

Pengobatan Kanker Melalui Metode Gen Terapi

Cindy Aprillianie Wijaya, Muchtaridi Muchtaridi

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia
cindyaprillianiewijaya@gmail.com

Abstrak

Kanker adalah penyakit akibat pertumbuhan tidak normal dari sel-sel pada jaringan tubuh yang mengalami mutasi dan perubahan struktur biokimia. Hingga saat ini, pengobatan kanker masih tidak memuaskan dikarenakan kecepatan kerusakan sel-sel kanker belum optimal dihadapi dengan terapi kimia. Obat anti-kanker yang telah ada sangat tidak spesifik untuk sel-sel kanker dan menyebabkan kematian pada sel-sel sehat dalam pengobatan kemoterapi. Terapi gen dapat dilihat sebagai terapi baru yang ampuh untuk meminimalkan atau mengatasi masalah tersebut. Dari beberapa penelitian yang ditelaah dari sumber data ulasan, terapi gen dengan virus menunjukkan dapat ditoleransi dengan baik dan secara parsial efektif dalam penyusutan tumor. Terjadi peningkatan waktu kelangsungan hidup pada pasien.

Kata kunci : Kanker, Anti-kanker, Terapi gen

Abstract

Cancer is a disease caused by abnormal growth of cells in body tissues that undergo mutations and changes in biochemical structure. However, cancer treatment is still unsatisfying due to the rate of damage to cancer cells has not been optimally faced with chemotherapy. Existing anti-cancer drugs are not specific to cancer cells and cause death in healthy cells in the treatment of chemotherapy. Gene therapy can be seen as a powerful new therapy to minimize or resolve the problem. Based on several studies examined from the review data suggest that gene therapy with the virus can be well tolerated and partially effective in tumor shrinkage. It's increased survival rate in patients.

Keywords: Cancer, Anti-cancer, Gene therapy

PENDAHULUAN

Kanker terutama berasal oleh kerusakan atau mutasi dari protoonkogen yang dikode untuk protein yang terlibat dalam induksi proliferasi dan diferensiasi sel, dan tumor supresor gen yang dikode untuk protein yang menghasilkan sinyal penghambatan pertumbuhan sel dan merangsang apoptosis^[1,2].

Saat ini, kanker merupakan penyakit mematikan dan penyebab utama kematian di negara industri dan penyebab kedua kematian di negara berkembang.¹ Sebanyak 12,7 kasus baru kanker dilaporkan setiap tahun dengan angka kematian 7,6 juta diseluruh dunia^[3].

Pembedahan dan radioterapi adalah pengobatan yang paling efektif untuk kanker lokal dan non-metastasis, tetapi tidak efisien ketika kanker telah menyebar ke seluruh tubuh. Penggunaan obat kanker (kemoterapi, hormon dan terapi biologis) adalah pilihan saat ini untuk pengobatan kanker metastatik, karena mampu mencapai setiap organ dalam tubuh melalui aliran darah^[4].

Pengobatan kanker dengan kemoterapi masih memiliki kelemahan karena selain membunuh sel kanker ia juga mempengaruhi sel-sel normal dengan tingkat proliferasi cepat, seperti folikel rambut, sumsum tulang dan sel-sel saluran pencernaan, menghasilkan efek samping kemoterapi yang khas. Karena hal inilah, dibutuhkan penemuan pengobatan baru yang selektif membunuh sel kanker tanpa mempengaruhi sel normal^[5].

Penelitian kanker dan genomik telah mengalami kemajuan yang cukup selama dua dekade terakhir^[6]. Pada tahun 2001, dua versi dari urutan genom manusia dan identifikasi sekitar 30.000 gen secara bersamaan dipublikasikan^[7]. Seperti yang sudah diduga, publikasi ini diikuti oleh banyak penelitian luas dalam bidang genetika molekular menggunakan alat-alat canggih.

Perkembangan pengetahuan tentang kanker telah menciptakan pengembangan pendekatan terapi baru dalam manajemen kanker, khususnya terapi gen^[8]. Terapi gen merupakan prosedur yang dimaksudkan untuk

mengobati atau meringankan penyakit dengan memodifikasi secara genetik sel dari pasien ^[9].

