상부위장관 종양의 분자 생물학

Molecular Biology of Upper Gastrointestinal Neoplasms

Joon Sung Kim, Byung-Wook Kim

Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Incheon St. Mary's Hospital, The Catholic University of Korea, College of Medicine, Incheon, Korea

Neoplasms of the upper gastrointestinal tract are related by location and have distinct clinical and molecular characteristics. Malignancies of the upper gastrointestinal tract are often diagnosed at an advanced stage and are generally associated with a poor patient prognosis. Improved understanding of the molecular biology of these tumors should provide new targets for diagnosis, chemoprevention, and therapy. This review focuses on the molecular biology of esophageal adenocarcinoma, esophageal squamous cell carcinoma and gastric adenocarcinoma. Fundamental principles of carcinogenesis are discussed first, followed by the key similarities and differences of each cancer. **Korean J Helicobacter Up Gastrointest Res 2012;12:75-81**

Key Words: Neoplasms; Upper gastrointestinal tract; Molecular biology

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실
인천성모병원 소화기내과

김준성, 김병욱

접수일 : 2012년 4월 18일

승인일 : 2012년 5월 25일

연락처 : 김병욱

인천시 부평구 동수로 56

우편번호: 403-720

가톨릭대학교 인천성모병원 소화기내과

Tel: 032-280-5052

Fax: 032-280-5987

E-mail: gastro@catholic.ac.kr

서 론

상부위장관에서 발생하는 종양은 진행된 병기에서 진단되는 경우가 많으며 대부분 예후가 나쁘다. 이를 극복하기 위해서는 상부위장관 종양의 분자 생물학을 이해하여 조기 진단, 치료 약제 개발 및 치료 반응의 경과 관찰에 도움이 되는 인자들을 발견하는 것이 필요하다. 상부위장관 종양은 발생학적인 유사점 이외에도 분자 생물학적으로 여러 유사점들이 존재하며, 이중 일부는 상부위장관 종양뿐만 아니라 다른 장기의 종양에서도 발견된다.

종양이 발생하기 위해서는 네 유형의 유전자들에서 변이가 일어나는데, 이들은 발암유전자(proto-oncogene), 종양억제유전자(tumor suppressor gene), 세포 자멸사(apoptosis)를 유도하는 유전자, DNA 복구와 관련있는 유전자이다. 이들 유전자 변이에 의해 종양은 6가지 특징을 나타내는데, 그것은 자기 충족적 성장신호(self sufficiency in growth signals), 증식 억제제에 대한 무감응(insensitivity to antigrowth signals), 세포 자멸사 회피(evasion of apoptosis), 혈관 생성능력

(sustained angiogenesis), 무제한적 복제 능력(a limitless replicative potential), 그리고 조직 침습과 전이(tissue invasion and metastasis)이다.¹ 이러한 6가지 종양관련 유전자 변이의 특징은 세포 성장과 분화 주기와 밀접한 관련이 있어 이를 고려하여 본 논고를 기술하였다. 본 논고에서 분자 생물학적 용어들은 한글로 번역하는 것보다 원어 자체가 이해하기 쉬워 원어와 약어를 사용하였다.

본 론

1. 분자생물학적 표식자는 어떤 단계에서 작용하는가

많은 종양 억제인자와 종양 유발인자들이 알려져 있는데 대부분의 연구 논문들은 이 중 극히 일부 단계에 대한 연구로, 전체적인 큰 밑그림을 이해하기 다소 어려운 점이 있다. 이를 단계별로 간단하게 정리하면 Table 1과 같다.

2. 자기 충족적 성장신호(self-sufficiency in growth signals)

세포 표면 수용체에 성장인자가 결합하면 이 결합체는

Table 1. Molecular Markers in Each Step of Carcinogenesis and Their Genetic Loci

Steps	Molecular markers and/or genes	Genetic loci
Cell cycle regulators	Retinoblastoma (Rb)	13q14
	p16	9p21
	p27Kip-1	12p13
	Cyclin D1/Cyclin E	11q13/19q12
Growth factors, receptors, and cell signaling	EGF/EGFR/TGF- α	4q25/7p12/2p13
	ERBB2	17q21
	TGF- β 1/SMAD	19q13
	RAS Family	
	MYC/SRC	8q24/20q12-13
Telomerase		5p15
Apoptosis	Fas and Fas Ligand	10q24
	Bcl-2/BAX	18q21/19q13
	p53	17p13
Cell-cell adhesion	E-cadherin/catenin complex	16q22/18q21
	Adenomatous polyposis coli	5q21
	Cathepsin B	8p22-23
	DNA content & chromosomal abnormalities	
	Aneuploidy	
	Microsatellite instability	

