angiogénico al desequilibrar localmente la concentración de factores proangiogénicos y antiangiogénicos. Dos mecanismos activan el interruptor angiogénico, el primero es la hipoxia y el segundo la activación constitutiva de ciertos oncogenes o pérdida de genes supresores. Cuando el tumor alcanza un diámetro mayor a 1 a 2 mm y el oxígeno no puede difundirse por el tumor para sostener los requerimientos metabólicos, la hipoxia estimula la secreción de factores angiogénicos<sup>54</sup>. Se ha documentado que la activación constitutiva de *RAS* o *RAF*, o la pérdida de la función de *p53* incrementan la síntesis de factores angiogénicos.

Los factores angiogénicos más estudiados incluyen a la familia del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D), el factor de crecimiento placentario, el factor de crecimiento derivado de plaquetas y las angiopoyetinas<sup>55</sup>. Se conocen moléculas inhibidoras de la angiogénesis tumoral, como la trombospondina, las interleucinas, la endostatina y la angiostatina, pero hasta ahora las últimas son poco útiles debido a su corta vida media. El bevacizumab ya se encuentra en uso clínico, pero es un inhibidor exógeno. La angiostatina puede inducir la regresión de la vasculatura tumoral conduciendo al cese completo del crecimiento tumoral. La secreción continuada debida a TG inhibiría el crecimiento y la diseminación neoplásica<sup>56</sup>.

## INMUNOPOTENCIALIZACIÓN GÉNICA

Las neoplasias tienen estrategias para evadir la respuesta inmunitaria, incluyendo su pobre inmunogenicidad y la creación de un ambiente inmunosupresor local. Las células T juegan un papel clave en la inmunidad mediada por células. Células T genéticamente modificadas podrían tratar neoplasias hematológicas de células B y otras neoplasias sólidas en ensayos clínicos<sup>57</sup>.

La inmunoterapia se ha ensayado durante décadas, pero los resultados han sido modestos. Mediante la TG es posible, *in vivo* e *in vitro*, transformar células neoplásicas autólogas, o alogénicas, procedentes de líneas celulares<sup>58,59</sup>, para hacerlas más inmunogénicas, expandirlas *in vitro*, matarlas e incorporarlas a una vacuna. Otra estrategia incluye manipular directamente el sistema inmunitario, ya que es posible activar, expandir y modificar genéticamente *in vitro* y luego infundir al paciente células propias del sistema inmunitario, como los linfocitos T, alogénicos y autólogos, para hacerlos más eficaces en su respuesta contra los antígenos tumorales. Esta estrategia es conocida como «inmunoterapia adoptiva» y ya ha sido aplicada con cierto éxito en el tratamiento de melanomas y otros tumores<sup>60</sup>.

El antígeno<sup>61</sup> de los linfocitos T citotóxicos humanos 4 (CTLA-4, CD152) es expresado en un subgrupo de células T activadas como un regulador negativo de la activación de las células T. El bloqueo de CTLA-4 propicia una respuesta inmunitaria robusta y puede conducir a una remisión neoplásica prolongada. El ipilimumab (MDX-010, BMS-734016) es una inmunoglobulina totalmente humanizada (IgG1k) específica contra este antígeno (CTLA-4, CD152) que en dos estudios fase III globales ha demostrado asociarse a mejor supervivencia en pacientes con melanoma avanzado. Inhibidores de la PD-1 en cáncer de pulmón han producido respuestas clínicas sostenidas con toxicidad manejable<sup>62</sup>. La TG usaría mecanis-

mos de inmunopotenciación para montar una respuesta inmunitaria eficaz contra una neoplasia maligna.

## GENES SUICIDAS

El uso de genes suicidas se fundamenta en la especificidad de los vectores para reconocer células neoplásicas mediante receptores específicos, de suerte que solo las células neoplásicas puedan expresar enzimas que conviertan profármacos en tóxicos para las células tumorales, incrementando el índice terapéutico. Los mecanismos propuestos para inducir la muerte celular incluyen la expresión de cinasas de timidina, desaminasas de citocina, anticuerpos intracelulares, telomerasas, caspasas y ADNasas<sup>63</sup>.