Penelitian pada 14 pasien kanker pankreas dengan transgen sitokrom p450 dengan vektor plasmid DNA menunjukkan rata-rata harapan hidup bertambah dua kali lipat dibandingkan dengan kontrol. Tingkat kelangsungan hidup pertahun adalah tiga kali lebih baik ^[10]. Penelitian lain menunjukkan pada 10 pasien, 2 diantaranya menderita kanker pankreas dan 8 pasien menderita kanker payudara stadium lanjut dan karsinoma kandung empedu dengan transgen MUC-1 dengan vektor plasmid DNA menunjukkan pasien menunjukkan tanda-tanda kemajuan ^[11].

Berkenaan dengan hal tersebut terapi gen dapat dijadikan salah satu metode alternatif pengobatan kanker. Ulasan jurnal ini difokuskan pada berbagai strategi terapi gen yang saat ini digunakan, hambatan dan tantangan di bidang terapi gen pada kanker, dan diskusi singkat dari beberapa pengobatan kanker dengan gen terapi.

SEJARAH TERAPI GEN

Sejarah terapi terhadap kanker dimulai pada abad ke-18 ketika operasi merupakan pengobatan utama stadium awal kanker dan pasien sering kembali menderita penyakit yang sama. Setelah penyakit menyebar, pasien diobati dengan obat herbal, minyak jarak, atau arsenik. Pada tahun 1895, terapi radiasi ditemukan, tetapi belum efektif. Pada saat itu, beberapa kasus regresi kanker diikuti dengan infeksi bakteri dilaporkan ^[12].

Virus juga ditemukan efektif dalam mengendalikan tumor pada model hewan, dan kemudian pada manusia pada tahun 1956. Adenovirus khususnya telah dipelajari lebih intensif pada manusia, dan menyebabkan perkembangan lebih lanjut pada terapi gen. Pada tahun 1987, imunoterapi diperkenalkan dalam pengobatan pasien kanker diikuti dengan persetujuan FDA untuk antibodi rituximab dalam pengobatan pasien dengan limfoma pada tahun 1997 ^[13,14].

Pada tahun 1990, penelitian terapi gen pertama disetujui FDA di Amerika

Serikat untuk pasien dengan gangguan imunodefisiensi parah (SCID)^[15]. Sejak itu, banyak uji klinis telah dilakukan untuk pasien dengan kanker, menggunakan pendekatan yang berbeda dalam terapi gen, dengan hasil yang sukses dilaporkan pada pasien dengan leukemia limfositik akut dan kronis, tumor otak, serta yang lain. Beberapa obat yang disetujui secara komersial untuk terapi gen telah dirilis, termasuk ONYX-15 (Onyx Pharmaceuticals) untuk kanker leher dan kepala pada tahun 2005, vaksin human papilloma virus (HPV) (Gardasil) untuk pencegahan kanker leher rahim (2006) dan sel dendritik yang dimodifikasi, sipuleucel-T (Provenge), untuk mengurangi gejala kanker prostat metastasis^[16].

STRATEGI DALAM TERAPI GEN

Gene replacement

Strategi ini dilakukan dengan melihat kemungkinan menggantikan gen yang termutasi dengan gen yang normal melalui rekombinasi homolog *in situ*. Ini merupakan cara yang lebih baik untuk

mengobati atau bahkan menyembuhkan penyakit monogenik, tetapi jarang digunakan untuk terapi gen kanker karena keterbatasan teknis dan perubahan genetik yang kompleks pada kanker^[17].

Modifikasi Gen

Strategi ini dilakukan dengan langsung mengubah gen termutasi dan merehabilitasi fungsi sel target. Ini merupakan cara yang ideal untuk terapi gen tetapi memiliki kesulitan besar. Jarang ditemukan penelitian dengan strategi ini^[18].

Augmentasi Gen

Augmentasi Gen dilakukan dengan mentransfer gen terapeutik eksogen ke dalam sel yang kekurangan dan membiarkan produk hasil ekspresi menggantikan kekurangan tersebut. Ini adalah strategi yang paling umum digunakan dalam terapi gen. Titik utama teknologi ini adalah pemilihan gen terapi dan sistem pengiriman gen. Banyak sistem pengiriman yang efisien telah dikembangkan untuk memperkenalkan

materi genetik ke dalam sel eukariotik dan membuat mereka diekspresikan ^[19].