수용체의 활성화를 유도하여 세포 내 신호전달 단백질(signal transducing protein)에 의해 핵 내로 이동하여 DNA의 전사(transcription)를 일으켜 세포 분열이 일어난다. 따라서 성장인자, 수용체, 신호전달 단백질, DNA 전사에 관여하는 분자들에 변이가 생기면 정상적인 세포 주기에서 탈피하여 지속적인 분열이 일어난다.

Epidermal growth factor (EGF)는 위장관 상피세포의 분화를 촉진하고, 그 수용체인 EGF receptor (EGFR)는 tyrosine kinase receptor의 한 종류로 ERBB1이라고도 불린다. EGFR의 발현이 증가하면 EGF에 대한 민감도도 증가하여 세포의 증식이 촉진된다. 식도선암(esophageal adenocarcinoma, EAC)의 분화도와 EGFR의 발현 정도가 연관이 있다고 알려져 있다.²

Transforming growth factor (TGF)- α 는 EGF와 구조적으로 유사해 EGFR에도 결합할 수 있는데, 바렛식도(Barrett's esophagus)와 이차적으로 발생하는 이형성, EAC에서 발현이 증가하며 예후와 연관이 있다고 알려져 있다.^{3,5} 식도편평세포암(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)에서도 TGF- α , EGFR의 발현 증가가 보고되었고, 예후와 연관이 있다고 알려져 있다.⁶

ERBB2 (HER2/NEU)는 세포의 성장과 생존에 관여하는 수용체이다. ERBB2의 발현 증가는 EAC에서 림프절 전이, 침습 깊이, 예후와 연관이 있다고 알려져 있으며,⁷ ERBB2의 항체인 trastuzumab은 EAC를 억제시킨다.⁸ 그러나 ESCC와 ERBB2의 연관성은 아직 명확하지 않다. 위선암(gastric

adenocarcinoma, GAC)에서 ERBB2의 발현은 진행된 병기, 나쁜 분화도, 그리고 생존율 감소 등과 연관이 있다고 알려져 있다.⁹

신호전달 단백질 중에는 retrovirus-associated DNA sequences (RAS)가 가장 많이 알려져 있다. 성장인자가 수용체에 결합하여 활성화되면 RAS가 활성화되어 mitogen activated protein kinase pathway (MAP-kinase pathway)를 통하여 세포 성장을 촉진시킨다(Fig. 1). RAS단백에 변이가 생기면, 수용체의 활성화 없이도 자체적으로 활성화가 지속되어 세포 성장이 이루어지게 된다. EAC와 ESCC에서 RAS단백의 변이는 잘 관찰되지 않지만, EAC에서 K-RAS단백의 발현 증가가 보고되었으며,¹⁰ ESCC에서도 RAS단백의 발현 증가가 보고되었다.⁶ RAS단백의 변이는 GAC의 약 10%에서 보고되었다.¹¹

DNA의 전사와 관련된 단백질으로는 myelocytomatosis (MYC)가 가장 잘 알려져 있다. MYC단백은 cyclin dependent kinases (CDK)의 발현을 증가시키며, CDK inhibitor (CDKI)를 억제하여 세포 성장을 촉진시킨다. EAC와 GAC에서 MYC단백 발현의 증가가 보고되었다.^{4,11}

3. 증식 억제제에 대한 무감응(insensitivity to growth inhibitory signals)

종양 억제 유전자(tumor suppressor genes)에는 대표적으로 retinoblastoma gene (*Rb*)과 *p53*이 있으며 이러한 유전자의 변이가 일어나면 세포 성장을 억제하는 능력을 상실하게

Fig. 1. When growth factors bind to its receptor, inactive RAS is activated to a GTP-bound state. The active RAS protein is quickly hydrolyzed to GDP by its intrinsic guanosine triphosphatase (GTPase) activity. Mutations of the RAS protein interfere with GTP hydrolysis, thus RAS is trapped in its activated form. (Adapted from Robbins Basic Pathology, 8th ed. Saunders, 2007.)

