



Revisión

Metaloproteasas de la matriz extracelular como marcadores moleculares en cáncer gástrico

Sol de la Peña^a, Clara L. Sampieri^{b,*} y Kenneth León-Córdoba^c

^a Doctorado en Ciencias Biomédicas, Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México

^b Instituto de Salud Pública, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz, México

^c Centro Estatal de Cancerología "Miguel Dorantes Mesa", Xalapa, Veracruz, México

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 7 de agosto de 2009

Aceptado el 10 de septiembre de 2009

On-line el 27 de noviembre de 2009

Palabras clave:

Metaloproteasas de matriz
Cáncer gástrico
Invasión tumoral
Metástasis

RESUMEN

En el mundo, el cáncer gástrico es la segunda causa de mortalidad oncológica. El pronóstico de los pacientes con cáncer gástrico es difícil de establecer, ya que comúnmente el diagnóstico se realiza cuando han ocurrido invasión y metástasis. Actualmente, se han identificado algunos miembros de las metaloproteasas de la matriz extracelular cuya expresión en tejido tumoral gástrico es significativamente mayor en comparación con la de tejido gástrico sano. Las metaloproteasas de la matriz extracelular son 24 endopeptidasas dependientes de cinc que catalizan la proteólisis de la matriz extracelular, lo que permite a las células tumorales invadir el estroma circundante y desencadenar metástasis. La sobreexpresión de estas enzimas en cáncer gástrico se ha asociado con un pronóstico desfavorable y una mayor capacidad invasiva. Esta revisión compila evidencia científica sobre la expresión genética de metaloproteasas de la matriz extracelular en cáncer gástrico y su participación en invasión y metástasis, y enfatiza su potencialidad como marcadores moleculares de pronóstico.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Matrix metalloproteinases as molecular markers in gastric cancer

ABSTRACT

Gastric cancer is the second leading cause of cancer-associated mortality in the world. Prognosis in patients with gastric cancer is difficult to establish because it is commonly diagnosed when gastric wall invasion and metastasis have occurred. Currently, some members of the extracellular matrix metalloproteinases have been identified, whose expression in gastric tumor tissue is significantly elevated compared to healthy gastric tissue. Matrix metalloproteinases are 24 zinc-dependent endopeptidases that catalyze the proteolysis of the extracellular matrix. This degradation allows the cancer cells invade the surrounding stroma and trigger metastasis. Upregulation of certain matrix metalloproteinases in gastric cancer has been associated with a poor prognosis and elevated invasive capacity. This review compiles evidence about the genetic expression of matrix metalloproteinases in gastric cancer and their role in tumour invasion and metastasis, emphasizing their potential as molecular markers of prognosis.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Matrix metalloproteinases
Gastric cancer
Tumour invasion
Metastasis

Introducción

En el mundo, el cáncer gástrico representa la segunda causa de mortalidad oncológica¹. Aproximadamente el 95% de los tumores gástricos corresponde a adenocarcinomas gástricos cuyo desarrollo produce síntomas de naturaleza inespecífica en etapas tempranas¹, lo que propicia su diagnóstico tardío, generalmente cuando han ocurrido metástasis². En la práctica, los pacientes refieren tener debilidad, náuseas, vómitos, disfagia, anemia, malestar epigástrico, sensación de plenitud posprandial, saciedad precoz, pérdida de apetito y peso³.

Se han identificado diversos factores de riesgo, que se han agrupado en patológicos, alimenticios y genéticos^{4,5}; destaca la infección por *Helicobacter pylori*, bacteria designada carcinógeno de tipo I por la Organización Mundial de la Salud⁶. En México, un estudio de casos y controles describió que los altos consumidores de chile (9–25 chiles jalapeños por día) poseen un mayor riesgo de presentar cáncer gástrico (*odds ratio*: 1,71; intervalo de confianza del 95%: 0,76–3,88) en comparación con los bajos consumidores de chile (0–3 chiles jalapeños por día)⁷. Por otra parte, se ha demostrado que diversas mutaciones del gen de E-cadherina están vinculadas con el desarrollo de cáncer gástrico difuso⁸.