Blokade Gen

Strategi ini bertujuan untuk mencegah transkripsi dan translasi gen terkait kanker tertentu dengan menggunakan urutan nukleotida pendek yang mengikat DNA atau RNA secara komplementer, yang dapat memblokir sinyal jalur transduksi yang menyimpang dan menginduksi diferensiasi tumor dan apoptosis pada akhirnya. Hal ini juga dikenal sebagai terapi gen antisense. Bahan yang umum digunakan dalam strategi ini mencakup oligonukleotida antisense, ribozymes dan *small interfering RNAs* (siRNAs) ^[20].

METODE TERAPI GEN

Penghantaran *Ex vivo*

Dalam sistem ini, sel-sel penerima yang sebelumnya diambil dari jaringan target atau sumsum tulang dikultur secara *in vitro* dan kemudian dimasukkan kembali ke dalam tubuh pasien setelah transfer gen terapeutik. Untuk meningkatkan keberhasilan terapi, sel yang telah ditransfeksi

secara positif diseleksi dari total sel untuk implantasi, yang merupakan kelebihan dari pemberian secara *ex vivo*. Namun, kekurangan dari sistem penghantaran *ex vivo* adalah prosesnya kompleks dan kelangsungan hidup sel yang dimasukkan kembali rendah ^[21].

Penghantaran *In vivo*

Dalam sistem ini, vektor gen yang membawa gen terapeutik secara langsung dimasukkan ke jaringan target atau organ, melalui injeksi sistemik, injeksi *in situ*, obat oral atau semprot, dimana teknik injeksi *in situ* lokal pada jaringan tumor paling sering dilakukan. Hampir semua uji klinis *in vivo* pada terapi gen kanker didasarkan pada metode ini, yang meliputi injeksi intratumoral yang dimediasi oleh CT atau USG ^[22].

VEKTOR DALAM TERAPI GEN

Sistem vektor ini dapat dibagi menjadi dua kategori: sistem vektor non-viral dan viral. Keduanya telah diteliti dan masing-masing memiliki keuntungan dan kelemahan yang berbeda. Metode Viral

biasanya menawarkan efisiensi transduksi yang lebih tinggi dan ekspresi gen jangka panjang, tetapi mungkin dapat terkait dengan toksisitas, imunogenisitas, mutagenisitas, ketidakmampuan untuk mentransfer gen ukuran besar dan biaya tinggi. Metode non-viral memberikan keuntungan relatif aman, kemampuan untuk mentransfer gen ukuran besar, toksisitas kurang dan persiapan mudah; mereka juga dapat dimodifikasi dengan ligan untuk jaringan atau target spesifik sel. Namun, metode non-viral menunjukkan keterbatasan efisiensi transfeksi rendah dan ekspresi transgen yang rendah [23].

Non-viral vector systems

Vektor non-viral terdiri dari vektor kimia, vektor biologi dan metode fisik transfer Gen untuk memperkenalkan DNA telanjang (DNA plasmid), molekul RNA, atau oligonukleotida ke sel penerima [23].

Sistem Vektor dari Virus

Vektor virus merupakan sistem pengiriman gen yang paling banyak dipelajari dan

diterapkan. Lebih dari dua pertiga dari uji klinis terapi gen dilaporkan menggunakan vektor. Virus tersebut dapat menggunakan mekanisme bawaan mereka untuk menginfeksi dan masuk ke dalam sel dan mentransfer molekul DNA ke dalam sel tanpa reaksi fisik atau kimia. Vektor virus yang paling umum dalam terapi gen pada penyakit kanker adalah adenovirus (Adv), retrovirus (RV), *virus adenoassociated* (AAV), lentivirus, herpes simplex virus (HSV), virus influenza, virus penyakit Newcastle, virus cacar, dan virus Epstein-Barr (EBV) [23].