된다. 세포 주기에는 2개의 간격이 존재하는데 Gap 1 (G1) phase는 mitosis (M) phase 와 DNA replication (S) phase 사이에 존재하며, Gap 2 (G2) phase는 S phase와 M phase 사이에 존재한다. 특히 G1 check point가 세포 주기 조절에 중요한 역할을 하며 G1 시기에 retinoblastoma protein (pRb)이 중요한 작용을 한다. 세포가 G1 phase에서 S phase로 진행하기 위해서는 E2F transcription factor와 DNA간의 결합이 필요한데 pRb는 phosphorylation되지 않은 상태에서 E2F와 결합하여 E2F가 DNA와 결합하지 못하도록 한다(Fig. 2). pRb가 phosphorylation되면, E2F가 분리되어 DNA와 결합하게 되고 이는 세포 주기를 진행시킨다. pRb의 phosphorylation은 cyclin D1-CDK 4, cyclin D1-CDK 6, cyclin E-CDK 2에 의해 촉진되며, CDK inhibitor는 Rb단백의 phosphorylation을 억제한다. pRb 생성 유전자(*Rb*)에 변이가 생기면, pRb가 발현되지 않거나 E2F와의 결합이 이루어지지 않아서 세포 주

기 조절 능력을 상실하게 된다. 또 phosphorylation에 관여하는 cyclin, CDK, CDKI에 이상이 생겨도 Rb단백의 기능 소실과 동일한 현상이 나타난다. EAC 조직을 면역조직화학적으로 염색하면 80%에서 pRb의 소실이나 발현 감소가 관찰된다.¹² EAC와 ESCC에서 *Rb* 유전자의 변이가 보고되었으며,^{5,6} EAC에서는 진행된 병기, 림프절 전이, 그리고 생존을 감소와 연관이 있다고 알려져 있다.¹²

p16과 p27은 CDKI의 한 종류이며 pRb의 phosphorylation을 차단하여 G1 phase에서 S phase로의 전환을 막는 역할을 한다. p16의 변이는 EAC의 50%, ESCC의 0~86%에서 발생한다고 알려져 있다.^{6,13} GAC의 발생에도 p16의 hypermethylation이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. p27의 소실은 EAC의 26%에서 관찰되었고 진행된 병기, 림프절 전이, 그리고 생존을 감소와 연관이 있다고 알려져 있다.¹⁴

Cyclin D와 cyclin E는 Rb단백의 phosphorylation에 관여하

Fig. 2. Rb in its active form is hypophosphorylated and binds to E2F transcription factor. Inactivation of Rb by phosphorylation leads to the release of E2F. Cyclin-CDK regulates transition by phosphorylation of the RB protein. CDK inhibitors block activity of CDKs and progression of cell cycle.

여 세포 분열을 촉진하는 역할을 한다. EAC에서 cyclin D와 cyclin E의 과발현이 보고되었고, 예후와 연관이 있을 것으로 생각된다.^{15,16} ESCC에서도 cyclin D와 cyclin E의 과발현이 보고되었고, 특히 cyclin D는 림프절 전이, 항암요법에 대한 반응 감소, 생존율 감소와 연관이 있다고 알려져 있다.⁶ GAC에서도 cyclin E의 과발현이 10~20%에서 확인되었다.¹⁷

p53은 종양세포에서 가장 흔하게 변이가 발생하는 유전자이다. p53은 세포 주기를 멈추는 기능과 세포 자멸사를 유도하는 기능을 통하여 종양 발생을 억제한다. 세포 유전자에 손상이 발생하면 p53이 이를 감지하여 CDK1의 한 종류인 p21의 발현을 유도하여 세포 주기의 진행을 정지시키며, B cell leukemia/lymphoma-2 (Bcl-2)-associated X protein (BAX)과 p53 upregulated modulator of apoptosis (PUMA) 단백을 생성하여 세포 자멸사를 유도한다. EAC의 95%에서 p53의 변이가 발견되며 환자의 생존율 감소와 연관이 있다고 알려져 있으며,⁵ ESCC의 10~85%에서 p53의 변이가 일어난다고 알려져 있다.⁶ Murine double minute-2 (MDM-2) 유전자는 p53을 억제하는 단백을 발현시키며 ESCC의 0~18%에서 발현 증가가 보고되었다.⁶ 이외에도 TGF- β 는 p53과 마찬가지로 p21을 활성화시켜 세포 주기의 진행을 억제한다. TGF- β 는 또한 세포의 성장을 촉진시키는 c-MYC, CDK2, CDK4, cyclin A, cyclin E의 생성을 억제하여 세포의 성장을 억제한다. EAC의 27%에서 TGF- β 수용체의 mRNA가 감소되었다는 보고가 있어, 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.¹⁸