Genes suicidas ya ha sido utilizados con éxito en neoplasias cerebrales. El Cerepro<sup>®</sup> es un vector adenoviral que acarrea la cinasa de timidina del virus del Herpes simple (HSV-tk). La HSV-tk es una enzima activante de un profármaco, que convierte en análogo de nucleótido ganciclovir al ganciclovir-monofosfato, el ganciclovir monofosfato luego es convertido por las cinasas celulares en ganciclovir-difosfato y ganciclovir-trifosfato, un metabolito tóxico que inhibe la ADN polimerasa, previniendo la replicación del ADN. El Cerepro<sup>®</sup> completó en 2008 un ensayo clínico fase III. Es inyectado en las paredes de la cavidad del glioma reseca<sup>64</sup>.

## CONCLUSIONES

Se estima que del 60 al 70% de los ensayos de TG en proceso están relacionados con el tratamiento del cáncer. Esto es justificable, ya que se trata de una enfermedad letal y de gran prevalencia, aunque el cáncer es la enfermedad con mayores dificultades para obtener éxitos significativos a corto plazo. El cáncer suele deberse a un acúmulo de mutaciones, de suerte que reparar

las vías afectadas resulta difícil, a menos que se explote un fenómeno común a todas las neoplasias, como la angiogénesis. Es más probable obtener logros significativos con enfermedades monogénicas, como los errores innatos del metabolismo, sin embargo, su relativa rareza las hace menos atractivas desde el punto de vista comercial.

En fin, la TG es una prometedora estrategia que ofrece generar tratamientos específicos, corrigiendo las alteraciones fundamentales del cáncer, sin embargo las neoplasias están plagadas de mutaciones y múltiples disfunciones en vías de señalización, por lo que las futuras estrategias exitosas prometen ser complejas, o simples y geniales.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Lyerly HK, DiMaio JM. Gene delivery systems in surgery. *Arch Surg.* 1993;128(11):1197-206.
2. O'Malley BW Jr, Ledley FD. Somatic gene therapy. Methods for the present and future. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993;119(10):1100-7.
3. Anderson WF. Human gene therapy. *Science* 1992;256(5058):808-13.
4. Kelley WN. Gene therapy in humans: a new era begins. *Ann Intern Med.* 1991;114(8):697-8.
5. Wirth T, Parker N, Yla-Hertulla S. History of gene therapy. *Gene* 2013;525:162-169.
6. Sawyer GJ, Rela M, Davenport M, Whitehorne M, Zhang X, Fabre JW. Hydrodynamic gene delivery to the liver: theoretical and practical issues for clinical application. *Curr Gene Ther.* 2009;9(2):128-35.
7. Weinberg, R.A., *Oncogenes and the molecular biology of cancer.* J Cell Biol, 1983. 97(6):1661-2.
8. Jones, P.A. and S.B. Baylin, The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet.* 2002. 3(6):415-28.
9. Balmain, A., J. Gray, and B. Ponder, The genetics and genomics of cancer. *Nat Genet.* 2003. 33 Suppl:238-44.
10. Wanebo, H.J., D. Berz, and A. Mega, Targeting small molecules in cancer. *Cancer Treat Res.* 2007.135:239-55.
11. Schneider-Stock, R. and M. Ocker, Epigenetic therapy in cancer: molecular background and clinical development of histone deacetylase and DNA methyltransferase inhibitors. *IDrugs.* 2007.10(8):557-61.
12. Scholl, S.M., S. Michaelis, and R. McDermott, Gene Therapy Applications to Cancer Treatment. *J Biomed Biotechnol.* 2003. 2003(1):35-47.
13. Crystal, R.G., In vivo and ex vivo gene therapy strategies to treat tumors using adenovirus gene transfer vectors. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1999. 43 Suppl: p. S90-9.
14. El-Aneed, A., Current strategies in cancer gene therapy. *Eur J Pharmacol.* 2004. 498(1-3):1-8.
15. Lyerly, H.K. and J.M. DiMaio, Gene delivery systems in surgery. *Arch Surg.* 1993. 128(11):1197-206.
16. O'Malley, B.W., Jr. and F.D. Ledley, Somatic gene therapy. Methods for the present and future. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1993. 119(10):1100-7.
17. Collet G, Grillon C, Nadim M, Kieda C. Trojan horse at cellular level for tumor gene therapies. *Gene.* 2013;525(2):208-16.
18. Kong, H.L. and R.G. Crystal, Gene therapy strategies for tumor antiangiogenesis. *J Natl Cancer Inst.* 1998. 90(4):273-86.