HASIL TERAPI GEN UNTUK KANKER

Hasil telaah dari sumber data review terhadap gen terapi pada penyakit kanker menunjukkan :

1. Pada 1998 , penelitian pada 14 pasien kanker pankreas dengan transgen sitokrom p450 dengan vektor plasmid DNA transfeksi alogenetik dengan sel target ginjal embrionik manusia yang diinjeksikan pembuluh darah tumor melalui angiografi superselektif dengan

- kombinasi terapi dosis rendah ifosfamide. Hasil pengamatan fase I dan II menunjukkan 4 pasien menunjukkan regresi tumor, dan sepuluh pasien lain tetap stabil. Rata-rata harapan hidup bertambah dua kali lipat dibandingkan dengan kontrol. Tingkat kelangsungan hidup pertahun adalah tiga kali lebih baik^[10].
2. Pada 1999 , penelitian pada 6 pasien (3 pasien kanker pankreas dan 3 pasien kanker saluran pencernaan). Digunakan transgen interleukin-2 (IL-2) dengan vektor adenovirus diinjeksikan pembuluh intratumoral tanpa kombinasi terapi. Hasil pengamatan fase I dan II menunjukkan keamanan obat yang baik tetapi hasil akhir terhadap tumor tidak dilaporkan^[24].
 3. Pada 2000, penelitian pada 3 pasien donor sehat dan 1 pasien menderita kanker pankreas. Digunakan transgen ras onkoprotein termutasi dengan vektor EB transfeksi autologus dengan sel target limfoblastoid yang diinjeksikan subkutan tanpa kombinasi terapi. Hasil pengamatan fase I menunjukkan semua subjek dengan perlakuan vaksin dosis tinggi menyebabkan *muRas-specific cytotoxic T lymphocytes*^[25].
 4. Pada 2001 , penelitian pada 14 pasien dengan indikasi klinis kanker pankreas. Digunakan transgen GM-CSF dengan vektor plasmid DNA transfeksi allogenis dengan vaksin sel tumor yang diinjeksikan intradermal dengan kombinasi kemoradiasi. Hasil pengamatan fase I menunjukkan terbentuk DTH pada 3 dari 14 pasien dan terjadi peningkatan waktu kelangsungan hidup pada 3 pasien (setidaknya 25 bulan setelah diagnosa)^[26].
 5. Pada 2002 , penelitian pada 10 pasien , 2 diantaranya menderita kanker pankreas dan 8 pasien menderita kanker payudara stadium lanjut dan karsinoma kandung empedu. Digunakan transgen MUC-1 dengan vektor plasmid DNA transfeksi autologus dengan sel target dendritik yang diinjeksikan subkutan tanpa kombinasi terapi. Hasil pengamatan

- fase I dan II menunjukkan pasien menunjukkan tanda-tanda kemajuan. Hanya satu pasien yang tetap stabil selama 3 bulan sampai kemudian dipindahkan ke terapi lain. 3 dari 10 pasien menderita reaksi *vaccinespecific delayed-type hypersensitivity* (DTH) . 4 dari 10 pasien menunjukkan peningkatan sel INF dan sel T CD8⁺ [11].
6. Pada 2005 , penelitian pada 17 pasien . 3 pasien menderita kanker pankreas dan 14 pasien menderita kanker kolorektal dan liver. Digunakan transgen interleukin-12 (IL-12) dengan vektor adenovirus transfeksi autologus sel target dendritik yang diinjeksikan intratumoral tanpa kombinasi terapi. Hasil pengamatan fase I menunjukkan pengobatan dapat ditoleransi dengan baik. 11 dari 17 pasien menunjukkan respon. Sebuah respon parsial diamati dalam 1 kasus dengan kanker pankreas , penyakit stabil pada 2 pasien dan menunjukkan perkembangan di 8 pasien [27].
 7. Pada 2007 , penelitian pada 10 pasien dengan indikasi klinis kanker pankreas stadium lanjut. Digunakan transgen CEA, MUC-1, dan TRICOM (termasuk B7.1, ICAM-1, LFA-3) dengan vektor virus cacar yang diinjeksikan subkutan dengan kombinasi terapi GM-CSF. Hasil pengamatan fase I menunjukkan respon sel T spesifik antigen pada 5 dari 8 pasien yang dievaluasi. Terdapat perbedaan rata-rata hidup 15,1 bulan pada responden dan 3,9 bulan pada non-responden .Secara keseluruhan kelangsungan hidup rata-rata adalah 6,3 bulan [28].
 8. Pada 2008 , penelitian pada 12 pasien dengan indikasi klinis kanker pankreas metastasis. Digunakan transgen cyclin G1 dengan vektor retrovirus yang diinjeksikan intravena tanpa kombinasi terapi .Hasil pengamatan fase I menunjukkan keamanan yang baik tetapi tidak ditunjukkan bukti terhadap aktivitas anti tumornya [29].
 9. Pada 2008 ,penelitian pada 50 pasien dengan indikasi klinis kanker pankreas