Adenomatosis polyposis coli (APC) 유전자는 세포 성장을 억제하는 역할을 한다. APC는 β -catenin에 결합하는데 Wnt

Fig. 3. β -catenin forms a macromolecular complex with APC protein, which leads to the destruction of β -catenin in resting cells. When Wnt combines to its receptor, the complex is deactivated and β -catenin translocates to the nucleus and activates genes involved in cell cycle. APC mutations prevents it from degrading β -catenin and cells behave as if they are under constant stimulation by the Wnt pathway.

Fig. 4. The extrinsic pathway is activated when CD95 binds to its receptor which results in activation of Caspase 8. Activation of the intrinsic pathway leads to permeabilization of mitochondrial outer membrane, which results in the release of cytochrome c. Cytochrome c binds to APAF-1 resulting in the activation of caspase 9.

ligand가 수용체에 결합하면 APC와 β -catenin이 분리된다 (Fig. 3). 분리된 β -catenin은 세포핵으로 이동하여 성장을 촉진시키는 유전자들을 활성화시킨다. APC에 변이가 일어나면 β -catenin과 결합이 이루어지지 않아 Wnt ligand가 수용체에 결합하지 않더라도 성장이 지속적으로 촉진된다. APC의 변이는 EAC의 83~92%에서 일어나며,¹⁸ GAC에서 APC의 변이는 종양의 병기와 연관이 있다고 보고되었다.¹⁹

4. 세포 자멸사 회피(evasion of apoptosis)

세포 자멸사는 외인성 경로와 내인성 경로에 의해 일어난다. 외인성 경로는 세포벽의 CD95 (Fas) 수용체에 CD95L (Fas ligand, FasL)이 결합하여, 세포내 Fas-associated protein with death domain (FADD)이 동원되어 세포자멸사를 유발시킨다(Fig. 4). FADD는 procaspase 8을 동원하는데, procaspase 8은 caspase 8으로 분해되어 caspase 3을 형성한다. Caspase 3은 핵내 DNA를 분해하여 세포 자멸사를 일으킨다. 내인성 경로는 미토콘드리아 외막의 투과성이 변하여, cytochrome C가 분리되면 일어난다. Cytochrome C는 세포질의 apoptotic protease activating factor-1 (APAF-1) 단백질에 결합하여 caspase 9를 활성화시키는데, caspase 9는 외인성 경로의 caspase 3과 같은 역할을 한다. BAX와 Bcl-2 homologous antagonist-killer protein (BAK)는 미토콘드리아의 투과성을 증가시켜 세포 자멸사를 촉진하는 역할을 하며, Bcl-2와 Bcl-xl은 투과성을 저하시켜 세포 자멸사를 억제하는 작용을 한다. EAC와 ESCC에서 FasL과 Fas receptor (FasR)의 발현 감소가 보고되었고,^{6,18,20} Bcl의 발현 증가가 보고되었다.^{6,7} GAC에서 BAX, BAK, Bcl의 발현은 헬리코박터 감염과 연관이 있다고 알려져 있다.²¹

5. 무제한적 복제 능력(limitless replicative potential)

세포가 분열하면 염색체 양끝의 telomere의 길이가 점점

짧아져 분열에 한계가 발생한다. Telomerase는 telomere의 길이를 유지시켜 세포가 불멸하게 만든다. 정상적으로 위장관 상피에서 telomerase는 소량으로 존재하는데, EAC의 100%에서 telomerase mRNA수치가 증가되어 있으며, ESCC에서도 telomerase의 발현이 증가되어 있다.^{18,22} GAC에서 telomerase는 조기 위암에서는 관찰되지 않지만 진행성 위암에서는 발현이 증가되어, 위암의 진행과 연관이 있을 것으로 생각한다.²³

6. 혈관 생성능력(development of sustained angiogenesis)