En general, el diagnóstico del cáncer gástrico es difícil de establecer, ya que los síntomas pueden atribuirse a procesos gástricos no cancerosos o a una manifestación de afectación local o a distancia⁹. Actualmente, la endoscopia gastrointestinal es el

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: csampieri026@uv.mx (C.L. Sampieri).

procedimiento habitual para el diagnóstico de esta enfermedad, con un 98% de sensibilidad y especificidad⁵. Este procedimiento permite conocer, localizar y valorar la extensión de la lesión en la mucosa, así como la obtención de biopsias para análisis histopatológico, lo que constituye el diagnóstico confirmatorio⁵.

Posterior al diagnóstico histopatológico, se debe valorar la extensión del tumor con el objetivo de seleccionar los pacientes candidatos a gastrectomía⁵, que representa la opción potencial para la erradicación del cáncer gástrico⁹. Sin embargo, los resultados no han sido alentadores, pues se ha reportado que entre el 5 y el 15% de los pacientes a los que se les realizó gastrectomía sobreviven un promedio de 5 años después de la intervención¹⁰.

Actualmente, se ha determinado que el pronóstico del cáncer gástrico depende de la profundidad de la invasión y no necesariamente del tamaño de la lesión¹¹. Por esto, probablemente el sistema de clasificación tumor-nódulos linfáticos-metástasis (TNM) sea el más empleado para la estadificación de los tumores gástricos al considerar 3 parámetros de importancia pronóstica: 1) tamaño y profundidad de la invasión del tumor a la pared gástrica; 2) presencia y grado de invasión a los nódulos linfáticos, y 3) presencia y distribución a distancia o metástasis¹².

La invasión y la metástasis son procesos dinámicos y complejos que involucran diversas interacciones entre las células tumorales y las células epiteliales gástricas, como producción, liberación y activación de diversas proteasas, específicamente las metaloproteasas de la matriz extracelular (*matrix metalloproteases* [MMP])¹³. Las MMP constituyen una familia de 24 endopeptidasas dependientes de cinc, secretadas en forma latente o de zimógenos por diversas células, como fibroblastos, macrófagos, neutrófilos y células endoteliales; estas enzimas degradan la matriz extracelular y la membrana basal¹⁴, lo que permite a las células cancerígenas invadir el estroma circundante y desencadenar metástasis¹⁵.

Las MMP poseen una organización estructural básica integrada por un péptido señal que participa en su secreción, un propéptido que interviene en el mantenimiento de la forma latente y un sitio activo que contiene cinc¹⁴. Para su activación catalítica requieren de calcio como cofactor, pH neutro o ligeramente alcalino y el rompimiento proteolítico de su propéptido¹⁵.

Estructuralmente, existen 8 clases diferentes de MMP, de las cuales 5 se secretan al espacio extracelular y 3 se asocian a la membrana celular, estas últimas conocidas como MMP tipo membranal (*membrane type-matrix metalloproteases* [MT-MMP])¹⁵. Inicialmente, las MMP se clasificaban sobre la base de los sustratos que degradaban en colagenasas, gelatinasas, matrilisinas, estromelisininas, MT-MMP y un grupo heterogéneo¹⁵. Actualmente, se emplea un sistema numérico basado en el orden en que se identificaron, que llega hasta el número 28^{15,16}.

La evidencia experimental actual señala que la actividad excesiva de las MMP contribuye a la progresión de diversas enfermedades, como cáncer¹⁵, úlceras gástricas¹⁷, aterosclerosis¹⁸ y artritis¹⁹. Diversos estudios han demostrado que células cancerígenas relativamente benignas adquieren propiedades de malignidad cuando sobreexpresan ciertas MMP²⁰. En cambio, la malignidad de ciertas células puede disminuirse cuando se reprime la expresión de MMP²¹.