- stadium lanjut. Digunakan transgen GM-CSF dengan vektor plasmid DNA transfeksi allogenik dengan vaksin sel tumor yang diinjeksikan intradermal dengan kombinasi terapi 2 kelompok perlakuan. Kelompok A: vaksin sendiri (n = 20) ; B: vaksin dan cyclophosphamide (n = 30). Hasil pengamatan fase I menunjukkan peningkatan respon mesothelin spesifik sel T. Rata-rata nilai pertahanan dalam kelompok A dan B adalah 2,3 dan 4,3 bulan ^[30].
10. Pada 2011 , penelitian pada 60 pasien dengan indikasi klinis kanker pankreas. Digunakan transgen GM-CSF dengan vektor plasmid DNA transfeksi allogenik dengan vaksin sel tumor yang diinjeksikan intradermal dengan kombinasi kemoradiasi. Hasil pengamatan fase II menunjukkan rata-rata pertahanan penyakit adalah 17,3 bulan dengan kelangsungan hidup rata-rata 24,8 bulan. Induksi sel CD8⁺ mesothelin T spesifik berhubungan dengan perlawanan terhadap penyakit ^[31].
11. Pada 2012 , penelitian pada 45 pasien stadium lanjut kanker pankreas. Digunakan transgen VEGFR-2 dengan vektor plasmid DNA yang diberikan oral dengan kombinasi terapi gemcitabin. Hasil pengamatan fase I tidak dilaporkan ^[32].
12. Pada 2012 ,penelitian pada 17 pasien . 3 pasien menderita kanker pankreas dan 28 pasien dengan indikasi klinis diantaranya kanker ovarium , kanker pankreas , kanker paru-paru ,dan mesothelioma. Digunakan transgen mesothelin dengan vektor *Listeria monocytogenes* diinjeksikan intravena dengan 3 kelompok berbeda. Kelompok pertama merupakan vaksin *Listeria monocytogenes* yang dilemahkan (n=9) dan kelompok kedua merupakan vaksin mesothelin yang mengeskpresikan *Listeria monocytogene* yang dilemahkan (n=17) . Hasil pengamatan fase I menunjukkan pada kelompok 2, respon spesifik sel T terlihat dan 37% pasien tetap bertahan hidup ^[33].

13. Pada 2013, penelitian pada 30 pasien dengan indikasi klinis kanker pankreas. Digunakan transgen CM-CSF dengan vektor plasmid DNA transfeksi allogenik dengan kombinasi terapi 2 kelompok perlakuan. Kelompok A diberikan Ipilimumab (n = 15); kelompok 2: Ipilimumab dan vaksin (n = 15). Kemudian diinjeksikan intradermal. Hasil pengamatan fase II menunjukkan rata-rata pertahanan penyakit 3,6 bulan untuk kelompok 1 dan 5,7 bulan pada kelompok kedua. Respon mesothelin spesifik sel T berhubungan erat dengan peningkatan perlawanan kepada penyakit pada kelompok 2 [34].

MASALAH DALAM TERAPI GEN

Efek samping yang paling sering dalam terapi gen adalah demam sementara dan gejala flu. Reaksi hipersensitivitas tipe 3 juga sering terjadi setelah pemberian intravena terapi gen. Leukocytopenia, dan khususnya, limfopenia, dapat terjadi menunjukkan redistribusi sel sel darah putih untuk menargetkan jaringan seperti

tumor. anemia transient ringan juga telah dilaporkan. Namun, toksisitas, mutagenisitas dan imunogenisitas terkait dengan terapi dengan vektor virus telah menimbulkan kekhawatiran besar [35].