종양세포는 1~2 mm 이상의 크기가 되면 혈액공급이 되어야만 생존이 가능하다. 종양세포의 크기가 커져서 허혈이 일어나면 종양세포들은 hypoxia-induced factor-1 α (HIF1 α)를 생성하는데 HIF1 α 는 vascular endothelial growth factor (VEGF)를 생성하여 혈관신생을 촉진한다. EAC에서 VEGF의 발현이 증가되며 나쁜 예후와 연관이 있다.²⁴ ESCC에서 HIF1 α 는 전이와 연관이 있으며, VEGF는 종양의 침습 정도와 림프절 전이와 연관이 있는 것으로 알려져 있다.^{25,26} GAC에서 VEGF의 증가는 종양의 침습, 전이, 재발과 관련이 있는 것으로 알려져 있으며,²⁷ VEGF의 발현 유무가 환자의 예후와 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다.²⁸

7. 조직 침습과 전이(ability to invade and metastasis)

E-cadherin은 세포와 세포 간의 접착(adhesion)에 작용하며, 이의 손상은 세포간의 접착력을 떨어뜨려 종양세포의 조직 침습과 전이를 용이하게 한다. EAC에서 E-cadherin의 감소는 이형성의 정도, 종양의 병기, 림프절 전이와 연관이 있으며,⁴ ESCC에서 E-cadherin의 감소는 나쁜 분화도와 림프절 전이와 연관이 있다.⁶ E-cadherin의 변이는 GAC의 27~50%에서 보고되었고,²⁹ E-cadherin의 감소는 GAC에서 전이와 연관이 있다고 알려져 있다.³⁰

종양세포가 세포외 기질(extracellular matrix)로 침투하기 위해서는 여러 단백질 분해효소들이 분비되어야 하는데, 이 중 cathepsin과 matrix metalloproteinase가 중요한 역할을 한다. Cathepsin B는 EAC와 ESCC에서 조직으로 침습하는 역할을 하며,³¹ GAC에서 cathepsin B는 림프절 전이와 연관이 있다고 알려져 있다.³²