La regulación de la actividad proteolítica de las MMP se encuentra estrictamente controlada en diferentes niveles¹⁵. La transcripción genética es el principal nivel que regula las cantidades de MMP recién sintetizadas, mientras que la actividad proteolítica de estas enzimas se controla mediante la activación del zimógeno y la inhibición por parte de los inhibidores tisulares presentes en el microambiente celular, conocidos como inhibidores tisulares de MMP (*tissue inhibitors of matrix metalloproteases* [TIMP])²². La familia de los TIMP está integrada por 4 miembros

que se unen reversiblemente al sitio activo de las MMP²². La inhibición de las MMP mediada por los TIMP garantiza la integridad de los tejidos y la homeostasis, aspecto fundamental en procesos fisiológicos caracterizados por el recambio continuo de los componentes de la matriz extracelular, como formación ósea, ovulación, desarrollo embrionario y cicatrización de heridas²³.

Empleo potencial de las metaloproteasas de la matriz extracelular moleculares como marcadores moleculares de pronóstico en el cáncer gástrico

Debido a la alta incidencia de recurrencia local y metástasis a distancia, el pronóstico del paciente con cáncer gástrico es complicado de establecer²⁴. Por tal motivo, diversos estudios se han centrado en identificar marcadores moleculares que permitan estimar el potencial maligno de los tumores gástricos, predecir el desarrollo de la enfermedad e identificar aquellos pacientes con riesgo de recidiva²⁵. Algunos estudios han identificado a ciertas MMP, cuya expresión en tejidos de pacientes con cáncer gástrico es significativamente mayor que en pacientes con cáncer gástrico sanos²⁶⁻²⁸, y las han asociado con un pronóstico desfavorable y una mayor capacidad invasiva del tumor²⁶⁻²⁸.

A continuación se revisan algunos de estos trabajos, empleando para genes letra cursiva y sin guión, y letra redonda con guión para proteínas. Esto atendiendo las recomendaciones para nomenclatura oficial de otras proteasas (<http://www.lerner.ccf.org/bme/apte/adamts/nomenclature.php>).

Algunos estudios señalan que la expresión de *MMP1* en tejido tumoral gástrico se incrementa en los márgenes de la invasión en comparación con la de células estromales que rodean a los tumores gástricos, y proponen la participación de *MMP1* en el proceso de invasión y metástasis de los tumores gástricos^{28,29}.

Por otro lado, se ha asociado un alto nivel de MMP-2 en tumores gástricos avanzados con un fenotipo agresivo y un pronóstico desfavorable, lo que indicaría la participación de esta proteasa en la invasión vascular²⁸. También se ha descrito la presencia de esta enzima en células endoteliales y fibroblastos del epitelio gástrico normal, lo que indica la participación tanto de las células tumorales gástricas como de las células del tejido adyacente al tumor en la regulación de la expresión de *MMP2*^{28,30,31}.

Por otra parte, se ha encontrado una mayor expresión del ARNm de *MMP-2* en cánceres gástricos avanzados y pobremente diferenciados comparada con la de cánceres precoces y bien diferenciados³², lo que se correlaciona con metástasis a nódulos linfáticos y con el sistema de clasificación de Lauren³². Contrariamente, otro estudio describe que no existe correlación con dicho sistema e indica una asociación significativa entre la expresión de *MMP-2* con el grado de invasión tumoral, la diferenciación y la metástasis a nódulos linfáticos, y es mayor la expresión de *MMP-2* en tumores T2, T3 y T4 que en tumores T1³³. Los autores de dicho estudio concluyen que la expresión de *MMP-2* puede tener un importante papel como factor pronóstico, indicativo del parámetro T del sistema TNM³³.

Por otro lado, se ha determinado, mediante zimografía y Western Blot, que existe un incremento de MMP-9 en complejo con la proteína transportadora lipocalina-2 en tejido tumoral gástrico comparado con el de tejido sano³⁴. Se ha propuesto que la formación de este complejo previene la degradación de MMP-9 in vitro, lo que favorece que se mantengan constantes los valores del zimógeno de MMP-9³⁵. Asimismo, se ha observado que valores elevados de dicho complejo se relacionan con un mal pronóstico en comparación con valores altos únicamente de MMP-9³⁵. Estos hallazgos indican que la formación del complejo entre MMP-9 y

lipocalina-2 pudiera tener un valor clínico como marcador molecular en cáncer gástrico³⁴.