Dalam studi sebelumnya pada vektor leukemia retrovirus murine dalam pengobatan pasien dengan imunodefisiensi gabungan yang parah (SCID) dan 5 dari 30 kasus menyebabkan terbentuknya leukimia meskipun dalam terapi gen untuk kanker. mutagenisitas tersebut tergantung pada lokasi penyisipan virus [36]. Untuk alasan ini, FDA telah mewajibkan semua uji klinis yang melibatkan genom vektor virus terintegrasi untuk melaporkan dan menganalisa situs penyisipan vektor virus. Metodologi awal adalah amplifikasi linear yang dimediasi *polymerase chain reaction* (PCR) [37], tetapi akhir-akhir ini, metode sekuensing DNA telah digunakan. Uji klinis yang awalnya atau kemudian menunjukkan bukti mutagenisitas lebih tinggi biasanya dihentikan. Informasi yang diperoleh dari studi tersebut adalah signifikansi besar dalam merancang

pendekatan terapi baru yang lebih aman. Masalah lain yang besar dalam terapi gen adalah resistensi terhadap pengobatan dengan rekurensi tumor berikutnya dan kelangsungan hidup yang lebih pendek. Mekanisme kejadian ditunjukkan secara intrinsik dan mungkin diperoleh resistensi sel tumor terhadap apoptosis oleh disregulasi dan pelepasan anti-apoptosis inhibitor protein apoptosis atau Bcl-2 protein [38].

Baru-baru ini, beberapa perusahaan farmasi telah mengembangkan beberapa obat seperti Novartis-LBH589, cIAP1, dan cIAP2 yang menghambat Bcl-2 protein, sehingga mempromosikan kematian sel (apoptosis) dan regresi tumor, mencegah atau menunda perlawanan tumor, dan memperpanjang remisinya setelah terapi gen. Obat-obat ini saat ini dalam uji klinis [39].

SIMPULAN

Terapi gen untuk kanker telah berkembang relatif cepat dalam dua dekade terakhir, dan saat ini telah tersedia beberapa obat secara komersial sementara

yang lain masih dalam tahap uji klinis. Kebanyakan laporan tentang terapi gen telah menunjukkan profil keamanan yang baik dengan toksisitas sementara yang dapat ditoleransi. Terapi gen jauh lebih berhasil pada pasien dengan tumor dan kanker stadium awal, atau pada mereka yang memiliki massa tumor yang lebih rendah. Secara alternatif, terapi gen lebih baik digunakan setelah terapi kanker umum yang sukses dengan pengurangan massa tumor, seperti setelah operasi radikal, terapi radiasi, atau setelah kemoterapi sukses.

Di masa depan, penggunaan analisis tumor dan genomik pasien serta penilaian imunitas humoral imunitas seluler, akan memfasilitasi dalam menentukan pilihan yang lebih baik dari terapi gen yang paling tepat per pasien. Kemajuan terbaru dalam mengembangkan vektor aman dan efektif untuk transfer gen, seperti virus sintesis dan metode non-viral, serta keberhasilan dalam menggunakan antigen reseptor chimeric T-limfosit terintegrasi autologus dan alogenik, sel-sel efektor yang universal dalam mediasi

imunoterapi , akan meningkatkan efektivitas dan keamanan profil dari terapi gen. Selain itu, dengan kemajuan dalam penelitian biologi, vektor gen yang jauh lebih murah akan tersedia secara komersial, yang akan membuat terapi gen tersedia untuk sebagian besar pasien kanker di seluruh dunia.