결 론

최근 Hanahan과 Weinberg³³는 종양에서 나타나는 특징으로 세포 에너지 대사의 재편성(reprogramming energy metabolism)과 면역세포에 의한 파괴의 회피(avoiding immune destruction)를 추가적으로 제시하였다. 그러나 상부위장관 종양의 분자 생물학적 기전에 대해서는 아직도 밝혀지지 않은 기전들이 많아, 종양의 일반적 기전 중 새로 밝혀지는 기전들이 상부위장관 종양에서 어떠한 역할을 하는지에 대해서는 앞으로 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70.
- Wilkinson NW, Black JD, Roukhadze E, et al. Epidermal growth factor receptor expression correlates with histologic grade in resected esophageal adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg* 2004;8:448-453.
- Sauter ER, Coia LR, Eisenberg BL, Hanks GE. Transforming growth factor alpha expression as a potential survival prognosticator in patients with esophageal adenocarcinoma receiving high-dose radiation and chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995;31:567-569.
- Beilstein M, Silberg D. Cellular and molecular mechanisms responsible for progression of Barrett's metaplasia to esophageal carcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* 2002;31:461-479.
- Jenkins GJ, Doak SH, Parry JM, D'Souza FR, Griffiths AP, Baxter JN. Genetic pathways involved in the progression of Barrett's metaplasia to adenocarcinoma. *Br J Surg* 2002;89:824-837.
- Lam AK. Molecular biology of esophageal squamous cell carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2000;33:71-90.
- Wijnhoven BP, Tilanus HW, Dinjens WN. Molecular biology of Barrett's adenocarcinoma. *Ann Surg* 2001;233:322-337.
- Dahlberg PS, Ferrin LF, Grindle SM, Nelson CM, Hoang CD, Jacobson B. Gene expression profiles in esophageal adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg* 2004;77:1008-1015.
- Kuwahara A, Katano M, Nakamura M, et al. New therapeutic strategy for gastric carcinoma: a two-step evaluation of malignant potential from its molecular biologic and pathologic characteristics. *J Surg Oncol* 1999;72:142-149.
- Casson AG, Wilson SM, McCart JA, et al. ras mutation and expression of the ras-regulated genes osteopontin and cathepsin L in human esophageal cancer. *Int J Cancer* 1997;72:739-745.
- Hara T, Ooi A, Kobayashi M, Mai M, Yanagihara K, Nakanishi I. Amplification of c-myc, K-sam, and c-met in gastric cancers: detection by fluorescence in situ hybridization. *Lab Invest* 1998;78:1143-1153.
- Coppola D, Schreiber RH, Mora L, Dalton W, Karl RC. Significance of Fas and retinoblastoma protein expression during the progression of Barrett's metaplasia to adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 1999;6:298-304.
- Xing EP, Nie Y, Song Y, et al. Mechanisms of inactivation of p14ARF, p15INK4b, and p16INK4a genes in human esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999;5:2704-2713.
- Singh SP, Lipman J, Goldman H, et al. Loss or altered subcellular localization of p27 in Barrett's associated adenocarcinoma. *Cancer Res* 1998;58:1730-1735.
- Arber N, Lightdale C, Rotterdam H, et al. Increased expression of the cyclin D1 gene in Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:457-459.
- Sarbia M, Bektas N, Müller W, Heep H, Borchard F, Gabbert HE. Expression of cyclin E in dysplasia, carcinoma, and nonmalignant lesions of Barrett esophagus. *Cancer* 1999;86:2597-2601.
- Nardone G. Review article: molecular basis of gastric carcinogenesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17(Suppl 2):75-81.
- Souza RF, Morales CP, Specbler SJ. Review article: a conceptual approach to understanding the molecular mechanisms of cancer development in Barrett's oesophagus. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:1087-1100.
- Fang Z, Xiong Y, Li J, et al. APC gene deletions in gastric adenocarcinomas in a Chinese population: a correlation with tumour progression. *Clin Transl Oncol* 2012;14:60-65.
- Hughes SJ, Nambu Y, Soldes OS, et al. Fas/APO-1 (CD95) is not translocated to the cell membrane in esophageal adenocarcinoma. *Cancer Res* 1997;57:5571-5578.
- Zhang H, Fang DC, Wang RQ, Yang SM, Liu HF, Luo YH. Effect of *Helicobacter pylori* infection on expression of Bcl-2 family members in gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2004;10:227-230.
- Yoneyama K, Yasumoto S, Aoyama N, Koizumi H, Imada T, Takanashi Y. Telomerase activity in esophageal squamous cell carcinoma and lesions unstained with Lugol's solution. *Hepatogastroenterology* 2005;52:1734-1737.
- Hiyama E, Yokoyama T, Tatsumoto N, et al. Telomerase activity in gastric cancer. *Cancer Res* 1995;55:3258-3262.
- Prins MJ, Verhage RJ, Ten Kate FJ, van Hillegeberg R. Cyclooxygenase isoenzyme-2 and vascular endothelial growth factor are associated with poor prognosis in esophageal adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg* 2012;16:956-966.
- Takala H, Saarnio J, Wiik H, Ohtonen P, Soini Y. HIF-1 α and VEGF are associated with disease progression in esophageal carcinoma. *J Surg Res* 2011;167:41-48.
- Tanaka T, Ishiguro H, Kuwabara Y, et al. Vascular endothelial growth factor C (VEGF-C) in esophageal cancer correlates with lymph node metastasis and poor patient prognosis. *J Exp Clin Cancer Res* 2010;29:83.

27. Cervantes A, Rodríguez Braun E, Pérez Fidalgo A, Chirivella González I. Molecular biology of gastric cancer. *Clin Transl Oncol* 2007;9:208-215.
28. Jüttner S, Wissmann C, Jöns T, et al. Vascular endothelial growth factor-D and its receptor VEGFR-3: two novel independent prognostic markers in gastric adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2006;24:228-240.
29. Ebert MP, Malfertheiner P. Review article: pathogenesis of sporadic and familial gastric cancer--implications for clinical management and cancer prevention. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:1059-1066.
30. Chen HC, Chu RY, Hsu PN, et al. Loss of E-cadherin expression correlates with poor differentiation and invasion into adjacent organs in gastric adenocarcinomas. *Cancer Lett* 2003;201:97-106.
31. Andl CD, McCowan KM, Allison GL, Rustgi AK. Cathepsin B is the driving force of esophageal cell invasion in a fibroblast-dependent manner. *Neoplasia* 2010;12:485-498.
32. Czyzewska J, Guzińska-Ustymowicz K, Kemona A, Bandurski R. The expression of matrix metalloproteinase 9 and cathepsin B in gastric carcinoma is associated with lymph node metastasis, but not with postoperative survival. *Folia Histochem Cytobiol* 2008;46:57-64.
33. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-674.