También se ha analizado la asociación entre la sobreexpresión de MMP-2 y MMP-9 con metástasis a ganglios linfáticos en cáncer gástrico y se ha encontrado únicamente una correlación entre MMP-9 con permeación linfática y metástasis a ganglios linfáticos²⁶, mas no de MMP-2. Esto último resulta contrario a lo descrito por otros autores^{32,33}. Es importante señalar que la actividad degradadora de MMP-9 es 25 veces mayor que la de MMP-2, hecho que podría implicar una participación más importante de MMP-9 en el potencial metastásico de los tumores^{36,37}.

Por otra parte, algunos estudios muestran que la actividad degradativa de MMP-2 y MMP-9 en suero (determinada por la técnica de zimografía) de pacientes con cáncer gástrico es mayor en tumores T3 y T4 en comparación con la de tumores T1 y T2^{27,38}. Sobre la base de estos resultados se ha indicado que existe una asociación significativa entre la sobreexpresión de MMP-9 con la proliferación tumoral, la metástasis a ganglios linfáticos y el sistema TNM^{27,38}, lo que es un indicativo de la participación de MMP-9 en etapas avanzadas de la progresión tumoral y su posible papel como marcador molecular^{27,38}.

También se ha descrito una mayor actividad de MMP-14 en tejido tumoral gástrico en comparación con la de mucosa gástrica sana³⁹. Los valores elevados de MMP-14 se han correlacionado con la invasión, la metástasis a ganglios linfáticos y la diseminación peritoneal^{39,40}. Interesantemente, esta proteasa se ha localizado en los tumores gástricos al frente de la invasión en la membrana citoplasmática de fibroblastos y células cancerígenas⁴⁰. Sobre la base de lo anterior, se ha indicado que MMP-14 participa en la invasión de los tumores gástricos y, por tanto, podría emplearse como marcador molecular en esta enfermedad⁴⁰.

Respecto a MMP-7, se ha detectado una mayor expresión en tejido tumoral gástrico en comparación con la de mucosa gástrica sana⁴¹, principalmente en tumores que han penetrado la capa muscular propia y la serosa⁴². Además, se ha propuesto que la expresión elevada de MMP-7 en tejidos gástricos ocurre como una respuesta a la infección por *H. pylori*^{43–45}, y se ha indicado que la expresión de MMP-7 en el cáncer gástrico podría ser un factor pronóstico de utilidad en la determinación de metástasis a ganglios linfáticos y peritoneo^{41,42}.

Sobre la base de las evidencias anteriormente descritas, se ha planteado que los patrones de expresión de las MMP podrían emplearse para estimar la capacidad invasiva de los tumores gástricos y, por tanto, permitir el establecimiento de un diagnóstico temprano de metástasis que con los métodos actuales es difícil de establecer. Es de esperarse que los patrones de expresión genética de las MMP aporten información complementaria a los datos clínicos tradicionales, información que permita predecir con mayor precisión el curso clínico de los pacientes con cáncer gástrico.

Conclusiones

El pronóstico del paciente con cáncer gástrico depende del grado de invasión y metástasis a ganglios linfáticos, razón fundamental para la adecuada estadificación con el fin de adecuar los tratamientos en forma personalizada⁴⁶. En este sentido, los patrones de expresión de genes involucrados en el desarrollo y la progresión del cáncer gástrico representan una herramienta de pronóstico molecular adicional que complementa la información aportada por los métodos tradicionales y establece nuevos criterios moleculares para la estadificación y el pronóstico de esta enfermedad^{47–49}. Asimismo, sentarían las bases para el reconocimiento de nuevos subtipos de tumores morfológicamente

indistinguibles, pero clínica y molecularmente diferentes⁴⁹, con lo que se redefinirían los criterios de diagnóstico y pronóstico, así como el tratamiento terapéutico.