Hal ini akan mengubah masa depan terapi kanker, dari strategi pengobatan kanker umum berdasarkan ukuran tumor, sifat dan lokasi, menjadi terapi kanker yang lebih disesuaikan sesuai individual berdasarkan konstituen genom tertentu pasien, status kekebalan pasien, dan profil genetik dari tumor. Pengobatan kanker diharapkan menjadi cepat, efektif, relatif tidak toksis dan murah, dengan tingkat kesembuhan yang lebih tinggi, dan bahkan mungkin untuk pencegahan kanker.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Yedi Herdiana, S.Si., M.Si, Apt. selaku dosen pembimbing dalam penulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. 2011. Global cancer statistics. *Cancer J.* 61(3):69–90.
2. Devita VT Jr, Rosenberg SA. 2012. Two hundred years of cancer research. *N Engl J Med.* 366(23):2207–2214.
3. Al-Dimassi S, Abou-Antoun T, El-Sibai M. 2014. Cancer cell resistance mechanisms: a mini review. *Clin Transl Oncol.* 16:511–6.
4. B.A. Chabner, T.G. Roberts Jr. 2006. Timeline: chemotherapy and the war on cancer. *Nat Rev Cancer.* 25(1):65–72.
5. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature J.* 409(6822):860–921.
6. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton G. 2001. The sequence of the human genome. *Science J.* 291(5507):1304–1351.

7. Dulbecco R. 1986. A turning point in cancer research: sequencing the human genome. *Science J.* 231(4742):1055–1056.
8. Amer. 2015. Gene therapy for cancer: present status and future perspective. *Mollecular J.* 2(27):1-2.
9. Tatum EI. 1996. Molecular biology, nucleic acids, and the future of medicine. *Perspect Biol Med.* 10:19–32.
10. Jaffee EM, Hruban RH, Biedrzycki B, Laheru D, Schepers K, Sauter PR., 2001. Novel allogeneic granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-secreting tumor vaccine for pancreatic cancer: a phase I trial of safety and immune activation. *J Clin Oncol.* 19: 145-156.
11. Rogers S, Lowenthal A, Terhegge Hg, Columbo JP. 1973. Induction of arginase activity with Shope papilloma virus in tissue-culture cells from an argininemic patient. *J Exp Med.* 137:1091– 1096.
12. Sheridan C. 2011. Gene therapy finds its niche. *Nat Biotechnol.* 29(2):121–128.
13. Hemminki O, Hemminki A. 2013. Oncolytic adenoviruses in the treatment of cancer in humans. *Elsevier.* 20:153–170.
14. Kantoff PW, Schuetz TJ, Blumenstein BA, Glode LM, Bilhartz DL, Wyand M., 2010. Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a Poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol.* 28(7):1099–1105.
15. Power AT, Bell JC. 2007. Cell-based delivery of oncolytic viruses: a new strategic alliance for a biological strike against cancer. *Mol Ther.* 15: 660-665.
16. Wang W, Li W, Ma N, Steinhoff G. 2013. Non-viral gene delivery methods. *Curr Pharm Biotechnol.* 14:46-60.
17. Weichselbaum RR, Kufe D. 1997. Gene therapy of cancer. *Lancet J.* 349(2):10–2.

18. Ahrendt SA, Hu Y, Buta M, McDermott MP, Benoit N, Yang SC. 2003. P53 mutations and survival in stage I non-small-cell lung cancer: results of a prospective study. *J Natl Cancer Inst.* 95:961–970.
19. Reid T, Warren R, Kim D. 2002. Intravascular adenoviral agents in cancer patients: Lessons from clinical trials. *Cancer Gene Ther.* 9:979–986.
20. Soares KC, Zheng L, Edil B, Jaffee EM. 2012. Vaccines for pancreatic cancer. *Cancer J* .18: 642-652.
21. Wong HH, Lemoine NR. 2008. Biological approaches to therapy of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst.* 8: 431-461.
22. Bartholomae CC, Glimm H, Von Kalle C, Schmidt M. 2012. Insertion site pattern: global approach by linear amplification-mediated PCR and mass sequencing. *Mol Biol* .859:255–265.
23. Raty JK, Pikkarainen JT, Wirth T, Yla-Herttuala S. 2008. Gene therapy: The first approved gene-based medicines, molecular mechanisms and clinical indications. *Curr Mol Pharmacol.* 11:13–23.
24. Gabrilovich DI. 2006. INGN 201 (Advexin): Adenoviral p53 gene therapy for cancer. *Expert Opin Biol Ther.* 6:823–832.
25. Sokhi UK, Bacolod MD, Dasgupta S, Emdad L, Das SK, Dumur CI. 2013. Identification of genes potentially regulated by human polynucleotide phosphorylase (hPNPase(old-35)) using melanoma as a model. *J Natl Cancer Inst.* 8(10);14-19.
26. Löhr M, Müller P, Karle P, Stange J, Mitzner S, Jesnowski R. 1998. Targeted chemotherapy by intratumour injection of encapsulated cells engineered to produce CYP2B1, an ifosfamide activating cytochrome P450. *Gene Ther.* 5: 1070-1078.
27. Gilly FN, Beaujard A, Bienvenu J, Trillet Lenoir V, Glehen O, Thouvenot D. 1999. Gene therapy with Adv-IL-2 in unresectable digestive cancer: phase I-II study, intermediate report. *J Natl Cancer Inst.* 46(1):1268-1273.