19. Bossi, G. and A. Sacchi, Restoration of wild-type p53 function in human cancer: relevance for tumor therapy. *Head Neck*, 2007. 29(3):272-84.
20. Liu, S. and C. Seidel-Dugan, In search of p53 target genes for the therapeutic manipulation of cancer. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2006. 9(2): 176-83.
21. Roth, J.A., Adenovirus p53 gene therapy. *Expert Opin Biol Ther*, 2006. 6(1):55-61.
22. Podhajcer, O.L., M.V. Lopez, and G. Mazzolini, Cytokine gene transfer for cancer therapy. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2007. 18(1-2):183-94.
23. Glick, R.P., T. Lichter, and E.P. Cohen, Cytokine immunogene therapy. *Neurosurg Focus*, 2000. 9(6):e2.
24. Portsmouth, D., J. Hlavaty, and M. Renner, Suicide genes for cancer therapy. *Mol Aspects Med*, 2007. 28(1):4-41.
25. Tandle, A., D.G. Blazer, 3rd, and S.K. Libutti, Antiangiogenic gene therapy of cancer: recent developments. *J Transl Med*, 2004. 2(1):22.
26. Persano, L., M. Crescenzi, and S. Indraco, Anti-angiogenic gene therapy of cancer: current status and future prospects. *Mol Aspects Med*, 2007. 28(1):87-114.
27. Isayeva, T., S. Kumar, and S. Ponnazhagan, Anti-angiogenic gene therapy for cancer. *Int J Oncol*, 2004. 25(2):335-43.
28. Medina, M.A., R. Munoz-Chapuli, and A.R. Quesada, Challenges of anti-angiogenic cancer therapy: trials and errors, and renewed hope. *J Cell Mol Med*, 2007. 11(3):374-82.
29. Seth, P. Vector-mediated cancer gene therapy: an overview. *Cancer Biol Ther*, 2005. 4(5):512-7.
30. Kaplan, J.M., Adenovirus-based cancer gene therapy. *Curr Gene Ther*, 2005. 5(6):595-605.
31. Gao, X., K.S. Kim, and D. Liu, Nonviral gene delivery: what we know and what is next. *Aaps J*, 2007. 9(1):E92-104.
32. Huang Pl, Lo WL, Cherng JY, Chien Y, Chiou GY, Chiou SH. Non-viral delivery of RNA interference targeting cancer cells in cancer gene therapy. *Curr Gene Ther*. 2012;12(4):275-84
33. Łepeta K, Łasica AM, Jagusztyn-Krynicka EK. Application of microorganisms as delivery vehicles in cancer gene therapies. *Postepy Biochem*. 2012;58(3):314-26.
34. Vannucci L, Lai M, Chiuppesi F, Ceccherini-Nelli L, Pistello M. Viral vectors: a look back and ahead on gene transfer technology. *New Microbiol*. 2013;36(1):1-22.
35. Csete, M.E., et al., Adenovirus-mediated gene transfer in the transplant setting. I. Conditions for expression of transferred genes in cold-preserved hepatocytes. *Transplantation*, 1994. 57(10):1502-7.
36. Ghosh, S.S., P. Gopinath, and A. Ramesh, Adenoviral vectors: a promising tool for gene therapy. *Appl Biochem Biotechnol*, 2006. 133(1):9-29
37. Lonberg-Holm, K. and L. Philipson, Early events of virus-cell interaction in an adenovirus system. *J Virol*, 1969. 4(4):323-38.
38. Xie, L., et al., Serum-free suspension cultivation of PER.C6(R) cells and recombinant adenovirus production under different pH conditions. *Biotechnol Bioeng*, 2002. 80(5):569-79.
39. Subramanian, S., et al., Scaleable production of adenoviral vectors by transfection of adherent PER.C6 cells. *Biotechnol Prog*, 2007. 23(5): 1210-7.
40. Seidman, M.A., et al., Variation in adenovirus receptor expression and adenovirus vector-mediated transgene expression at defined stages of the cell cycle. *Mol Ther*, 2001. 4(1):13-21.
41. Coyne, C.B. and J.M. Bergelson, CAR: a virus receptor within the tight junction. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005. 57(6):869-82.