En este sentido, las MMP se consideran candidatos valiosos para emplearse como marcadores moleculares de diagnóstico y de pronóstico en esta enfermedad. Se ha documentado la sobreexpresión de MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9 y MMP-14 en tejido tumoral gástrico en comparación con la de mucosa gástrica sana, lo que se asocia con mal pronóstico^{27,28,40,42}. En nuestro conocimiento no hay estudios que analicen el perfil completo de expresión de la familia de MMP en el cáncer gástrico mediante técnicas altamente sensibles y específicas como la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; esto es relevante, ya que se conoce que las MMP determinan la malignidad de los tumores al estar involucrados invasión y metástasis^{15,50}.

Por tanto, la caracterización del perfil completo de MMP de los tumores gástricos permitiría analizar cambios en su actividad posiblemente involucrados en el comportamiento tumoral. Además, podría apoyar la investigación acerca de agentes anticancerígenos e identificar proteasas diana susceptibles de inhibirse. Se recalca que, al ser la transcripción genética el principal nivel que regula las cantidades de MMP recién sintetizadas y la inhibición enzimática el nivel que regula la actividad de estas proteasas⁵¹, es necesario que el perfil completo de expresión genética de las MMP en el cáncer gástrico se acompañe de estudios proteómicos y de interatómica que indaguen los niveles de estas enzimas, el grado de su actividad, así como interacciones con otras proteasas, inhibidores o proteínas transportadoras.

Finalmente, se enfatiza la necesidad de que estos patrones de expresión de MMP, tanto a nivel transcripcional como de actividad enzimática y asociación con otras proteínas, se investiguen en las diferentes etapas del cáncer gástrico, tanto en tejido tumoral como sano, así como en diversos fluidos (plasma, suero, orina y saliva) con el objeto de validar adecuadamente su uso como marcadores moleculares.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Financiación

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) de México ha patrocinado en parte este trabajo: beca para estudios de doctorado a S. de la Peña (223275) y proyectos de investigación aprobados a C. L. Sampieri (86575 y 79828). También se ha recibido apoyo del Programa de Mejoramiento del Profesorado de la Secretaría de Educación Pública de México (PROMEP) (PTC: 319) y del Instituto de Salud Pública, Universidad Veracruzana (POA: 2008-2009).

Bibliografía

1. De Vries AC, Meijer GA, Looman CW, Casparie MK, Hansen BE, Van Grieken NC, et al. Epidemiological trends of pre-malignant gastric lesions: A long-term nationwide study in the Netherlands. *Gut*. 2007;56:1665–70.
2. Fluxa FG. Cáncer gástrico. Diagnóstico y etapificación. *Gastr Latinoam*. 2003;14:206–18.
3. Bowles MJ, Benjamin IS. ABC of the upper gastrointestinal tract: Cancer of the stomach and pancreas. *BMJ*. 2001;323:1413–6.
4. Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D. New concepts of molecular biology on gastric carcinogenesis. *Hepatogastroenterology*. 2005;52:1305–12.
5. Arana-Reyes JC, Cronona-Bautista A. Cáncer gástrico. *Rev Fac Med UNAM*. 2004;47:204–9.
6. Møller H, Heseltine E, Vainio H. Working group report on schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. *Int J Cancer*. 1995;60:587–9.