28. Kubuschok B, Cochlovius C, Jung W, Schmits R, Trümper L, Hartmann F. 2000. Gene-modified spontaneous Epstein-Barr virus-transformed lymphoblastoid cell lines as autologous cancer vaccines: mutated p21 ras oncogene as a model. *Cancer Gene Ther* .7:1231-1240.
29. Pecher G, Häring A, Kaiser L, Thiel E. 2002. Mucin gene (MUC1) transfected dendritic cells as vaccine: results of a phase I/II clinical trial. *J Natl Cancer Inst*. 51: 669-673.
30. Mazzolini G, Alfaro C, Sangro B, Feijoó E, Ruiz J, Benito. 2005. Intratumoral injection of dendritic cells engineered to secrete interleukin-12 by recombinant adenovirus in patients with metastatic gastrointestinal carcinomas. *J Clin Oncol*. 23: 999-1010.
31. Kaufman HL, Kim-Schulze S, Manson K, DeRaffele G, Mitcham J, Seo KS. 2007. Poxvirus-based vaccine therapy for patients with advanced pancreatic cancer. *J Transl Med* .5: 60-61.
32. Comins C, Simpson G, Relph K, Harrington K, Melcher A, Pandha H. 2013. Reoviral therapy for cancer: strategies for improving antitumor efficacy using radio- and chemotherapy. *Elsevier*. 4(2):185–198.
33. Thomas CE, Ehrhardt A, Kay. 2003. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet* .4(5):346–358.
34. Yuan Z, Pastoriza J, Quinn T, Libutti S. 2013. Targeting tumor vasculature using adeno-associated virus page vector coding tumor necrosis factor- α . *Elsevier*. 20(1):19–33.
35. Si-Xue Liu, Zhong-Sheng Xia, Ying-Qiang Zhong. 2014. Gene therapy in pancreatic cancer. *World J Gastroenterol*. 20(37): 13343-13368.
36. Laheru D, Biedrzycki B, Jaffee EM. 2013. Development of a cytokine-modified allogeneic whole cell pancreatic cancer vaccine. *Methods Mol Biol*. 980: 175-203.
37. Lutz E, Yeo CJ, Lillemoe KD, Biedrzycki B, Kobrin B, Herman J. 2011. A lethally irradiated allogeneic

- granulocyte-macrophage colony stimulating factor secreting tumor vaccine for pancreatic adenocarcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 253: 328-335.
38. Niethammer AG, Lubenau H, Mikus G, Knebel P, Hohmann N, Leowardi C. 2012. Double-blind, placebo-controlled first in human study to investigate an oral vaccine aimed to elicit an immune reaction against the VEGF-Receptor 2 in patients with stage IV and locally advanced pancreatic cancer. *BMC Cancer*.20(12);12:361.
39. Le DT, Brockstedt DG, Nir-Paz R, Hampl J, Mathur S, Nemunaitis J. 2012. A live-attenuated Listeria vaccine (ANZ-100) and a liveattenuated Listeria vaccine expressing mesothelin (CRS-207) for advanced cancers: phase I studies of safety and immune induction. *Clin Cancer Res.* 18: 858-868.