42. Hauwel, M., E. Furon, and P. Gasque, Molecular and cellular insights into the coxsackie-adenovirus receptor: role in cellular interactions in the stem cell niche. *Brain Res Brain Res Rev*, 2005. 48(2):265-72.
43. Alba, R., A. Bosch, and M. Chillón, Gutless adenovirus: last-generation adenovirus for gene therapy. *Gene Ther*, 2005. 12 Suppl 1:S18-27.
44. Everts, B. and H.G. Van der Poel, Replication-selective oncolytic viruses in the treatment of cancer. *Cancer Gene Ther*, 2005. 12(2):141-61.
45. Mathis, J.M., M.A. Stoff-Khalili, and D.T. Curiel, Oncolytic adenoviruses - selective retargeting to tumor cells. *Oncogene*, 2005. 24(52):7775-91.
46. Seiler, M.P., V. Cerullo, and B. Lee, Immune response to helper dependent adenoviral mediated liver gene therapy: challenges and prospects. *Curr Gene Ther*, 2007. 7(5):297-305.
47. Blanpain C. Tracing the cellular origin of cancer. *Nat Cell Biol*. 2013;15(2): 126-34.
48. Morris LG, Chan TA. Therapeutic targeting of tumor suppressor genes. *Cancer*. 2015;121(9):1357-68.
49. Hong B, van den Heuvel AP, Prabhu VV, Zhang S, El-Deiry WS. Targeting tumor suppressor p53 for cancer therapy: strategies, challenges and opportunities. *Curr Drug Targets*. 2014;15(1):80-9.
50. Chen GX, Zhang S, He XH, Liu SY, Ma C, Zou XP. Clinical utility of recombinant adenoviral human p53 gene therapy: current perspectives. *Onco Targets Ther*. 2014;7:1901-9.
51. Kaufmann KB, Bunning h, Galy A, Schambach A, Grez M. Gene therapy on the move. *EMBO molecular medicine* 2013;5:1642-61
52. Dimova I, Popivanov G, Djonov V. Angiogenesis in cancer - general pathways and their therapeutic implications. *J BUON*. 2014;19(1):15-21.
53. Yadav L, Puri N, Rastogi V, Satpute P, Sharma V. Tumour Angiogenesis and Angiogenic Inhibitors: A Review. *J Clin Diagn Res*. 2015 Jun;9(6):XE01-XE05. doi: 10.7860/JCDR/2015/12016.6135. Epub 2015 Jun 1.
54. Shahneh FZ, Baradaran B, Zamani F, Aghebati-Maleki L. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic therapies. *Hum Antibodies*. 2013;22(1-2):15-9
55. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *J Clin Oncol*. 2005;23(5):1011-27.
56. Dell'Evà R, Pfeffer U, Indraco S, Albini A, Noonan D. Inhibition of tumor angiogenesis by angiostatin: from recombinant protein to gene therapy. *Endothelium*. 2002;9(1):3-10.
57. Sharpe M, Mount N. Genetically modified T cells in cancer therapy: opportunities and challenges. *Dis Model Mech*. 2015 ;8(4):337-50.
58. Bonini C, Mondino A. Adoptive T-cell therapy for cancer: the era of engineered T cells. *Eur J Immunol*. 2015 Jul 22. doi: 10.1002/eji.201545552. [Epub ahead of print]
59. Ngo MC, Rooney CM, Howard JM, Heslop HE. Ex vivo gene transfer for improved adoptive immunotherapy of cancer. *Hum Mol Genet*. 2011;20(R1):R93-9
60. Jakóbišák M1, Gołab J. Genetic modification of T cells improves the effectiveness of adoptive tumor immunotherapy. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2010;58(5):347-54.
61. Tokudome T. Iplimumab. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2013;40(9):1140-4.
62. Massarelli E, Papadimitrakopoulou V, Welsh J, Tang C, Tsao AS. Immunotherapy in lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2014;3(1):53-63.
63. Vassaux G1, Martin-Duque P. Use of suicide genes for cancer gene therapy: study of the different approaches. *Expert Opin Biol Ther*. 2004;4(4):519-30.
64. Wirth T, Samaranyake H, Pikkarainen J, Maatta AM, Yla-Herttuala S. Clinical trial for glioblastoma multiforme using adenoviral vectors. *Curr Opin Mol Ther*. 2009;11:485-492