7. López-Carrillo L, López-Cervantes M, Robles-Díaz G, Ramírez-Espitia A, Mohar-Betancourt A, Meneses-García A, et al. Capsaicin consumption, *Helicobacter pylori* positivity and gastric cancer in Mexico. *Int J Cancer*. 2003;106:277–82.
8. Guilford P, Hopkins J, Harraway J, McLeod M, McLeod N, Harawira P, et al. E-cadherin germline mutations in familial gastric cancer. *Nature*. 1998;392:402–5.
9. Taat CW, Van Laschot JJ, Gouma DJ, Obertop H. Role of extended lymph node dissection in the treatment of gastrointestinal tumours: A review of the literature. *Scand J Gastroenterol*. 1995;212:109–16.
10. Meireles SI, Cristo EB, Carvalho AF, Hirata Jr. R, Pelosof A, Gomes LI, et al. Molecular classifiers for gastric cancer and nonmalignant diseases of the gastric mucosa. *Cancer Res*. 2004;64:1255–65.
11. Sobin LH, Wittekind C. TNM Classification of Malignant Tumours. International Union against Cancer. 6th ed. New York: John Wiley & Sons; 1997.
12. Sobin LH, Wittekind C. TNM Classification of Malignant Tumours. International Union against Cancer. 6th ed. New York: John Wiley & Sons; 1997.
13. Rodríguez-Fragoso L, Jurado-León FR, Reyes-Esparza JA. La proteólisis en la invasión y metástasis de la célula tumoral. *Rev Inst Nac Cancerol (Mex)*. 2000;46:33–46.
14. Verma RP, Hansch C. Matrix metalloproteinases (MMPs): Chemical-biological functions and (Q)SARs. *Bioorg Med Chem*. 2007;15:2223–68.
15. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:161–74.
16. Woessner Jr JF. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J*. 1991;5:2145–54.
17. Tomita M, Ando T, Minami M, Watanabe O, Ishiguro K, Hasegawa M, et al. Potential role for matrix metalloproteinase-3 in gastric ulcer healing. *Digestion*. 2009;79:23–9.
18. García-Touchard A, Henry TD, Sangiorgi G, Spagnoli LG, Mauriello A, Conover C, et al. Extracellular proteases in atherosclerosis and restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:1119–27.
19. Chia WT, Chen YW, Cheng LY, Lee HS, Chang DM, Sytwu HK. MMP-9 mRNA as a therapeutic marker in acute and chronic stages of arthritis induced by type II collagen antibody. *J Formos Med Assoc*. 2008;107:245–52.
20. Schmalfeldt B, Prechtel D, Harting K, Spathe K, Rutke S, Konik E, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases (MMP)-2, MMP-9, and the urokinase-type plasminogen activator is associated with progression from benign to advanced ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2001;7:2396–404.
21. Coussens LM, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the development of cancer. *Chem Biol*. 1996;3:895–904.
22. Handsley MM, Edwards DR. Metalloproteinases and their inhibitors in tumor angiogenesis. *Int J Cancer*. 2005;115:849–60.
23. Yoon SO, Park SJ, Yun CH, Chung AS. Roles of matrix metalloproteinases in tumor metastasis and angiogenesis. *J Biochem Mol Biol*. 2003;36:128–37.
24. Dicken BJ, Bigam DL, Cass C, Mackey JR, Joy AA, Hamilton SM. Gastric adenocarcinoma: Review and considerations for future directions. *Ann Surg*. 2005;241:27–39.
25. Anderson C, Nijagal A, Kim J. Molecular markers for gastric adenocarcinoma: An update. *Mol Diagn Ther*. 2006;10:345–52.
26. Kabashima A, Maehara Y, Kakeji Y, Baba H, Koga T, Sugimachi K. Clinicopathological features and overexpression of matrix metalloproteinases in intramucosal gastric carcinoma with lymph node metastasis. *Clin Cancer Res*. 2000;6:3581–4.
27. Dragutinovic V, Izrael-Zivkovic L, Radovanovic N. Relation of matrix metalloproteinase-9 to different stages of tumors in the serum of gastric cancer. *Dig Dis Sci*. 2009;54:1203–7.
28. Nomura H, Fujimoto N, Seiki M, Mai M, Okada Y. Enhanced production of matrix metalloproteinases and activation of matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A) in human gastric carcinomas. *Int J Cancer*. 1996;69:9–16.
29. Otani Y, Okazaki I, Arai M, Kameyama K, Wada N, Maruyama K, et al. Gene expression of interstitial collagenase (matrix metalloproteinase 1) in gastrointestinal tract cancers. *J Gastroenterol*. 1994;29:391–7.
30. Murray GI, Duncan ME, Arbuckle E, Melvin WT, Fothergill JE. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer. *Gut*. 1998;43:791–7.
31. Sier CF, Kubben FJ, Ganesh S, Heerding MM, Griffioen G, Hanemaaijer R, et al. Tissue levels of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 are related to the overall survival of patients with gastric carcinoma. *Br J Cancer*. 1996;74:413–7.
32. Ji F, Chen YL, Jin EY, Wang WL, Yang ZL, Li YM. Relationship between matrix metalloproteinase-2 mRNA expression and clinicopathological and urokinase-type plasminogen activator system parameters and prognosis in human gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2005;11:3222–6.
33. Wu ZY, Li JH, Zhan WH, He YL. Lymph node micrometastasis and its correlation with MMP-2 expression in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2006;12:2941–4.
34. Kubben FJ, Sier CF, Hawinkels LJ, Tschesche H, Van Duijn W, Zuidwijk K, et al. Clinical evidence for a protective role of lipocalin-2 against MMP-9 autodegradation and the impact for gastric cancer. *Eur J Cancer*. 2007;43:1869–76.
35. Fernández CA, Yan L, Louis G, Yang J, Kutok JL, Moses MA. The matrix metalloproteinase-9/neutrophil gelatinase-associated lipocalin complex plays a role in breast tumor growth and is present in the urine of breast cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2005;11:5390–5.
36. Yamagata S, Tanaka R, Ito Y, Shimizu S. Gelatinases of murine metastatic tumor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1989;158:228–34.
37. Yasumitsu H, Miyazaki K, Umenishi F, Koshikawa N, Umeda M. Comparison of extracellular matrix-degrading activities between 64-kDa and 90-kDa gelatinases purified in inhibitor-free forms from human schwannoma cells. *J Biochem*. 1992;111:74–80.
38. Dragutinovic VV, Radovanovic NS, Izrael-Zivkovic LT, Vrvic MM. Detection of gelatinase B activity in serum of gastric cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2006;12:105–9.
39. Mori M, Mimori K, Shiraishi T, Fujie T, Baba K, Kusumoto H, et al. Analysis of MT1-MMP and MMP2 expression in human gastric cancers. *Int J Cancer*. 1997;74:316–21.
40. Bando E, Yonemura Y, Endou Y, Sasaki T, Taniguchi K, Fujita H, et al. Immunohistochemical study of MT-MMP tissue status in gastric carcinoma and correlation with survival analyzed by univariate and multivariate analysis. *Oncol Rep*. 1998;5:1483–8.
41. Honda M, Mori M, Ueo H, Sugimachi K, Akiyoshi T. Matrix metalloproteinase-7 expression in gastric carcinoma. *Gut*. 1996;39:444–8.
42. Yonemura Y, Endou Y, Fujita H, Fushida S, Bandou E, Taniguchi K, et al. Role of MMP-7 in the formation of peritoneal dissemination in gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2000;3:63–70.
43. Bebb JR, Letley DP, Thomas RJ, Aviles F, Collins HM, Watson SA, et al. *Helicobacter pylori* upregulates matrilysin (MMP-7) in epithelial cells in vivo and in vitro in a Cag dependent manner. *Gut*. 2003;52:1408–13.
44. Wroblewski LE, Noble PJ, Pagliocca A, Pritchard DM, Hart CA, Campbell F, et al. Stimulation of MMP-7 (matrilysin) by *Helicobacter pylori* in human gastric epithelial cells: Role in epithelial cell migration. *J Cell Sci*. 2003;116:3017–26.
45. Crawford HC, Krishna US, Israel DA, Matrisian LM, Washington MK, Peek Jr M. *Helicobacter pylori* strain-selective induction of matrix metalloproteinase-7 in vitro and within gastric mucosa. *Gastroenterology*. 2003;125:1125–36.
46. Vizoso Piñero FJ, Cortes Torres MD, García Muñoz JL. Factores pronósticos y nuevos aspectos de la biología molecular en el cáncer de estómago resecable. *Oncología (Barc)*. 2004;27:171–4.
47. Stadlander CT, Waterbor JW. Molecular epidemiology, pathogenesis and prevention of gastric cancer. *Carcinogenesis*. 1999;20:2195–208.
48. Zhang YJ, Fang JY. Molecular staging of gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008;23:856–60.
49. Chen X, Leung SY, Yuen ST, Chu KM, Ji J, Li R, et al. Variation in gene expression patterns in human gastric cancers. *Mol Biol Cell*. 2003;14:3208–15.
50. Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:563–72.
51. López-Otin C, Overall CM. Protease degradomics: A new challenge for proteomics. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3:509–19.